



FABER

Nowa generacja testów molekularnych do diagnozowania alergii IgE–zależnych

FABER - New generation of molecular tests to diagnose IgE-dependent allergies.

S U M M A R Y

FABER - is a new multiplex molecular test for measuring specific antibodies E (IgE) against 244 allergen components. At present, it is the most advanced diagnostic system, using the capabilities of nanotechnology to evaluate the concentration of specific immunoglobulins E against molecules and extracts of allergens, involving IT technology and communication platform through the use of innovative CDRS module to facilitate the presentation and analysis of patient tests results. Multi-parameter tests allow to evaluate multiple allergens from one test sample. The FABER test allows to evaluate 122 molecules and 122 allergens from 123 different allergen sources, foods, plants, animals and more.

This new diagnostic tool is available from March 2016. It was officially presented on 13-15 October 2016 in Italy during 4th meeting of food allergy and anaphylaxis (FAAM - Food Allergy and Anaphylaxis Meeting) by Dr. Adriano Mari and his team of investigators from the Associated Centers for Molecular Allergology (CAAM) of Rome [1].

Test is designed for early and very precise diagnosis of allergies. It is important in allergic diseases such as asthma, rhinitis, urticaria, eczema, anaphylaxis, conjunctivitis, and gastrointestinal disorders. It is helpful to distinguish true allergy from symptoms caused by cross-reactions in patients with multivalent allergy and also to make decisions regarding the qualification of patients to SIT. In selected cases it is possible to predict the risk of occurrence of severe systemic reactions.

The FABER test is the latest generation of tests to assess the concentration of specific immunoglobulins E for allergens. This is the most comprehensive, accurate, sensitive and precise test for diagnosing IgE-dependent allergies.

FABER – to nowy multiplexowy test molekularny do pomiaru swoistych przeciwciał E (IgE) wobec 244 komponentom alergenowym. Aktualnie, jest najbardziej zaawansowanym systemem diagnostycznym, wykorzystującym możliwości nanotechnologii do oceny stężenia swoistych immunoglobulin E wobec molekuł i ekstraktów alergenowych, angażujący technologię informatyczną oraz platformę komunikacyjną poprzez użycie innowacyjnego modułu CDRS w celu analizowania wyników pacjentów.

Testy multiparametrowe umożliwiają ocenę wielu alergenów w jednej próbce badanej. Test FABER pozwala ocenić 122 molekuly oraz 122 ekstrakty alergenowe pochodzące ze 123 różnych źródeł alergenowych, tj. pokarmy, rośliny, zwierzęta i inne.

To nowe narzędzie diagnostyczne dostępne jest od marca 2016 roku. Oficjalnie test FABER zaprezentowany został w dniach 13-15 października 2016 we Włoszech podczas 4 spotkań ekspertów alergii pokarmowej i anafilaksji (FAAM – Food Allergy i Anaphylaxis Meeting) przez dr Adriano Mari i zespół jego badaczy z Centrum Alergologii Molekularnej (CAAM) z Rzymu [1].

Test przeznaczony jest do wczesnej i bardzo dokładnej diagnostyki alergii. Ma zastosowanie w chorobach alergicznych, takich jak astma, nieżyt nosa, pokrzywka, egzema, anafilaksja, zapalenie spojówek czy w alergii pokarmowej. Pomocny jest w rozróżnianiu prawdziwego uczulenia od objawów wywołanych reakcją krzyżową u pacjentów z alergią wieloważną oraz w podjęciu decyzji w zakresie kwalifikacji pacjentów do SIT. W wybranych przypadkach pozwala przewidzieć, ryzyko wystąpienia ciężkich, ogólnoustrojowych reakcji.

Test FABER to najnowsza generacja testów oceny stężenia swoistych immunoglobulin E wobec alergenów. To najbardziej kompleksowy, dokładny, czuły i precyzyjny test do diagnozowania alergii IgE-zależnej.

Majsiak E.: FABER – Nowa generacja testów molekularnych do diagnozowania alergii IgE–zależnych. *Alergia*, 2017, 1; 37-41

Wprowadzenie kilkanaście lat temu pierwszego testu (mikromacierzy) do oceny molekuł alergenowych otworzyło ogromne możliwości diagnostyczne alergii IgE-zależnej. Badanie to, z niewielkiej ilości krwi pozwalało wykryć uczulenia dla różnych białek alergenowych, wytłumaczyć rozbieżne reakcje kliniczne u osób uczulonych, pozwalało również ograniczyć koszty diagnostyki wielu alergenów, ponieważ u pacjentów zna-

czenie kliniczne ma zazwyczaj więcej niż jeden alergen. Największą trudność narażał jednak sposób przedstawienia wyników otrzymywanych przy użyciu tej metody oraz ich analiza [2].

Od roku dostępna jest nowsza generacja testów molekularnych – FABER. Jest to system diagnostyczny na który składa się multiparametrowy immunoenzymatyczny test diagnostyczny alergii IgE-zależnej w nanotechnologii,



Dr n. med.
Emilia Majsiak

EMMA MDT sp. z o.o.
Lublin

Słowa kluczowe:

diagnostyka molekularna, diagnostyka komponentowa, sIgE, FABER,

Key words:

molecular diagnosis, Component-resolved diagnosis, sIgE, FABER,

pozwalający oznaczyć sIgE w surowicy krwi wobec molekuł i ekstraktów alergenowych oraz innowacyjny moduł CDRS, angażujący technologię informatyczną oraz platformę komunikacyjną, w celu ułatwienia sposobu przedstawiania oraz analizowania wyników pacjentów. Test powstał przy zaangażowaniu wielu instytucji pod nadzorem Centrum Alergologii Molekularnej w Rzymie (Włochy).

Nanotechnologia

Dzięki coraz bardziej zaawansowanym metodom biochemicznym, możliwe stało się poznanie struktury białek tworzących tkanki. Biologia molekularna, wraz z wprowadzeniem technologii rekombinacji DNA umożliwiła produkcję molekuł alergizujących w laboratoriach. Molekuły alergizujące oraz źródła ich pochodzenia klasyfikowane są w bazie danych Allergome [3].

Przez 20 lat naukowcy CAAM we współpracy z laboratoriami biochemii i biologii molekularnej pracowali nad identyfikacją rosnącej liczby cząsteczek alergizujących oraz biochemiczną i immunologiczną charakterystyką alergenów. Założyciele CAAM oraz stowarzyszone z nim jednostki współpracujące, były zaangażowane kilkanaście lat temu w powstanie i rozwój pierwszego testu do diagnostyki molekularnej (Ryc. 1).

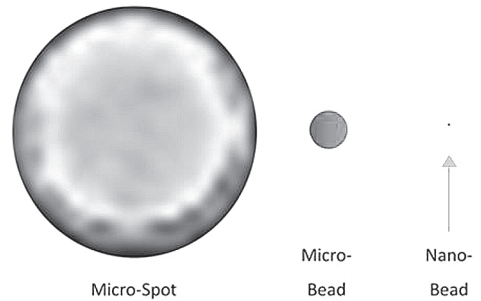
Po 20 latach wykorzystywania tej metody w badaniach biologicznych, jak również w medycynie klinicznej, oraz w diagnostyce alergii, mikrotechnologię zastępuje nanotechnologia. Rozmiar punktu (ang. nano-bead) wynosi 5-7 mikrometrów średnicy, co powoduje, że obecnie możliwe jest opracowanie testów diagnostycznych o wymiarach poniżej wielkości kilku punktów na mikromacierzy (Ryc. 2). Dostępność materiałów i narzędzi o nano-rozmiarach (nanometr = 0,000001 mm) pozwala zastosować ją w diagnostyce medycznej, w tym również w testach do diagnostyki alergii.

Pierwszą korzyścią ze zmiany z micro na nanotechnologię jest ilość potrzebnego alergenu do uzyskania wyniku. Szacuje się, że w punkcie mikromacierzy umieszczonych jest ok. 100 pikogramów (pikogram = 0,000 000 001 mg) białek aler-

gicznych. Wykorzystanie nanotechnologii pozwala zwiększać liczbę antygenów do testowania niemal bez ograniczeń, a wzrost liczby ocenianych alergenów oznacza uzyskanie pełniejszej informacji i postawienie trafnej diagnozy.

Kolejną korzyścią jest gromadzenie dużej ilości, niemożliwych wcześniej do uzyskania danych diagnostycznych i nauko-

2 RYC. Porównanie wielkości punktów prezentujących alergeny na mikromacierzy (micro-spot) oraz punktów w nanotechnologii (nano-beads) w powiększeniu.



wych. Te niezwykle ustrukturyzowane dane są konsekwencją dużej ilości ocenianych przez system FABER molekuł i ekstraktów alergenowych, co wnosi dodatkową wartość do nowoczesnej diagnostyki alergii.

Zastosowanie nanotechnologii w diagnostyce alergii w bezpośredni sposób przekłada się również na optymalizację kosztów związanych z pomiarem swoistych IgE wobec alergenów. Redukcji ulega również ilość potrzebnego materiału pobranego od pacjenta (surowicy) do wykonania badania.

Dzięki możliwościom jakie daje nanotechnologia, możliwa jest ocena IgE wobec 244 komponentom alergenowych. Jednocześnie badane są 122 molekuły alergenowe i 122 ekstrakty. Takie rozwiązanie sprawia, że otrzymywany jest wynik nie tylko dla pojedynczych białek, ale również dla różnych źródeł alergenowych, w których mogą występować molekuły z tej samej grupy homologicznej.

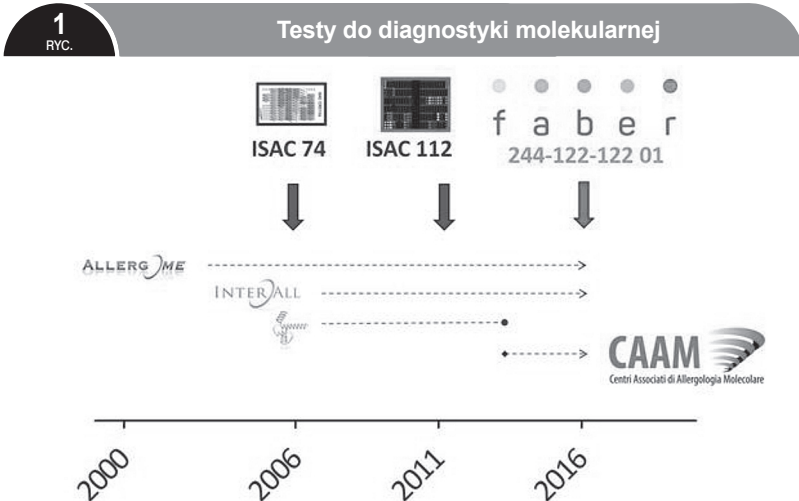
Niemożliwe jest zbadanie wszystkich molekuł tworzących alergen, chociażby ze względu na to, że niektóre z nich są niedostępne jeszcze do badania lub nie są jeszcze znane, dlatego testowanie ekstraktów alergenowych wraz z molekułami zwiększa dokładność diagnostyczną i kompleksowość testu.

Otrzymane wyniki dla ekstraktów są potwierdzeniem lub uzupełnieniem wyników pojedynczych molekuł [1].

Uzyskanie takiej informacji, pozwala lekarzowi ustalić jedno lub wiele spokrewnionych źródeł alergenowych, bądź szereg bardzo różniących się źródeł alergenowych, które powinny być brane pod uwagę u pacjenta [4].

Cechy testu

FABER to immunoenzymatyczny test do oznaczania przeciwciał IgE w surowicy krwi. Test z założenia jest uniwersalny i rozszerzalny. Oznacza to, że pozwala oceniać molekuły i ekstrakty alergenowe, które są ważne i istotne klinicznie, zgodnie z najnowszą i obowiązującą w danej



genów, a w nano-rozmiarze wymagana jest od 100 do 1000 krotnie mniejsza jego ilość. Drugą korzyścią nanotechnologii jest możliwość zwiększania liczby preparatów alergizujących, umieszczenia podobnych preparatów kilkakrotnie, co pozwa-



chwili wiedzą medyczną. W swoim założeniu, narzędzie to ma podążać za potrzebami diagnostycznymi alergii IgE-zależnej, co oznacza że wraz z dynamicznym rozwojem i odkryciami nowych białek i ich znaczenia, może zaistnieć konieczność dodania molekuł lub wymiany na ważniejsze na ważniejsze lub bardziej istotne. Test powstał i cały czas sprawdzany jest przy ogromnym zaangażowaniu alergologów molekularnych z CAAM, dzięki czemu nieustannie podlega weryfikacji nie tylko w strefie badań naukowych, ale również w codziennej pracy klinicystów z pacjentami. Takie unikatowe podejście, powoduje ciągły jego rozwój i udoskonalanie go, zapobiegając „skostnieniu” testu jako narzędzia diagnostycznego.

Alergeny, wykorzystywane w teście produkowane są samodzielnie lub pozyskiwane są od dostawców zapewniających ich najwyższą jakość. Indywidualnie zoptymalizowane łączenia alergenów z chemicznie aktywowanymi nanocząsteczkami, pozwalają osiągać maksymalną wydajność testu zapewniając jednocześnie wysoką dokładność diagnostyczną dla każdego badanego elementu alergenowego. Po połączeniu, są one przymocowane do matrycy fazy stałej, tworząc jednoetapowy kompleksowy test pozwalający na wykonanie badania z próbki o objętości 100 µl surowicy krwi [5].

Pierwsze doniesienia o czułości i swoistości alergenów z grupy LTP pokazały wysoką zgodność do oznaczeń tych molekuł na teście poprzedniej generacji [6]. Dolną granicą wykrywalności testu (LoD) jest 0,01FIU. Wyniki swoistych IgE wobec alergenów prezentowane poniżej lub równe 0,1FIU/ml na teście FABER to wyniki negatywne. Wyniki znajdujące się w przedziale powyżej 0,01 do 0,30 FIU/ml to wyniki graniczne, natomiast wyniki pozytywne to wszystkie wyniki powyżej 0,30 FIU/ml.

Platforma CDRS i CDRS PRO

Wiele problemów dla testów poprzedniej generacji nastroczała interpretacja wyników pacjentów. Do analizy dodatnich sIgE wobec molekuł alergenowych konieczne było swobodne posługiwanie się wiedzą z zakresu alergologii molekularnej. Niezbędna była znajomość poszczególnych grup białkowych, ich znaczenia klinicznego, sposobu reagowania białek na obróbkę cieplną (termo-stabilne i termolabilne) i działanie enzymów trawiennych czy wreszcie ryzyka wywołania ciężkich reakcji anafilaktycznych,

W nowej generacji testu IgE FABER interpretacja wyników molekuł alergenowych jest wspierana przez unikalne rozwiązanie, jakim jest system raportowania cyfrowego CDRS (CAAM Digital Reporting System), pozwalający na dynamiczną wizualizację wyników na urządzeniach przenośnych. Dwie platformy tego systemu, dla pacjentów (CDRS) oraz dla specjalistów (CDRS PRO) dostępne są online na całym świecie w wielu różnych językach.

System CDRS PRO dedykowany dla specjalistów, udostępnia dynamiczne przeglądanie wyników pacjentów ułatwiając ich zrozumienie i analizę. Umożliwia on grupowanie wyników sIgE molekuł i ekstraktów alergenowych według różnych kryteriów.

Pierwszym ułatwieniem, jakie niesie ten system to możliwość segregowania pod względem: grup homologicznych, źródeł alergenowych, rodzajach tkanek czy możliwych dróg ekspozycji na alergen. Przeglądając raport pacjenta na początku widoczne są tylko jego dodatnie wyniki, co skraca czas przeglądania wszystkich oznaczeń sIgE pacjenta. System pozwala również na wyświetlenie wszystkich wyników, łącznie z wynikami ujemnymi [5].

Na stronie internetowej www.caam-allergy.pl/login, można zapoznać się z przykładowym wynikiem oraz sprawdzić ułatwienia i możliwości systemu CDRS. Aby się zalogować należy wpisać adres mailowy faber@caam-allergy.com oraz hasło 2016-faBer.

Konsensus WAO-ARIA-GA2LEN 2013, wskazuje

3 RYC. Liczba komponent alergenowych na teście FABER według źródła pochodzenia.



na potrzebę prowadzenia programów edukacyjnych dla alergologów na temat diagnostyki molekularnej alergii, tak aby stała się ona standardowym narzędziem pracy lekarza alergologa [7]. Częściowo potrzebę tą może spełniać część systemu CDRS PRO, poświęcona na samokształcenie lekarzy. Po zalogowaniu w systemie CDRS PRO widoczne są trzy zakładki, tj.: Informacje, Internetowy przewodnik oraz Przykłady wyników. Zawartość wszystkich tych zakładek przygotowywana jest w taki sposób aby dostarczyć i ułatwić zdobywanie wiedzy z zakresu alergologii molekularnej. Znajdziemy tam odpowiedzi na pytania: które aler-

geny na teście są rekombinowane a które naturalne, które alergeny są wyłącznie na teście FABER, czy wreszcie, które alergeny należą do interesujących nas grup białkowych.

Podstawowa wersja CDRS dedykowana jest dla pacjentów. Platforma ta umożliwiła przez rok od wykonania badania na dynamiczne przedstawienie wyników pacjenta. Jest to rozwiązanie, które pozwala pracować z pacjentem na wspólnej płaszczyźnie porozumienia. Pacjent ma dostęp do informacji, które są spersonalizowane dla niego i mogą być mu pomocne w codziennym funkcjonowaniu z alergią. Wszystkie informacje, które są widoczne dla pacjenta dotyczą jedynie alergenów, które uzyskały dodatni wynik w badaniu.

Informacje te, przygotowywane są i systematycznie aktualizowane przez ekspertów biologii, medycyny oraz zaawansowanych technologii informatycznych, stowarzyszonych z Centrum Alergologii Molekularnej w Rzymie w oparciu o najbardziej aktualną i dostępną wiedzę o komponentach przy użyciu modułów Allergome, InterAll i ReTiME. Lista języków, w których mogą być wyświetlane wyniki pacjentów w systemie CDRS stale rośnie, aktualnie wyniki można obejrzeć w 9 różnych językach (angielskim, włoskim, hiszpańskim, francuskim, chińskim, greckim czy niemieckim). Takie rozwiązanie, może być bardzo pomocne w podróżowaniu pacjenta, np. z alergią pokarmową.

System CDRS, to jedyne takie rozwiązanie w diagnostyce alergii, pomagające lekarzowi w łatwy sposób przeanalizować zależności pomiędzy alergenami, będącymi przyczyną objawów alergicznych niepokojących pacjentów. U osób z alergią poliwalentną pozwala odróżnić faktyczne uczulenia od objawów wywołanych przez reakcje krzyżowe (ryc. 4).

Przygotowanie do badania

Do wykonania badania nie ma specjalnych zaleceń. Pacjent nie musi być na czczo (ograniczyć należy jedynie wysokotłuszczowe posiłki), a próbkę do badania można pobrać o dowolnej porze. Do wykonania testów nie trzeba przerywać innego leczenia w tym także terapii lekami p/ alergicznymi. Celem uzyskania surowicy do badania należy pobrać 4-5 ml pełnej krwi (bez jakichkolwiek substancji przeciwzakrzepowych), następnie odwirować standardowo

a uzyskaną surowicę zapakować do wysyłki w odpowiedni zestaw do transportu próbek. Nie ma konieczności zamrażania surowicy, do przyjazdu kuriera surowica powinna być przechowywana w lodówce.

Molekuły i ekstrakty alergenowe na teście FABER

FABER pozwala zbadać 122 ważne klinicznie molekuły, oznaczane w asyście 122 ekstraktów pochodzących ze 123 źródeł alergenowych.

Na teście znajdują się trzy markery CCD: bromelina ananasa (Ana c 2), peroksydaza chrzanowa (Arm r HRP) oraz homolog ludzkiej laktoferyny (Hom s LF). Laktoferyna, produkowana jest dzięki inżynierii genetycznej w ryżu gdzie ulega glikolizacji. Dzięki temu, staje się bardzo dobrym markerem CCD, ponieważ jak dotąd nie stwierdzono aby rekombinowane białko ludzkiej laktoferyny, powodowało wytwarzanie przeciwciał IgE [8]. Na teście FABER największą grupę stanowią alergeny pokarmowe.

Wśród alergenów pokarmowych najwięcej komponent dotyczy orzechów i ziaren (orzechy włoskie, ziemne, nerkowce, pistacje, orzeszki piniowe, orzechy brazylijskie, migdały, kasztany jadalne, soja, gryka, sezam, fasola, gorczyca, soczewica, łubin, len, ciecierzycza, pszenica, amarantus, jęczmień, kukurydza, szarańczyn strąkowy (popul. chleb świętojański)). Kolejną dużą grupę alergenów stanowią owoce i warzywa (jabłko, brzoskwinia, morela, kiwi, mandarynka, truskawka, granat, awokado, papaja, melon, winogrona, burak, ogórek, pomidor, marchew, bakłażan, por, seler, ziemniak, cebula, czosnek, koper włoski). Wśród ryb i owoców morza wymienić należy łososia, dorsza, morszczuka, sardynkę, solę, tuńczyka, krewetki, kalmary, małże, ośmiornice, omułka jadalnego, ślimaki oraz nicień (pasożytujące w rybach morskich i oceanicznych, mogące być przyczyną nawet ciężkich ogólnoustrojowych reakcji). Spośród antygenów pokarmowych warto jeszcze wspomnieć szeroko reprezentowaną grupę alergenów mleka (krowie, kozie, owcze, kobyłe, bawole, wielbłądzie i ośle). Na teście oceniane są białka i żółtka jaj kurzych, kaczycy, indyczych i przepiórczych. Na teście FABER z alergenów pokarmowych znajdują

się jeszcze mięsa, a wśród nich wieprzowina, wołowina, jagnięcina, mięso kurcze, indyjskie oraz królicze.

Pozostałe komponenty to alergeny wziewne, jak pyłki traw, chwastów, drzew, naskórki i białka zwierzęce, roztocza kurzu domowego, pleśnie, oraz insekty, jady owadów i lateks. Liczbę poszczególnych alergenów przedstawiono na rycinie nr 3.

Wszystkie alergeny można przeglądać wyświetlane w systemie CDRS PRO. I tak np. dla alergenów pszenicy, test FABER pozwala oznaczyć stężenie sIgE wobec ekstraktów pszenicy odmiany durum (Tri tp), czy nowoczesnej odmiany Tri a [Seed]. Na teście oznaczane są molekuły pszenicy Tri a 7k-LTP, należącej do grupy LTP, podobnie jak Tri a 14, ale bardziej od niej odpornej na wyso-

4

RYC.

Wygląd modułu CDRS do przeglądania i analizy wyników uzyskanych przy pomocy testu FABER

The screenshot displays the CAAM Digital Reporting System (CDRS) interface. On the left, patient information for Rossi Mario is shown, including the test type (IgE Multiplex - FA) and total IgE (369). The main area shows the name of the allergen (Bet v 1-like) and the test result (Bet v 1.0101; Wartość IgE: 30,14). A comment explains that specific markers of allergens are present in birch bark (Betula) and other products. Below, a list of other allergens in the same group is shown with their respective IgE values: Api g 1.0101 (0,00), Cor a 1.0103 (11,98), Mal d 1.0108 (10,82), Ara h 8.0101 (25,73), and Act c 11 (0,00). The interface also includes a table of allergens and a button to view the list of known allergens.

Alergen	Rodzaj	Wartość
Act c [Frut]	E	0,01
Ara h 8.0101	M	20,73
Bet v 1.0101	M	30,14
Bet v [Polen]	E	11,49
Can f 5	M	4,54



kie temperatury, przez co przydatnej nie tylko dla piekarzy, ale również w codziennej kuchni domowej. Kolejną komponentą jest Tri a Gliadin zawierająca omega-5-gliadynę, jak również Tri a 18 – która, odgrywa rolę w zespole lateksoowoce [9]. Po wybraniu opcji segreguj po źródłach alergenowych, w systemie CDRS, uzyskujemy zgrupowane wszystkie alergeny dotyczące pszenicy w jednym miejscu. Widoczne są wtedy dostępne ekstrakty pszenicy Tri tp i Tri a [seed] oraz molekuly Tri a 18, Tri a 28, Tri a 7k-LTP oraz Tri a gliadin. Każdy ekstrakt i molekula pszenicy opisana jest w następujący sposób: królestwo (rośliny), rodzina (trawy, wiechlinowate) oraz nazwa łacińska (np. *Triticum aestivum*). Dodatkowo molekuly przyporządkowane są do poszczególnych grup homologicznych, gdzie o każdej z tych grup możemy uzyskać informacje – za jakie objawy może być odpowiedzialna, w czym najczęściej występuje i jaki jest sposób ekspozycji na dany alergen. Dla molekuly pszenicy Tri a 28 widoczna jest: nazwa zwyczajowa alergenu: alpha-Amylase Inhibitor; oraz komentarz: specyficzny marker uczulenia na zboża (pszenica, żyto, jęczmień, owies, ryż) i inne ziarna (gryka, fasola); Spożycie może powodować objawy jelitowe. Dla molekuly pszenicy Tri a Gliadin, przedstawione są: nazwa zwyczajowa alergenu: Gliadin; komentarz: uczulająca frakcja zawarta w cząsteczkach o różnych strukturach występująca w zbożach zawierających gluten (pszenica, żyto, jęczmień); Spożycie może powodować objawy jelitowe lub ciężkie uogólnione objawy; może być przyczyną pokarmowo-zależnej anafilaksji indukowanej wysiłkiem. Dopełnieniem informacji o wynikach molekulek należących do tej samej grupy homologicznej jest informacja czy w surowicy pacjenta wykryto swoiste przeciwciała przeciwko innym podobnym molekułom (np. dla molekuly pszenicy Tri a 7-LTP wyświetlane są jednocześnie wyniki innych molekulek należących do grupy białek LTP, jak Sola I 6 (pomidor), Act s 10 (kiwi), Ara h 9 (orzech ziemny), Cor a 8 (orzech włoski), Pru p 3 (brzoskwinia), Pun g 1 (granat), Zea m 14 (kukurydza).

Wyświetlane alergeny możemy również posegregować po źródłach narażenia – uzyskujemy wtedy informacje czy dana molekula, powoduje objawy tylko po zjedzeniu czy istnieje również możliwość narażenia na dany alergen inną drogą (np. przez drogi oddechowe, kontakt ze skórą czy błoną śluzową, poprzez iniekcję).

Wiele spośród alergenów obecne są tylko na teście FABER, więc można oznaczyć je tylko i wyłącznie na nim. Takimi molekułami są m.in. alpha-gal marker (Bos d CA – marker uczulenia na czerwone mięso w następstwie ugryzienia przez kleszcza), Der p 23.0101 (Dermatophagoides pteronyssinus, alergen roztoczy kurzu domowego – białko które wykazuje immunogenność podobną do Der p 1 i Der p 2 [10]), Pru p 7 (stabilny na gotowanie i enzymy

trawienne alergeny brzoskwini, mogący wywoływać reakcje od łagodnych do ciężkich) oraz inne.

Na teście obecna jest molekula Hom s HSA (albumina surowicy ludzkiej), która traktowana jest jako kontrola negatywna dla wszystkich molekulek znajdujących się na teście. Na podstawie badań własnych prowadzonych przez CAAM, nawet jeśli badane surowice reagowały z albuminami innych ssaków, molekula hom s HSA zawsze uzyskiwała wynik ujemny. Dlatego, jeśli otrzymany zostanie wynik pozytywny dla tego białka, test jest powtarzany. Jest to rozwiązanie, którego nie ma żaden test do pojedynczego oznaczania molekulek [11].

Na teście znajduje się 9 białek należących do grupy LTP oraz ponad 25 pokarmów, w których występują białka właśnie z tej grupy homologicznej [6]. Należy tu wspomnieć, że test ma być w swoim założeniu uniwersalny i rozszerzalny, ma to zapobiec skostnieniu struktury i pozwolić mu ewaluować wraz z najnowszą wiedzą dotyczącą alergologii molekularnej. Dlatego też ostatnio, molekula Ara h 9 (białko LTP orzeszka ziemnego) zastąpiła Sal k1 – białko występujące w solance kolczystej (Pectin Methylesterase).

Na teście występują alergeny z wielu grup białek, np. tropomiozyny, parwalbuminy, 2S albuminy, 11S albuminy, Bet v-1 like, lipokaliny, inhibitory tripsyny, ekspansyny, białka antybakteryjne, chitynazy, alfa-amylazy oraz wiele innych, scharakteryzowanych w systemie CDRS PRO.

Podsumowanie

Test FABER to kompleksowy test do diagnostyki komponentowej, pozwalający uzyskać indywidualny profil uczulenia na alergeny u chorego, co umożliwia personalizację zaleceń dietetycznych oraz terapeutycznych z uwzględnieniem konkretnego modelu uczulenia. Zastosowanie testów umożliwiających diagnostykę poszczególnych białek, zwiększa czułość i swoistość w porównaniu do konwencjonalnych metod oznaczania IgE wobec ekstraktów alergenowych, który jest mieszaniną wielu białek [12]. Należy jednak zaznaczyć, że wszystkie wyniki badań, zarówno dla molekulek, jak i ekstraktów alergenowych są klinicznie istotne jeśli korespondują z objawami [7].

Diagnostyka molekularna alergii jest obecnie traktowana jako trzeci etap postępowania diagnostycznego wobec pacjenta, u którego wyniki uzyskane w ramach pierwszego (analiza kliniczna historii choroby) oraz drugiego etapu (ocena IgE w oparciu o ekstrakty alergenowe) były niewystarczające. Jednak dla doświadczonego lekarza alergologa diagnostyka molekularna może być włączona do drugiego etapu postępowania diagnostycznego [4].

Kompleksowe testy molekularne do oceny sIgE, zaczynają stanowić standardowe narzędzie diagnostyczne w pracy alergologa.

Adres do korespondencji:
dr n. med. Emilia Majsiak
EMMA MDT sp. z o.o.
Tarasowa 4/110, 20-819 Lublin
Tel. 81 563 20 19
e.majsiak@emma-mdt.pl

Prace nadesłano
10.04.2017
Zaakceptowano do druku 20.04.2017

Konflikt interesów nie występuje. Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

Piśmiennictwo: 1. Mari A., Alessandri C., Giangrieco I. et al.: Introducing FABER test for allergy diagnosis: food molecule- and extract-based allergenic preparations in the newest and broadest nanotechnology IgE test. Prezentacja ustna, 4th Food Allergy and Anaphylaxis Meeting, 13-15 Październik, 2016 (Rzym, Włochy), http://www.eaaci.org/meetings/FAAM2016-Abstracts/abstracts/FAAM_2016_OP11.pdf [dostęp 22.03.2017]. 2. Baumgart K.W.: The immunocap ISAC microarray in allergy diagnosis. *Pathology*, 2014, 46, S41-S42. 3. <http://www.allergome.org/> [dostęp 04.04.2017]. 4. Diagnostyka Molekularna Alergii (MA), in Przewodnik kieszonkowy, Canonica G.W. et al., Editors. 2013: World Allergy Organization Journal. 5. <https://www.caam-allergy.com> [dostęp 04.04.2017]. 6. Alessandri C., Ciardiello M.A., Tuppo L. et al.: FABER 244 IgE test in food allergy. Diagnostic accuracy for LTP proteins. Plakat, 4th Food Allergy and Anaphylaxis Meeting, 13-15 Październik 2016, (Rzym Włochy), http://www.eaaci.org/meetings/FAAM2016-Abstracts/abstracts/FAAM_2016_PD34.pdf, [dostęp 03.04.2017]. 7. Matricardi P.M., Kleine-Tebbe J., Hoffmann H.J. et al.: EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*, 2016, 27 Suppl 23, 1-250. 8. Mari A., Ooiveaar-de Heer P., Scala E. et al.: Evaluation by double-blind placebo-controlled oral challenge of the clinical relevance of IgE antibodies against plant glycans. *Allergy*, 2008, 63(7), 891-6. 9. K.B.: Nie tylko alergeny: pszenica. *Alergia*, 2016, 2, 31-35. 10. Weghofer M., Grote M., Resch Y. et al.: Identification of Der p 23, a peritrophin-like protein, as a new major Dermatophagoides pteronyssinus allergen associated with the peritrophic matrix of mite fecal pellets. *J Immunol*, 2013, 190(7), 3059-67. 11. Mari A., (adriano.mari@caam-allergy.com): Hom s HSA (03.04.2017). e-mail to Majsiak, E., (e.majsiak@emma-mdt.pl). 12. Balińska-Miśkiewicz W.: Diagnostyka molekularna alergii pokarmowej - czy wiemy więcej? *Postepy Hig Med Dosw (Online)* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24934534> [dostęp 03.04.2017], 2014, 68, 754-767.