

## KOMPONENTNA DIJAGNOSTIKA ALERGIJSKIH BOLESTI

IVA MRKIĆ KOBAL<sup>1,2</sup>, MIRJANA TURKALJ<sup>1,2,3</sup>

*Komponentna dijagnostika je nova in vitro molekularna dijagnostička metoda u alergologiji kojom se određuju specifična IgE protutijela na određenu alergensku komponentu (epitop alergena). Do sada su u in vitro dijagnostici korišteni alergenski ekstrakti, odnosno nepročišćena smjesa alergenskih i drugih proteina, polisaharida i lipida dobivena ekstrakcijom iz prirodnih izvora. Potreba za što boljom standardizacijom alergenskih ekstrakata dovela je do razvoja pročišćenih alergenskih ekstrakata odnosno alergenijskih komponenti. One mogu nastati izolacijom iz prirodnih izvora (prirodni pročišćeni alergeni) ili proizvodnjom rekombinantnom DNA tehnologijom (rekombinantni alergeni). Određivanje specifičnog IgE na alergenske komponente može se raditi pojedinačno (jedan uzorak - jedan alergenska komponenta, eng. singleplex), odnosno višestruko (tzv. multiplex analize) na mikročip pločicama (eng. microarray). Do sada se u kliničkoj praksi komponentna dijagnostika pokazala osobito korisnom u razlikovanju primarne senzibilizacije na nutritivne alergene i križne reaktivnosti između inhalacijskih i nutritivnih alergena te u procjeni rizika i težine alergijske reakcije. Osim kod nutritivne alergije komponentna dijagnostika danas se preporuča u dijagnostici alergija na otrove opnokrilaca, kod polisenzibilizacije na inhalacijske alergene prethodno planiranoj specifičnoj imunoterapiji, kao i u dijagnostici idiopatske anafilaksije. Cilj ovog rada je prikazati načela komponentne dijagnostike i mogućnosti primjene u dijagnostici alergijskih bolesti.*

Deskriptori: KOMPONENTNA DIJAGNOSTIKA, ALERGENSKE DETERMINANTE, REKOMBINANTNI ALERGEN, KRIŽNA REAKTIVNOST, MULTIPLEX ANALIZA

### UVOD

Alergenska komponentna dijagnostika je molekularna in vitro dijagnostika kojom se određuju specifična IgE protutijela (sIgE) na dijelove tj. determinantne prirodnih alergena ili rekombinantne alergenske determinante (1). Alergenska determinanta predstavlja strukturu unutar alergena (epitop), tj. alergensku molekulu, koju prepoznaje specifično IgE protutijelo. Standardizirani alergenski ekstrakti su smjesa alergenskih (glavnih i sporednih determinanti), ali i drugih proteina, polisaharida i lipida. S obzirom na navedeno unutar

alergenskog ekstrakta nalazimo različite alergenske determinante. Dio navedenih determinanti sličan je među različitim alergenskim ekstraktima. Zbog navedenog dosadašnjom in vitro obradom nismo mogli razlikovati senzibilizaciju na alergenske determinante od senzibilizacije na druge proteinske i neproteinske dijelove alergena, kao niti primarnu senzibilizaciju od križne reaktivnosti. Nomenklaturu alergenskih determinanti preporučio je Odbor za nomenklaturu Međunarodnog udruženja imunoloških društava Svjetske zdravstvene organizacije. Tako se alergenska determinanta dobivana iz alergenskog ekstrakta označava početnim slovima roda, početnim slovom vrste i brojem proteina prema njegovoj učestalosti izazivanja senzibilizacije. Primjer nomenklature je glavni alergen peludi breze: Bet v1 od Betula verrucosa l. Prema učestalosti razvijanja senzibilizacije razlikujemo glavne i sporedne alergene. Glavni alergen predstavlja onu alergenu determinantu koja je prepoznata od većine senzibiliziranih

osoba, odnosno onu determinantnu na koju se dominantno razvija primarna senzibilizacija. Sporedni alergen je ona determinanta koju prepoznaje manje od 50% senzibiliziranih (2). Identifikacija alergena na koji je pojedinac senzibiliziran omogućava predviđanje težine reakcije, savjetovanje o izbjegavanju alergena te kod alergije na hranu izbjegavanje nepotrebnih, potencijalno ugrožavajućih oralnih provokacijskih testova (3). Cilj ovog rada je prikazati načela komponentne dijagnostike i mogućnosti primjene u dijagnostici alergijskih bolesti.

### TEMELJI KRIŽNE REAKTIVNOSTI

Panalergeni (križno reaktivni proteini) predstavljaju proteine slične strukture i funkcije u različitim biljnim i životinjskim vrstama, npr. u različitim dijelovima biljaka, u peludi jedne i u plodu druge biljke. Primjeri takvih proteina u biljnom svijetu su: PR-10 proteini (pathogenesis related proteins), LTP (lipid transfer proteini), profilini, pričuvni pro-

<sup>1</sup>Dječja bolnica Srebrnjak

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta

J.J. Strossmayer u Osijeku

<sup>3</sup>Hrvatsko Katoličko Sveučilište, Zagreb

Adresa za dopisivanje:

Iva Mrkić Kobal, dr. med., spec. pedijatrije, na subspec. pedijatrijske alergologije i kliničke imunologije

Dječja bolnica Srebrnjak

Srebrnjak 100, 10000 Zagreb

E-mail: imrkic@bolnica-srebrnjak.hr

Tablica 1.  
Glavne skupine proteina biljnih obitelji i njihove karakteristike\*

Obitelj proteina	Svojstva proteina	Članovi obitelji
PR-10 proteini (Bet v1 homologni)	Neotporni na toplinu	Pelud stabala, voće, povrće, orašasti plodovi
Profilni (Bet v2 homologni)	Visoko križno reaktivni	Pelud stabala, trava, korova, voće, povrće, orašasti plodovi
nsLTP	Otporni na toplinu i probavne enzime	Voće, povrće, orašasti plodovi, pelud korova
Skladišni proteini	Otporni na toplinu i probavne enzime, povezani s teškim sistemnim reakcijama	Mahunarke, orašasti plodovi, sjemenke

\*Prema Stipić et al. Hrvatske smjernice za in vitro dijagnostiku preosjetljivosti posredovane IgE protutijelima. Acta Medica Croatica, 2015; 69: 75-96.

teini, polkalcini. U životinjskom svijetu to su tropomiozini, parvalbumini, seroalbumini, lipokalani i livetini. Navedeni alergeni razlikuju se po svojoj stabilnosti, odnosno otpornosti na toplinu i probavne enzime (Tablica 1) (4, 5).

#### PRIMJENA KOMPONENTNE DIJAGNOSTIKE KOD ALERGIJE NA HRANU

##### Alergija na proteine kravlje mlijeka

Alergija na proteine kravlje mlijeka najčešća je alergija dojenačke dobi (6). Kravlje mlijeko sadrži različite proteine. Njih osam je za sada prepoznato kao alergenska determinanta: alfa laktalbumin (Bos d4), beta laktoglobulin A (Bos d5.0102), beta laktoglobulin B (Bos d5.0101), goveđi serumski albumin (Bos d6) i kazein (Bos d8), alfa kazein (Bos d8 alfa), beta kazein (Bos d8 beta), kapa kazein (Bos d8 kappa) i laktoferin (Bos d lactoferrin). Od navedenih kao glavni alergeni ističu se kazein i beta laktoglobulin (7, 8). Kazein, za razliku od ostalih alergenskih determinanti, karakterizira termostabilnost (9). U dosadašnjim istraživanjima primijećeno je da su vrijednosti sIgE-a na kazein više u pacijenata s perzistentnom alergijom na proteine kravlje mlijeka u odnosu na vrijednosti u pacijenata koji su razvili toleranciju na proteine kravlje mlijeka (10). Prema studiji D'Urbana i suradnika sekvencijalna upotreba sIgE na kravlje mlijeko i Bos d8 su blago poboljšali mogućnost predviđanja pozitivnih oralnih provokacija koristeći kao granične vrijednosti sIgE kravlje mlijeko 16.6kU/l, odnosno sIgE Bos d 8 0.6kU/l (8). Mogućnost predviđanja ishoda oralnih provokacija čini

komponentnu dijagnostiku izrazito korisnim alatom prije odluke o provođenju oralnog provokacijskog testa.

Osim navedenog, sIgE na kazein pokazao se kao koristan alat u previđanju tolerancije na "termički - obrađeno" mlijeko, tzv. "baked milk". Prema Caubet i suradnicima vrijednosti sIgE na kazein od 20.2kU/l imaju osjetljivost od 30%, specifičnost od 95%, a negativnu prediktivnu vrijednost od 78%. Vrijednost sIgE-a na kazein od 4.95k U/l imaju osjetljivost od 74%, specifičnost od 74%, a negativnu prediktivnu vrijednost od 89% (11). Slijedom navedenog određivanje sIgE-a na komponente kravlje mlijeka doprinosi boljem zbrinjavanju i praćenju pacijenata s alergijom na proteine kravlje mlijeka te ranijem prepoznavanju razvoja oralne tolerancije na kravlje mlijeko.

##### Alergija na jaje

Alergija na jaja javlja se u 9% djece i češće perzistira u kasnijoj dobi od alergije na proteine kravlje mlijeka (12). Kako jaje sadrži preko 20 alergena i nealergenih proteina, sIgE na bjelanjak slabije korelira s dijagnozom alergije na proteine jajeta. Dobro poznate alergenske determinante iz jaja su ovomukoid (Gal d1), ovalbumin (Gal d2), konalbumin (Gal d3), lizozim (Gal d4) i alfa livetin (Gal d5). U in vitro dijagnostici alergije na jaje Gal d1 ima najveću pozitivnu i negativnu prediktivnu vrijednost (88% i 80%). Kao i kod kravlje mlijeka, u usporedbi s dosadašnjim in vitro testovima, komponentna dijagnostika se pokazala korisnijom u predviđanju ishoda provokacijskog testa (13). S obzirom da kod alergije na jaje postoji mogućnost tolerancije termički obrađenog jaja (tzv. baked egg), kompo-

netna dijagnostika se pokazala korisnom u razlučivanju razvoja tolerancije na termički obrađeno jaje (14).

##### Alergija na kikiriki

Prevalencija alergije na kikiriki je oko 1% u djece te 0.6% u odraslih (15). Kikiriki ima devet alergenskih determinanti. Ara h1, h2 i h3 spadaju u skladišne proteine i otporni su na toplinu i probavne enzime. Smatraju se glavnim alergenima kikirikija. Ara h5, h8 i h9 su biljne alergenske determinante koje spadaju u porodicu profilina, Bet v1 homologa i LTPa. Ara h4 je izoforma Ara h3, a Ara h6 je strukturno sličan Ara h2 (16).

Od navedenih alergena, tj. alergenskih determinanti Ara h1-3 su češće povezani s kliničkom alergijom. Kao najbolji prediktor alergije na kikiriki pokazao se sIgE Ara h2 (17). Stoga se kod pozitivnog sIgE na ekstrakt kikirikija preporuča učiniti sIgE Ara h2 s ciljem izbjegavanja nepotrebnih provokacijskih testova. Prema velikoj njemačkoj prospektivnoj multicentričnoj studiji, vrijednost sIgE Ara h2 od 2 14.4kU/L ima 90% vjerojatnost pozitivnog provokacijskog testa, a vrijednost od 42kU/L 95% vjerojatnost pozitivnog provokacijskog testa (18).

Ara h8 je homologan glavnom alergenima breze Bet v1 i pridonosi križnoj reaktivnosti između peludi breze i kikirikija. Senzibilizacija na Ara h8 je zbog navedenog povezana s razvojem oralne tolerancije na kikiriki. Ara h9 je povezan s težim kliničkim simptomima u alergičnih osoba, uglavnom na području južne Europe (19). Pacijenti senzibilizirani na Ara h5 ili na križne ugljikohidratne komponente nemaju simptome pri ingestiji kikirikija (16).

### Alergija na lješnjak

Alergija na lješnjak pripada porodici alergija na orašide (eng. tree nut allergy). Senzibilizacija na alergenske determinante lješnjaka kao što su rCor a8 (koji pripada porodici u LTP-a), rCor a9 i Cor a11 (skladišni proteini) je povezana sa težim ranim, tj. IgE posredovanim alergijskim reakcijama, kakve se češće vide u djece (18).

Cor a1 je labilni protein koji pripada u homologe peluda breze, Bet v1 i u senzibiliziranih osoba češće dovodi do blagih simptoma oralnog alergijskog sindroma. Cor a14 je 2S albumin koji je nedavno identificiran kao klinički značajna alergenska determinanta. Senzibilizacija na lješnjak razlikuje se i ovisno o geografskoj lokaciji. Tako npr. pacijenti s pozitivnim oralnim provokacijskim testom iz Danske i Švicarske su najčešće senzibilizirani na rCor a1, dok su pacijenti u Španjolskoj na rCor a8. Među Nizozemcima s pozitivnim provokacijskim testom najčešća je senzibilizacija na Cor a9 i Cor a14 (19, 20). S obzirom na navedeno za lješnjak ne postoji alergenska determinanta koja je zajednička svim pacijentima alergičnim na lješnjak, a granične vrijednosti sIgE na komponente lješnjaka su također vrlo varijabilne (3).

### Alergija na soju

Alergenske determinante soje su Gly m5, Gly m6 (skladišni proteini) i Gly m4 (Bet v1 homolog). Senzibilizacija na Gly m5 i m6 su povezane s anafilaksijom (21). U Europi je češća Gly m4 alergija na soju. Za razliku od ostalih Bet v1 homologa gdje se očekuje blaža klinička reakcija, Gly m4 je povezan s teškim alergijskim reakcijama na soju u pacijenta primarno alergičnih na brezu. Reakcije se uglavnom javljaju kod ingestije velikih količina hrane koja sadrži blago termički obrađenu soju (22).

### Alergija na račiće

Alergija na račiće dominantno se javlja u odrasloj populaciji. Glavni alergen u račićima kao i drugim ljuskarima je tropomiozin, termostabilni strukturni protein, sa Pen a1 identificiranim kao

glavnom alergenskom determinantom. Tropomiozin je također djelomično homologan sa grinjama iz kuće prašine i žoharima (23). U dvije do sada objavljene studije s pacijentima alergičnim na račiće (alergija potvrđena oralnim provokacijskim testom) nađene su značajno više vrijednosti sIgE na tropomiozin (sIgE rPen1). Osobe koje su alergične samo na grinje iz kućne prašine nisu imale mjerljive vrijednosti sIgE rPen1 (24). Senzibilizacija na druge alergenske determinante, npr. arginin kinazu i miozin, nije do sada evaluirana u kliničkim studijama, iako se smatra klinički relevantnom.

### Alergija na brašno i povrće

Komponentnom dijagnostikom provedenom kod djece s provokacijskim testom potvrđenom alergijom na pšenično brašno, nađena je senzibilizacija na 5 alergenskih determinanti pšeničnog brašna. To su inhibitori alfa amilaze, alfa, beta i gama glijadini te podjedinice glutenina velike molekularne mase. Na iste komponente nije dokazana senzibilizacija među djecom kod koje alergija nije potvrđena iako imaju senzibilizaciju na pšenično brašno (sIgE pšenično brašno >0.35kU/L). Dvije pojedinačne alergenske determinante s najvećim omjerom vjerojatnosti za IgE posredovanu alergiju na pšenično brašno su dimerični alfa amilaza inhibitor 0.19 i gama glijadin. Pacijentima sa sumnjom na anafilaksiju izazvanom naporom smatra se korisnim određivanje rTri a19 (w-5-gliadin) (25). Alergija na mrkvu se javlja u Europi kao križna reaktivnost vezana uz alergiju na brezu, Bet v1 homologe-Dau c 1.0104 ili profilin Dau c4 (26). Alergija na celer je usko povezana s alergijom na pelud breze i pelina. U toj varijanti nađene su senzibilizacije na rApi g1 (Bet v1 homolog), rApi g4 (profilin) i Api g5 (glikoprotein). Do sada nije identificirana niti jedna alergenska determinanta vezana uz teške alergijske reakcije na celer (27).

### Alergija na voće

U našem području dominantno se alergijski simptomi javljaju se na voće iz porodice Rosaceae (jabuka, kruška, breskva, marelica, šljiva, trešnja).

Uglavnom se radi o križnoj reaktivnosti zbog senzibilizacije na pelud breze, točnije senzibilizaciji na Bet v1 homologe. Navedeno se u kliničkoj praksi viđa kao oralni alergijski sindrom, odnosno blaža reakcija u vidu peckanja jezika, svrbeža nepca, perioralnog crvenila, otoka usnica (28).

Kao dominantna primarna senzibilizacija javlja se alergija na breskvu uzrokovana senzibilizacijom na LTP, odnosno rPru p3. Senzibilizacija na navedeno može dovesti do reakcije s LTP-ima iz drugog voća i povrća. Nedavno je i breskvin thaumatin-like protein (TLP) identificiran kao glavni alergen breskve i preporučeno je da se uključi u rutinsku dijagnostiku alergije na breskvu, barem u mediteranskom području (29, 30).

Alergijski simptomi na jabuku u našim krajevima češće su vezani uz alergiju na pelud breze. Radi se uglavnom o simptomima oralnog alergijskog sindroma, uz verificiranu senzibilizaciju na Mal d1 iz skupine PR-10 proteina. Senzibilizacija na Mal d3 (LTP) je indikativna za primarnu senzibilizaciju na jabuku koja povećava rizik razvoja sistemskih reakcija nakon konzumiranja jabuke (28).

Kod alergičnih na bananu identificirane su tri alergenske determinante: beta 1,3 glukanaza (Mus a 5), TLP (Mus a 4) i breskvin Pru p3 (31). Alergija na kivi može nastati zbog monosenzitizacije na Act d1 ili Act d3, koji su odgovorni za teške alergijske simptome. Križna reaktivnost javlja se zbog primarne senzitivacije na pelud breze (Act d 8) i trava (Act d 9) (32).

### Alergija na meso

U slučajevima odgođene anafilaksije na crveno meso primijećena je senzibilizacija na alfa galaktozu (alfa-Gal). Radi se o ugljikohidratu vezanom na glikoproteine i glikolipide sisavaca, osim primata i čovjeka. Smatra se da senzibilizacija na alfa-Gal može biti potaknuta ugrizom krpelja i da izbjegavanjem ugriza krpelja može doći do rezolucije iste (33).

PRIMJENA KOMPONENTNE  
DIJAGNOSTIKE ZA INHALACIJSKE  
ALERGENE

Do sada je provedenim istraživanjima pokazano da je postoji značajna razlika u profilu senzibilizacije na inhalacijske alergene određenim putem komponentne dijagnostike i senzibilizacije na inhalacijske alergene određene kožnim testovima i sIgE na cjelovite alergenske ekstrakte (34). Navedeno se pokazalo osobito značajnim u postavljanju indikacije za specifičnu imunoterapiju kod polisenzibiliziranih osoba i određivanju vrste alergenskog pripravka za provođenje iste (35, 36). Retrospektivnom usporedbom senzibilizacije pacijenata na minor i major determinante alergena, kod pacijenta sa senzibilizacijom na Bet v1 i Phl p1/5 nađen je bolji učinak specifične imunoterapije (37). S obzirom na navedeno komponenta dijagnostika se pokazala kao dobar alat u odabiru pacijenata i alergenskih pripravaka za provođenje specifične imunoterapije.

PRIMJENA KOMPONENTNE  
DIJAGNOSTIKE ZA ALERGIJU NA  
UBODE OPNOKRILACA

Otrov opnokrilaca sadrži više proteina, aktivnih peptida i malih molekula koje imaju alergeni potencijal. Do danas ih je većina proizvedena u formi rekombinantnih alergenskih ekstrakata (Tablica 2). Kao što se vidi iz Tablice 2 neki alergeni su zajednički među različitim porodicama opnokrilaca, no isto tako pokazuju i međusobne različitosti (38).

Većina alergena opnokrilaca posjeduje i križno reaktivne ugljikohidratne komponente koje su primarno odgovorne za križnu reaktivnost na otrov pčele i ose (39). S obzirom na navedeno danas se u in vitro dijagnostici alergija na otrov opnokrilaca osim sIgE na otrov pčele i ose, u obradi preporuča odrediti i sIgE fosfolipaza A2 i sIgE antigen 5 (38).

METODE U KOMPONENTNOJ  
DIJAGNOSTICI

U svakodnevnu kliničku praksu ušlo je određivanje pojedinačnih sIgE na alergenske determinante fluoroimunokemijskom ili luminoimunokemijskom metodom, odnosno određivanje višestrukih alergenskih determinanti putem multiplex panela unaprijed definiranih alergena udruženih na mikročip pločici (40).

Rezultati se izražavaju u jedinicama tvrtke proizvođača testova (ISU) koje su standardizirane prema standardu Svjetske zdravstvene organizacije za sIgE protutijela. Prednosti multiplex analize su mogućnost analize u malom uzorku krvi velikog broja alergenskih determinanti. Tim načinom analize u mogućnosti smo točno odrediti IgE profil senzibilizacije pojedinca na određene alergenske determinante. Multiplex analiza za sada se preporuča kod pacijenata s multiplim senzibilizacijama na nutritivne alergene i kod idiopatske anafilaksije. Takva analiza mora biti interpretirana od iskusnog alergologa i u skladu s kliničkom slikom pacijenta (40, 41).

ZAKLJUČAK

Komponentna dijagnostika otvorila je brojne nove mogućnosti i omogućila personalizirani pristup dijagnostici alergijskih bolesti u djece i odraslih. Osim same upotrebe prirodno izoliranih ili rekombinantnih alergenskih determinanti u određivanju sIgE na iste, danas se sve više istražuje i uloga tih komponenti u dodatnim molekularnim testovima, kao što je test aktivacije bazofila. Navedeno je trenutno dostupno u kliničkim istraživanjima, s idejom buduće komercijalne primjene i daljnjeg razvijanja personaliziranog pristupa dijagnostici alergijskih bolesti.

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na [www.icmje.org/coi\\_disclosure.pdf](http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf) (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./ *All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi\_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

LITERATURA

1. Kangmo Ahn. The Usefulness of Component Resolved Diagnostics in Food Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res* 2014; 6 (2): 103-4.
2. Stipić Marković A, Ivković-Jureković I, Dodig S et al. Hrvatske smjernice za dijagnostiku preosjetljivosti posredovane IgE protutijelima. *Acta Medica Croatica* 2015; 69: 75-96.
3. Tuano KS, Davis CM. Utility of Component Resolved Diagnostics in Food Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015; 15: 32.
4. McKenna OE, Asam C, Araujo GR, Roulias A, Goulart LR, Ferreira F. How relevant is pan-allergen sensitization in the development of allergies? *Pediatric Allergy Immunol* 2016; 27 (6): 560-8.

Tablica 2.  
Glavni alergeni otrova opnokrilaca

	Api m1	fosfolipaza A2
Apis mellifera	Api m2	hijalouronidaza
	Api m3	kisela fosfataza
	Api m7	proteaza
	Ves v1	fosfolipaza A1B
Vespula vulg.	Ves v2	hijalouronidaza
	Ves v5	antigen 5
	Vesp c1	fosfolipaza A1B
Vespa crabro	Vesp c5	antigen 5
	Pol a 1	fosfolipaza A1B
Polistes annularis	Pol a 2	hijalouronidaza
	Pol a 5	antigen 5

5. Luengo O, Cardona V. Component resolved diagnosis: when it should be used? *Clinical et Translational Allergy* 2014; 4: 28.
6. Lifschitz C, Szajewska H. Cow milk allergy: evidence - based diagnosis and management for the practitioner. *European Journal of Pediatrics* 2015; 174: 141-50.
7. Hochwallner H, Schulmeister U, Swoboda I et al. Microarray and allergenic activity assessment of milk allergens. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40: 1809-18.
8. D'Urbano LE, Pellegrino K, Artesani MC et al. Performance of a component-based allergen microarray in the diagnosis of cow's milk and hen's egg allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40: 1561-70.
9. Taylor SE. Immunologic and Allergic Properties of Cow's Milk Proteins in Humans. *Journal of Food Protection* 1986; 49 (3): 239-50.
10. Sicherer SH, Sampson H. Cow's milk protein-specific IgE concentrations in two age groups of milk-allergic children and in children achieving oral tolerance. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 507-12.
11. Caubet JC, Nowak-Węgrzyn A, Moshier E, Godbold J, Wang J, Sampson H. Utility of case in specific IgE levels in predicting reactivity to baked milk. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131 (1): 222-4.
12. Osborne NJ, Koplin JJ, Martin PE et al. Prevalence of challenge proven IgE mediated food allergy using population based sampling and predetermined challenge criteria in infants. *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 127: 668-76.
13. Dang TD, Mills CE, Allen KJ. Determination of the clinical egg allergy phenotypes using component resolved diagnostics. *Pediatr Allergy Immunol* 2014; 25 (7): 639-43.
14. Benhamou Senouf AH, Borres MP, Eigenmann PA. Native and denatured egg white protein IgE tests discriminate hen's egg allergic from egg-tolerant children. *Pediatr Allergy Immunol*, 2015; 26: 12-7.
15. Sicherer SH, Wood RA. Advances in diagnosing peanut allergy. *J Allergo Clin Immunol: Pract.* 2013; 1: 1-13.
16. Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R et al. A WAO-ARIA-GA2LEN consensus document on molecular - based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J.* 2013; 6 (1): 1-17.
17. Klemans RJB, Liu X, Knulst AC et al. IgE binding to peanut components by four different techniques: Arah 2 is the most relevant in peanut allergic children and adults. *Clin Exp Allergy*. 2013; 43: 967-74.
18. Beyer K, Grabenhenrich L, Beder A et al. Predictive values of component specific IgE for the outcome of peanut and hazelnut food challenges in children. *Allergy* 2015; 70: 90-8.
19. Masthoff LJN, Mattsson L, Zuidmeer-Jongejan et al. Sensitization to Cor a 9 and Cor a 14 is highly specific for hazelnut allergy with objective symptoms in Dutch children and adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132: 393-9.
20. Hansen KS, Ballmer-Weber BK, Sastre J et al. Component resolved in vitro diagnosis of hazelnut allergy in Europe. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123: 1134-41.
21. Holzhauser T, Wackermann O, Ballmer-Weber BK et al. Soybean allergy in Europe: Gly m5 (B-conglycinin) and Gly m6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reaction to soy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123: 452-8.
22. Kosma P, Sjolander S, Landgreen E et al. Severe reactions after the intake of soy drink in birch pollen allergic children sensitized to Gly m4. *Acta Paediatr.* 2011; 6: 305-6.
23. Leung NYH, Wai CYY, Shu S et al. Current immunological and molecular biological perspectives on seafood allergy: comprehensive review. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 2014; 46: 180-97.
24. Gamez C, Sanchez-Garcia S, Ibanez MD et al. Tropomyosin IgE positive results are a good predictor of shrimp allergy. *Allergy*. 2011; 66: 1375-83.
25. Mäkelä MJ, Eriksson C, Kotaniemi-Syrjänen A et al. Wheat allergy in children - new tools for diagnostics. *Clin Exp Allergy* 2014; 44 (11): 1420-30.
26. Ballmer - Weber BK, Skamstrup Hansen K, Sastre J et al. Component resolved diagnosis of carrot allergy in three different regions of Europe. *Allergy*. 2012; 67 (6): 758-66.
27. Bauermeister K, Ballmer-Weber BK, Bublin M et al. Assessment of component-resolved diagnosis of celeriac allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124 (6): 1273-81.
28. Garica BE, Lizaso MT. Cross-reactivity syndromes in food allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011; 21: 162-70.
29. Novembre E, Mori F, Contestabile S et al. Correlations of anti-pru p3 IgE levels with severity of peach allergy reactions in children. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012; 108 (4): 271-4.
30. Palacin A, Tordesillas L, Gamboa P et al. Characterization of peach thaumatin-like proteins and their identification as major peach allergens. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40 (9): 1422-30.
31. Palacin A, Quirce S, Sanchez-Morge R et al. Sensitization profiles to purified plant food allergens among pediatric patients with allergy to banana. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011; 22 (2): 186-95.
32. Moreno Alvarez A, Vila Sexto L, Bardina L et al. Kiwifruit allergy in children: Characterization of main allergens and patterns of recognition. *Children (Basel)*. 2015; 2 (4): 424-38.
33. Steinke JW, Platts-Mills TAE, Commins SP. The alpha gal story: Lessons learned from connecting the dots. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135 (3): 589-97.
34. Letrán A, Espinazo M, Moreno F. Measurement of IgE to pollen allergen components is helpful in selecting patients for immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013; 111: 295-7.
35. Sastre J, Landivar ME, Ruiz-García M, Andregnette-Rosigno MV, Mahillo I. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy*. 2012; 67: 709-11.
36. Stringari G, Tripodi S, Caffarelli C et al. The effect of component-resolved diagnosis on specific immunotherapy prescription in children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 134: 75-81.
37. Baenninger V, Harr T, Schmid-Grendelmeier P. Component resolved diagnosis in pollinosis: sensitisation to major allergens of birch or grass pollen reflects subject feeling of successful allergen-specific immunotherapy. 31st Congress of the European Academy for Allergy and Clinical Immunology, Geneva, Switzerland, 2012; 1636.
38. Pesek RD, Lockey RF. Management of Insect Sting Hypersensitivity: An Update. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2013; 5 (3): 129-37.
39. Mitterman I, Zidarn M, Silar M et al. Recombinant allergen-based IgE testing to distinguish bee and wasp allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125 (6): 1300-7.
40. Dodig S, Čepelak I. The potential of component-resolved diagnosis in laboratory diagnostics of allergy. *Biochemia Medica* 2018; 28 (2): 020702.
41. Thilo J, Forstenlechner P, Matricardi P et al. Molecular allergy diagnostics using multiplex assays: methodological and practical considerations for use in research and clinical routine. *Allergol J Int*. 2015; 24: 320-32.

### Summary

#### COMPONENT RESOLVED DIAGNOSTICS IN THE DIAGNOSIS OF ALLERGIC DISEASES

Iva Mrkić Kobal, Mirjana Turkalj

*Component-resolved diagnosis is a new in vitro diagnostic method in allergology that determines level of specific IgE antibodies to a particular allergen component (allergen epitope). Up to now, for determination of specific IgE we used allergenic extracts. Allergenic extracts are mixtures of allergens and other proteins, polysaccharides and lipids made by extraction from natural sources. The need for better standardization of allergen extracts has led to the development of purified allergenic extracts or allergenic components. They can be obtained by isolation from natural sources (natural purified allergens) or by production of recombinant DNA technology (recombinant allergens). Detection of sIgE on allergenic components can be performed individually (one sample - one analysis, singleplex analysis), or multiple (multiplex analysis) on microarray. So far, in clinical practice, we found component-resolved diagnosis to be particularly useful in distinguishing between primary sensitization to nutritional allergen and cross reactivity among inhalational and nutritional allergens and in risk assessment and prediction of severity of allergic reaction. In addition to nutritional allergy, the use of component - resolved diagnosis is now recommended in the diagnosis of allergy to venom hypersensitivity, for multiple sensitizations on inhalational allergens prior to specific immunotherapy, as well as in diagnosis of idiopathic anaphylaxis. The aim of this paper is to present the principles of component - resolved diagnostics and the possibility of using it in allergic diseases diagnosis.*

Descriptors: COMPONENT-RESOLVED DIAGNOSIS, ALLERGEN DETERMINANT, RECOMBINANT ALLERGEN, CROSS REACTIVITY, MULTIPLEX ANALYSIS

*Primljeno/Received: 3. 2. 2019.*

*Prihvaćeno/Accepted: 8. 3. 2019.*