

**PRACA POGLĄDOWA/REVIEW PAPER**

## Diagnostyka alergii na orzeszki ziemne – część II

### Diagnostics of peanut allergy – part II

Julia Gawryjołek, Aneta Krogulska

Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska

#### STRESZCZENIE

Test aktywacji bazofilów coraz częściej stanowi uzupełnienie diagnostyki alergii na orzeszki ziemne. Jest to badanie cechujące się bardzo wysoką czułością, swoistością i bezpieczeństwem. Największe korzyści z wykonania testu aktywacji bazofilów występują u pacjentów z niejasnym wywiadem chorobowym, brakiem informacji w wywiadzie o doustnej ekspozycji na alergen i wątpliwym wynikiem dotychczas wykonanych badań. Aktualnie złotym standardem rozpoznawania alergii na orzeszki ziemne jest doustna próba prowokacji. W przypadku orzeszków ziemnych wiąże się ona z dużym ryzykiem wystąpienia ciężkich reakcji alergicznych, dlatego powinna być przeprowadzana w ośrodkach specjalizujących się w alergii pokarmowej. W kwalifikacji do doustnej próby prowokacji należy uwzględnić m.in. dane z wywiadu i wyniki badań w kierunku uczulenia, w tym ocenę stężenia Ara h 2. Kryteria przerwania doustnej próby prowokacji i interpretacja jej wyniku są szczegółowo zdefiniowane, co ułatwia codzienną praktykę lekarską. W przyszłości wskazuje się na duże korzyści z przeprowadzania diagnostyki epitopowej, która umożliwia rozróżnienie różnych fenotypów alergii, ale obecnie jest dostępna jedynie podczas badań klinicznych.

#### SŁOWA KLUCZOWE

orzeszki ziemne, dzieci, test aktywacji bazofilów, doustna próba prowokacji, alergia pokarmowa, diagnostyka.

#### ABSTRACT

The basophil activation test is increasingly being used to complement the diagnosis of peanut allergy. It is a test characterized by very high sensitivity, specificity and safety. The greatest benefits of performing basophil activation test occur in patients with unclear medical history, lack of information in the history of oral exposure to the allergen and questionable results of previously performed tests. The current gold standard for diagnosing peanut allergy is the oral food challenge. In the case of peanuts, it is associated with a high risk of severe allergic reactions, therefore, it should be performed in centers specializing in food allergy. In qualifying for an oral food challenge should take into account, among other things, data from the history and results of tests for sensitization, including assessment of Ara h 2. The criteria for discontinuation of oral food challenge and interpretation of its result are defined in detail, which facilitates daily medical practice. In the future, great benefits are indicated of performing epitope diagnostics, which makes it possible to distinguish between different allergy phenotypes, but is currently only available during clinical trials.

#### KEY WORDS

peanuts, children, basophil activation test, oral food challenge, food allergy, diagnosis.

**ADRES DO KORESPONDENCJI**

dr Julia Gawryjolek, Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii,  
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,  
Polska, e-mail: gawryjolek.j@gmail.com

**WPROWADZENIE**

Podstawowe procedury diagnostyczne stosowane w alergii na orzeszki ziemne (AOZ), tj. wywiad, ocena stanu uczulenia poprzez ocenę sIgE i punktowe testy skórne z ekstraktem orzeszka ziemnego oraz badania molekularne zamieszczono w artykule „Diagnostyka alergii na orzeszki ziemne – część I”.

**TEST AKTYWACJI BAZOFILÓW**

Test aktywacji bazofilów (*basophil activation test* – BAT) jest testem funkcjonalnym, który umożliwia diagnozowanie alergii na podstawie procesów zachodzących *in vivo*. Badanie to opiera się na pomiarze ekspresji CD63, który jest markerem występującym na powierzchni błony komórkowej bazofilów po stymulacji alergenem.

Aktualnie coraz częściej rozważa się uzupełnienie standardowej diagnostyki o wykonanie BAT, szczególnie w przypadku alergii na leki i jad owadów [1]. Wartość diagnostyczna BAT w alergii na pokarmy jest alergenowo swoista i większość badań potwierdza dużą czułość i swoistość tej metody. W niektórych badaniach swoistość BAT szacuje się nawet na 100%, co pozwala na potwierdzenie diagnozy IgE-zależnej alergii pokarmowej z bardzo dużym prawdopodobieństwem [2, 3]. Z uwagi na wysoką swoistość BAT przeważa nad aktualnie stosowanymi standardowymi badaniami (PTS, sIgE) w diagnozowaniu alergii pokarmowej [3, 4]. BAT jest często opisywany jako próba doustnej prowokacji pokarmowej (*oral food challenge* – OFC) w próbówce.

Badanie z największą grupą pacjentów oceniające zastosowanie BAT dotyczyło AOZ [3]. W badaniu wzięło udział łącznie 105 dzieci, u których jako uzupełnienie standardowej diagnostyki (sIgE, PTS) wykonano BAT. Pacjentów podzielono na grupy: dzieci zdrowe, dzieci uczulone, ale tolerujące orzeszki ziemne i dzieci uczulone, z objawami alergii po kontakcie z orzeszkami ziemnymi. Wykonanie BAT pozwoliło na zmniejszenie liczby koniecznych OFC o 2/3. Czułość testu oceniono na 97%, a jego swoistość i pozytywną wartość predykcji na niemal 100%.

Ocena sIgE dla Ara h 2 charakteryzuje się wyższą trafnością prawidłowego rozpoznania AOZ niż sIgE dla ekstraktu orzeszka, ale nadal niższą niż BAT z orzeszkami ziemnymi [3, 5]. U niektórych pacjentów zastosowanie BAT jako alternatywy lub uzupełnienia oceny sIgE dla Ara h 2 może przynieść znaczące korzyści [3].

Większa skuteczność diagnostyczna BAT niż oznaczenie stężenia komponentów alergenowych jest prawdopodobnie związana z faktem, że BAT jest badaniem czynnościowym, którego wyniki są zależne nie tylko od stężenia IgE, lecz także od właściwości IgE (takich jak powinowactwo i klonalność) oraz obecności przeciwciał innego typu, np. IgG<sub>4</sub> [6].

Aktualnie BAT nie jest zalecany w rutynowej diagnostyce alergii na pokarmy. U części pacjentów ewidentny wywiad kliniczny oraz potwierdzone uczulenie IgE-zależne dla pełnych alergenów lub komponent alergenowych są wystarczające dla ustalenia rozpoznania alergii IgE-zależnej. U pozostałych pacjentów można rozważać wykonanie BAT po przeprowadzeniu standardowej diagnostyki (sIgE, PTS), a następnie uwzględniając wynik BAT, należy ocenić wskazania do przeprowadzenia OFC. Zastosowanie dwuetapowej diagnostyki alergii na orzeszki ziemne z oceną BAT niesie ze sobą ważne informacje kliniczne. Według Santos i wsp. wykonanie BAT pozwoliło na zmniejszenie liczby wykonywanych OFC o 67% [3]. Aktualnie wydaje się, że największe korzyści z wykonania BAT występują u pacjentów z niejasnym wywiadem chorobowym, brakiem informacji w wywiadzie o doustnej ekspozycji na alergen i wątpliwym wynikiem dotychczas wykonanych badań.

Wartość diagnostyczna i czułość BAT może być różna w zależności od rodzaju alergenu użytego do stymulacji bazofilów. W badaniu można użyć rekombinant alergenowych lub ekstraktu.

Wydaje się, że alternatywą dla wykonania BAT mógłby być test aktywacji mastocytów (*mast activation test* – MAT). Badanie to cechuje się dużą swoistością, jednak wydaje się, że ograniczeniem jest jego skomplikowana procedura wykonania [7].

**PRÓBA DOUSTNEJ PROWOKACJI POKARMOWEJ**

Badania wskazują, że OFC przeprowadzona z orzeszkami ziemnymi wiąże się z dużym ryzykiem wystąpienia ciężkich reakcji alergicznych, włącznie ze zgonem [8]. Dlatego celem wstępnego etapu diagnostyki jest określenie prawdopodobieństwa wystąpienia AOZ u pacjenta i ocena ryzyka dodatkowej OFC. Decyzja o przeprowadzeniu OFC musi być podejmowana rozważnie, kierując się zarówno pozytywnymi, jak i negatywnymi możliwymi jej skutkami.

Wykonanie OFC pozwala na: zróżnicowanie pomiędzy uczuleniem a alergią, ustalenie bezpiecznej dawki alergenu, monitorowanie nabywania tolerancji, zobrazowanie przebiegu klinicznego reakcji. Z tego powodu, niezależnie od wyniku OFC – dodatniego czy ujemnego, ta metoda diagnostyki niesie za sobą istotne korzyści dla pacjenta.

## KWALIFIKACJA DO OFC

Podczas podejmowania decyzji o wykonaniu OFC należy uwzględnić obciążenie chorobami atopowymi w wywiadzie osobniczym i rodzinnym oraz wyniki przeprowadzonych wcześniej badań. Od OFC odstępuje się w przypadku jednoznacznego wywiadu chorobowego oraz potwierdzenia uczulenia na główne alergeny orzeszków [9]. W przypadkach wątpliwych, przy ujemnym lub niskim poziomie przeciwciał dla Ara h 2, OFC powinna być uwzględniona w procesie diagnostycznym AOZ. OFC jest również rekomendowana u pacjentów, u których brakuje ewidentnego związku pomiędzy spożyciem orzeszka ziemnego a wystąpieniem objawów reakcji alergicznej [9]. Jeśli nie można zidentyfikować sIgE dla żadnego z głównych alergenów orzeszka, występowanie klinicznie istotnej AOZ jest mało prawdopodobne, chociaż nie można jej całkowicie wykluczyć w przypadku niebudzącego wątpliwości, klarownego wywiadu chorobowego (luka diagnostyczna spowodowana np. uczuleniem na oleozyny (Ara h 10/11, 14/15) i defensyny (Ara h 12/13) [10, 11].

Ludman i wsp. ocenili, że większe ryzyko wystąpienia dodatniego wyniku OFC u pacjentów z towarzyszącymi chorobami atopowymi (AZS i/lub alergią na białko jaja kurzego) występuje w przypadku rozpoznanej choroby alergicznej u matki oraz przy wykrywalnych sIgE > 5 kUA/l dla ekstraktu orzeszka ziemnego [12].

## METODY OFC

Zasady przeprowadzania OFC z orzeszkiem ziemnym są podobne do tych, które są wykonywane z innymi alergenami. Mimo że dotychczas opublikowano wiele wytycznych światowych i europejskich, brakuje międzynarodowego konsensusu dotyczącego wykonywania OFC. W badaniu retrospektywnym, w którym podsumowano dane dotyczące 200 przeprowadzonych prób prowokacyjnych, podkreślono, że różnice w metodologii mają wpływ na wynik OFC i jego sposób interpretacji [13].

Złotym standardem w rozpoznawaniu alergii pokarmowej jest podwójnie ślepa próba prowokacji pokarmowej kontrolowana placebo (*double blind placebo controlled food challenge* – DBPCFC). Zazwyczaj jednak DBPCFC jest przeprowadzana w celach naukowych, natomiast w codziennej praktyce zwykle wykonuje się próby otwarte, rzadziej pojedynczo zaślepienie [14].

U pacjentów uczulonych rekomendowane jest wykonanie OFC w warunkach szpitalnych pod nadzorem wykwalifikowanego personelu medycznego. U pacjentów z grupy dużego ryzyka wystąpienia anafilaksji, w przypadku konieczności wykonania OFC, powinna być ona przeprowadzona z zabezpieczeniem anestezyjologicznym [15].

Pokarm podaje się we wzrastających objętościach, obserwując wystąpienie ewentualnych objawów ze strony pacjenta. W najbardziej popularnych protokołach zaleca się podawanie alergenu w 3 do 7 dawkach co 15–20 minut [16]. Skrócenie czasu pomiędzy kolejnymi dawkami alergenu może utrudniać ustalenie dawki progowej, ponieważ reakcja alergiczna może być wywołana kumulacją kolejnych dawek alergenu.

W badaniach Blumchen i wsp. OFC z orzeszkiem ziemnym u pacjentów z grupy ryzyka wystąpienia poważnych reakcji alergicznych przeprowadzono z zachowaniem 2-godzinnych interwałów pomiędzy kolejnymi dawkami alergenu [17]. Mediana czasu wystąpienia reakcji alergicznej po podaniu pokarmu wyniosła u badanych pacjentów 55 minut, natomiast u większości pacjentów objawy obiektywne wystąpiły w ciągu pierwszych 30 minut. Według Pettersona i wsp. większość ciężkich reakcji alergicznych występuje krótko po podaniu alergenu [18]. Dłuższe odstępy czasu pozwalają lepiej oszacować minimalną dawkę alergenu wywołującą reakcję u najbardziej uczulonych pacjentów. Jest to zgodne z wnioskami badania Mose i wsp., w którym wykazano, że 30-minutowy odstęp pomiędzy dawkami alergenu może być zbyt krótki, szczególnie u pacjentów z wysokim stężeniem sIgE lub gdy dawka alergenu podczas prowokacji jest niska [19].

## DAWKA ORZESZKA ZIEMNEGO W OFC

W OFC najczęściej stosuje się alergen orzeszka ziemnego w postaci ziarna orzecha lub mąki orzechowej (w postaci bezpiecznej dla dziecka, niegrożącej zakrzepieniem).

Dawka wstępna i kumulacyjna orzeszka ziemnego podczas OFC powinna być dostosowana do wieku pacjenta i jego dotychczasowego przebiegu choroby. U dzieci powyżej 5. roku życia i dorosłych najczęściej zalecana dawka kumulacyjna to około 15–20 orzeszków, u dzieci poniżej 5. roku życia dawka jest mniejsza i wynosi 4–5 orzeszków. Aktualnie uważa się, że jeżeli u pacjenta nie występują objawy kliniczne po spożyciu ponad 15 g orzeszków ziemnych, można przyjąć, że nie ma on AOZ [20].

Istnieje wiele protokołów przeprowadzania OFC, gdzie przyjmuje się różne dawki początkowe i kumulacyjne. Nowak-Węgrzyn i wsp. proponują dawkę początkową 10–100 mg białka orzeszka ziemnego, a kumulacyjną 9,2 g białka orzeszka ziemnego [21]. Według Keet i wsp. sugerowana dawka kumulacyjna powinna wynosić 5 g białka orzeszka ziemnego dla dzieci poniżej 5. roku życia

i 8 g białka orzeszka ziemnego dla pozostałych pacjentów [22]. Dawki proponowane dla pacjentów europejskich są niższe – z dawką początkową 3 µg–3 mg białka orzeszka i kumulacyjną 4,5–4,7 g białka orzeszka [23, 24].

Dane na temat związku pomiędzy dawką wywołującą a nasileniem objawów reakcji alergicznej są zróżnicowane. Bazując na ocenie 257 pacjentów uczulonych na orzeszki ziemne, wykazano, że ciężkie reakcje alergiczne wystąpiły przy statystycznie wyższej dawce alergenu (250 mg) w stosunku do reakcji o przebiegu łagodnym i umiarkowanym (odpowiednio 25 mg i 50 mg), co sugeruje, że ciężkie reakcje alergiczne podczas OFC częściej występują wraz z podawaniem kolejnych dawek [25]. Podobnie w badaniu Blumchen i wsp. pacjenci, którzy reagowali na niższe dawki alergenu, mieli wyższe stężenie sIgE dla Ara h 2, większe odczyny w PTS i reaktywność BAT [17]. Odmiennie wyniki badań uzyskali Ludman i wsp. [15].

Należy podkreślić, że niskie indywidualne dawki progu niekoniecznie korelują z nasileniem objawów alergii. Ostatnio zaproponowano nowe protokoły OFC, które pozwalają lepiej oszacować minimalną dawkę wywołującą reakcję (*eliciting dose* – ED) [25].

W nowym protokole diagnostycznym AOZ opublikowanym w 2017 r., tj protokole PAT (*Peanut Allergen Threshold*), przyjęto prowokację pojedynczą dawką orzeszka ziemnego, która wywołuje objawy u 5% najsilniej uczulonych pacjentów (ED05) [26]. W przypadku orzeszków ziemnych dawka ta została oszacowana na 1,5 mg białka orzeszka ziemnego, co odpowiada około 6 mg całego ziarna orzeszka ziemnego. Wydaje się, że protokół prowokacji z użyciem pojedynczej dawki nie zastępuje OFC, ale może dostarczyć dodatkowych informacji klinicznych dotyczących ryzyka wystąpienia ciężkich reakcji alergicznych zależnych od dawki oraz może stanowić rodzaj badania przesiewowego i służyć do wykrycia najbardziej wrażliwych pacjentów.

W innych badaniach reaktywność kliniczną u 5–10% najsilniej uczulonych pacjentów (ED05 – ED10) osiągnano przy dawce 20–70 mg ziarna orzeszka ziemnego (5–20 mg całkowitego białka orzeszków ziemnych) [27–29]. Otrzymane wyniki badań sugerują, że 50% pacjentów z AOZ reaguje tylko na dawki skumulowane powyżej 100 mg białka orzeszków ziemnych [30].

Purinton i wsp. stwierdzili, że wśród innych ocenianych alergenów ED50 dla orzeszka ziemnego była najwyższa i wyniosła 29,9 mg [31]. Z kolei Blom i wsp. ocenili, że 5% pacjentów uczulonych na orzeszki ziemne reaguje po podaniu dawki 1,6 mg białka orzeszka ziemnego [32].

Przeprowadzenie OFC z oceną ED pozwala na wyróżnienie 3 grup pacjentów [33]:

- pacjenci z objawami, ale bez anafilaksji, pomimo przyjmowania największej dawki alergenu („pacjenci

tolerujący niskie dawki, reagujący łagodnie na wysokie dawki”),

- pacjenci z początkowo łagodnymi objawami, którzy wraz ze zwiększaniem przyjmowanych dawek rozwijają objawy anafilaksji,
  - pacjenci z anafilaksją jako objawem początkowym, często bez wcześniejszych objawów subiektywnych.
- Należy jednak podkreślić, że nasilenie objawów podczas OFC, jak i po przypadkowym spożyciu alergenu jest nieprzewidywalne i ocena dawki wywołującej nie może służyć do oceny ryzyka wystąpienia objawów reakcji anafilaktycznej [18].

## KRYTERIA PRZERWANIA OFC

Kwestia kontynuowania czy przerwania próby prowokacyjnej stanowi wielokrotnie dylemat w trakcie przeprowadzania OFC. Z jednej strony nieprzerwanie próby w odpowiednim momencie może narazić pacjenta na wystąpienie ciężkich, a nawet zagrażających życiu objawów klinicznych. Z drugiej, zbyt wczesne zakończenie próby może doprowadzić do błędnego rozpoznania i wdrożenia niepotrzebnych ograniczeń dietetycznych. Zazwyczaj OFC kontynuuje się do momentu pojawienia się wyraźnych objawów obiektywnych, bez ryzyka pojawienia się maksymalnej reakcji alergicznej [34]. Najczęściej przyjmowane kryteria przerwania OFC przedstawiono poniżej [35].

1. OFC powinna być zakończona, gdy wystąpi 1 z następujących objawów:
  - objawy skórne:
    - co najmniej 3 bąble pokrzywkowe,
    - obrzęk naczynioruchowy,
    - utrzymująca się wysypka rumieniowa ze świądem;
  - objawy oddechowe:
    - *wheezing*,
    - uporczywy kaszel,
    - duszność,
    - stridor,
    - dysfonia,
    - afonia;
  - objawy ze strony przewodu pokarmowego:
    - wymioty (nie sam odruch wymiotny),
    - nasilony ból brzucha trwający co najmniej 3 minuty;
  - objawy ze strony układu krążenia:
    - hipotensja odpowiednio do wieku, niezwiązana z mechanizmem wazowagalnym.
2. OFC powinna być zakończona, gdy wystąpią 2 lub więcej z następujących objawów:
  - objawy skórne:
    - uporczywy świąd skóry utrzymujący się co najmniej 3 minuty;

- objawy oddechowe:
  - uporczywy katar utrzymujący się co najmniej 3 minuty,
  - uporczywe pocieranie oczu i nosa utrzymujące się co najmniej 3 minuty;
- objawy ze strony przewodu pokarmowego:
  - biegunka.
 Jako hipotensję przyjęto:
  - dla niemowląt – ciśnienie skurczowe krwi < 70 mm Hg,
  - 1–10 lat – ciśnienie skurczowe (wiek × 2) + 70 mm Hg,
  - > 10 lat – ciśnienie skurczowe < 90 mm Hg.

## INTERPRETACJA WYNIKU OFC

OFC uznaje się za pozytywną, gdy po podaniu alergenu u pacjenta występują objawy alergii, zarówno obiektywne, jak i subiektywne. Niekiedy wynik badania jest niejednoznaczny. Mimo że OFC stanowi złoty standard w diagnostyce alergii pokarmowej, to ocena wyniku doustnej próby prowokacyjnej bywa trudna, chociażby ze względu na możliwość występowania objawów obiektywnych i subiektywnych [36]. Istnieje wiele protokołów przeprowadzania OFC oraz kryteriów definiujących, kiedy próbę uznać za pozytywną, a kiedy za negatywną. Według PRACTALL OFC jest uznawana za dodatnią, jeśli występuje co najmniej 1 objaw obiektywny lub objawy subiektywne powtarzają się po podaniu trzech kolejnych dawek albo trwają dłużej niż 45 minut [37]. Przyczyną problemów interpretacyjnych mogą być zarówno objawy obiektywne (np. wymioty), jak i subiektywne, choć te ostatnie niewątpliwie w większym stopniu. W przypadku wystąpienia objawów wątpliwych zaleca się prowadzenie bacznej obserwacji pacjenta i podanie tej samej lub kolejnej, większej dawki pokarmu [34].

Przy interpretacji wyniku OFC należy pamiętać o możliwości uzyskania wyników fałszywie ujemnych, fałszywie dodatnich, jak również wyników wątpliwych. W przypadku DBPCFC ujemny wynik badania wymaga potwierdzenia OFC metodą otwartą [38, 39]. U części dzieci wprowadzenie eliminowanego wcześniej pokarmu do diety kończy się niepowodzeniem, co według badaczy może wynikać z niechęci do spożycia eliminowanych przez długi czas pokarmów, innych czynników psychologicznych lub fałszywie ujemnego wyniku OFC [40]. W takim przypadku sugeruje się ponowne przeanalizowanie wyniku OFC.

Odrębną grupą w interpretacji wyników OFC wymagającą szczególnej uwagi są niemowlęta i małe dzieci. W przypadku małych dzieci istnieją trudności w interpretacji objawów występujących podczas OFC, takich jak płacz, zmiana aktywności lub wymioty. Objawy te mogą być wynikiem rozpoczynającej się reakcji alergicznej, jak również niechęci dziecka do spożywania pokarmu lub zmęczenia. Interpretacja objawów niesie za sobą ry-

zyko wyniku zarówno fałszywie pozytywnego, jak i negatywnego OFC [15]. Klemans i wsp. wykazali, że pacjenci z wyższym stężeniem sIgE dla orzeszka ziemnego i Ara h 2 częściej reagowali podczas OFC, niezależnie od charakteru objawów [41]. Nadal dyskusyjne jest, czy objawy obserwowane podczas OFC są takie same jak po incydentalnym narażeniu na alergen w warunkach domowych [42–46].

## CZYNNIKI RYZYKA WYSTĄPIENIA ANAFILAKSJI PODCZAS OFC

Do czynników prognostycznych łagodnego przebiegu reakcji anafilaktycznej należy wyłącznie uczulenie na alergeny będące homologami PR-10. Czynniki prognostycznymi ciężkiej reakcji są: pozytywny wynik BAT, współistniejąca astma, ciężka reakcja alergiczna w wywiadzie oraz ilość spożytego alergenu.

Należy jednak podkreślić, że na przebieg reakcji klinicznej w warunkach pozaszpitalnych mają wpływ różne czynniki, np. dawka alergenu, aktualny stan pacjenta, kontrola współistniejącej astmy oraz udział kofaktorów.

## IgG<sub>4</sub> Ara h 2

Według stanowiska Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej (*European Academy of Allergy and Clinical Immunology* – EAACI) oraz Narodowego Instytutu Alergii i Chorób Zakaźnych (*National Institute of Allergy and Infectious Diseases* – NIAID), ocena IgG, szczególnie IgG<sub>4</sub>, nie jest rekomendowana w diagnostyce alergii pokarmowej [38, 47]. W badaniach Datema i wsp. potwierdzono, że na podstawie stężenia IgG i IgG<sub>4</sub> nie można przewidzieć wyniku OFC [48].

Jednocześnie wykazano, że obecność przeciwciał IgG<sub>4</sub> może wpływać supresyjnie na przebieg reakcji IgE-zależnej [49]. Santos i wsp. stwierdzili, że obecność przeciwciał IgG<sub>4</sub> jest jedną z przyczyn braku reaktywności klinicznej u pacjentów z uczuleniem na alergeny orzeszków ziemnych [6]. Wydaje się, że hamowanie aktywności sIgE przez IgG<sub>4</sub> specyficzne dla alergenu jest alternatywnym mechanizmem wytworzenia tolerancji na orzeszki ziemne u pacjentów z wykrywalnymi przeciwciałami sIgE dla orzeszków ziemnych i ich głównych alergenów. Pomiar przeciwciał IgG<sub>4</sub> znajduje zastosowanie w monitorowaniu nabywania naturalnej tolerancji na pokarmy oraz odpowiedzi na prowadzoną immunoterapię [50–53].

## WSKAŹNIK sIgE/cIgE

Grabenhenrich i wsp. wykazali, że wartość całkowitego IgE (cIgE) może mieć wpływ na możliwość predykcji wyniku OFC [54]. Wysokie stężenie cIgE (> 500 kUA/l)

zmniejsza czułość diagnostyczną Ara h 2. Stwierdzono, że ocena prawdopodobieństwa dodatniej OFC z orzeszkiem ziemnym, na podstawie stężenia sIgE dla Ara h 2, wzrasta przy niższej wartości wskaźnika sIgE/cIgE. Gupta i wsp. wykazali, że wskaźnik sIgE/cIgE jest lepszym markerem identyfikacji pacjentów z niskim prawdopodobieństwem dodatniej OFC niż ocena wyłącznie sIgE [55].

## DIAGNOSTYKA EPITOPOWA

Epitop to część antygeny rozpoznawana przez przeciwciało lub receptor antygeny (np. receptor komórek T – TCR). Rozwój biologii molekularnej i chemii analitycznej umożliwił dokładne określenie struktury przestrzennej białek alergenowych, a także określenie potencjału alergenu do wywoływania objawów chorobowych. Epitopy mogą być konformacyjne (rozpoznawane na podstawie struktury przestrzennej łańcucha peptydowego) lub sekwencyjne (związane z kolejnością aminokwasów w łańcuchu peptydowym). Badanie epitopów pozwala na wyróżnienie różnych fenotypów alergii pokarmowej. Wykazano liczne korzyści z zastosowania diagnostyki epitopowej w diagnostyce AOZ [56, 57]. Flinterman i wsp. wykazali większą różnorodność epitopów u pacjentów z AOZ w porównaniu z grupą kontrolną [56]. Podobnie Shref-

fler i wsp. stwierdzili u pacjentów z cięższymi reakcjami alergicznymi w wywiadzie dużo większą różnorodność epitopów w porównaniu z innymi badanymi [57]. W badaniu Santos i wsp. zidentyfikowano 7 kluczowych peptydów zawierających epitopy Ara h 1, Ara h 2 i Ara h 3, które odróżniały dzieci z AOZ od dzieci uczulonych na orzeszki ziemne, ale tolerujące je [58].

## ZALETY I WADY RÓŻNYCH METOD STOSOWANYCH W DIAGNOSTYCE AOZ

Porównanie zalet i wad różnych metod stosowanych w diagnostyce AOZ przedstawiono w tabeli 1 [59].

## PODSUMOWANIE

Test aktywacji bazofilów jest cennym uzupełnieniem diagnostyki alergii na orzeszki ziemne, cechuje się dużą czułością i swoistością. Aktualnie złotym standardem rozpoznawania alergii na orzeszki ziemne jest doustna próba prowokacji.

## KONFLIKT INTERESÓW

Autorki nie zgłaszają konfliktu interesów.

**TABELA 1.** Porównanie zalet i wad różnych metod stosowanych w diagnostyce alergii na orzeszki ziemne (AOZ) [59]

Metoda	Zalety	Wady	Komentarz
wywiad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• jednoznaczny wywiad chorobowy może wystarczyć do potwierdzenia AOZ</li> <li>• dostarcza informacji o czynnikach epidemiologicznych, więc może być wykorzystany do zwiększenia użyteczności badań diagnostycznych</li> <li>• pozwala na określenie prawdopodobieństwa AOZ przed wykonaniem badań diagnostycznych</li> <li>• najważniejszy element diagnostyki u wszystkich pacjentów, którzy wcześniej spożyli orzeszek ziemny</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• część pacjentów nigdy nie spożywała orzeszków ziemnych lub brak informacji o objawach klinicznych po spożyciu orzeszków ziemnych</li> <li>• wywiad dotyczący reakcji alergicznych po spożyciu orzeszków ziemnych może być niejasny</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• wywiad musi dostarczać informacji:               <ul style="list-style-type: none"> <li>– czy istnieje związek pomiędzy spożyciem orzeszków ziemnych a wystąpieniem objawów alergii</li> <li>– po jakim czasie wystąpiły objawy</li> <li>– po jakiej dawce alergenu</li> <li>– jakie były objawy</li> <li>– kiedy była ostatnia podobna reakcja alergiczna</li> <li>– czy istnieją schorzenia współistniejące</li> </ul> </li> </ul>
PTS i/lub sIgE dla orzeszka ziemnego	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dodatnie wyniki badania potwierdzają uczulenie</li> <li>• wysoka czułość i NPV: ujemny wynik badania zazwyczaj pozwala wykluczyć AOZ</li> <li>• punkty odcięcia 90% i 95% PPV pozwalają na odstąpienie od OFC u części pacjentów</li> <li>• wyższe stężenie sIgE lub wielkość odczynu PTS są związane ze zwiększonym prawdopodobieństwem wystąpienia AOZ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• niska swoistość i PPV</li> <li>• punkty odcięcia różnią się w zależności od badanej populacji (kohorta urodzeniowa vs ośrodek referencyjny)</li> <li>• punkty odcięcia dla ryzyka wystąpienia AOZ nie zawsze są diagnostyczne</li> <li>• negatywny wynik badań u pacjenta z przekonującym wynikiem badań nakazują dalszą ostrożność i konieczność dalszej diagnostyki</li> <li>• stężenie sIgE nie pozwala przewidzieć ciężkości objawów klinicznych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• potwierdzenie uczulenia jest konieczne do rozpoznania AOZ</li> <li>• wymagają standaryzacji</li> <li>• punkty odcięcia zależą od kraju i badanej populacji</li> </ul>

TABELA 1. Cd.

Metoda	Zalety	Wady	Komentarz
slgE dla alergenów orzeszków ziemnych	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ara h 2 może zapewnić lepszą dokładność predykcyjną niż PTS i slgE</li> <li>pomaga w podjęciu decyzji o konieczności przeprowadzenia OFC</li> <li>może przewidzieć ciężkość reakcji</li> <li>możliwość identyfikacji uczulenia związanego z reaktywnością krzyżową</li> <li>może przewidzieć nabywanie tolerancji na orzeszki ziemne u pacjentów z AOZ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>nie zastępuje OFC</li> <li>punkty odcięcia slgE dla Ara h 2 różnią się w zależności od wieku, regionu geograficznego i badanej populacji</li> <li>poziom slgE dla Ara h 2 jest skorelowany z ciężkością choroby, ale nie mogą być wykorzystywane do oceny ryzyka wystąpienia ciężkich reakcji alergicznych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>przy interpretacji wyników badań należy brać pod uwagę zróżnicowanie geograficzne</li> <li>brakuje danych dotyczących małych dzieci (&lt; 4 lat)</li> </ul>
OFC	<ul style="list-style-type: none"> <li>wynik dodatni potwierdza AOZ</li> <li>wynik ujemny wyklucza AOZ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>czasochłonna</li> <li>kosztochłonna</li> <li>ryzyko anafilaksji</li> <li>czasami wynik trudny do zinterpretowania</li> <li>rzadko mogą wystąpić wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne</li> <li>wymaga wyspecjalizowanego personelu</li> <li>OFC muszą być wykonywane w nadzorowanych warunkach, w ośrodkach przeszkolonych w zakresie postępowania w przypadku anafilaksji</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>nadal jest „złotym standardem” diagnostycznym, chociaż wciąż prowadzone są badania nad zmniejszeniem konieczności wykonywania OFC</li> </ul>
BAT	<ul style="list-style-type: none"> <li>określa rzeczywistą reaktywność bazoofilów w obecności wszystkich przeciwciał w surowicy</li> <li>u części pacjentów może zastąpić OFC</li> <li>aktywacja bazoofilów może być określona w zależności od dawki alergenu</li> <li>badanie może być wykonane u dzieci z ciężką postacią AZS</li> <li>bezpieczne</li> <li>wymaga niewielkiej objętości krwi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>nie jest dostępne w warunkach komercyjnych</li> <li>wymaga wiedzy specjalistycznej</li> <li>musi być wykonane w ciągu kilku godzin od pobrania krwi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>u części pacjentów nie można wykonać badania, bo należą do grupy <i>non-responders</i> lub ich bazofile są aktywowane przed kontaktem z badanym alergenem</li> <li>wymagają dalszej standaryzacji i walidacji</li> <li>prawdopodobnie tańsze niż OFC, ale droższe niż PTS i slgE</li> </ul>
diagnostyka epitopowa	<ul style="list-style-type: none"> <li>mogą być lepszym markerem reaktywności klinicznej</li> <li>mogą dostarczać więcej informacji na temat rokowania, ciężkości reakcji i utrzymywania się alergii</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>aktualnie prowadzone jedynie w celach naukowych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>w przyszłości szansa na zastosowania badania w warunkach klinicznych</li> </ul>

## PIŚMIENNICTWO

1. Gawinowska M, Specjalski K, Chełmińska M, et al. Zastosowanie testu aktywacji bazofilów w diagnostyce nadwrażliwości na kwas acetylosalicylowy. *Pneumonol Alergol Pol* 2015; 83: 66-73.
2. Ocmant A, Mulier S, Hanssens L, et al. Basophil activation tests for the diagnosis of food allergy in children. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1234-45.
3. Santos AF, Douiri A, Becares N, et al. Basophil activation test discriminates between allergy and tolerance in peanut-sensitized children. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 645-52.
4. Lotzsch B, Dolle S, Vieths S, et al. Exploratory analysis of CD63 and CD203c expression in basophils from hazelnut sensitized and allergic individuals. *Clin Transl Allergy* 2016; 6: 45.
5. Glaumann S, Nopp A, Johansson SG, et al. Basophil allergen threshold sensitivity, CD-sens, IgE-sensitization and DBPCFC in peanut-sensitized children. *Allergy* 2012; 67: 242-7.
6. Santos AF, James LK, Bahnson HT, et al. IgG4 inhibits peanut-induced basophil and mast cell activation in peanut-tolerant children sensitized to peanut major allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 1249-56.
7. Santos AF, Brough HA. Making the most of in vitro tests to diagnose food allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5: 237-48.
8. Abrams EM, Becker AB. Oral food challenge outcomes in a pediatric tertiary care center. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2017; 22: 43.
9. Sicherer SH, Wood RA. Advances in diagnosing peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2013; 1: 1-13.
10. Schwager C, Kull S, Krause S, et al. Development of a novel strategy to isolate lipophilic allergens from peanuts. *PLoS One* 2015; 10: e0123419.
11. Petersen A, Kull S, Rennert S, et al. Peanut defensins: novel allergens isolated from lipophilic peanut extract. *J Allergol Clin Immunol* 2015; 136: 1295-301.
12. Ludman S, Ballabeni P, Eigenmann PA, et al. Predicting positive food challenges in children sensitised to peanuts/tree nuts. *Pediatr Allergy Immunol* 2013; 24: 276-81.
13. Grabenhenrich LB, Reich A, Bellach J, et al. A new framework for the documentation and interpretation of oral food challenges in population based and clinical research. *Allergy* 2017; 72: 453-61.
14. Burks AW. Peanut allergy. *Lancet* 2008; 371: 1538-46.
15. Ludman S, Wassenberg J, Du Toit G, et al. Paediatric oral peanut challenges: a comparison of practice in London and western Switzerland. *Allergy* 2013; 68: 539-41.
16. Bird JA, Fleischer DM, Groetch M, et al. Additional oral food challenge considerations. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 141: 2322.
17. Blumchen K, Beder A, Beschoner J, et al. Modified oral food challenge used with sensitization biomarkers provides more real-life clinical thresholds for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 390-8.
18. Pettersson ME, Koppelman GH, Flokstra-de Blok BMJ, et al. Prediction of the severity of allergic reactions to foods. *Allergy* 2018; 73: 1532-40.
19. Mose AP, Mortz CG, Eller E, et al. Dose-time-response relationship in peanut allergy using a human model of passive cutaneous anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139: 2015-6.
20. Zijlstra WT, Flinterman AE, Soeters L, et al. Parental anxiety before and after food challenges in children with suspected peanut and hazelnut allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: e439-45.
21. Nowak-Węgrzyn A, Assaad AH, Bahna SL, et al. Work Group report: oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: S365-83.
22. Keet CA, Johnson K, Savage JH, et al. Evaluation of Ara h2 IgE thresholds in the diagnosis of peanut allergy in a clinical population. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2013; 1: 101-3.
23. Ballmer-Weber BK, Beyer K. Food challenges. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 141: 69-71.
24. Keil T, McBride D, Grimshaw K, et al. The multinational birth cohort of EuroPrevall: background, aims and methods. *Allergy* 2010; 65: 482-90.
25. Zhu J, Pouillot R, Kwegyir-Afful EK, et al. A retrospective analysis of allergic reaction severities and minimal eliciting doses for peanut, milk, egg, and soy oral food challenges. *Food Chem Toxicol* 2015; 80: 92-100.
26. Hourihane JO, Allen KJ, Shreffler WG, et al. Peanut Allergen Threshold Study (PATs): novel single-dose oral food challenge study to validate eliciting doses in children with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139: 1583-90.
27. Taylor SL, Crevel RW, Sheffield D, et al. Threshold dose for peanut: risk characterization based upon published results from challenges of peanut-allergic individuals. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1198-204.
28. Taylor SL, Moneret-Vautrin DA, Crevel RW, et al. Threshold dose for peanut: risk characterization based upon diagnostic oral challenge of a series of 286 peanut-allergic individuals. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 814-9.
29. Walczyk NE, Smith PM, Tovey ER, et al. Peanut protein extraction conditions strongly influence yield of allergens Ara h 1 and 2 and sensitivity of immunoassays. *Food Chem* 2017; 221: 335-44.
30. Ballmer-Weber BK, Fernandez-Rivas M, Beyer K, et al. How much is too much? Threshold dose distributions for 5 food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 964-71.
31. Purington N, Chinthrajah RS, Long A, et al. Eliciting dose and safety outcomes from a large dataset of standardized multiple food challenges. *Front Immunol* 2018; 21: 2057.
32. Blom WM, Vlieg-Boerstra BJ, Kruizinga AG, et al. Threshold dose distributions for 5 major allergenic foods in children. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 172-9.
33. Abrams EM, Chan ES, Sicherer S. Peanut allergy: new advances and ongoing controversies. *Pediatrics* 2020; 145: 2019-102.
34. Niggemann B. When is an oral food challenge positive? *Allergy* 2010; 65: 2-6.
35. Bird JA, Groetch MS, Allen KJ, et al. Conducting an oral food challenge to peanut in an infant. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5: 301-11.
36. Petrus NC, Schoemaker AF, van Hoek MW, et al. Remaining symptoms in half the children treated for milk allergy. Remaining symptoms in half the children treated for milk allergy. *Eur J Pediatr* 2015; 174: 759-65.
37. Sampson HA, Gerth van WR, Bindslev-Jensen C, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma and Immunology - European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 1260-74.
38. Osterballe M, Hansen TK, Mortz CG, et al. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16: 567-73.

39. Du Toit G, Santos A, Roberts G, et al. The diagnosis of IgE-mediated food allergy in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20: 309-19.
40. van Erp FC, Boot J, Knulst AC, et al. Reintroduction failure after negative peanut challenges in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2014; 25: 580-5.
41. Klemans RJ, Blom WM, van Erp FC, et al. Objective eliciting doses of peanut-allergic adults and children can be combined for risk assessment purposes. *Clin Exp Allergy* 2015; 45: 1237-44.
42. van Erp FC, Knulst AC, Kentie PA, et al. Can we predict severe reactions during peanut challenges in children? *Pediatr Allergy Immunol* 2013; 24: 596-602.
43. Chan JCK, Peters RL, Koplin JJ, et al. food challenge and community-reported reaction profiles in food-allergic children aged 1 and 4 years: a population-based study. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5: 398-409.
44. Hourihane JO, Grimshaw KE, Lewis SA, et al. Does severity of low-dose, double-blind, placebo-controlled food challenges reflect severity of allergic reactions to peanut in the community? *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 1227-33.
45. Flinterman AE, Pasmans SG, Hoekstra MO, et al. Determination of no-observed-adverse-effect levels and eliciting doses in a representative group of peanut-sensitized children. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 448-54.
46. Nguyen M, Wainstein BK, Hu W, et al. Parental satisfaction with oral peanut food challenges; perception of outcomes and impact on management of peanut allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 1119-26.
47. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy* 2014; 69: 1008-25.
48. Datema MR, Eller E, Zwinderman AH, et al. Ratios of specific IgG4 over IgE antibodies do not improve prediction of peanut allergy nor of its severity compared to specific IgE alone. *Clin Exp Allergy* 2019; 49: 216-26.
49. van Neerven RJ, Knol EF, Eijraes A, et al. IgE-mediated allergen presentation and blocking antibodies: regulation of T-cell activation in allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 141: 119-29.
50. Savilahti EM, Rantanen V, Lin JS, et al. Early recovery from cow's milk allergy is associated with decreasing IgE and increasing IgG4 binding to cow's milk epitopes. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 1315-21.
51. Tomicic S, Norrman G, Falth-Magnusson K, et al. High levels of IgG4 antibodies to foods during infancy are associated with tolerance to corresponding foods later in life. *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20: 35-41.
52. Jones SM, Pons L, Roberts JL, et al. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 292-300.
53. Kim EH, Bird JA, Kulis M, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: clinical and immunologic evidence of desensitization. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 640-6.
54. Grabenhenrich L, Lange L, Härtl M, et al. The component-specific to total IgE ratios do not improve peanut and hazelnut allergy diagnoses. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137: 1751-60.
55. Gupta RS, Lau CH, Hamilton RG, et al. Predicting outcomes of oral food challenges by using the allergen-specific IgE-total IgE ratio. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014; 2: 300-5.
56. Flinterman AE, Knol EF, Lencer DA, et al. Peanut epitopes for IgE and IgG4 in peanut-sensitized children in relation to severity of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 737-43.
57. Shreffler WG, Beyer K, Chu THT, et al. Microarray immunoassay: association of clinical history, in vitro IgE function, and heterogeneity of allergenic peanut epitopes. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 776-82.
58. Santos AF, Barbosa-Morais NL, Hurlburt BK, et al. IgE to epitopes of Ara h 2 enhance the diagnostic accuracy of Ara h 2-specific IgE. *Allergy* 2020; 75: 2309-18.
59. Krogulska A, Wood RA. Peanut allergy diagnosis: moving from basic to more elegant testing. *Pediatr Allergy Immunol* 2020; 31: 346-57.