

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

**BARBARA GOLOB**

**MAGISTRSKA NALOGA**

MAGISTRSKI ŠTUDIJ LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BARBARA GOLOB

**ANALIZA SPEKTRA SENZIBILIZACIJE V SLOVENIJI Z  
METODO PROTEINSKEGA MIKROČIPA S 133 ALERGENI Z  
OSREDOTOČENJEM NA POGLAVITNE REKOMBINANTNE  
ALERGENE STRUPA KOŽEKRILCEV**

**ANALYSIS OF THE SPECTER OF SENSITIZATIONS IN SLOVENIA  
USING THE PROTEIN MICROCHIP METHOD WITH 133  
ALLERGENS WITH AN EMPHASIS ON THE MAIN  
RECOMBINANT HYMENOPTERA VENOM ALLERGENS**

MAGISTRSKI ŠTUDIJ LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2016

Magistrsko naložko sem opravljala pod mentorstvom prof. dr. Boruta Božiča. Raziskovalni del naloge sem izvedla v Laboratoriju za klinično imunologijo in molekularno genetiko, Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, pod mentorstvom izr. prof. dr. Petra Korošca.

### **Zahvala**

Iskreno se zahvaljujem mentorju prof. dr. Borutu Božiču za strokovno pomoč, podporo in spodbudne besede, ki so me motivirale med izdelovanjem magistrske naloge. Vedno je bil pripravljen pomagati in me usmerjati na poti do cilja.

Zahvaljujem se izr. prof. dr. Petru Korošcu in Miri Šilar, inž.kem.tehnol., ker sta mi omogočila opravljanje magistrske naloge v Laboratoriju za klinično imunologijo in molekularno genetiko.

Posebno se zahvaljujem svoji družini in prijateljem, ki so me ves čas podpirali na moji študijski poti in verjeli vame.

### **Izjava**

Izjavljam, da sem magistrsko naložko samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Boruta Božiča, mag.farm in somentorja izr. prof. dr. Petra Korošca, univ. dipl. biol.

Predsednica komisije: izr. prof. dr. Anamarija Zega

Član komisije: doc. dr. Jurij Trontelj

Barbara Golob

## KAZALO VSEBINE

<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>I</b>
<b>KAZALO SLIK.....</b>	<b>III</b>
<b>KAZALO TABEL .....</b>	<b>III</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV .....</b>	<b>IV</b>
<b>POVZETEK .....</b>	<b>V</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>VI</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 ALERGIJA .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Opredelitev alergije .....	1
1.1.2 Nastanek alergije .....	2
1.1.3 Alergijske bolezni .....	2
1.1.4 Navzkrižna reaktivnost .....	4
1.1.5 Nativni in rekombinantni alergeni .....	5
<b>1.2 SKUPINE ALERGENOV PO ISACU.....</b>	<b>6</b>
1.2.1 Hrana .....	6
1.2.2 Aeroalergeni .....	8
1.2.3 Drugo .....	10
1.2.4 Navzkrižno reaktivni .....	12
<b>1.3 ODKRIVANJE ALERGIJ .....</b>	<b>15</b>
<b>2 NAMEN DELA .....</b>	<b>17</b>
<b>3 MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 BIOLOŠKI VZORCI IN VKLJUČITVENI KRITERIJI.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 MATERIALI, REAGENTI IN OPREMA .....</b>	<b>19</b>
3.2.1 Uporabljena laboratorijska oprema .....	19
3.2.2 Reagenčni komplet ImmunoCap ISAC sIgE 112 .....	19
3.2.3 Reagenčni komplet ImmunoCAP Phadia 100 .....	19
<b>3.3 LABORATORIJSKE METODE.....</b>	<b>20</b>
3.3.1 Postopek določanja specifičnih protiteles IgE s proteinskim mikročipom ImmunoCap ISAC 20	
3.3.2 Postopek določanja specifičnih protiteles IgE z ImmunoCap Phadia 100 .....	22
<b>3.4 METODE OBDELAVE PODATKOV.....</b>	<b>23</b>

<b>4</b>	<b>REZULTATI.....</b>	<b>24</b>
4.1	POLI-/MONOSENZIBILIZACIJA IN NAVZKRIŽNO REAKTIVNE KOMPONENTE...	24
4.2	GRUPIRANJE PRISOTNOSTI IgE PO DELEŽU POZITIVNIH KOMPONENT ALERGENOV .....	26
4.3	IZRAČUN NAJPOGOSTEJŠIH ALERGENOV V SLOVENIJI POSAMIČNO .....	28
4.4	IZRAČUN NAJPOGOSTEJŠIH ALERGENOV PO ALERGOLOŠKIH SKUPINAH .....	28
4.5	KOŽEKRILCI.....	31
4.5.1	PRIMERJAVA REZULTATOV, PRIDOBLEJENIH Z DVEMA METODAMA.....	31
4.5.2	KLINIČNI VIDIK: LABORATORIJSKI IN KLINIČNI PODATKI.....	32
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA.....</b>	<b>33</b>
5.1	POLI-/MONOSENZIBILIZACIJA IN NAVZKRIŽNO REAKTIVNE KOMPONENTE...	34
5.2	GRUPIRANJE PRISOTNOSTI IgE PO DELEŽU POZITIVNIH KOMPONENT ALERGENOV .....	35
5.3	NAJPOGOSTEJŠI ALERGENI V SLOVENIJI POSAMIČNO IN PO ALERGOLOŠKIH SKUPINAH.....	35
5.4	KOŽEKRILCI.....	36
5.4.1	PRIMERJAVA REZULTATOV KOŽEKRILCEV, PRIDOBLEJENIH Z DVEMA METODAMA .....	36
5.4.2	KLINIČNI VIDIK: LABORATORIJSKI IN KLINIČNI PODATKI.....	37
5.4.3	PRIMERJAVA S PODATKI V LITERATURI ZA DRUGE REGIJE V EVROPI .....	37
<b>6</b>	<b>SKLEP.....</b>	<b>40</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>41</b>
<b>8</b>	<b>PRILOGE .....</b>	<b>45</b>
	Priloga 1: SKUPINE ALERGENOV PO ISACU.....	45
	Priloga 2: POZITIVNI PREISKOVANCI.....	50
	Priloga 3: OBDELAVA PODATKOV .....	65
	Priloga 4: PRIMERJAVA PHADIA 100 IN ISAC.....	72

## KAZALO SLIK

Slika 1: Koledar cvetenja.....	8
Slika 2: Ploščica z alergenskim mikročipom.....	19

## KAZALO TABEL

Tabela 1: Statistika alergij in anafilaktičnega šoka, NIJZ .....	4
Tabela 2: Referenčne vrednosti IgE protiteles (ISU-E) - ISAC .....	20
Tabela 3: Referenčne vrednosti ( $\text{kU}_\text{A}/\text{l}$ ) - ImmunoCAP 100.....	22
Tabela 4: Monosenzibilizirani preiskovanci .....	24
Tabela 5: Navkrižna reaktivnost - PR-10 proteini .....	25
Tabela 6: Navzkrižna reaktivnost - polkalcin .....	25
Tabela 7: Navzkrižna reaktivnost – serumski albumini.....	25
Tabela 8: Navzkrižna reaktivnost – tropomiozin .....	26
Tabela 9: Navzkrižna reaktivnost - nsLTP .....	26
Tabela 10: Navzkrižna reaktivnost - profilin.....	26
Tabela 11: Grupiranje prisotnosti IgE po deležu pozitivnih komponent alergenov .....	27
Tabela 12: Najpogostejsi alergeni v Sloveniji posamično .....	28
Tabela 13: Najpogostejsi alergeni po alergoloških skupinah .....	28
Tabela 14: Križna tabela – primerjava rezultatov ImmunoCAP in ImmunoCAP ISAC.....	31
Tabela 15: Križna tabela – primerjava rezultatov ImmunoCAP in ImmunoCAP ISAC pri komponenti alergena rApi m 1.....	32
Tabela 16: Križna tabela – primerjava rezultatov ImmunoCAP in ImmunoCAP ISAC pri komponenti alergena rVes v 5 .....	32
Tabela 17: Alergeni hrane .....	45
Tabela 18: Alergeni pelodov trav.....	46
Tabela 19: Alergeni pelodov dreves .....	46
Tabela 20: Alergeni pelodov plevelov.....	46
Tabela 21: Alergeni živali .....	46
Tabela 22: Alergeni plesni .....	47
Tabela 23: Alergeni pršic.....	47
Tabela 24: Alergeni ščurka .....	47
Tabela 25: Alergeni kožekrilcev.....	47
Tabela 26: Alergeni parazitov.....	47
Tabela 27: Alergeni lateksa .....	48
Tabela 28: Navkrižno reaktivni alergeni - serumski albumin .....	48
Tabela 29: Navzkrižno reaktivni alergeni - tropomiozin.....	48
Tabela 30: Navzkrižno reaktivni alergeni - PR-10 protein.....	48
Tabela 31: Navkrižno reaktivni alergeni - nespecifični lipidni prenašalni proteini .....	49
Tabela 32: Navzkrižno reaktivni alergeni - thaumatinu podobni proteini .....	49
Tabela 33: Navzkrižno reaktivni alergeni - profilin.....	49
Tabela 34: Navzkrižno reaktivni alergeni - CCD .....	49
Tabela 35: Navzkrižno reaktivni alergeni - polkalcin .....	49

## **SEZNAM OKRAJŠAV**

- Ig – imunoglobulin  
sIgE- topna protitelesa imunoglobulinskega razreda E  
Th2 – T-celice pomagalke  
CCD – navkrižno reaktivne oglikohidratne determinante  
PR proteini – proteini povezani s patogenezo  
nsLTP – nespecifični lipidni prenašalni proteini  
TLP – taumatinu slični proteini (thaumatin like protein)  
BAT – metoda aktivacije bazofilcev  
ISAC – imunski alergenski čip na trdnem nosilcu (Immuno solid-phase allergen chip)  
ISU-E – ISAC standardizirane enote za IgE  
WHO/IUIS – Svetovna zdravstvena organizacija/mednarodna zveza imunoloških društev  
(World Health Organization and International Union of Immunological Societies)  
CRD – diagnostika alergij na molekularni ravni (component resolved diagnosis)

## **POVZETEK**

Alergijske bolezni so med najbolj razširjenimi imunsko pogojenimi boleznimi. Prizadanejo skoraj četrtino prebivalstva. Epidemiološki podatki o prevalenci alergij se razlikujejo glede na starostne skupine, geografsko lego, klimo, prehranjevalne navade. Namen magistrske naloge je bil pridobiti spekter senzibilizacije najpogostejših alergenov v Sloveniji, z metodo proteinskega mikročipa ISAC, na skupini 295 oseb, različnih starostnih skupin, z jasno opredeljenimi kliničnimi indikacijami za alergije. Pridobili smo senzibilizacijski profil posamezne osebe, v katerega so vključeni najpomembnejši alergeni, med drugim aeroalergeni, prehrambeni alergeni, alergeni kožekrilcev, lateksa in navkrižno reaktivni alergeni. Najprej smo preverili, na katere alergene so preiskovanci najpogosteje senzibilizirani posamično in v alergoloških skupinah. Ugotovili smo, da je na vsaj en alergen senzibiliziranih 80% preiskovancev. Najpogosteja je senzibilizacija z alergeni peloda trav (prsasti pesjak nCyn d 1 (41,06%), travniški mačji rep nPhl p 4 (34,44%) in rPhl p 1 (38,41%)). Med pogosteje sodi tudi senzibilizacija z navkrižno reaktivnim alergenom breskve rPru p 1 (34,11%) in pelodom breze rBet v 1 (32,45%) iz skupine aeroalergenov. Pri prehrambenih alergenih izstopa senzibilizacija z alergenom oreha nJug r 2 (15,85%). Ob upoštevanju navzkrižne reaktivnosti nJug r 2 in nMUXF3, sta v skupini prehrambenih alergenov najpogosteja alergena arašida rAra h 2 (8,37%) in nAra h 6 (8,94%). Drugi pogosteji alergeni v skupini prehrambenih alergenov so alergen arašida rAra h 1 (7,17%), soje nGly m 6 (7,28%), jajčnega beljaka nGal d 1 (7,61%) in nGal d 2 (7,94%), oreha rJug r 1 (7,32%) ter alergen krapa rCyp c 1 (7,41%). V skupini drugih vrstno specifičnih alergenov sta najpogosteja alergen ose rVes v 5 (14,23%) in alergen čebele rApi m 1 (5,98%). Metodološko smo primerjali proteinsko mikromrežo ImmunoCAP ISAC z metodo ImmunoCap 100 na 66 vzorcih. Izbrali smo 42 vzorcev, ki so bili na mikromreži pozitivni na vsaj eno komponento alergena čebele rApi m 1 ali ose rVes v 5 ter 24 vzorcev, ki so bili na mikromreži negativni na obe komponenti. Rezultati za komponenti rApi m 1 in rVes m 1 so primerljivi z obema metodama. Glede na dobljene podatke primerjave, je diagnostična občutljivost metode ISAC pri rVes v 5 (92%) večja kot pri rApi m 1 (75%), diagnostična specifičnost pa je pri obeh komponentah visoka (rApi m 1 (95%), rVes v 5 (91%)). Mikromreža nam poda veliko količino podatkov, ki pa morajo biti interpretirani samo skupaj s klinično sliko.

Ključne besede: alergija, specifična protitelesa IgE, ImmunoCAP ISAC, ImmunoCAP 100

## ABSTRACT

Allergies are one of the most common immune-related diseases. Almost a quarter of people are affected. Epidemiologic data about allergy prevalence differ between age groups, geographic position, climate and diets. The intention of this study is to acquire the specter of sensitizations of the most common allergens in Slovenia using the method of the ISAC protein microchip in a group of 295 persons of various ages with clearly defined symptoms and signs of allergies. We acquired the sensitization profile of each person. The profile includes the most important allergens including aeroallergens, food allergens, Hymenoptera venom allergens, latex and cross-reactive allergens. Firstly, we checked to which allergens the persons are most commonly sensitized individually and in allergen groups. We found that 80% are sensitized to at least one allergen. Sensitization with grass pollen is the most common (Bermuda grass pollen nCyn d 1 (41.06%), Timothy grass pollen nPhl p 4 (34.44%) and rPhl p 1 (38.41%)). Sensitizations with the cross-reactive peach allergen rPru p 1(34.11%) and birch pollen rBet v 1 (32.45%) from the aeroallergen group were also frequent. From the food allergen group, the most common sensitization is with the walnut allergen nJug r 2 (15.85%). If we consider the cross-reactivity of nJug r 2 and nMUXF3, the most frequent allergens are the peanut allergens rAra h 2 (8.37%) and nAra h 6 (8.94%). The other common allergens in the food allergen group are the allergens of peanut rAra h 1 (7.17%), soya nGly m 6 (7.28%), egg white nGal d 1 (7.61%) and nGal d 2 (7.94%), walnut rJug r 1 (7.32%) and the carp allergen rCyp c 1 (7.41%). In the group of species specific allergens the most common are the common wasp allergen rVes v 5 (14.23%) and honey bee allergen rApi m 1 (5.98%). We methodologically compared the ImmunoCAP ISAC microarray with the ImmunoCap 100 method on a sample of 66. We picked 42 specimens that were positive to at least one component of the allergens of a bee rApi m 1 or wasp rVes v 5 on the microarray and 24 specimens that were negative to both components on the microarray. The results for the rApi m 1 and rVes m 1 components are comparable with both methods. With regard to the acquired comparative data, the diagnostic sensitivity of the ISAC method for the r Ves v 5 (92%) was higher than for rApi m 1 (75%). The diagnostic specificity was high for both components (rVes v 5 (91%), rApi m 1 (95%)). The ISAC microarray returns a large amount of data that must be interpreted with regard to clinical signs and symptoms.

Keywords: allergy, IgE specific antibodies, ImmunoCAP ISAC, ImmunoCAP 100

# 1 UVOD

## 1.1 ALERGIJA

### 1.1.1 Opredelitev alergije

Alergija je imunsko pogojena preobčutljivost. Alergijske reakcije delimo na alergijo, ki jo posredujejo protitelesa IgE in na alergijo, ki je ne posredujejo protitelesa IgE. Med slednjo uvrščamo alergije, posredovane s protitelesi IgG/IgM ali s senzibilnimi limfociti. Pri alergiji gre za prekomeren, neustrezen imunski odziv na neškodljive antigene. Pri senzibiliziranih osebah se lahko pojavi alergijska reakcija v nekaj minutah do nekaj ur ali celo nekaj dni po izpostavitvi alergenu. Poznamo štiri tipe imunsko pogojenih preobčutljivostnih reakcij. Po klasični nomenklaturi preobčutljivostnih reakcij po Philipu Gellu in Robinu Coombsu, spada alergija, povzročena z IgE, pod preobčutljivost tipa I ali takojšnjo preobčutljivost. Pod preobčutljivost tipa II uvrščamo od protiteles odvisno citotoksično preobčutljivost, pod tip III z imunskimi kompleksi posredovano preobčutljivost in pod tip IV pozno ali celično posredovano preobčutljivost (1, 2).

Snovi, ki povzročajo alergijske reakcije, imenujemo alergeni. Alergeni so večinoma proteini, ki imajo pogosto ogljikohidratno stransko verigo. Proteinski alergeni povzročijo takojšnjo preobčutljivost lahko neposredno, medtem ko morajo biti preproste spojine (kemikalije, npr. izocianati) vezane na plazemske proteine ali na proteine na površini celic, da postanejo alergogene. Alergen lahko vstopi v telo z vdihavanjem, s hrano, pijačo, zdravili, pikom žuželk, skozi kožo. Komponente alergenov, proti katerim je senzibiliziranih več kot 50 % alergičnih pacientov, se imenujejo poglavitni alergeni – »major allergens«. Alergeni, s katerimi pa je senzibiliziranih malo ljudi, imenujemo podrejeni – »minor allergens«. Razlika med imunskim odzivom pri z IgE posredovani alergiji (preobčutljivostna reakcija tipa I) in normalnim imunskem odzivu je ta, da plazmatke proizvajajo IgE protitelesa namesto IgG in IgM (3-5).

### **1.1.2 Nastanek alergije**

Po prvem stiku z alergenom se tvorijo protitelesa IgE, ki se vežejo na mastocite in bazofilce, kar imenujemo faza senzibilizacije. Proizvajanje protiteles IgE je odvisno od aktivacije T-celic pomagalk (Th2), ki sproščajo interlevkin 4. Te citokini stimulirajo limfocite B, da preklopijo Ig razred in začnejo proizvajati protitelesa IgE. Pri ponovni izpostavitvi alergenu se IgE, vezani na mastocite in bazofilce, križno povežejo z multivalentnim alergenom, pri tem pa se križno povežejo tudi receptorji Fc $\epsilon$ RI. pride do degranulacije mastocitov in bazofilcev. Sproščajo se tri pomembne skupine mediatorjev: biogeni amini (histamin), lipidni mediatorji (prostaglandini, levktrotrieni, faktor aktivacije trombocitov) in citokini (tumor nekrotizirajoči faktor, interlevkini 4, 13, 5). Sproščeni mediatorji povzročijo razširitev žil (vazodilatacijo) in povečajo njihovo prepustnost, povzročijo kontrakcijo gladkega mišičja (bronhokonstrikcija), hipermotiliteto črevesja, srbež in kihanje. Klinično se alergija lahko kaže z lokalno alergijsko reakcijo ali s sistemsko anafilaksijo (3, 4).

### **1.1.3 Alergijske bolezni**

Alergijske bolezni so med najbolj razširjenimi imunsko pogojenimi boleznimi. Prizadane skoraj četrtino prebivalcev. Atopiki so posamezniki, ki imajo osebno ali družinsko nagnjenost k tvorbi specifičnih protiteles IgE proti pogostim alergenom. V krvi imajo več IgE protiteles in na mastocitih več Fc $\epsilon$ RI receptorjev kot zdravi posamezniki. Pogosto zbolevajo za astmo, rinokonjuktivitisom in atopijskim dermatitisom (2-4).

Bronhialna astma je kronična vnetna bolezen dihalnih poti. Značilni znaki in simptomi so dispnea, kašelj, piskanje ali stiskanje v prsih. Te bolezenski znaki nastanejo zaradi krčev sapnic, zamašitve dihalnih poti z gostjo sluzjo in kroničnega vnetja sapnic. Vdihani ali redkeje zaužiti alergeni poslabšajo astmatsko vnetje pri alergijski astmi. Virusi še dodatno poslabšajo vnetje, posebno rinovirusi. V 70 % primerov je astma posredovano preko mehanizma z IgE protitelesi (2-4).

Alergijski rinitis ali seneni nahod največkrat povzročajo vdihani alergeni. Če traja manj kot en mesec, ga opredeljujemo kot občasni alergijski rinitis. V primerih, ko se pojavi le med izpostavljenostjo sezonskemu alergenu, se imenuje sezonski rinitis. Ta je največkrat posledica preobčutljivosti na pelod, simptomi pa nastopijo zaradi delovanja histamina, ki

se sprosti iz bazofilcev in mastocitov. Težave, ki se pojavijo, so voden izcedek iz nosu, srbenje nosu in žrela, kihanje, lahko pa je prisotno tudi močno srbenje očesnih veznic. Kadar rinitis traja dlje, ga imenujemo trajni alergijski rinitis, pri katerem gre največkrat za preobčutljivost na pršico, živalske alergene in plesni. Simptomi so posledica celične infiltracije z aktiviranimi celicami (eozinofilci). Bolniki se srečujejo z dražečim kašljem, hrkanjem, težkim dihanjem skozi nos, slabim vohanjem, glavoboli, slabim spanjem in posledično z utrujenostjo, motnjami koncentracije. Poleg usmerjene alergološke anamneze so za postavitev diagnoze dovolj že kožni vbodni testi alergije (2, 4).

Oralni alergijski sindrom ima skoraj polovica odraslih s preobčutljivostjo na pelod breze. Uživanje svežega sadja in zelenjave povzroči srbež in otekanje orofarinks. Težave se pojavijo že s kontaktom hrane v ustih (2).

Atopijski dermatitis je preobčutljivostno kronično ali kronično ponavlajoče vnetje kože. Glavni simptom je srbenje. Posledica praskanja so kožne spremembe, najpogosteje v komolčnih in kolenskih kotanjah. Na alergijski atopijski dermatitis vplivajo vdihani alergeni (pršica, mačji epitel, trave pri odraslih) in zaužiti alergeni (jajca in mleko pri otrocih) (2, 4).

Pri urtikariji so značilne ploščate, nad nivo kože dvignjene vzbrsti, ki jih imenujemo koprivke. Večinoma so močno srbeče, hitro se pojavijo in v nekaj urah izginejo. Pogosto jo sprembla angioedem, pri katerem pride do otekanja globijih predelov kože. Kontaktna alergijska urtikarija nastane pri stiku kože ali sluznic z alergenom, najpogosteje s svežim sadjem in zelenjavo, lateksom, zdravili in živalskimi alergeni (2).

Anafilaksija je sistemska preobčutljivostna reakcija, ki je akutna in potencialno smrtno nevarna. Po stiku z alergenom se iz aktiviranih bazofilcev in mastocitov sproščajo velike količine mediatorjev, med katerimi je najpomembnejši histamin. Organi, ki vsebujejo največ mastocitov, so najbolj prizadeti: srce, žilje, dihala, prebavila in koža. Najpogosteje anafilaksijo povzroči strup kožekrilcev (čebel, os, sršenov), hrana (arašidi, lešniki, morski sadeži, ajda, ribe, jajca, mleko, sveže sadje in zelenjava), zdravila (cefalosporini, penicilin, kinoloni, mišični relaksanti, cepiva) in lateks. Anafilaksija se lahko pojavi tudi pri načrtni izpostavitvi alergenu pri specifični imunoterapiji in pri izvajanju provokacijskih

alergoloških testih. Simptomi so odvisni od načina vstopa v telo in količine alergena. Pojavijo se v nekaj minutah po izpostavitvi in trajajo lahko nekaj ur. Poglavitni simptomi so hiter in šibek pulz, nizek krvni tlak, rdeča, topla koža z urtikami, hudo dušenje. Razdelimo jih v štiri stopnje po intenzivnosti anafilaksije. Pri zadnji stopnji lahko bolnik preide v anafilaktični šok, ki je pogosto usoden (1, 2).

Nacionalni inštitut za javno zdravje vodi statistiko števila primerov anafilaktičnega šoka in pojava alergije. V obdobju 2009-2012 je v povprečju 13 oseb na leto doživelno anafilaktični šok zaradi reakcije na neustrezno hrano. Prehranski alergeni, ki običajno sprožijo anafilaksijo so: arašidi, oreščki, jajce, kravje mleko, ribe, raki in školjke, sezam in soja. Zaradi drugih, neopredeljenih razlogov, je imelo anafilaktični šok v povprečju preko sto oseb letno (Tabela 1) (6, 7).

**Tabela 1: Statistika alergij in anafilaktičnega šoka, NIJZ**

NIJZ STATISTIKA	2009	2010	2011	2012
<b>T748 Alergija, neopredeljena</b>	127	96	132	119
<b>T780 Anafilaktični šok zaradi reakcije na neustrezno hrano</b>	11	10	15	16
<b>T782 Anafilaktični šok, neopredeljen</b>	102	72	160	79

(7)

#### 1.1.4 Navzkrižna reaktivnost

Specifična protitelesa, ki so nastala proti določenemu alergenu, lahko navzkrižno reagirajo z drugim alergenom, ki vsebuje zelo podobne epitope in povzročijo alergijske simptome. Proteine, ki imajo podobno strukturo in funkcijo in so navzkrižno reaktivni, imenujemo tudi panalergeni. Pogosti navzkrižni alergeni živalskega izvora so serumski albumini in tropomiozin, rastlinskega pa profilini, encimi in encimski inhibitorji. Največkrat protitelesa navzkrižno reagirajo z ogljikohidratnim epitopom glikoproteinov rastlinskega izvora in nevretenčarjev (CCD – cross-reacting carbohydrate determinants). Poznamo dva tipa CCD. Prvi tip,  $\alpha$ -galaktoza, lahko izzove resnejše reakcije. Tip MUX, ki vsebuje glukozo, manozo in ksilozo pa je pogosto klinično nepomemben. Ker so ti alergeni monovalentni, niso sposobni povezati IgE protiteles in sprožiti alergijske reakcije. V teh primerih so in vitro testi pozitivni, kožni testi pa negativni. Pojav navzkrižne reaktivnosti lahko povzroča lažno pozitivne rezultate in s tem otežuje interpretacijo testov alergije (2, 5, 8).

Primeri pogoste navzkrižne reaktivnosti so: pelod breze s svežim pečkatim sadjem in zelenjavo, plesni z gobami, pršice z morskimi sadeži (kozice), jajčni beljak z mesom perutnine, lateks s sadjem, dlaka mačke in psa (2, 8).

### **1.1.5 Nativni in rekombinantni alergeni**

Da klinik lahko izbere optimalno terapijo, je zelo pomembna informacija, na katere alergene je oseba alergična. Ker je vezava alergenov na celice in protitelesa konformacijsko pogojena, ni vseeno, kakšnega tipa so alergeni, uporabljeni za klinično in laboratorijsko testiranje alergije (9).

Poznamo nativne in rekombinantne alergene. Nativne alergene v laboratorijih pridobivajo iz ekstraktov alergenov. Ekstrakti prečiščenih nativnih alergenov so problematični pri standardizaciji. Lažno negativne rezultate lahko dobimo zaradi njihove nestabilnosti ali če so premalo zastopani. Lažno pozitivne rezultate pa dobimo, če so kontaminirani z drugimi alergeni. Z nativnimi alergeni ne moremo točno določiti komponent alergenov, ki sprožajo alergijo. Prav tako ne moremo ločiti oseb, ki so alergične le na nekaj alergenov in oseb, ki so polisenzibilizirane z veliko različnimi alergeni. Rekombinantni alergeni so komponente, ki jih lahko proizvedemo v različnih bioloških sistemih z uporabo rekombinantne tehnologije. Pridobivanje iz prokariontkega sistema (večinoma bakterije E.Coli) je relativno preprosto in poceni. Alergeni imajo drugačno terciarno strukturo od nativnih alergenov, ker pri njih ne pride do potranslacijskih sprememb in nimajo ogljikohidratnih epitopov. Zaradi tega se izognemo navzkrižne reaktivnosti. Izguba glikolizacije pa lahko vpliva na zvijanje proteinov in posledično na njihovo terciarno strukturo, ki je osnova za epitopsko funkcionalnost. Nekatere osebe so lahko senzibilizirane za epitope, ki jih ni v rekombinantnih pripravkih. Bolj kompleksno in dražje je pridobivanje rekombinantnih alergenov iz evkariontkega sistema. Uporablja se z bakulovirusom okužene celične linije žuželk in kvasovke. Ta produkt je glikoliziran in ima enake značilnosti epitopa kot nativni alergeni. Njihovo specifičnost zmanjšuje vezava na nepomembne ogljikohidratne epitope kot pri nativnih alergenih. Produkti brez N-glikozirajočega vezavnega mesta pa imajo primerljive epitopske značilnosti kot nativni alergeni in so brez navkrižno reaktivnih ogljikohidratnih epitopov (9-12).

Diagnostična občutljivost rezultatov metod, pri katerih so uporabljeni rekombinantni alergeni, je slabša kot pri tistih, pri katerih so uporabljeni nativni alergeni. Diagnostična

specifičnost pa je boljša. Metode, ki uporabljajo rekombinantne alergene, so boljša potrditvena metoda kot pa presejalna. Ne napovedujejo klinične pomembnosti neke senzibilizacije in ne ločijo zanesljivo senzibilizacije od navzkrižne reaktivnosti (9, 11).

Z njimi lahko pri posamezniku ocenimo verjetnost sistemskih reakcij, težji potek alergijskih reakcij, verjetnost, da bo alergija izzvenela. Olajšajo izbiro pacientov za specifično imunoterapijo in pomagajo pri spremeljanju imunoloških učinkov zdravljenja (10, 13).

## 1.2 SKUPINE ALERGENOV PO ISACU

ISAC je mikročip s preko sto alergeni, za katere lahko preverjamo senzibilizacijo štirih pacientov hkrati. Uradne razdelitve alergenov po skupinah ni. WHO/IUIS sicer ločuje proteinske alergene na prehranske in neprehranske, identificira pa jih z nedvoumno sistematično nomenklaturo glede na izvor, pri čemer uporablja Linnejevo poimenovanje rastlin in živali (14).

Primer imena komponente alergena nDer f 1

Prva črka označuje, ali gre za nativno ali rekombinantno komponento alergena (r/n).

Naslednje tri črke predstavljajo prve tri črke besede alergena iz Linnejevega poimenovanja rastlin in živali, zadnja črka pa je prva črka drugega imena alergena (**Dermatophagoides farinae**). Številka razlikuje komponente alergenov med seboj, glede na to, katera je bila prej odkrita (15).

Za lažjo orientacijo pri testiranju množice alergenov naenkrat se najpogosteje uporablja grupiranje po kontaktu – prehranski, zračni in drugi (ki vključujejo tudi stik s pikom) ter navkrižno reaktivni alergeni (14).

### 1.2.1 Hrana

Ocenjuje se, da ima alergijo na hrano 2-10 % ljudi v razvitem svetu. Prevalenca se razlikuje glede na starost populacije, prehranjevalne navade in geografsko območje. Najpogosteje se alergija na hrano pojavi v zgodnjem otroštvu, najvišja incidenca je v prvem letu življenja. Do tretjega leta starosti ima alergijo na hrano približno 6-7% otrok.

Do petega leta starosti v 80 % primerih alergija na hrano izveni. Do 4. meseca starosti prevladuje imunski odziv Th2, zaradi katerega so otroci v prvih mesecih življenja bolj nagnjeni k razvoju alergije, prag za senzibilizacijo pa je nizek (2, 13, 16).

Pogostejši alergeni, ki povzročajo alergijo na hrano pri otrocih, so mleko, moka, jajca, arašidi in soja, pri odraslih pa sadje, zelenjava, ajda, stročnice, arašidi, oreščki, ribe in morski sadeži. Razlika pri otrocih in odraslih je, da so otroci res senzibilizirani z alergeni, ki jim povzročajo alergijske reakcije, pri odraslih pa je alergija večinoma posledica primarne senzibilizacije na pelode in navzkrižne reaktivnosti s hrano rastlinskega izvora (2, 13). Glavna strukturna lastnost alergenov je stabilnost beljakovinske molekule za temperaturo in učinke želodčnih kislin in proteaz. Nestabilni proteini se razgradijo in ne povzročajo alergijskih reakcij (2, 13).

Skoraj 90 % vseh alergij na hrano povzročijo mleko, jajca, arašidi, drevesni oreščki, morske ribe, raki in školjke (13). Vsi ti glavni alergeni so vključeni v mikromrežo ISAC (Priloga 1, Tabela 17). Alergena krapa rCyp c 1 ni v novi različici ISAC 112. Zaradi strukturne homolognosti, ga predstavlja parvalbumin trske rGad c 1. nTri a 18 in nTri a gliadin sta zaradi nizke prevalence in zaradi težav pri njunem pridobivanju, izključeni iz ISAC 112 (17).

Shranjevalni proteini so strukturno heterogena skupina alergenov, ki se nahajajo v koščicah in oreščkih. Kljub različni strukturi so različni oreščki, semena in stročnice lahko navzkrižno reaktivni. Ne obstaja pa navzkrižna reaktivnost s pelodi. Shranjevalni proteini so zelo stabilni. Odporni so na toploto in prebavne encime, zato ponavadi povzročijo težje alergijske sistemske reakcije (18).

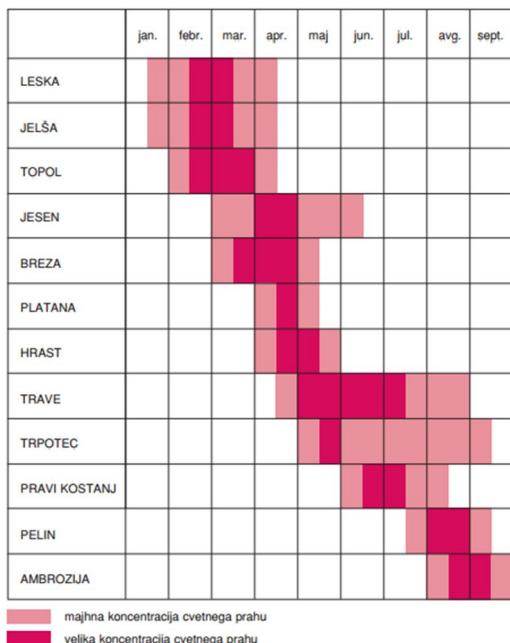
Poglavitna alergena pri arašidih sta Ara h 2 in Ara h 6, ki sta homologna. Njuna prisotnost napoveduje klinično izražanje alergije. Pri polisenzibilizaciji na Ara h 2, Ara h 1 in Ara h 3 in tudi Ara h 9 so verjetnejše resnejše alergijske reakcije (19, 20). Nativne komponente Ara h 1, 2, 3 so v ISAC 112 nadomestile rekombinantne komponente.

## 1.2.2 Aeroalergeni

### 1.2.2.1 PELODI TRAV, DREVES IN PLEVELOV

Ocenjujejo, da alergija na pelode prizadane 40% oseb med populacijo ljudi z alergijam (21). Pelodi so moške zarodne celice rastlin. Alergija na pelode je odvisna od časa cvetenja, zato so alergije večinoma sezonske. Čas cvetenja se razlikuje glede na geografsko lego, zato so izdelali regionalne pelodne karte cvetenja (Slika 1). Poleg koledarja cvetenja pa je potrebno meriti tudi koncentracijo cvetnega prahu v zraku, ker vremenske razmere lahko povzročijo odmike od običajnih datumov, ko se cvetenje začne. Pelod dreves se začne pojavljati v zraku že januarja, ko zacvetita leska in jelša. Aprila cveti breza, ki je med drevesnim pelodom najbolj alergogena. Ostale alergene drevesne vrste zacvetijo do konca maja. Pelodi trav so najpogostejsi aeroloalergeni, saj so odgovorni za polovico vseh alergij na pelod. So najpogostejsi povzročitelji alergije od maja do konca julija. Med pleveli so najbolj alergogeni trpotec, navadni pelin in ambrozija. Glavna sezona pojavljanja peloda ambrozije in pelina je avgusta (2, 21-23).

Najpogostejsje komponente alergenov pelodov so vključene v mikromrežo ISAC (Priloga 1, Tabela 18, 19, 20). Nativno komponento nOle e 1 so v novi verziji ISAC 112 zamenjali z rekombinantno komponento rOle e 1.



Vir: A. Schmetz. Alergije pri otrocih. IN OBS; Založba za medicinski program, 1999, str. 36.

Slika 1: Koledar cvetenja  
(22)

#### 1.2.2.2 ŽIVALI

Alergeni pri živalih so v dlaki, slini in njihovih izločkih. Živalski alergeni so prisotni še dolgo po odstranitvi živali, ker se prilepijo na oblačila in se tako prenašajo tudi v prostore, kjer živali ni. Ker so lahki, lahko ure lebdijo v zraku. Najpogosteje so vir alergenov mačke, psi, konji, morski prašički, zajci in drugi sesalci. V Evropi so po različnih regijah s kožnimi testi določili delež senzibiliziranih ljudi na alergene mačke 16,1-56 % in na alergene psov 16,8-49,3%. Najvišja stopnja senzibilizacije je prisotna v skandinavskih državah. Večina živalskih alergenov spada med serumske albumine in lipokaline. Kljub temu, da imajo lipokalini podobno terciarno strukturo, je ujemanje aminokislinskega zaporedja med različnimi živalskimi vrstami pogosto le 20 %. Serumski albumini pa imajo med različnimi sesalci povprečno 80% ujemanje (2, 24).

Najpogostejše komponente alergenov so vključene v mikromrežo ISAC (Priloga 1, Tabela 21).

#### 1.2.2.3 PLESNI

Plesni so prisotne povsod v naravi in človekovem okolju. Alergene so spore, s katerimi se razmnožujejo. Plesni uspevajo v vlažnem in toplem okolju, lahko pa tudi v hladnem (v hladilniku na živilih). Alergeni plesni se nahajajo v shrambah, poljedelstvu in vrtnarstvu. Uporabljajo se v živilski in farmacevtski industriji. Število spor v zraku je odvisno od vremena. Največ jih je v zraku v vročem in vlažnem vremenu (2, 22).

V mikromrežo so vključene najpogostejše alergogene plesni (Priloga 1, Tabela 22). V novi verziji ISAC 112 ni več alergena plesni rAsp f 2 in Asp f 4 zaradi nizke prevalence in težav pri aplikaciji na mikromrežo (17).

#### 1.2.2.4 PRŠICA

Pršice so mikroskopske živali, ki spadajo v rod pajkovcev. Leta 1964 so znanstveniki ugotovili, da hišna pršica v hišnem prahu povzroča alergijske reakcije. Diagnoza alergije na hišno pršico je lahko problematična, saj so simptomi pogosto nespecifični in lahko sta odsotna kihanje in srbenje. Povzročajo lahko astmo in rinitis. Živijo v postelji, blazinah, žitnih shrambah, preprogah in oblazinjenem pohištву. Njihovo razmnoževanje je odvisno

od mikroklima v hiši. Idealni pogoji so 75 % vlažnost in 15° C. Med spanjem se temperatura v postelji povisha na 25-30° C, z znojenjem telesa pa se vzpostavijo optimalni pogoji za njihov razvoj. Hranijo se s prudkti kože, delci živil in plesni. Alergeni pršice so prebavni proteini v njihovih iztrebkih. Vežejo se na prah in se tako širijo po bivalnem prostoru. Alergeni so v obliki relativno težkih delcev, zato se hitro posedejo na tla. V zraku so med dviganjem prahu.

Glavna predstavnika pršic v Evropi sta hišni kožojed in moknati kožojed, ki sta poleg hišne pršice *B.tropicalis* in skladiščne pršice *L.destructor*, vključene v mikromrežo (Priloga 1, Tabela 23) (2, 24). Nativna komponenta Der p 2 je bila v novi verziji ISAC 112 zamenjana z rekombinantno. Komponento alergena hišne pršice rEur m 2 so izključili v novi verziji, ker njihovo skupino NPC2 predstavljata homologna rDer p 2 in rDer f 2 (17).

#### 1.2.2.5 ŠČUREK

Ščurki so izvor alergenov v slabših higieniskih razmerah. Uspevajo v vlažnem in toplem okolju. Najdemo jih v domovih, skladiščih, restavracijah, hotelih in v tovarnah živilske industrije. Največjo količino alergenov ščurka najdemo v kuhinjah. Alergeni ščurka običajno pridejo v telo z vzdihanim zrakom ali s kontaminiranimi živili. Alergija na ščurke lahko povzroča astmo ali pa poslabša stanje astmatikov (2, 25). Ameriška študija je pokazala, da mestni otroci in mladostniki, ki so senzibiliriani s protitelesi proti ščurkom in izpostavljeni veliki količini ščurkov, pogosteje zbolevajo za astmo, so večkrat hospitalizirani in večkrat poročajo o simptomih (26). Alergeni ščurka lahko povzročijo alergijski rinitis, alergijski konjunktivitis, atopijski dermatitis v senzibiliziranih posameznikih. Običajno so pacienti senzibilizirani z večimi notranjimi in/ali zunanjimi alergeni, redko so senzibilizirani le za alergene ščurka (2, 25, 26).

Najpomembnejše alergeni ščurka so vključeni v mikromrežo ISAC (Priloga 1, Tabela 24). Iz nove različice ISAC 112 je izključena komponenta rBla g 4 zaradi nizke prevalence in redkega pojavljanja monosenzibizacije s to komponento (17).

### 1.2.3 Drugo

#### 1.2.3.1 KOŽEKRILCI

Kožekrilci povzročajo najnevarnejše alergijske reakcije med insekti. Kožekrilci, ki v našem okolju povzročajo alergijo po piku, so večinoma čebele, čmrlji, ose in sršeni. Strupa

čebel in čmrlja sta si podobna, prav tako strupa ose in sršena. Piki čebel so možni skozi vse leto, piki os in sršenov pa so pogostejši poleti in jeseni. Alergijske reakcije po piku kožekrilcev so lahko lokalne ali sistemske. Pri lokalni reakciji je koža na mestu pika srbeča, pordela in otekla. Sistemske reakcije so lažje ali težje potekajoče. Pri lahki sistemski reakciji je značilna prizadetost kože in podkožja, prisotno je srbenje, rdečina in urtikarije tudi na od pika oddaljenem mestu. Težje sistemske reakcije prizadanejo obtočila in dihala in lahko vodijo do anafilaktične reakcije. Alergija nastrup kožekrilcev je najpogostejši vzrok za anafilaktično reakcijo. Zaradi alergijske reakcije po piku žuželk v Sloveniji vsako leto umre ena oseba. Tveganje za nastanek alergijske reakcije je odvisno od klime, geografske lege, temperature, obnašanja insektov in izpostavljenosti oseb. Bolj izpostavljeni so čebelarji, vrtnarji, kmetje (2, 27, 28).

Na mikromreži ISAC so nanešene poglavitne komponente alergenov zastrup kožekrilcev (Priloga 1, Tabela 25). Nativna komponenta alergena čebele *Api m 1* je bila v novi različici ISAC 112 zamenjana z rekombinantno.

#### 1.2.3.2 PARAZITI

Gliste rodu *Anisakis* spadajo med valjaste črve. Njihovi primarni gostitelji so morski sesalci (delfini, kiti). V stopnji razvoja ličink okužijo ribe in drugo morsko hrano. Z zaužitjem surove ali slabo kuhanje morske hrane se okužijo ljudje, ki na tak način postanejo naključni gostitelji. Infekcija z *Anisakis* je pogosto povezana z akutnimi gastrointestinalimi simptomi kot so abdominalne bolečine, diareja, slabost in bruhanje. Alergeni *Anisakis* pa lahko povzročijo urtikarijo, angioedem, bronhospazem in anafilaksijo. Alergeni so termostabilni in odporni na prebavne encime (29).

Poglavitni alergen je *Ani s 1*, ki je tudi vključen na mikromreži ISAC (Priloga 1, Tabela 26).

#### 1.2.3.3 LATEKS

Lateks pridobivajo iz brazilskega kavčukovca, ki spada v družino mlečkovk. Z zarezovanjem debel priteče naravni mlečni sok - lateks. Izdelki iz lateksa se uporabljajo v veliko različnih panogah. Za alergične reakcije so odgovorni proteini v lateksu in kemikalije, ki se uporabljajo pri njegovi obdelavi (tiazoli, karbamati). Četrtnina proteinov,

ki jih vsebuje lateks, so alergeni. Zaradi molekulske podobnosti so alergeni lateksa navzkrižno reaktivni z nekaterimi alergeni rastlin in sadja. Najpogosteje so to avokado, banana, melone, kostanj in kivi. Hkratno prisotnost alergije na lateks in sadje imenujemo lateksno-sadni sindrom (»latex-fruit syndrome«). V splošni populaciji je prevalenca senzibilizacije 1-6,7%. Najpogosteje imajo alergijo na lateks zdravstveni delavci, osebe z atopijo, otroci s spino bifido in delavci v gumarski industriji. Alergijske reakcije se najpogosteje kažejo s kontaktno urtikarijo, lahko tudi z alergijskim rinitisom, astmo in anafilaksijo. Alergija na lateks je drugi najpogostejši vzrok anafilaksije v zdravstvu (med operacijami), na prvem mestu so mišični relaksanti. Pri otrocih s spino bifido, ki so alergični na lateks so pomembni predvsem alergeni Hev b 1 in Hev b 3, pri zdravstvenih delavcih pa Hev b 5 in Hev b 6 (2, 25, 30, 31).

Glavne komponente alergena lateksa so vključene v mikromrežo (Priloga 1, Tabela 27).

#### **1.2.4 Navzkrižno reaktivni**

##### **1.2.4.1 SERUMSKI ALBUMIN**

Albumini so globularni proteini, ki imajo več različnih funkcij. Serumske albumine najdemo v krvi vseh sesalcev. So termolabilni, zato toplotno obdelana hrana običajno ne povzroča težav. Alergene albuminov najdemo v mesu sesalcev, perjadi, mleku, jajcih in tudi v živalski dlaki. V ribah so glavni alergeni parvalbumini mišic. Albumini v sesalcih so si podobni, zato prihaja do navzkrižne reaktivnosti. Protitelesa proti albuminom v mesu sesalcev in perjadi med seboj navzkrižno ne reagirajo. Pri pacientih, alergičnih na goveji serumski albumin, pride so do anafilaktičnih reakcij zelo redko (18, 32).

Najpogostejši viri alergena serumskega albumina so vključeni v mikromrežo (Priloga 1, Tabela 28).

##### **1.2.4.2 TROPOMIOZIN**

Tropomiozin je protein, sestavljen iz dveh polipeptidnih verig, ki sestavlja dvovijačnico. Je sestavni del aktinskih filamentov in ima vlogo pri mišični kontrakciji. Tropomiozini so glavni alergeni lupinarjev in mehkužcev. Aminokislinsko zaporedje tropomiozina je v veliki meri ohranjeno tako med lupinarji kot tudi med pršicami in šcurki, zato so v skupini nevretenčarjev široko navzkrižno reaktivni. Ker so termostabilni proteini

in odporni na prebavne encime, povzročajo sistemske alergijske reakcije. Pacienti, ki so primarno senzibilirani za pršico, imajo lahko zaradi navzkrižne reakcije klinično pomembno alergijo na morske sadeže (18, 33).

Najpogostejši predstavniki alergena tropomiozina so vključeni v mikromrežo (Priloga 1, Tabela 29). V novi različici ISAC 112 alergen kozic predstavlja samo nPen m 1.

#### 1.2.4.3 PR-10 PROTEIN

Proteini povezani s patogenezo (PR) so obrambni proteini, ki jih proizvajajo rastline za obrambo pred infekcijami (virusi, bakterijami, glivami) in kot odgovor na stres iz okolja. So nestabilni in termolabilni. Prehranski alergeni iz skupine PR-10 se v ustih zaradi encimskega delovanja hitro razgradijo, zato povzročajo samo lokalne simptome (oralni alergijski sindrom). Kuhana hrana pa navadno ne povzroča težav (18).

Najpomembnejši predstavnik je Bet v 1. Na področjih, kjer je visoka izpostavljenost pelodu breze, je pogosta primarna senzibilizacija z Bet v 1 in navzkrižna reaktivnost z Bet v 1 strukturno homolognimi proteini, ki so prisotni predvsem v koščičastem sadju, oreščikih in zelenjavni. Koncentracija PR-10 proteinov je različna med istimi sortami sadja, povečuje pa se tudi s časom skladiščenja (13, 18).

V mikromrežo so vključeni najpogostejši predstavniki alergenih proteinov PR-10 (Priloga 1, Tabela 30). Alergen korenja rDau c 1 je bil vključen v starejšo različico ISAC 103. Senzibilizacija samo s tem alergenom je redka in zaradi homolognosti z drugimi PR-10 proteini, so ga izključili v novi verziji ISAC 112. Prav tako so nativno komponento kivija Act d 8 zamenjali z rekombinantno komponento (17).

#### 1.2.4.4 NESPECIFIČNI LIPIDNI PRENAŠALNI PROTEINI (nsLTP)

Ime so dobili po svoji vlogi – nespecifični transportni proteini, ki prenašajo lipidne molekule. Predstavljajo skupino PR-14. So stabilni proteini. Odporni so na proteaze, toploto in kislo okolje želodčnega soka. Predelana in kuhana hrana prav tako kot surova hrana, sproži sistemske reakcije z urtikarijo in angioedemom. Alergijske reakcije lahko vodijo do anafilaksije. nsLTP so prisotni v veliko različnih rastlinah (pelodi dreves,

plevelov, sadju, oreščkih). Najpogosteji alergeni se nahajajo v breskvah, jabolkih, češnjah in lešniku. Pogosteje jih najdemo tudi v pelodu oljke in v nekaterih plevelih. Nahajajo se predvsem v lupini in neposredno pod površino sadja, zato nekateri pacienti nimajo težav z olupljenim sadjem (5, 18).

Ara h 9 je navzkrižno reaktivna alergena breskve, predvsem na območju mediterana (19). Najpogosteji predstavniki nsLTP so vključeni v mikromrežo (Priloga 1, Tabela 31).

#### 1.2.4.5 TAUMATINU PODOBNI PROTEINI (TLP)

Spadajo v skupino PR-5. Zaradi homolognosti sekvenc med PR-5 in taumatinom so to skupino proteinov poimenovali »thaumatin-like protein«. TLP nastanejo kot odziv na infekcije in osmotski stres ter imajo protiglivično funkcijo v semenih žit. Najdemo jih v pelodih, sadju, glivah, pršicah in insektih. Večina jih je odporna na proteaze, pH in toplotno denaturacijo (25, 34).

Najpomembnejši predstavnik TLP je nAct d 2 in je vključen v mikromrežo (Priloga 1, Tabela 32).

#### 1.2.4.6 PROFILINI

Profilini so proteini z majhno molekulsko maso. Imajo pomembno vlogo pri zgradbi mikrofilamentov celice. Zaradi svoje biološke funkcije so profilini prisotni v različnih organizmih, tudi tistih, ki si filogenetsko niso sorodni. Najdemo jih v vseh evkariontskih celicah. Alergeni profilina se nahajajo v pelodih dreves, trav, plevelov, rastlinski hrani in v lateksu. Pacienti naj bi bili primarno senzibilizirani s protitelesi na pelodne profiline, kasneje pa se razvijejo navzkrižna reaktivna protitelesa na profiline v rastlinski hrani, lahko tudi na profiline v lateksu. Odgovorni so za veliko navzkrižnih reakcij med inhalantnimi in prehrambenimi alergeni. Če so pacienti senzibilizirani z večimi rastlinskimi alergeni (polisenzibilizacija), so navadno senzibilizirani s protitelesi proti profilinom. Profilini so termolabilni in občutljivi na proteaze in pH gastrointestinalnega okolja. Surova hrana večinoma povzroči blag oralni alergijski sindrom. V redkih primerih pa sprožijo tudi sistemski reakciji (5, 18, 35).

Najpogosteji predstavniki profilinov so vključeni v mikromrežo (Priloga 1, Tabela 33). Alergen peloda oljke nOle e 2 je izključen iz nove verzije ISAC 112, ker nikoli ni prisotna

senzibilizacija samo s to komponento alergena. Preostali profilini v mikromreži ga predstavljajo zaradi strukturne homolognosti (17).

#### 1.2.4.7 CCD/NAVKRIZNO REAKTIVNE KARBOHIDRATNE DETERMINANTE

CCD so glikoproteini v rastlinah in nevretenčarjih, ki povzročajo široko senzibilizacijo. Večinoma klinično niso pomembni (18). V mikromrežo je vključen nMUXF3 (Ana c 2.0101), ki je nadomestil nAna c 2 iz prejšnje verzije ISAC 103 (17, 36) (Priloga 1, Tabela 34).

#### 1.2.4.8 POLKALCIN

Polkalcini so glavni alergeni v skupini kalcij-vezavnih proteinov (CBP – calcium binding protein), ki imajo skupno domeno EF-hands (motiv vijačnica-zanka-vijačnica). So markerji za navzkrižno reaktivnost med pelodi (5).

Glavna predstavnika rBet v 4 in rPhl p 7 sta vključena v mikromrežo (Priloga 1, Tabela 35) (5).

### 1.3 ODKRIVANJE ALERGIJ

Pri pacientih s sumom na alergijo je najprej potrebna temeljita anamneza. Alergijo lahko testiramo z *in vivo* ali *in vitro* testi.

Najpogosteje alergijo potrjujemo s kožnimi vbodnimi testi *in vivo*. Uporabimo standardizirane pripravke alergenov, za katere sumimo, da so vzrok pacientovih težav in alergene, ki so pogost vzrok za alergijske bolezni. Za negativno kontrolo uporabimo topilo za alergen, za pozitivno kontrolo pa histamin. Če odkrijemo dermografizem ali neodzivnost na histamin, moramo izbrati druge teste za odkrivanje alergij. Kožnih testov se ne izvaja pri pacientih, ki imajo močno izražene simptome alergijske bolezni. Bolj so zanesljivi pri vdihanih alergenih kot pri prehrambenih. Drugi *in vivo* test je provokacijski (obremenitveni), ki se lahko izvaja v strogo nadzorovanih okoliščinah (2).

*In vitro* metode, ki se uporablja za diagnostiko alergij, so določanje specifičnih protiteles IgE, aktivacija bazofilcev (BAT) in določanje triptaze v serumu. Specifična protitelesa IgE

običajno določamo z encimsko imunskimi metodami. Določanje specifičnih protiteles ima večinoma manjšo napovedno vrednost kot kožni testi. Delež lažno pozitivnih in lažno negativnih testov želimo zmanjšati z uporabo kakovostnih nativnih in rekombinantnih alergenov. Pozitivni testi še ne pomenijo alergijske bolezni. Na voljo so metode, ki določajo vsak alergen posebej in metode, ki imajo lahko v mikromrežo vključenih veliko različnih alergenov. Pri metodi BAT s pretočno citometrijo merimo izražanje CD63 na površini bazofilcev ob stimulaciji z alergeni. Diagnostična vrednost je za določen alergen boljša kot pri kožnih testih alergije, na primer bolje ločuje med strupi kožekrilcev, ker ne zazna protiteles proti ogljikohidrantnim epitopom oziroma omogoča ugotavljanje alergogenosti protiteles IgE. Triptaza je prisotna samo v mastocitih. Njena koncentracija se poviša pri anafilaksiji, zato je ta test zelo specifičen in se uporablja za potrditev epizode sistemске reakcije (2, 6).

## **2 NAMEN DELA**

Alergijske bolezni so v sodobni družbi vedno večji problem. Dejavniki tveganja za nastanek alergije so različni, in sicer dednost, onesnaženost zraka, aktivno in pasivno kajenje, higiena, izpostavljenost alergenu in okolje, v katerem živimo. Regionalno se preobčutljivost ljudi z različnimi alergeni razlikuje. V Sloveniji do sedaj s proteinsko mikromrežo še niso pridobili podatkov o senzibilizacijskem profilu posameznih oseb, v katerega so vključeni najpomembnejši alergeni, med drugim aeroalergeni, prehrambeni alergeni, alergeni kožekrilcev, lateksa in navzkrižno reaktivni alergeni. S slednjimi si lahko alergolog pomaga pri ugotavljanju, na katere alergene so pacienti primarno senzibilizirani in na katere navzkrižno reagirajo.

Namen naloge je pridobiti spekter senzibilizacije v Sloveniji z metodo proteinskega mikročipa na skupini oseb z jasnimi kliničnimi indikacijami za alergije v obdobju 2009-2014.

Preverjali bomo, kateri posamezni alergeni so najpogosteji povzročitelji alergij v Sloveniji in kateri alergeni so najpogosteji v posameznih skupinah alergenov (aeroalergeni, prehrambeni, navzkrižno reaktivni in drugi).

Podrobneje bomo obravnavali skupino bolnikov s pozitivnim rezultatom na prisotnost IgE na poglavite alergene kožekrilcev in primerjali s stanjem v drugih regijah v Evropi. Metodološko bomo primerjali proteinsko mikromrežo ImmunoCAP ISAC z metodo ImmunoCap 100, pri kateri se določa vsak alergen posebej.

### **3 MATERIALI IN METODE**

#### **3.1 BIOLOŠKI VZORCI IN VKLJUČITVENI KRITERIJI**

Vzorci 295 oseb s klinično indikacijo na alergijo so se za namene diagnostike alergije pri posamezniku zbirali v laboratoriju za klinično imunologijo in molekularno genetiko na kliniki Golnik med oktobrom 2009 in marcem 2014. Pri sedmih osebah smo isti vzorec testirali dvakrat v različnih obdobjih, zato sta bila testirana 302 vzorca. Uporabljeni biološki vzorec je serum. Sama sem opravila analizo pri 8 vzorcih, da sem spoznala analizator ISAC.

Preiskovanci so iz različnih starostnih skupin. Najmlajši preiskovanec je star 5 mesecev, najstarejši pa 69 let. Povprečna starost preiskovancev je 28 let. Med preiskovanci je 154 žensk in 141 moških.

Od 59 pozitivnih vzorcev na alergene strupa kožekrilcev, smo pri 42 osebah, ki so bile pozitivne na vsaj eno komponento alergena čebele rApi m 1 in ose rVes v 5, primerjali metodi proteinskega mikročipa ImmunoCap ISAC in ImmunoCap Phadia 100. Iz bolnišničnega informacijskega sistema Birpis smo pridobili anamnestične podatke (klinične podatke in rezultate prejšnjih preiskav) za 22 preiskovancev od 42, ki so bili pozitivni na rApi m1 in/ali rVes v 5 z metodo ISAC. Da smo lahko izračunali diagnostično občutljivost in specifičnost, smo primerjali tudi rezultate 24 oseb, ki so bile negativne z metodo ImmunoCap ISAC na obe komponenti alergena (rApi m 1, rVes v 5) z rezultati, določenimi z metodo ImmunoCap 100.

Vse izvedene preiskave so rutinske preiskave, opravljene z namenom diagnostike za posameznega pacienta, na kar so privolili ob sprejemu. Obdelava podatkov je anonimizirana in je del obvladovanja racionalne laboratorijske diagnostike medicinskega laboratorija.

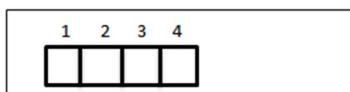
## 3.2 MATERIALI, REAGENTI IN OPREMA

### 3.2.1 Uporabljena laboratorijska oprema

- analizator Phadia ImmunoCAP ISAC (Immuno solid-phase allergen chip, Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Švedska)
- čitalec mikročipov Phadia MIA (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Švica)
- analizator ImmunoCAP Phadia 100 (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Švica)
- merilni valj 1000 ml
- merilni valj 500 ml
- destilirana voda
- pipete in pipetni nastavki

### 3.2.2 Reagenčni komplet ImmunoCap ISAC sIgE 112

- 5 ploščic z alergenskim mikročipom, vsaka ploščica ima 4 reakcijska mesta (slika)
- s fluoresceinom označena anti-IgE protitelesa: 1 viala (0,8 ml za 20 testov)
- kontrolni vzorec specifičnih IgE: 1 viala (80 µl za maksimalno 2 testa)
- reagenti za raztopino za spiranje
  - aditiv: 1 viala
  - koncentrat: 1 steklenička



Slika 2: Ploščica z alergenskim mikročipom

#### ImmunoCap ISAC starter pack

- 2 kadički za spiranje, vsaka kadička za 10 ploščic
- 2 magneta
- vlažilna komora za 26 ploščic

### 3.2.3 Reagenčni komplet ImmunoCAP Phadia 100

- z β-galaktozidazo označena specifična protitelesa anti-IgE: 6 vial (6 x 96 določitev)
- specifični IgE kalibratorji za 1 kalibracijsko krivuljo: 6 vial (0; 0.35; 0.7; 3.5; 17.5; 100 kU/l)
- kontrola 1 in kontrola 2 za kalibracijsko krivuljo (2 x 3 viale)

- posamezni specifični alergeni (nosilec za 16 ali 10 alergenov ImmunoCAP)
- specifični anti-IgE (nosilec za 16 ImmunoCAP)
- razvijalna raztopina: 4 viale
- raztopina za zaustavitev reakcije : 4 stekleničke
- reagenti za raztopino za spiranje:
  - aditiv: 1 viala
  - koncentrat: 4 stekleničke
- kalibrator fluorimeter UniCAP FluoroC: 6 vial

### 3.3 LABORATORIJSKE METODE

#### 3.3.1 Postopek določanja specifičnih protiteles IgE s proteinskim mikročipom ImmunoCap ISAC

ImmunoCAP ISAC je semikvantitativna *in vitro* metoda, s katero določamo specifična protitelesa IgE v serumu ali plazmi in temelji na tehnologiji proteinskih mikromrež. Omogoča določanje protiteles IgE proti širokemu spektru rekombinantnih in nativnih komponent alergenov. Vrstno specifične alergenske komponente nakazujejo primarno IgE senzibilizacijo, navkrižno reaktivne pa predstavljajo homologne strukture med različnimi viri alergenov. Ta metoda je uporabna predvsem pri pacientih, ki imajo nedosledno anamnezo, pri polisenzibiliziranih pacientih in pri pacientih, ki se ne odzivajo na zdravljenje s specifično imunoterapijo.

Za analizo je potrebno 30 µl vzorca. Rezultati so izraženi v arbitrarnih enotah ISU-E (ISAC standardised units for IgE; ISAC standardizirane enote za IgE). Podaja se jih semikvantitativno v štirih razredih (Tabela 21).

**Tabela 2: Referenčne vrednosti IgE protiteles (ISU-E) - ISAC**

Referenčne vrednosti IgE protiteles	ISU-E
0 – nezaznavno ali zelo nizko	< 0,35
1 – nizko	0,35 – 0,7
2 – zmerno ali visoko	0,7 – 17,5
3 – zelo visoko	≥ 17,5

(9, 17)

Prejšnja verzija ISAC je imela je imela 103 komponente alergenov. Nova verzija se začela uporabljati 2012. V novi verziji so dodali 20 novih komponent alergenov, 11 komponent iz stare verzije pa so izločili. Nova verzija ima 112 komponent alergenov iz 51 različnih virov. Naši vzorci so bili testirani v obdobju 2009-2014, zato sta bili uporabljeni obe verziji. V nalogi je bilo vse skupaj testiranih 133 komponent.

Zapis rezultatov je razdeljen po skupinah:

1. alergeni za hrano
2. aeroalergeni
3. drugi vrstno specifični alergeni (kožekrilci, paraziti, lateks)
4. navzkrižno reaktivni alergeni (serumski albumini, tropomiozin, nsLTP, PR-10 protein, TLP, profilin, polkalcin, CCD)

Priprava reagentov:

- Raztopina za spiranje: 1 vialo aditiva in 1 stekleničko koncentrata smo dali v 1 liter destilirane vode. Sveža raztopina je zadoščala za 3 spiranja.
- Vse reagente smo pred testiranjem ogreli na sobno temperaturo.

Potek dela:

1. Ploščico smo 10 min z magnetnim mešalom spirali v kadički za spiranje z 220 ml raztopine za spiranje.
2. Ploščico smo prenesli v novo kadičko za spiranje z 220 ml destilirane vode in mešali 30 sekund. Nato smo jo sušili približno 15 min, da se je popolnoma osušila.
3. Pripravili smo si vlažilno komoro. Na dno komore smo položili dobro navlažene papirnate brisače.
4. Na osušeno ploščico smo napijetirali 4 različne vzorce po 30 µl. Paziti smo morali, da so vzorci enakomerno razporejeni znotraj okvira in da se s pipetnim nastavkom nismo dotaknili površine ploščice. V vlažilni komori smo inkubirali 120 min.
5. Ploščice smo previdno otresili na papirnati brisači in nežno spirali z destilirano vodo 5-10 sekund. Paziti smo morali, da se vzorci ne prelivajo med seboj.
6. Ploščico smo 10 min spirali z 220 ml raztopine za spiranje.
7. Ponovili smo spiranje z 220 ml destilirane vode 30 sekund in sušili 15 min.

8. Na osušeno ploščico smo napipetirali po 30 µl s fluoresceinom označenih anti-IgE protiteles in inkubirali v vlažilni komori 30 min v temi.
9. Ponovili smo korake od 5. do 7. točke.
10. Intenzivnost fluorescence smo odčitali smo z ustreznim čitalcem mikročipov.

### **3.3.2 Postopek določanja specifičnih protiteles IgE z ImmunoCap Phadia 100**

ImmunoCap Phadia 100 je kvantitativna in *vitro* metoda, ki temelji na fluoro encimsko imunskem testu. V serumu ali plazmi lahko določamo koncentracijo specifičnih protiteles IgE proti različnim nativnim in rekombinantnim alergenom. Določamo lahko širok nabor alergenov iz skupine aeroalergenov, prehrambenih alergenov, alergene zdravil, insektov, kožekrilcev, različnih sintetičnih ali naravnih materialov, kemikalij. Specifična protitelesa IgE, ki so prisotna v vzorcu, se vežejo na imobilizirane alergene. Po spiranju se dodajo z encimom označena protitelesa anti-IgE, ki se vežejo na specifična protitelesa IgE. Nato poteče inkubacija z razvijalno raztopino. Ko se z raztopino za zaustavitev reakcije reakcija zaustavi, se izmeri fluorescensa. Signal vzorca se pretvori na podlagi kalibracijske krivulje. Metoda je uporabna pri pacientih s sumom na alergijo, pri katerih ne moremo izvesti kožnega testiranja.

Za analizo je potrebno 40 µl vzorca. Rezultati so izraženi v UniCAP specifičnih IgE enotah kU<sub>A</sub>/l (A predstavlja alergen-specifična protitelesa). Pri nerazredčenih serumih je meritno območje od 0,35 do 100 kU<sub>A</sub>/l, pri redčenju vzorca pa se meritno območje spremeni. Rezultate se podaja kvantitativno v sedmih razredih (Tabela 22).

**Tabela 3: Referenčne vrednosti (kU<sub>A</sub>/l) - ImmunoCAP 100**

Referenčne vrednosti	≥	<
6 – zelo visoko	Cal-100	-
5 – zelo visoko	Cal-50	Cal-100
4 – zelo visoko	Cal-17,5	Cal-50
3 – visoko	Cal-3,5	Cal-17,5
2 – zmersko	Cal-0,7	Cal-3,5
1 – nizko	Cal 0,35	Cal-0,7
0 – nezaznavno ali odsotno	-	Cal-0,35

Ves postopek je avtomatiziran. Potrebno je vnesti pacientovo identifikacijsko številko in v aparat naložiti vzorec, reagente, kalibratorje in nosilce ImmunoCAP. Aparat avtomsatsko začne analizo, ko je dosežena zahtevana temperatura 37°C. Rezultate preračuna na podlagi kalibracijske krivulje.

### 3.4 METODE OBDELAVE PODATKOV

Izpis izvidov iz mikromreže smo iz primarnih dokumentov vnesli v program Microsoft Office Excel 2010. Pridobljene podatke smo statistično obdelali s pomočjo programov Microsoft Office Excel 2010 in GraphPad Prism 5.03. Analizirali smo opisno statistiko (frekvenco pojavljanja posameznih alergenov, srednjo vrednost alergenov, hkratno pojavljanje navzkrižnih alergenov) in grafično prikazali pojavnost posameznih komponent alergenov.

## 4 REZULTATI

### 4.1 POLI-/MONOSENZIBILIZACIJA IN NAVZKRIŽNO REAKTIVNE KOMPONENTE

Od 295 oseb s kliničnim sumom na alergijo (priloga II), katerih serume smo testirali na prisotnost specifičnih IgE z metodo ISAC, jih je bilo 80% senzibiliziranih na vsaj en alergen (237/295). Na samo en alergen je bilo senzibiliziranih 9% preiskovancev (28/295), polisenzibiliziranih pa 71% preiskovancev (209/295).

Osem preiskovancev je monosenzibiliziranih na navkrižno reaktivno komponento alergena breskve rPru p 1, trije na komponento alergena ose rVes v 5. Ostali preiskovanci so večinoma monosenzibilizirani na aeroalergene (Tabela 4).

**Tabela 4: Monosenzibilizirani preiskovanci**

št.preiskovancev	monosenzibilizacija
1	nCyn d 1
	nPhl p 4
	nDer p 1
	nFag e 2
	rDer f 2
	nGly m 6
	nMUXF3
	rPru p 3
	rAra h 2
	nEqu c 3
	rCan f 1
	nArt v 1
	nBos d 4
	nPla a 2
	rFel d 1
	nAct d 2
	rPol d 5
3	rVes v 5
8	rPru p 1

Bet v 1 je glavni predstavnik PR-10 proteinov. Večinoma se senzibilizacija z Bet v 1 pojavlja hkrati z vsemi na mikromrežo nanešenimi alergeni iz skupine PR-10 proteinov. Najpogosteje so preiskovanci hkrati senzibilizirani z alergenom breze rBet v 1, jelše rAln g 1, leske rCor a 1.0101, lešnika rCor a 1.0401, jabolka rMal d 1 in breskve rPru p 1. Protitelesa proti alergenu korenja (rDau c 1) so bila izmerjena pri 56 preiskovancih, ker je bil ta alergen vključen v prejšnjo verzijo mikromreže ISAC (ISAC 103) (Tabela 5).

**Tabela 5: Navzkrižna reaktivnost - PR-10 proteini**

PR-10 proteini	rAIn g 1 (77)	rCor a 1.0101 (77)	rCor a 1.0401 (84)	rMal d 1 (81)	rPru p 1 (103)	rGly m 4 (49)	rAra h 8 (60)	rAct d 8 (23)	rApi g 1 (29)	rDau c 1 (2)
rBet v 1 (95)	77	76	82	80	81	48	59	23	29	2
rAIn g 1 (77)	/	72	74	70	71	47	55	23	29	2
rCor a 1.0101 (77)	/	/	72	70	71	47	56	23	29	2
rCor a 1.0401 (84)	/	/	/	77	76	48	59	23	29	2
rMal d 1 (81)	/	/	/	/	77	46	56	23	29	2
rPru p 1 (103)	/	/	/	/	/	47	58	23	29	2
rGly m 4 (49)	/	/	/	/	/	/	45	20	24	2
rAra h 8 (60)	/	/	/	/	/	/	/	21	26	2
rAct d 8 (23)	/	/	/	/	/	/	/	/	19	2
rApi g 1 (29)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	2
rDau c 1 (2)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Protitelesa proti polkalcinu so prisotna samo pri enem preiskovancu (Tabela 6).

**Tabela 6: Navzkrižna reaktivnost - polkalcin**

Polkalcin	
	rPhl p 7 (1)
rBet v 4 (1)	1

Med serumskimi albumini sta najbolj navzkrižno reaktivna alergen kravjega mleka/mesa nBos d 6 in alergen psa nCan f 3. Protitelesa proti nBos d 6 in nCan f 3 so hkrati prisotna pri 11 preiskovancih. Na alergen psa nCan f 3 in alergen mačke nFel d 2 je hkrati senzibiliziranih 9 preiskovancev, prav tako na alergen mačke nFel d 2 in alergen konja nEqu c 3 (Tabela 7).

**Tabela 7: Navzkrižna reaktivnost – serumski albumini**

Serumski albumini	nCan f3 (13)	nEqu c 3 (6)	nFel d 2 (10)
nBos d 6 (15)	11	5	9
nCan f3 (13)	/	5	9
nEqu c 3 (6)	/	/	5

Najpogosteje so preiskovanci hkrati senzibilizirani na alergen ščurka nBla g 7 in hišnega kožojeda rDer p 10. Pogosteje so hkrati prisotna protitelesa proti alergenu gliste Anisakis rAni s 3, kozic nPen m 1, ščurka nBla g 7 in hišnega kožojeda rDer p 10 (Tabela 8). Alergena kozic (rPen a 1 in nPen i 1) sta bila vključena v prejšnji verziji ISAC 103 in protitelesa proti njima določena le pri 56 preiskovancih v primerjavi s protitelesi proti nPen m 1, ki so izmerjena pri 302 preiskovancih.

**Tabela 8: Navzkrižna reaktivnost – tropomiozin**

Tropomiozin		nBla g 7 (12)	rDer p 10 (10)	rPen a 1 (2)	nPen i 1 (2)	nPen m 1 (11)
rAni s 3 (7)	7	7	2	2	7	
nBla g 7 (12)	/	9	2	2	8	
rDer p 10 (10)	/	/	2	2	7	
rPen a 1 (2)	/	/	/	2	2	
nPen i 1 (2)	/	/	/	/	2	

Med nsLTP so med seboj najbolj navzkrižno reaktivni alergen arašida (rAra h 9), oreha nJug r 3, breskve rPru p 3, navadnega pelina nArt v 3 in platane rPla a 3 (Tabela 9).

**Tabela 9: Navzkrižna reaktivnost - nsLTP**

nsLTP								
	rCor a 8 (21)	nJug r 3 (30)	nPru p 3 (3)	rPru p 3 (30)	rTri a 14 (17)	nArt v 3 (33)	nOle e 7 (13)	rPla a 3 (21)
rAra h 9 (26)	18	23	/	22	13	23	13	19
rCor a 8 (21)	/	19	1	18	10	18	9	16
nJug r 3 (30)	/	/	/	22	13	24	13	21
nPru p 3 (3)	/	/	/	/	/	1	/	/
rPru p 3 (30)	/	/	/	/	14	22	12	20
rTri a 14 (17)	/	/	/	/	/	13	8	13
nArt v 3 (33)	/	/	/	/	/	/	12	20
nOle e 7 (13)	/	/	/	/	/	/	/	10

Predstavniki profilinov so med seboj večinoma navzkrižno reaktivni, razen nOle e 2. Najpogosteje so preiskovanci hkrati senzibilizirani na alergen lateksa rHev b 8 in enoletnega golšeca rMer a 1. Protitelesa proti nOle e 2 so določena s prejšnjo verzijo ISAC 103 pri 57 preiskovancih (Tabela 10).

**Tabela 10: Navzkrižna reaktivnost - profilin**

Profilin				
	nOle e 2 (5)	rHev b 8 (33)	rMer a 1 (32)	rPhl p 12 (24)
rBet v 2 (32)	5	28	28	23
nOle e 2 (5)	/	5	4	4
rHev b 8 (33)	/	/	29	22
rMer a 1 (32)	/	/	/	24

## 4.2 GRUPIRANJE PRISOTNOSTI IgE PO DELEŽU POZITIVNIH KOMPONENT ALERGENOV

Prisotnost IgE je grupirano po deležu pozitivnih komponent alergenov in ne po absolutnem številu, ker zaradi menjave sistema ISAC 103 z ISAC 112, specifična protitelesa proti vsem 133 alergenom niso določena pri vseh 295 preiskovancih.

Komponente alergenov so razdeljene v 6 razredov po deležu pozitivnih protiteles proti alergenom. V prvem razredu je osem komponent alergenov, pri katerih niso bila pri nobenem preiskovancu pozitivna specifična protitelesa. V drugem razredu so specifična protitelesa pozitivna pri 0-1% preiskovancev, v tretjem 1-5%, četrtem 5-10%, petem 10-20% in v šestem pri 20-40% preiskovancev.

Največji delež komponent alergenov, na katere so senzibilizirani preiskovanci, predstavljajo aeroalergeni in nekaj navzkrižno reaktivnih komponent (Tabela 11).

**Tabela 11: Grupiranje prisotnosti IgE po deležu pozitivnih komponent alergenov**

0 %	0-1 %	1-5 %		5-10%		10-20 %	20-40 %
nAra h 1	nGal d5	rAlt a 6	rPen a 1	rChe a 1	rJug r 1	rPol d 5	rDer p 2
nTri a 18	rCla h 8	rGad c 1	nPen i 1	nOle e 7	nGal d 1	rCan f 5	rOle e 1
nTri a Gliadin	rBla g 1	rHev b 6	rDau c 1	nBos d 5	rLep d 2	rAra h 9	rDer f 2
nAct d 5	rHev b 5	nEqu c 3	nPen m 1	rAlt a 1	nGal d 2	rBet v 2	nDer p 2
rPla a 1	rBet v 4	nPen m 2	nAra h 2	nPru p 3	rCan f 1	rMer a 1	rAln g 1
rAsp f 2	rPhl p 7	nFag e 2	nAra h 3	nBos d 8	rPhl p 12	nArt v 3	rCor a 1.0101
rAsp f 4	rAsp f 3	nApi m 4	nAct d 8	rApi m 1	rEqu c 1	rHev b 8	rFel d 1
rBla g 4	rBla g 2	rTri a 19.0101	nGly m 5	nBos d 4	rAra h 2	rPhl p 11	rMal d 1
	rAni s 1	rAni s 3	nBla g 7	nCor a 9	rPla a 3	nApi m 1	rPhl p 5
	rHev b 1	rHev b 6.01	rBlo t 5	rTri a 14	nOle e 2	nArt v 1	rCor a 1.0401
	rHev b 3	rBer e 1	nCan f3	rCor a 8	rEur m 2	rPru p 3	rBet v 1
nPen m 4	rOle e 9	rAna o 2	nAct d 2	nAra h 6	nJug r 3	rBet v 1	
rPar j 2	nSes i 1	nTri a aA_TI	rCyp c 1	rAct d 8	nCry j 1	rPru p 1	
rAsp f 1	nAct d 1	nAmb a 1	rAra h 1	rPla l 1	nAna c 2	nPhl p 4	
rBla g 5	nSal k 1	rAra h 3	nGly m 6	rApi g 1	rVes v 5	rPhl p 1	
	rAsp f 6	nGal d 3			nMUXF3	nCyn d 1	
	nBos d lactoferrin	rFel d 4			nJug r 2		
	rCan f 2	nMus m 1			rGly m 4		
	nFel d 2	nBos d 6			rPhl p 2		
	rDer p 10				nPla a 2		
					nCup a 1		
					nDer p 1		
					rPhl p 6		
					nOle e 1		
					nDer f 1		
					rAra h 8		
8	15	39		30		26	16

## 4.3 IZRAČUN NAJPOGOSTEJŠIH ALERGENOV V SLOVENIJI POSAMIČNO

V preiskovani skupini so najpogosteja protitelesa proti alergenu trave prsastega pesjaka nCyn d 1 iz skupine aeroalergenov. Med najpogostejšimi so tudi protitelesa proti alergenu travniškega mačjega repa rPhl p 1 in nPhl p 4, protitelesa proti alergenu breskve rPru p 1 iz skupine navkrižno reaktivnih alergenov in protitelesa proti brezi rBet v 1 iz skupine aeroalergenov (Tabela 12, Graf 1).

**Tabela 12: Najpogosteji alergeni v Sloveniji posamično**

Aeroalergeni	prsasti pesjak (Bermuda grass)	nCyn d 1	41,06%
	travniški mačji rep (Timothy grass)	rPhl p 1	38,41 %
	travniški mačji rep (Timothy grass)	nPhl p 4	34,44 %
Navkrižno reaktivni	breskvev (peach)	rPru p 1	34,11 %
Aeroalergeni	breza (birch)	rBet v 1	32,45 %
Navkrižno reaktivni	breza (birch)	rBet v 1	31,46 %

## 4.4 IZRAČUN NAJPOGOSTEJŠIH ALERGENOV PO ALERGOLOŠKIH SKUPINAH

Od prehrambenih alergenov so preiskovanci najpogosteje senzibilizirani na alergen oreha nJug r 2, ki je prisoten pri 15,85% preiskovancev.

V skupini aeroalergenov prevladujeta alergena peloda trav: alergen prsastega pesjaka nCyn d 1 (41,06%) in alergen travniškega mačjega repa rPhl p 1 (38,41%).

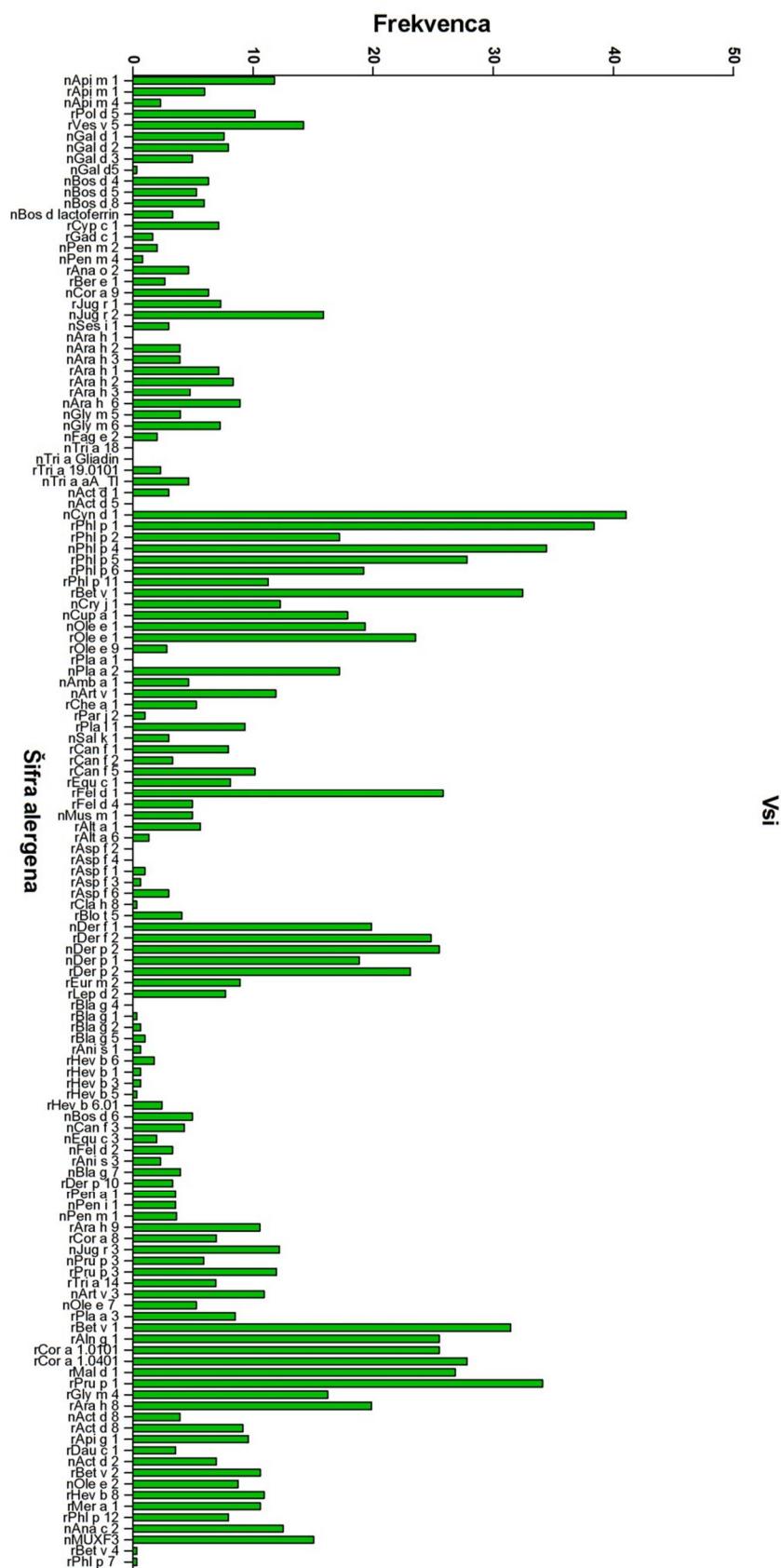
Iz skupine drugih vrstno specifičnih alergenov je najpogosteji alergen navadne ose rVes v 5 (14,23%), alergena čebele nApi m 1(11,76%) in rApi m 1 (5,98%).

Najpogosteja navzkrižno reaktivna alergena sta alergen breskve rPru p 1 (34,11%) in alergen breze rBet v 1 (31,46%) (Tabela 13, Graf 2,3,4,5).

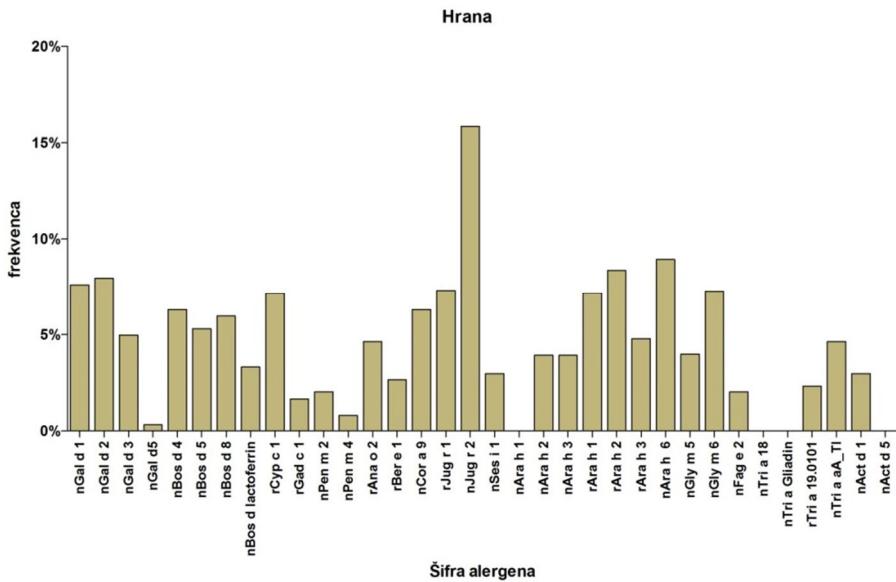
**Tabela 13: Najpogosteji alergeni po alergoloških skupinah**

Hrana	oreh (walnut)	nJug r 2	15,85%
	arašid (peanut)	rAra h 2	8,37%
	arašid (peanut)	nAra h 6	8,94%
Aeroalergeni	prsasti pesjak (Bermuda grass)	nCyn d 1	41,06%
	travniški mačji rep (Timothy grass)	rPhl p 1	38,41%
Drugo	navadna osa (common wasp)	rVes v 5	14,23%
	čebela (honey bee venom)	nApi m 1	11,76%
	čebela (honey bee venom)	rApi m 1	5,98%
Navzkrižno reaktivni	breskvev (peach)	rPru p 1	34,11%
	breza (birch)	rBet v 1	31,46%

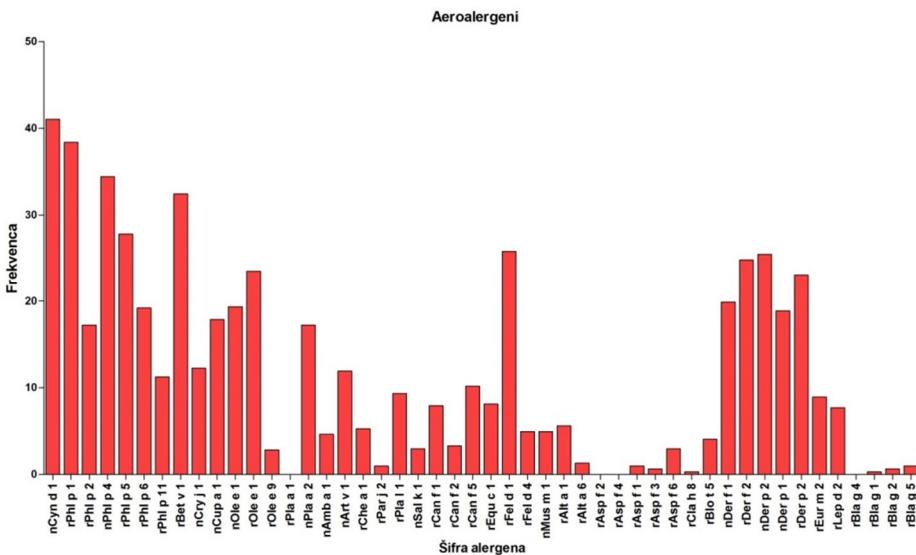
Graf 1: Prisotnost IgE po deležu pozitivnih 133 komponent alergenov



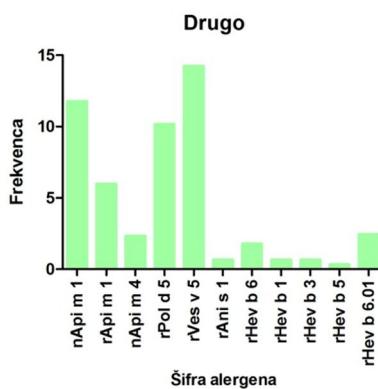
Graf 2: Prisotnost IgE po deležu pozitivnih pri alergenih iz skupine Hrana



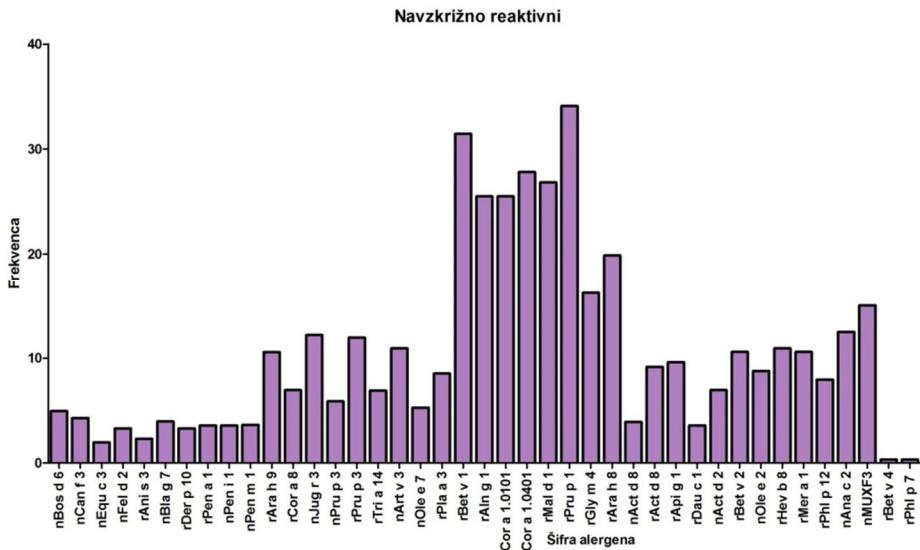
Graf 3: Prisotnost IgE po deležu pozitivnih pri alergenih iz skupine Aeroalergeni



Graf 4: Prisotnost IgE po deležu pozitivnih pri alergenih iz skupine Drugo



**Graf 5: Prisotnost IgE po deležu pozitivnih pri alergenih iz skupine navzkrižno reaktivni**



## 4.5 KOŽEKRILCI

### 4.5.1 PRIMERJAVA REZULTATOV, PRIDOBLEJENIH Z DVEMA METODAMA

Med seboj smo primerjali rezultate, pridobljene z metodama ImmunoCAP Phadia 100 in ImmunoCAP ISAC.

Diagnostična občutljivost rezultatov metode ISAC je verjetnost pozitivnega izida testa za rApi m1 oz. rVes v 5 z metodo ISAC pri osebah, ki so bile pozitivne za r Api m 1 oz rVes v 5 z metodo Phadia 100. Diagnostična specifičnost rezultatov metode ISAC je verjetnost negativnega izida testa ISAC za rApi m 1 oz. rVes v 5 z metodo ISAC pri osebah, ki so bile negativne za rApi m 1 oz. rVes v 5 z metodo Phadia 100.

Za pravilno pozitivne rezultate (PP) smo definirali vrednosti preiskovancev, ki so pozitivne pri obeh metodah, pravilno negativni rezultati (PN) so pri obeh metodah negativni.

Za lažno pozitivne rezultate (LP) smo določili vrednosti, ki so pozitivne z metodo ISAC in negativne s Phadia 100. Lažno negativne pa so vrednosti, ki so negativne z metodo ISAC in pozitivne s Phadia 100. (Tabela 14)

**Tabela 14: Križna tabela – primerjava rezultatov ImmunoCAP in ImmunoCAP ISAC**

	ISAC +	ISAC -	
CAP +	PP	LN	PP+LN
CAP -	LP	PN	LP+PN
	PP+LP	LN+PN	vsi

Diagnostično občutljivost rezultatov metode ISAC smo izračunali po formuli  $PP/(PP+LN) \times 100$ , diagnostično specifičnost pa po formuli  $PN/(PN+LP) \times 100$ . Diagnostična občutljivost pri rApi m 1 je 75% ( $12/(12+4) \times 100$ ), diagnostična specifičnost 95% ( $20/20+1) \times 100$ ).

Rezultati obeh testov se pri določitvi rApi m 1 ujemajo pri 32 vzorcih od 37 (86%).  
(Tabela 15)

**Tabela 15: Križna tabela – primerjava rezultatov ImmunoCAP in ImmunoCAP ISAC pri komponenti alergena rApi m 1**

rApi m 1	ISAC +	ISAC -	
CAP +	<b>12</b>	4	16
CAP -	1	<b>20</b>	21
	13	24	37

$$12/37=0,32$$

$$20/37=0,54$$

Diagnostična občutljivost rezultatov metode ISAC je pri rVes v 5 92% ( $33/(33+3) \times 100$ ), diagnostična specifičnost 91% ( $20/(20+2) \times 100$ ). Rezultati obeh testov se ujemajo pri 53 vzorcih od 58 (91%) (Tabela 16).

**Tabela 16: Križna tabela – primerjava rezultatov ImmunoCAP in ImmunoCAP ISAC pri komponenti alergena rVes v 5**

rVes v 5	ISAC +	ISAC -	
CAP +	<b>33</b>	3	36
CAP -	2	<b>20</b>	22
	35	23	58

$$33/58=0,57$$

$$20/58=0,34$$

#### **4.5.2 KLINIČNI VIDIK: LABORATORIJSKI IN KLINIČNI PODATKI**

Anamnestične podatke smo pridobili le za 22 oseb od 42, ki so bile pozitivne na alergen rApi m 1 in/ali rVes v 5. Samo ena oseba ima znano zgodovino pika kožekrilca, po kateri je imela veliko lokalno reakcijo. Prvič je imela reakcijo po piku pred dvajsetimi leti, drugič pa leta 2011. Njen vzorec je bil z metodo ISAC testiran leta 2012. Senzibilizirana je z alergenom ose r Ves v 5 (0,4 ISU-E).

## 5 RAZPRAVA

Pri sumu na alergijo je potrebna temeljita anamneza, ki ji sledijo preiskave. Najpogosteje alergijo potrjujemo s kožnimi vodnimi testi alergije. Če kožnega testiranja ne moremo izvajati, ali je potrebna nadaljnja diagnostika, se odločimo za testiranje posameznih specifičnih protiteles IgE ali za test aktivacije bazofilcev.

Mikromreža ISAC se uporablja pri bolj kompleksni diagnostiki alergij. Najbolj je uporabna pri ugotavljanju primarne oziroma navzkrižne senzibilizacije pri polisenzibiliziranih pacientih (na primer z inhalacijskimi alergeni) in pri pacientih po anafilaktični reakciji, pri katerih kljub anamnezi ni jasen sprožilni alergen (idiopatska anafilaksija) in/ali so številni kožni testi pozitivni ali pa so vsi kožni testi negativni. Naroči se jo tudi, če je bolnik slabo odziven na specifično imunoterapijo, izvajano z inhalacijskim alergenom (9).

Ker je alergočip ISAC zadnja stopnja pri diagnostiki alergij, lahko primerjamo njegove rezultate s prejšnjimi rezultati, pridobljenimi z drugimi testi alergije. Rezultati se lahko razhajajo zaradi različne tehnologije in različnih uporabljenih alergenov. Kakovost ekstraktov alergenov je lahko različna v različnih serijah. Do razlik v rezultatih z različnimi testi lahko pride, kadar sprožilni alergeni niso nanešeni na mikromreži ISAC ali pa jih ni v ekstraktu alergena. Da alergen povzroči alergijo, je potrebna velika afiniteta sIgE za alergen, alergen mora biti sposoben navzkrižno povezati molekule sIgE in se vezati na mastocite/bazofilce. Ker se testi izvajajo ob velikih koncentracijah alergena, so testi pozitivni, tudi če je afiniteta majhna. (9). Na alergočipu ISAC je prisotnih velika večina visoko navzkrižnih alergenov (profilinov, PR-10 proteini, LTP itd.). Ker so si molekulsko dovolj podobni, lahko posamezni navzkrižni alergeni predstavljajo druge alergene v isti skupini (19, 37, 38).

Prihaja do težav pri interpretaciji nepričakovanih pozitivnih rezultatov, pridobljenih z mikromrežo ISAC. Ni tako problematično, če se odkrije nepričakovanata senzibilizacija na aeroalergene, ker navadno povzročijo lokalne simptome. Večjo skrb povzroča senzibilizacija na kožekrilce in hrano, ki lahko povzročijo anafilaksijo (39). Tudi če preiskovanci nimajo znane zgodovine pikov kožekrilcev ali težav s senzibiliziranimi alergeni, teh pozitivnih rezultatov ne smemo zanemariti. Samo zaradi suma alergije na

strup kožekrilcev, pacientov ne bi testirali z mikromrežo, ampak bi uporabili ImmunoCAP 100 ali celični test aktivacije bazofilcev (6).

Potrebno je razumeti, da senzibilizirani pacienti ne izražajo vedno kliničnih simptomov. Prav tako ne obstaja mejna vrednost, pri kateri bi splošno veljalo, da se pojavi simptomi (40, 41). Ocenjujejo, da je približno 50% in več ljudi senzibiliziranih z alergeni, na katere ne razvijejo simptomov. Več faktorjev je vključenih v razvoj simptomov alergije pri senzibiliziranih osebah. Ključna pri tem je alergogenost protiteles IgE, torej njihova zmožnost, da ob vezavi alergena povzročijo degranulacijo efektorskih celic. Pomembna je tudi odzivnost tarčnih organov. Dodatni faktorji so: mono-/polisenzibilizacija, družinska anamneza atopije, ravnovesje regulatornih celic T in celic Th1/Th2, kvantitativne ali kvalitativne razlike v specifičnih alergenih, polimorfizem visoko afinitetnega receptorja FcεRI (41).

## 5.1 POLI-MONOSENZIBILIZACIJA IN NAVZKRIŽNO REAKTIVNE KOMPONENTE

V naši študiji je 80% preiskovancev senzibiliziranih na vsaj en alergen. Visok delež senzibiliziranih preiskovancev je pričakovani, ker študija ni opravljena na splošni populaciji v Sloveniji, ampak so bili preiskovanci z namenom diagnosticiranja kompleksnih alergij napoteni na testiranje z mikromrežo ISAC.

Na samo en alergen je bilo senzibiliziranih 9% preiskovancev. V literaturi (41) navajajo, da je majhen delež pacientov s klinično izraženo alergijo monosenzibiliziranih in da je več kot 75% ljudi s simptomi alergije polisenzibiliziranih. Pri alergijah na cvetni prah trav imajo monosenzibilizirani pacienti prisotna protitelesa proti eni ali dvema komponentama alergena, medtem ko imajo polisenzibilizirani pacienti protitelesa proti številnim alergenskim komponentam trav. Monosenzibilizirani so lahko otroci, ki lahko kasneje v življenju razvijejo preobčutljivost na druge alergene ali pa odrasli, ki so preobčutljivi le na en alergen (41). V naši preiskovani populaciji nismo imeli na voljo kliničnih podatkov za vse preiskovance, zato ne moremo podati ocene, koliko preiskovanih monosenzibiliziranih pacientov ima klinično izraženo alergijo.

Alergeni iz skupine PR-10 proteinov in profilinov so znotraj skupine pri preiskovancih visoko navzkrižno reaktivni. Najpogosteje so preiskovanci hkrati senzibilizirani z alergeni peloda dreves in alergeni koščičastega sadja iz skupine PR-10 proteinov, kar se ujema s podatki v literaturi (2). 85% preiskovancev (22/26), senzibiliranih na alergen arašida rAra h 9, je hkrati senzibiliziranih na alergen breskve rPru p 3. Njuno hkratno pojavljanje navajajo tudi v študiji Ackerbauer et.al.(19).

## 5.2 GRUPIRANJE PRISOTNOSTI IgE PO DELEŽU POZITIVNIH KOMPONENT ALERGENOV

Na 8 komponent alergenov od 133 ni bil senzibiliziran noben preiskovanec. Med temi komponentami jih 6 ni več vključenih v novi verziji ISAC 112 (nAra h 1, nTri a 18, nTri a gliadin, rAsp f 2, rAsp f 4, rBla g 4). Izključili so jih zaradi nizke prevalence, kar se ujema z našimi podatki. Ker imamo rezultate preiskovancev, dobljene z obema verzijama ISAC (103 in 112), ne moremo podati absolutnih vrednosti, pri koliko pacientih se pojavljajo določena protitelesa. Podali smo le delež pozitivnih protiteles proti posamezni komponenti alergena glede na število preiskovancev, pri katerih smo jih izmerili. Bolj primerno bi bilo, če bi pri vseh preiskovancih izmerili iste komponente alergenov.

## 5.3 NAJPOGOSTEJŠI ALERGENI V SLOVENIJI POSAMIČNO IN PO ALERGOLOŠKIH SKUPINAH

V naši preiskovani skupini so najpogostejša, posamično in v skupini aeroalergenov, protitelesa proti pelodu trav nCyn d 1 (41%) in rPhl p 1 (38%), kar se sklada s podatki iz literature (21), kjer ocenjujejo, da je približno 40% oseb z alergijo senzibiliziranih z alergeni pelodov, med katerimi je najpogostejša senzibilizacija s pelodi trav.

Med prehrabnimi alergeni izstopa senzibilizacija z alergenom oreha nJug r 2 (16%). V literaturi navajajo (42), da so lahko pozitivni testi na nJug r 2 posledica navzkrižne reaktivnosti z ogljikohidrantnimi determinantami. V naši preiskovani skupini je od 39 pozitivnih na nJug r 2, 23 preiskovancev hkrati pozitivnih na nJug r 2 in nMUXF3 in hkrati negativnih na rJug r 1. Če izločimo te preiskovance, je na nJug r 2 senzibiliziranih 7% preiskovancev (16/246). Pri upoštevanju navkrižne reaktivnosti nJug r 2 in nMUXF3, sta

najpogostejsa v skupini prehrambenih alergenov, alergena arašida rAra h 2 (8%) in nAra h 6 (9%). Te dve komponenti sta strukturno homologni (20), zato je tudi delež pozitivnih protiteles podoben pri obeh komponentah. Drugi pogostejši alergeni od prehrambenih alergenov so alergen arašida rAra h 1 (7%), soje nGly m 6 (7%), jajčnega beljaka nGal d 1 (8%) in nGal d 2 (8%), oreha rJug r 1 (7%) ter alergen krapa rCyp c 1 (7%), ki ga ni več v verziji ISAC 112.

V skupini drugih vrstno specifičnih alergenov so najpogostejši alergen ose rVes v 5 in alergena čebele nApi m 1 in rApi m 1. nApi m 1 je bila izmerjena na 51 vzorcih s starejšo različico ISAC 103 (12%), rApi m 1 pa pri 251 vzorcih z novejšim ISAC 112 (6%). nApi m 1 so zamenjali z rApi m 1, ker nApi m 1 vsebuje tudi ogljikohidratne determinante, ki so vzrok navzkrižnim reakcijam in posledično večjemu številu pozitivnih rezultatov. Štirje pacienti od šestih, imajo hkrati prisotna protitelesa proti nApi m 1 in bromelinu nAna c 2. Če bi izločili te 4 paciente in upoštevali samo dva, ki sta senzibilizirana le z aleregenom nApi m 1, potem je na nApi m 1 senzibiliziranih 4% preiskovancev (2/51). Bolj realna je ocena senzibilizacije z rekombinantnim alergenom rApi m 1, ki nima prisotnih ogljikohidrantnih determinant in je določena pri večjem številu vzorcev.

Iz skupine navzkrižno reaktivnih alergenov sta najpogostejša alergen breskve rPru p 1 (34%) in breze rBet v 1 (31%). Oba sta PR-10 proteina in sta strukturno homologna v 59% aminokislinskega zaporedja (25). Pacienti, ki so primarno senzibilizirani z alergenom breze rBet v 1, običajno razvijejo navkrižno reaktivnost z alergenom breskve rPru p 1, pri čemer lahko pride do oralnega alergijskega simptoma pri zaužitju breskve (2, 25).

## 5.4 KOŽEKRILCI

### 5.4.1 PRIMERJAVA REZULTATOV KOŽEKRILCEV, PRIDOBLJENIH Z DVEMA METODAMA

Več študij je primerjalo sistema ImunoCAP 100 in ImunoCAP ISAC na podlagi nekaterih alergenov (aeroalergenov, prehrambenih alergenov). Avtorji opisujejo sistema za primerljiva, vendar primerljivosti ne moremo posploševati na vse alergene (37, 38). Za pravo primerjavo obeh sistemov je potrebno direktno primerjati alergene na molekularni ravni na obeh sistemih in ne različne tipe alergenov (ekstrakte in komponente alergenov) v

dveh različnih sistemih (37). V študiji Huss-Marp J. et.al (37) je bila primerljivost med sistemoma za alergene travniškega mačjega repa, breze in leske več kot 90%, alergene mačke manj kot 80%, pršico hišni kožojed, navadni pelin in zeleno pa 60-70% (37).

Glede na dobljene podatke primerjave v naši študiji, je diagnostična občutljivost rezultatov metode ISAC pri rApi m 1 75% in pri rVes v 5 92%. Medtem ko je diagnostična specifičnost rezultatov metode ISAC pri rApi m 1 95%, pri rVes v 5 pa 91%. Testa se pri določitvi rApi m 1 ujemata v 86%, pri rVes v 5 v 91%. Rezultati za komponenti rApi m 1 in rVes m 1 so primerljivi z obema metodama. Diagnostična občutljivost rezultatov metode ISAC je pri rVes v 5 večja kot pri rApi m 1, diagnostična specifičnost pa je za obe komponenti visoka.

Pri metodi ImunnoCAP je večja analizna občutljivost testa, ker je na nitrocelularni podlagi visoka vezavna kapaciteta, na katero se vežejo alergeni v merski enoti miligram (mg). Molekula alergena je v presežku. Pri metodi ISAC so alergeni v pikogramih (pg), in sicer 100 pg alergena je imobiliziranega na eno točko čipa. Velikost točke je 200 µm. Pri testu ISAC je 10000-krat manjša količina vezanega alergena kot pri testu CAP 100 (37, 38).

#### **5.4.2 KLINIČNI VIDIK: LABORATORIJSKI IN KLINIČNI PODATKI**

Anamnestične podatke smo pridobili le za 22 oseb od 42, ki so bile pozitivne na alergen rApi m 1 in/ali rVes v 5. Samo ena oseba ima znano zgodovino pika kožekrilca, po kateri je imela veliko lokalno reakcijo. Za boljšo primerjavo med klinično izraženo alergijo in senzibilizacijo nastrup kožekrilcev, bi morali imeti klinične podatke za vse senzibilizirane preiskovance. Vsi preiskovanci niso bili obravnavani na Kliniki Golnik. Njihove vzorce so poslali tudi iz drugih zdravstvenih ustanov, zaradi česar je omejena dostopnost dokumentacije vseh preiskovancev.

#### **5.4.3 PRIMERJAVA S PODATKI V LITERATURI ZA DRUGE REGIJE V EVROPI**

V naši preiskovani skupini je senzibilizacija z alergenom navadne ose rVes v 5 14%, z alergenom rApi m 1 6%. V Sloveniji vsako leto umre ena oseba zaradi pika kožekrilcev, kar je 0,5 na 1.000.000 prebivalcev. To je primerljivo s podatki iz Španije, kjer na leto umre zaradi anafilaktičnega šoka po piku kožekrilcev 0,03-0,48 ljudi na 1.000.000

prebivalcev. V Španiji so velike lokalne reakcije (2,4%, 5,3%, 26,4%) pogosteje od sistemskih reakcij (0,3-7,5%). (28). V Italiji so leta 1989 opravili študijo, s katero so pri 269 preiskovancih preverjali senzibilizacijo z alergeni kožekrilcev (26%) in pojavnost sistemskih reakcij po piku kožekrilcev (3,3%) (43). Visok delež senzibilizacije je lahko posledica uporabljenih ekstraktov alergenov, pri katerih prihaja do navzkrižne reaktivnosti z ogljikohidratnimi determinantami. V Avstriji je ocenjeno, da je imelo sistemsko reakcijo po piku žuželk v splošni populaciji 0,3-7,5% ljudi, veliko lokalno alergijsko reakcijo pa 2,4-26,4%. Na alergene čebele in ose je senzibilizarane 27-41% splošne populacije v Avstriji (44).

Senzibilizacija oseb z alergeni strupa kožekrilcev se regionalno razlikuje zaradi različne klime, geografske lege, temperature in izpostavljenosti oseb. Za boljšo primerjavo bi morali naše podatke primerjati s podatki študij, ki bi na podoben ali isti način ocenili senzibilizacijo sstrupom kožekrilcev. Prav tako je pomembna populacija, na kateri določajo senzibilizacijo. Če se izvaja študija na skupini oseb, ki so bolj izpostavljene pikom žuželk, je prevalenca senzibilizacije višja kot v splošni populaciji.

Težko je oceniti, koliko ljudi je senzibiliziranih in koliko jih izraža simptome alergije. Za primerjavo senzibilizacije z različnimi alergeni, bi bila potrebno sistematično izbrati preučevano populacijo in jim določiti prisotna specifična protitelesa IgE z mikromrežo ISAC. Tu se pojavi vprašanje med uporabnostjo in ekonomskim vidikom izvajanja preiskav z mikromrežo. Na Kliniki Golnik je cena mikromreže za ZZZS in zunanje naročnike 152,17 EUR, cena določitve specifičnih protiteles IgE proti enemu alergenu pa 15 EUR. Brez napotnice je cena mikromreže 163,40 EUR, specifičnih protiteles IgE pa 16,50 EUR (45).

V naši študiji bi morali imeti še klinične podatke za vse preiskovance, da bi lahko povezali senzibilizacijo s kliničnim izražanjem alergije. V raziskovalne namene bi bilo zanimivo v različnih državah Evrope testirati populacijo ljudi z alergijami z mikromrežo ISAC. S tem bi pridobili profil senzibilizacije z najpogostejšimi alergeni v Evropi.

Potrebno je veliko znanja za interpretacijo izvida mikromreže ISAC. Lahko bi ga interpretirali s programom Allergenius. Allergenius je ekspertni sistem, ki služi kot podpora pri interpretaciji rezultatov, pridobljenih z mikromrežo ISAC. Sestavljen je iz treh

komponent: podatkovne baze znanja (podatki o komponentah alergenov, epidemiološki podatki), algoritma, ki deluje po več kot 700 pravilih, s katerimi podaja mnenja in sklepa namesto strokownjakov (povezave rezulatov mikromreže s klinično sliko, primarna senzibilizacija, navzkrižna reaktivnost, hkratna senzibilizacija več alergenov, predlogi terapije, razhajanja rezultatov mikromreže z drugimi rezultati testiranj alergij) in povezave z zunanjim svetom (lahko se vnesejo pacientovi klinični podatki, rezultati prejšnjih testiranj). Baza podatkov se lahko nadgrajuje brez vpliva na algoritem. Allergenius predstavlja potencial pri zahtevni interpretaciji velikega števila podatkov, ki jih dobimo z alergočipom. Njegove prednosti so hitrost, cena v primerjavi s plačilom strokownjakov, konsistentnost in sledljivost rezultatov. Ena izmed slabosti je, da nekatera pravila, ki jih je postavila določena skupina strokownjakov iz področja alergologije, niso splošno sprejeta. Zato je potrebno sistem konstantno nadgrajevati in posodabljati (15, 46).

Rezultate, pridobljene z metodo ISAC lahko interpretirajo samo izkušeni alergologi. Potrebno je imeti veliko znanja s področja alergologije, poznati pasti testa, značilnosti komponent alergenov in rezultate pravilno interpretirati. Mikromreža ISAC nam poda veliko količino podatkov, ki pa nam brez klinične slike ne povejo veliko. S podatki, pridobljenimi v naši študiji, smo zato le preverjali, katera specifična protitelesa IgE so prisotna v preiskovani populaciji.

## 6 SKLEP

Rezultati, ki smo jih pridobili z našo raziskavo, se ujemajo s podatki, objavljenimi v literaturi. Najpogostejsa je senzibilizacija z alergeni peloda trav (nCyn d 1, rPhl p 1, nPhl p 4). Med alergeni hrane je najpogostejsa senzibilizacija na alergene arašida (rAra h 2, nAra h 6, rAra h 1), soje (nGly m 6), jajčnega beljaka (nGal d 1, nGal d 2), oreha (rJug r 1, nJug r 2) in krapa (rCry c 1).

Visok delež senzibilizacije z alergenom čebele nApi m 1 in oreha nJug r 2 je prisoten zaradi navzkrižne reaktivnosti z nAna c 2 in nMUXF3.

Pogosto se hkrati pojavljata alergena peloda breze rBet v 1 in alergena breskve rPru p 1. Njuna navzkrižna reaktivnost je znana iz literature, pri kateri navajajo, da se klinično lahko izraža kot oralni alergijski sindrom.

Omejitve naše raziskave je pomanjkanje anamnestičnih podatkov za preiskovance, da bi lahko senzibilizacijo s specifičnimi protitelesi IgE povezali s klinično izraženimi simptomi.

Glede na dobljene podatke primerjave metode ImmunoCAP ISAC in ImmunoCAP, je diagnostična občutljivost rezultatov metode ISAC pri rVes v 5 (92%) večja kot pri rApi m 1 (75%), diagnostična specifičnost pa je pri obeh komponentah visoka (rApi m 1 (95%), rVes v 5 (91%)). Rezultati za komponenti rApi m 1 in rVes m 1 so primerljivi z obema metodama.

Avtorji v drugih študijah tudi opisujejo sistema za primerljiva, vendar primerljivosti ne moremo posploševati na vse alergene.

Senzibilizacija oseb z alergeni strupa kožekrilcev se regionalno razlikuje zaradi različne klime, geografske lege, temperature in izpostavljenosti oseb. Za boljšo primerjavo bi morali naše podatke primerjati s podatki študij, ki bi na podoben ali isti način ocenili senzibilizacijo sstrupom kožekrilcev.

## 7 LITERATURA

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. 8 ed: Elsevier:Saunders; 2014. p. 417-36.
2. Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, Černelč P, Koželj M, Andoljšek D, et al. Interna medicina. 4 ed. Ljubljana: Littera picta; Slovensko medicinsko društvo; 2011. p. 1188-217.
3. Vozelj M. Temelji imunologije. 1 ed. Ljubljana: DZS; 2000. p. 405-34.
4. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Kuby immunology. 6 ed. New York: W. H. Freeman; 2007. p. 361-78.
5. Hauser M, Roulias A, Ferreira F, Egger M. Panallergens and their impact on the allergic patient. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2010;6(1):1.
6. Opisi, indikacije in interpretacije imunoloških testov. Dostop: 26.8.2015. <http://www.imi.si/diagnosticna-dejavnost/o-diagnostiki/files/opisi-indikacije-in-interpretacije-imunoloskih-testov.pdf>.
7. NIJZ. Podatkovni portal. Dostop: 18.8.2015.
8. Treudler R, Simon JC. Overview of component resolved diagnostics. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013;13(1):110-7.
9. Košnik M, Korošec P. Uporaba rekombinantnih alergenov v diagnostiki alergijskih bolezni. Perioperativna anafilaksija; Medicinska fakulteta Ljubljana2013.
10. De Knop KJ, Bridts CH, Verweij MM, Hagendorens MM, De Clerck LS, Stevens WJ, et al. Component-resolved allergy diagnosis by microarray: potential, pitfalls, and prospects. *Adv Clin Chem*. 2010;50:87-101.
11. Deinhofer K, Sevcik H, Balic N, Harwanegg C, Hiller R, Rumpold H, et al. Microarrayed allergens for IgE profiling. *Methods*. 32. United States2004. p. 249-54.
12. Korošec P. Nove diagnostične metode in vitro. Nutritivna alergija; Domus Medica Ljubljana2012.
13. Accetta M. Alergija na hrano. *JAMA-SI*. 2010;18:151-3.
14. Allergen nomenclature. Dostop: 30.8.2015. <http://www.allergen.org>.
15. Allergenius. Dostop: 30.4.2016. <http://www.allergenius.it/new/index.php/en/general-concepts?id=9>.
16. Jeverica AK. Alergeni značilni za otroke, alergija za hrano pri otrocih. Nutritivna alergija; Domus Medica Ljubljana2012.

17. Directions for use ImmunoCAP ISAC sIgE 112 (originalna navodila proizvajalca, priložena k analiznemu kompletu). Phadia, Uppsala, Sweden2011.
18. Kopač P. Alergeni značilni za odrasle. Navzkrižnost alergenov, OAS. Zakaj nekateri nutritivni alergeni povzročajo lokalne, drugi pa sistemske reakcije. Nutritivna alergija; Domus Medica Ljubljana2012.
19. Ackerbauer D, Bublin M, Radauer C, Varga EM, Hafner C, Ebner C, et al. Component-resolved IgE profiles in Austrian patients with a convincing history of peanut allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2015;166(1):13-24.
20. Homšak M, Šilar M, Korošec P. Uporaba rekombinantnih alergenov v diagnostiki prehrambene alergije: arašidi. Nutritivna alergija; Domus Medica Ljubljana2012.
21. Asam C, Hofer H, Wolf M, Aglas L, Wallner M. Tree pollen allergens-an update from a molecular perspective. *Allergy.* 2015.
22. Krka. Brez alergije je življenje lepše. Dostop: 24.8.2015.  
[http://www.krka.si/media/doc/si/vsvz/2012/0565\\_alergija.pdf](http://www.krka.si/media/doc/si/vsvz/2012/0565_alergija.pdf).
23. ARSO. Cvetni prah v zraku. Dostop: 24.8.2015.  
[http://www.arso.gov.si/vreme/podnebje/Cvetni\\_prah.pdf](http://www.arso.gov.si/vreme/podnebje/Cvetni_prah.pdf).
24. Raulf M, Bergmann KC, Kull S, Sander I, Hilger C, Bruning T, et al. Mites and other indoor allergens - from exposure to sensitization and treatment. *Allergo J Int.* 2015;24(3):68-80.
25. ImmunoCAP allergen information. Dostop: 12.5.2015.  
<http://www.phadia.com/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-Allergen-Information/>.
26. Arruda LK, Barbosa MC, Santos AB, Moreno AS, Chapman MD, Pomes A. Recombinant allergens for diagnosis of cockroach allergy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014;14(4):428.
27. Alergija za pike žuželk. Dostop: 16.8.2015.
28. Marques L, Vega A, Munoz E, Moreno-Ancillo A. Epidemiologic observations on Hymenoptera allergy in Spain: the Alergologica-2005 study. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2009;19 Suppl 2:51-5.
29. Nieuwenhuizen NE, Lopata AL. Anisakis--a food-borne parasite that triggers allergic host defences. *Int J Parasitol.* 2013;43(12-13):1047-57.
30. Virtič Tšm, Bilban M. Alergija na lateks v zdravstvu = Latex allergy in health care. *Zdravniški vestnik.* 2012;81(11):str. 807-14.

31. Cabanes N, Igea JM, de la Hoz B, Agustin P, Blanco C, Dominguez J, et al. Latex allergy: Position Paper. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(5):313-30; quiz follow 30.
32. Chruszcz M, Mikolajczak K, Mank N, Majorek KA, Porebski PJ, Minor W. Serum albumins-unusual allergens. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(12):5375-81.
33. Leung NY, Wai CY, Shu S, Wang J, Kenny TP, Chu KH, et al. Current immunological and molecular biological perspectives on seafood allergy: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2014;46(3):180-97.
34. Liu JJ, Sturrock R, Ekramoddoullah AK. The superfamily of thaumatin-like proteins: its origin, evolution, and expression towards biological function. *Plant Cell Rep*. 2010;29(5):419-36.
35. Santos A, Van Ree R. Profilins: mimickers of allergy or relevant allergens? *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;155(3):191-204.
36. Allergome. Dostop: 30.4.2016. <http://www.allergome.org>.
37. Huss-Marp J, Gutermuth J, Schaffner I, Darsow U, Pfab F, Brockow K, et al. Comparison of molecular and extract-based allergy diagnostics with multiplex and singleplex analysis. *Allergo J Int*. 2015;24:46-53.
38. Ahlgrim C, Gutermuth J, Onell A, Borres MP, Schaffner I, Darsow U, et al. Comparison of Molecular Multiplex and Singleplex Analysis of IgE to Grass Pollen Allergens in Untreated German Grass Pollen-Allergic Patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25(3):190-5.
39. Incorvaia C, Mauro M, Ridolo E, Makri E, Montagni M, Ciprandi G. A Pitfall to Avoid When Using an Allergen Microarray: The Incidental Detection of IgE to Unexpected Allergens. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015;3(6):879-82.
40. Hamilton RG, Oppenheimer J. Serological IgE Analyses in the Diagnostic Algorithm for Allergic Disease. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015;3(6):833-40; quiz 41-2.
41. Bousquet J, Anto JM, Bachert C, Bousquet PJ, Colombo P, Crameri R, et al. Factors responsible for differences between asymptomatic subjects and patients presenting an IgE sensitization to allergens. A GA2LEN project. *Allergy*. 2006;61(6):671-80.
42. Villalta D, Conte M, Asero R, Da Re M, Stella S, Martelli P. Isolated IgE reactivity to native walnut vicilin-like protein (nJug r 2) on ISAC microarray is due to cross-reactive carbohydrate epitopes. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(10):1991-5.

43. Golden DB, Marsh DG, Kagey-Sobotka A, Freidhoff L, Szklo M, Valentine MD, et al. Epidemiology of insect venom sensitivity. *Jama*. 1989;262(2):240-4.
44. Sturm GJ, Kranzelbinder B, Schuster C, Sturm EM, Bokanovic D, Vollmann J, et al. Sensitization to Hymenoptera venoms is common, but systemic sting reactions are rare. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(6):1635-43.e1.
45. Cenik hospitalnih, ambulantnih, diagnostičnih in laboratorijskih storitev brez napotnice. Dostop: 12.5.2015. [http://www.klinika-golnik.si/bolniki-in-obiskovalci/datoteke/Cenik\\_ostalo\\_05\\_05\\_2016.pdf](http://www.klinika-golnik.si/bolniki-in-obiskovalci/datoteke/Cenik_ostalo_05_05_2016.pdf).46. Melioli G, Spenser C, Reggiardo G, Passalacqua G, Compalati E, Rogkakou A, et al. Allergenius, an expert system for the interpretation of allergen microarray results. *World Allergy Organization Journal*. 2014;7(1):1-9.

## 8 PRILOGE

### Priloga 1: SKUPINE ALERGENOV PO ISACU

Tabela 17: Alergeni hrane

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
jajčni beljak	nGal d 1	ovomukoid
	nGal d 2	ovalbumin
	nGal d 3	konalbumin/ovotransferin
jajčni rumenjak/piščanče meso	nGal d 5	livetin/serumski albumin
kravje mleko	nBos d 4	alfa-laktalbumin
	nBos d 5	beta-laktoglobulin
	nBos d 8	kazein
	nBos d laktoferin	transferin
krap	*rCyp c 1	parvalbumin
trska	rGad c 1	parvalbumin
kozice	nPen m 2	arginin kinaza
	nPen m 4	sarkoplazemski kalcij vezavni protein
indijski orešček	rAna o 2	shranjevalni protein, 11S globulin
brazilski orešček	rBer e 1	shranjevalni protein, 2S albumin
lešnik	nCor a 9	shranjevalni protein, 11S globulin
oreh	rJug r 1	shranjevalni protein, 2S albumin
	nJug r 2	shranjevalni protein, 7S globulin
sezamovo seme	nSes i 1	shranjevalni protein, 2S albumin
arašid	rAra h 1	shranjevalni protein, 7S globulin
	rAra h 2	shranjevalni protein, konglutin
	rAra h 3	shranjevalni protein, 11S globulin
	nAra h 6	shranjevalni protein, 2S albumin
	*nAra h 1	shranjevalni protein, 7S globulin
	*nAra h 2	shranjevalni protein, konglutin
	*nAra h 3	shranjevalni protein, 11S globulin
sojino zrnje	nGly m 5	shranjevalni protein, beta-konglicinin
	nGly m 6	shranjevalni protein, glicinin
ajda	nFag e 2	shranjevalni protein, 2S albumin
pšenica	*nTri a 18	aglutinin izolektin 1
	*nTri a gliadin	surovi gliadin
	rTri a 19.0101	omega-5 gliadin
	nTri a aA_TI	alfa-amilaza/inhibitor tripsina
kivi	nAct d 1	cisteinska proteaza
	nAct d 5	Kivelin

\*Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 18: Alergeni pelodov trav**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
prstasti pesjak	nCyn d 1	skupina trav 1
travniški mačji rep	rPhl p 1	skupina trav 1
	rPhl p2	skupina trav 2
	nPhl p 4	berberine bridge enzyme
	rPhl p 5	skupina trav 5
	rPhl p 6	skupina trav 6
	rPhl p 11	Ole e 1-soroden protein

**Tabela 19: Alergeni pelodov dreves**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
breza	rBet v 1	PR-10 protein
japonska kriptomerija	nCry j 1	pektat- liza
cipresa	nCup a 1	pektat-liza
oljka	*nOle e 1	common olive group 5
	rOle e 1	common olive group 5
	rOle e 9	beta-1,3-glukanaza
platana	rPla a 1	domnevni inhibitor invertaze
	nPla a 2	poligalakturonaza

\*Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 20: Alergeni pelodov plevelov**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
ambrožija	nAmb a 1	pektat liza
navadni pelin	nArt v 1	defenzin
bela metlika	rChe a 1	Ole e 1- soroden protein
navadna krišina	rPar j 2	lipidni prenašalni proteini (nsLTP)
trpotec	rPla l 1	Ole e 1- soroden protein
solinka	nSal k 1	pektin metilesteraza

**Tabela 21: Alergeni živali**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
pes	rCan f 1	lipokalin
	rCan f 2	lipokalin
	rCan f 5	arginin esteraza
konj	rEqu c 1	lipokalin
mačka	rFel d 1	uteroglobin
	rFel d 4	lipokalin
miš	nMus m 1	lipokalin

**Tabela 22: Alergeni plesni**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
Alternaria	rAlt a 1	kisli glikoprotein
	rAlt a 6	enolaza
Aspergillus	*rAsp f 2	fibrinogen vezavni protein
	*rAsp f 4	/
	rAsp f 1	družina mitogilina
	rAsp f 3	peroksisomalni protein
	rAsp f 6	Mn superoksid dismutaza
Cladosporium	rCla h 8	manitol dehidrogenaza

\*Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 23: Alergeni pršic**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
B. tropicalis (hišna pršica)	rBlo t 5	skupina pršic 5
D.farinae/moknati kožojed (hišna pršica)	nDer f 1	cisteinska proteaza
	rDerf 2	NPC2 družina
D.pteronyssinus/hišni kožojed (hišna pršica)	*nDer p 2	NPC2 družina
	nDer p 1	cisteinska proteaza
	rDer p 2	NPC2 družina
L.destructor/mrhovinarska pršica (skladiščna pršica)	rLep d 2	NPC2 družina
E. maynei (hišna pršica)	*rEur m 2	NPC2 družina

\*Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 24: Alergeni ščurka**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
ščurek	rBla g 1	skupina ščurkov 1
	rBla g 2	asparaginska proteaza
	rBla g 5	glutation S-transferaza
	*rBla g 4	lipokalin

\*Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 25: Alergeni kožekrilcev**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
čebela	*nApi m 1	fosfolipaza a2
	rApi m 1	fosfolipaza a2
	nApi m 4	melitin
poljska osa	rPol d 5	antigen 5
navadna osa	rVes v 5	antigen 5

\*Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 26: Alergeni parazitov**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
Anisakis gliste	rAni s 1	zaviralec serinske proteaze

**Tabela 27: Alergeni lateksa**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
Lateks	rHev b 1	rubber elongation factor
	rHev b 3	small rubber particle protein
	rHev b 5	kisli protein
	rHev b 6.01	prohevein

**Tabela 28: Navkrižno reaktivni alergeni - serumski albumin**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
kravje mleko/meso	nBos d 6	serumski albumin
pes	nCan f 3	serumski albumin
konj	nEqu c 3	serumski albumin
mačka	nFel d 2	serumski albumin

**Tabela 29: Navzkižno reaktivni alergeni - tropomiozin**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
Anisakis	rAni s 3	tropomiozin
ščurek	nBla g 7	tropomiozin
hišni kožojed	rDer p 10	tropomiozin
kozice	nPen m 1	tropomiozin
	*rPen a 1	tropomiozin
	*rPen i 1	tropomiozin

\*Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 30: Navzkrižno reaktivni alergeni - PR-10 protein**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
breza	rBet v 1	PR-10 protein
jelša	rAln g 1	PR-10 protein
pelod leske	rCor a 1.0101	PR-10 protein
lešnik	rCor a 1.0401	PR-10 protein
jabolko	rMal d 1	PR-10 protein
breskev	rPru p 1	PR-10 protein
soja	rGly m 4	PR-10 protein
arašid	rAra h 8	PR-10 protein
kivi	rAct d 8	PR-10 protein
*kivi	nAct d 8	PR-10 protein
zelena	rApi g 1	PR-10 protein
*korenje	*rDau c 1	PR-10 protein

\*Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 31: Navkrižno reaktivni alergeni - nespecifični lipidni prenašalni proteini**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
arašid	rAra h 9	nsLTP
lešnik	rCor a 8	nsLTP
oreh	nJug r 3	nsLTP
breskev	rPru p 3	nsLTP
pšenica	rTri a 14	nsLTP
navadni pelin	nArt v 3	nsLTP
pelod oljke	nOle e 7	nsLTP
platana	rPla a 3	nsLTP

**Tabela 32: Navzkrižno reaktivni alergeni - thaumatinu podobni proteini**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
kivi	nAct d 2	Taumatinu slični protein

**Tabela 33: Navzkrižno reaktivni alergeni - profilin**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
breza	rBet v 2	profilin
pelod oljke	*nOle e 2	profilin
lateks	rHev b 8	profilin
enoletni golšec	rMer a 1	profilin
travniški mačji rep	rPhl p 12	profilin

\* Alergeni določeni z ISAC 103

**Tabela 34: Navzkrižno reaktivni alergeni - CCD**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
bromelain	nMUXF3	CCD
	*nAna c 2	CCD

**Tabela 35: Navzkrižno reaktivni alergeni - polkalcin**

Naziv alergena	Koda alergena	Biološka funkcija
breza	rBet v 4	polkalcin
travniški mačji rep	rPhl p 7	polkalcin

(14)

## Priloga 2: POZITIVNI PREISKOVANCI

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 nCry j 1 nCup a 1 nPla a 2 nSal k 1 rAsp f 3	rDer f 2 nDer p 2 nApi m 1 rCor a 8 nPru p 3 rPru p 1 rBet v 2 nOle e 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	rPru p 1	nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 11 rBet v 1 rFel d 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 2 nDer p 1 rPru p 1	rPhl p 1 rFel d 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 2 nDer p 1 rPru p 1	nBos d lactoferrin nCyn d 1 nPhl p 4 nDer f 1 nCry j 1 nCup a 1 nOle e 1 nPla a 2 rPru p 1 nAna c 2	rDer f 2 /	rPru p 1	rPru p 1	/

11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
rPru p 1	/	rPru p 1	rBet v 1 rBet v 1 rCor a 1.0101	rPru p 1	rTri a 19.0101 nDer f 1 rAni s 3 nBla g 7 rDer p 10 rPen a 1 nPen i 1 nPen m 1 rPru p 1	/	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 nCup a 1 rFel d 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 2 nDer p 1 rPru p 1 rGly m 4	rPru p 1	rBet v 1 rBet v 1 rPru p 1

21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
/	nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 2 rBet v 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 2 nDer p 1 rBet v 1	rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rBet v 2 nOle e 2 rHev b 8	nCyn d 1 rPhl p 1 nCyn d 1 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 2 nArt v 1 rDer f 2 nDer p 2 nArt v 3 rBet v 2 nOle e 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	nAra h 3 nCyn d 1 nCyn d 1 rPhl p 4 rPhl p 2 nCry j 1 nPhl p 4 rPhl p 5 nOle e 1 nCup a 1 nOle e 1 nPla a 2 rBet v 1 nPla a 2 rCan f 1 rFel d 1 nApi m 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 2 nDer p 2 nDer p 1 rEur m 2 nApi m 1 nArt v 3 rPru p 1 nAna c 2	nAra h 2 rPhl p 5 nAra h 3 nPhl p 4 rPhl p 6 rPhl p 1 nPhl p 4 nOle e 1 nCry j 1 nDer f 1 nCup a 1 nOle e 1 nPla a 1 rDer f 2 nOle e 1 nPla a 2 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 2 nDer f 1 rEur m 2 nApi m 1 nArt v 3 rPru p 1 nAna c 2	nPhl p 4 nPhl p 5 nPhl p 4 nPhl p 4 rPhl p 11 rPhl p 5 nOle e 1 nCry j 1 nDer f 1 nCup a 1 rDer f 2 nDer p 2 rFel d 1 rAlt a 1 nDer f 1 rDer f 2 nAna c 2	nCor a 9 rPhl p 1 nPhl p 4 nPhl p 4 rPhl p 11 rPhl p 5 rBet v 1 rAIn g 1 nOle e 1 rCor a 1.0101 rCan f 1 rMal d 1 rPru p 1 rAra h 8 nAct d 2	nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 1 nOle e 1 rCor a 1.0101 rCan f 1 rMal d 1 rPru p 1 rAra h 8 nAct d 2	

31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
rPhl p 1	rCyp c 1	rAln g 1	rCyp c 1	rBet v 1	rTri a 19.0101	rPru p 1	/	rCyp c 1	rBet v 1
rPhl p 5	nCyn d 1	rCor a 1.0101	rAni s 3	nOle e 1	nCyn d 1			/	nCyn d 1
nOle e 1	rPhl p 1	rCor a 1.0401	nBla g 7	nArt v 1	nPhl p 4			rPhl p 1	rAln g 1
nDer f 1	rPhl p 2	rMal d 1	rDer p 10	nArt v 3	nOle e 1			rCor a 1.0101	rPhl p 2
rDer f 2	nPhl p 4	rPru p 1	nPen m 1	rBet v 1	nPla a 2			rCor a 1.0401	rPhl p 5
nDer p 2	rPhl p 5	rGly m 4	rPru p 1	rAln g 1	nApi m 1			rPhl p 2	rPhl p 6
nDer p 1	rPhl p 6	rAra h 8		rCor a 1.0101	rAni s 3			rPhl p 4	rBet v 1
rPru p 1	rPhl p 11	nAct d 8		rCor a 1.0401	nBla g 7			rPhl p 5	rPru p 1
	rBet v 1	rApi g 1		rMal d 1	rDer p 10			rPhl p 6	rGly m 4
	nOle e 1	nAct d 2		rPru p 1	rPen a 1			rPhl p 11	rAra h 8
	nPla a 2	rBet v 2		rGly m 4	nPen i 1			rBet v 1	nAct d 8
	rFel d 1	nOle e 2		rAra h 8	nPen m 1			nCup a 1	rApi g 1
	rAlt a 1	rHev b 8		rApi g 1	rPru p 1			nPla a 2	rDau c 1
	rClu h 8	rMer a 1			nAna c 2				
	rBet v 1	rPhl p 12							

41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	
/	/	rBet v 1 nPru p 3 rBet v 1 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 nAct d 2	nDer p 1	/	/	nGal d 1 nGal d 2 nBos d 4 nMus m 1 nBos d 5 nBos d 8 nCor a 9 nSes i 1 nAra h 2 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 rBet v 1	rCan f 2 rFel d 4 rPhl p 1 rPhl p 2 rPhl p 5 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 rAlt a 1 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 nAct d 2	/	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 nArt v 1

51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	
nCyn d 1 nPhl p 4 nCry j 1 nCup a 1 nOle e 1 nPla a 2 nApi m 1 nAna c 2	rBet v 1 rAsp f 6 rApi m 1 rBet v 1 rAIn g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8	/	nCyn d 1 rPhl p 1 nCry j 1 rPhl p 5 nArt v 1 nAmb a 1	rCyp c 1 nCyn d 1 nCup a 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 rBet v 1 nCup a 1 nPla a 2 rApi m 1	rBet v 1 rAIn g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rAct d 8 rApi g 1 rDau c 1	nJug r 2 nTri a aA_TI nCyn d 1 nPhl p 4 nCry j 1 nCup a 1 nOle e 1 nPla a 2 nSal k 1 nMUXF3	rBet v 1 rChe a 1 rCan f 5 rAsp f 6 rAra h 3 rBet v 1 nGly m 5 nGly m 6 rDer p 1 rGly m 4 rAra h 8	rJug r 1 rAra h 1 rAra h 2 rFel d 1 rAra h 3 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rBet v 1 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8	rCan f 5 /	

61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	
nAra h 6 rAra h 9 rCor a 8 nJug r 3 rPru p 3 rTri a 14 nArt v 3 nOle e 7 rPla a 3	nGal d 3 nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 6 rBet v 1 nCup a 1 nAmb a 1 rFel d 1 nDer f 1 rDer f 2	nDer p 1 rDer p 2 rBet v 1 rAIn g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rApi g 1	rBet v 2 nOle e 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	/	rBer e 1 nJug r 2 rPla l 1 rDer f 2 rDer p 2 rBet v 1 rAIn g 1 rPla a 2 rCor a 1.0101 rFel d 1 rAlt a 1 rPol d 5 rVes v 5 nAct d 2 nMuXF3	rBet v 1 rPla l 1 rDer f 2 rDer p 2 rHev b 8	nPhl p 4 rDer f 2 rDer p 2 rBet v 1 rAIn g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rAct d 8 rApi g 1	nGal d 1 nGal d 2 rJug r 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rCor d 1 rDer p 2 rDer p 1 rDer p 2 rLep d 2 rAra h 9 rCor a 8 nJug r 3 rPru p 3 nArt v 3 rPla a 3	nFag e 2 nPhl p 4 rVes v 5	

71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
nJug r 2 nCyn d 1 nPhl p 4	nGal d 3 nCyn d 1 rPhl p 1 rCan f 5 rDer f 2 rDer p 2	nJug r 2 rAra h 1 rLep d 2 rBet v 1 nArt v 1 rAra h 3 rAra h 6 nGly m 5 nGly m 6 nCyn d 1 nArt v 3 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 nCry j 1 nCup a 1 nPla a 2 rFel d 1 rAsp f 1	rBlo t 5 rPhl p 1 rBet v 1 nArt v 1 rHev b 1 rBet v 1 rAIn g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rPla a 3 rCor a 1.0401 rAra h 8 nAct d 2 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1	rCan f 5 rFel d 1 nDer f 1 rDer f 2 rDer p 2	nJug r 2 rTri a 19.0101 nCyn d 1 nBla g 7 rPhl p 1 rPhl p 2 nPen m 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rBet v 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rPla l 1 rFel d 1 nMus m 1	rBlo t 5 rAni s 3 nCyn d 1 nBla g 7 rDer p 10 rPhl p 2 nCup a 1 nArt v 3 rBet v 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rVes v 5 rHev b 8 rMer a 1	nJug r 2 nTri a aA_TI nCyn d 1 nBla g 7 rPhl p 4 nPhl p 4 nCup a 1 nOle e 1 nPla a 2 rApi m 1 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rVes v 5 rHev b 6.01 nMUXF3	nGal d 2 nBos d 4 nAra h 6 rCor a 8 nJug r 3 rPru p 3 rPhl p 2 rPhl p 6 rPhl p 5 rPla a 3 rPhl p 6 rPhl p 11 rBet v 1 rBet v 1 rAIn g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401	rCor a 8 nGal d 1 nJug r 3 nGal d 2 nGal d 3 rTri a 14 nBos d 5 nArt v 3 nOle e 7 nCor a 9 rJug r 1 nBos d 6 nCan f 3 nFel d 2

81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
/	/	/	rBet v 1 nOle e 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rApi m 1 rPol d 5 rVes v 5 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 5	nGal d 1 nGal d 2 rJug r 1 nJug r 2 nCyn d 1 nPhl p 4 nCry j 1 nCup a 1 nPla a 2 rAlt a 6 nBos d 6 rTri a 14 nAct d 2 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	rTri a 19.0101 /	/	/	/

91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	
rAlt a 1 nAct d 2	/	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 6 rBet v 1 nOle e 1 nArt v 1 rPla l 1 rFel d 1 nMus m 1 rAlt a 1 nDer f 1 rDer f 2	nDer p 1 rDer p 2 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMer a 1 rAln g 1	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 4 nDer f 1 nPhl p 4 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2	rMal d 1 rPru p 1 rPhl p 2 rGly m 4 rAra h 8 rPhl p 5 rAct d 8 rPhl p 6 rBet v 1 nJug r 3 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rPhl p 12	rPhl p 11 /	rBet v 1 nArt v 1 rPhl p 5 rAct d 8 rPhl p 6 rBet v 1 nJug r 3 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	/	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nArt v 1 rPhl p 2 rBet v 1 rBet v 1 nCry j 1 nCup a 1 nOle e 1 rChe a 1 rMal d 1 rPLa l 1 rCan f 5 rAsp f 1 rDer f 2	rDer p 2 rLep d 2 rVes v 5 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8

101	102	103	104	105	106	107	108	109	110
nGal d 3	rAlt a 6	nDer f 1	nSes i 1	nSes i 1	nCyn d 1	nJug r 2	nGal d 1	nJug r 2	nCyn d 1
nBos d lactoferrin	nDer f 1	nDer p 1	rAra h 9	nAra h 6	rPhl p 1	nTri a Aa_TI	rAna o 2	nTri a Aa_TI	rPhl p 1
rAna o 2	rDer f 2		rCor a 8	nCyn d 1	rPhl p 2	nCyn d 1	rBer e 1	nCyn d 1	nPhl p 4
rBer e 1	nDer p 1		nJug r 3	rPhl p 1	nPhl p 4	rPhl p 1	nCor a 9	rPhl p 1	rPhl p 5
rJug r 2	rVes v 5		rPru p 3	rPhl p 11	rPhl p 5	nPhl p 4	rJug r 1	rPhl p 2	rPhl p 6
nSes i 1	rHev b 1		rBet v 1	rPhl p 6	rPhl p 5	rAra h 2	nPhl p 4	rPhl p 11	rBet v 1
nGly m 6	rHev b 3	rPla a 3	nDer f 1	rPhl p 11	rPhl p 6	nAra h 6	rPhl p 5	rBet v 1	nOle e 1
nFag e 2	rHev b 6.01		nDer p 1	rBet v 1	rPhl p 11	nGly m 6	rPhl p 6	nOle e 1	rChe a 1
nCyn d 1	rAra h 9		rAra h 9	nCry j 1	rBet v 1	rBet v 19.0101	rPhl p 11	rCan f 1	rPla l 1
rPhl p 1	nJug r 3		rCor a 8	nCup a 1	nOle e 1	nAct d 1	rBet v 1	rCan f 5	rCan f 5
nPhl p 4	rPru p 3		nJug r 3	nPla a 2	nPhl a 2	rFel d 1	nCry j 1	nDer f 1	rFel d 1
rPhl p 5	nArt v 3		rPru p 3	nAmb a 1	rChe a 1	rAsp f 6	nCup a 1	rDer f 2	rAlt a 1
rPhl p 6	rPla a 3		rTri a 14	rChe a 1	nDer f 1	nBos d 6	nOle e 1	nDer p 1	rPol d 5
rBet v 1	rBet v 1		nArt v 3	rPla l 1	nDer p 1	rDer p 10	nPla a 2	rDer p 2	rVes v 5
nCry j 1	rAln g 1		nOle e 7	rFel d 1	rLep d 2	rAra h 9	rPla l 1	rBet v 1	rBet v 1
nCup a 1	rCor a 1.0101		rPla a 3	rDer f 2	rAra h 9	rPru p 3	nSal k 1	rAln g 1	rAln g 1
nOle e 1	rCor a 1.0401		rBet v 1	rDer p 2	nArt v 3		rEqu c 1	rCor a 1.0101	rCor a 1.0101
nPla a 2	rMal d 1		rAln g 1	rAni s 1	rBet v 1		rFel d 1	rCor a 1.0401	rCor a 1.0401
rCan f 1	rPru p 1		rCor a 1.0101	nPen m 1	rAln g 1		rPol d 5	rMal d 1	rMal d 1
rEqu c 1	rGly m 4		rCor a 1.0401	rAra h 9	rCor a 1.0101		rAni s 1	rPru p 1	rPru p 1
rFel d 1	rAra h 8		rMal d 1	nJug r 3	rCor a 1.0401		nBla g 7	rAra h 8	rGly m 4
rFel d 4	rAct d 8			rPru p 3	rMal d 1		rJug r 3	rApi g 1	rAra h 8
nMus m 1	nAct d 2			nOle e 7	rPru p 1		rBet v 1		nAct d 2
rAlt a 1				rBet v 1	rGly m 4		rAln g 1		
				rAln g 1	rAra h 8			rCor a 1.0101	
				rCor a 1.0101	rAct d 8			rCor a 1.0401	
				rCor a 1.0401	rApi g 1			rMal d 1	
				rMal d 1	nMUXF3			rPru p 1	
				rPru p 1				rGly m 4	
				rAra h 8				rAra h 8	
				rAct d 8				rAct d 8	
				rApi g 1				nMUXF3	
				rBet v 2					
				rHev b 8					
				rMer a 1					
				rPhl p 12					

111		112	113	114	115	116	117	118	119	120	
nGal d 1 nGal d 2 nGal d 3 nBos d 4 nCor a 9 rJug r 1 nSes i 1 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 rBet v 1 nArt v 1 rAct d 8 rChe a 1 rPla l 1 rFel d 1 rDer f 2 rDer p 2	rAra h 9 rCor a 8 nJug r 3 nArt v 3 nOle e 7 rPla a 3 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rAct d 8 rApi g 1 rHev b 8 rFel d 1 rMer a 1 rPhl p 12 nMUXF3	nJug r 2 nCyn d 1 nPhl p 4 nPla a 2 nMUXF3	rVes v 5	nJug r 2 nTri a aA_TI nCyn d 1 nPhl p 4 nCry j 1 nCup a 1 nOle e 1 nPla a 2 nSal k 1 rApi m 1 rPol d 5 rVes v 5 nMUXF3	rVes v 5	nFag e 2 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2	nGal d 1 nGal d 2 nGal d 3 nBos d 4 nBos d 5 nBos d 8 nBos d 6 rGad c 1 rAna o 2 nCor a 9 rAra h 1 rAra h 2 rAra h 3 nAra h 6 nGly m 6 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 rBet v 1 nCup a 1 nOle e 1 rOle e 9 rChe a 1 rCan f 1	rCan f 5 rEqu c 1 nGal d 1 nGal d 3 rBla g 5 nApi m 4 nBos d 8 nBos d 6 nCan f 3 nEqu c 3 nFel d 2 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rPhl p 1 rPhl p 2 rBet v 1 rAct d 8 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	nGal d 1 nGal d 2 nBos d 4 nBos d 5 nBos d 8 rPhl p 5 rPhl p 6 rAra h 9 rCor a 8 rPru p 3 nArt v 3	nBos d 4 nBos d 5 nBos d 8 rPhl p 5 rPhl p 6 rAra h 9 rCor a 1 rPhl p 12	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 rPhl p 5 rBet v 2 rMer a 1 rPhl p 12

121	122	123	124	125	126	127	128	129	130			
nPhl p 4 rFel d 1	/	/	rBet v 1 rFel d 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rBet v 1 rMal d 1	/	nGal d 1 nGal d 2 nBos d 4 nBos d 5 nBos d 8 nCor a 9 rJug r 1 nJug r 2 rAra h 2 nAra h 6 nCyn d 1 rPhl p 1 rBet v 1 rCan f 2	rEqu c 1 rFel d 4 rPhl p 1 rBlo t 5 rLep d 2 rPol d 5 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8	nJug r 2 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPla a 2 nDer f 1 rDer f 2 rDer p 2 rPol d 5 rPhl p 5 rPhl p 6 nCry j 1 nCup a 1	rVes v 5	rPol d 5 rVes v 5	nGal d 1 nGal d 2 nGal d 3 nBos d 5 nBos d 8 rBos e 1 nCor a 9 rJug r 1 nArt v 1 nBos d 6 nCan f 3 nFel d 2	rJug r 1 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rBer e 1 rCor a 9 rBet v 1 nAmb a 1 rFel d 1 rAlt a 1 rDer f 2	rDer p 2 rBet v 1 rAlng 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rAra h 8 rApi g 1 nAct d 2

131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
nGal d 1	nCor a 9	nJug r 2	nPen m 2	nJug r 2	rBet v 1	rPol d 5	nCyn d 1	nCyn d 1	nCyn d 1
nGal d 2	rJug r 1	nTri a aA_Tl	nJug r 2	nCyn d 1	rAln g 1		nPhl p 4	rPhl p 1	rPhl p 1
nBos d 8	rAra h 2	nCyn d 1	rAra h 2	rPhl p 1	rCor a 1.0101		nArt v 1	rPhl p 2	rPhl p 2
rBet v 1	nAra h 6	nPhl p 4	nCyn d 1	nPhl p 4	rCor a 1.0401		rVes v 5	nPhl p 4	nArt v 1
nOle e 1		rPhl p 5	rPhl p 1	rPhl p 5	rMal d 1		rAra h 9	rPhl p 5	nArt v 3
rDer f 2		nCry j 1	nPhl p 4	rPhl p 6	rPru p 1		nJug r 3	rPhl p 6	rBet v 2
rDer p 2		nCup a 1	rBet v 1	rPhl p 11	rGly m 4		nArt v 3	rHev b 8	rHev b 8
rBet v 1		nOle e 1	nCry j 1	rBet v 1	rAra h 8		nOle e 7	rCan f 1	rMer a 1
rCor a 1.0401		nPla a 2	nCup a 1	nCry j 1	rAct d 8				rPhl p 12
rMal d 1		nSal k 1	nOle e 1	nCup a 1	rApi g 1				
rPru p 1		rApi m 1	nPla a 2	nPla a 2					
		nMUXF3							

141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
nArt v 1	/	rDer f 2	rPhl p 1	nBos d lactoferrin	rDer f 2	/	rPhl p 1	nGal d 1	nCyn d 1
rVes v 5		rDer p 2	nArt v 1	rAna o 2	rDer p 2		rFel d 1	nBos d 4	rPhl p 1
nJug r 3				nCor a 9	rAni s 3			nBos d 5	rPhl p 2
rPru p 3				rJug r 1	nBla g 7			nBos d 8	nPhl p 4
nArt v 3				nJug r 2	rDer p 10			rEqu c 1	rPhl p 5
rPla a 3				rAra h 1	rPen m 1			rFel d 1	rPhl p 6
				nGly m 5	rAra h 9			nOle e 1	nOle e 1
				nGly m 6	rCor a 8			nArt v 1	nArt v 1
				nAct d 1	nJug r 3			rFel d 1	rFel d 1
				nCyn d 1	nArt v 3			rBet v 2	rBet v 2
				rPhl p 1	rPla a 3			rHev b 8	rHev b 8
				rPhl p 2	rBet v 1			rMer a 1	rMer a 1
				nPhl p 4	rAln g 1				rPhl p 12
				rPhl p 6	rCor a 1.0101				
				rPhl p 11	rCor a 1.0401				
				rBet v 1	rMal d 1				
				nCry j 1	rPru p 1				
				nCup a 1	rGly m 4				
				nOle e 1	rAra h 8				
				nPla a 2	rAct d 8				
				rFel d 1	rApi g 1				
				nDer f 1	rBet v 2				
				nMUXF3					

151	152	153	154	155	156	157	158	159	160
nBos d 8	/	nPhl p 4	rBet v 1	rPol d 5	nArt v 1	nGal d 1	nPhl p 4	rCan f 1	nCyn d 1
nJug r 2			rBet v 1	rVes v 5	rFel d 1	rAna o 2	rPol d 5		rPhl p 1
nCyn d 1			rAln g 1		nMus m 1	nCor a 9	rVes v 5		rPhl p 2
rPhl p 1			rCor a 1.0101			rJug r 1			nPhl p 4
nPhl p 4			rCor a 1.0401			rAra h 1			rPhl p 5
rPhl p 5			rMal d 1			rAra h 2			rPhl p 6
rPhl p 6			rPru p 1			rAra h 3			rPhl p 11
rBet v 1			rGly m 4			nAra h 6			nPla a 2
nCry j 1			rAra h 8			nGly m 5			rPla l 1
nOle e 1			rAct d 8			nGly m 6			rEqu c 1
nPla a 2						rPhl p 1			rFel d 1
rCan f 5						rFel d 1			nDer f 1
rFel d 1						nDer f 1			rDer f 2
rApi m 1						rDer f 2			nDer p 1
nBos d 6						rDer p 2			rDer p 2
nBla g 7						rLep d 2			rLep d 2

161	162	163	164	165	166	167	168	169	170
/	nJug r 2	nBos d lactoferrin	rPhl p 1	/	nGal d 1	nGal d 2	nGal d 1	nCyn d 1	nOle e 1
	nCyn d 1	nJug r 2	rBet v 1		nGal d 3	nBos d 4	nGal d 2	nDer f 1	nDer f 1
	nPhl p 4	nTri a aA_TI	nOle e 1		nGal d 5	rAna o 2	rPhl p 1	rPhl p 2	rDer f 2
	nCry j 1	nAct d 1	rDer f 2		nBos d lactoferrin	rJug r 1		nPhl p 4	nDer p 1
	nCup a 1	nCyn d 1	rDer p 2		rAna o 2			rPhl p 5	rDer p 2
	nOle e 1	rPhl p 1	rBet v 1		nSes i 1			rBet v 1	
	nPla a 2	nPhl p 4	rAln g 1		rAra h 3			nOle e 1	
	rDer f 2	rPhl p 5	rCor a 1.0101		nGly m 5			rBet v 1	
	nMUXF3	rPhl p 6	rCor a 1.0401		rBet v 1			rAln g 1	
		rBet v 1	rMal d 1		rFel d 1			rCor a 1.0101	
		nCup a 1	rPru p 1		rFel d 4			rCor a 1.0401	
		nOle e 1	rAra h 8		nBos d 6			rMal d 1	
		nPla a 2			nCan f 3			rPru p 1	
		rAlt a 1			rAra h 9			rGly m 4	
		rPru p 3			nJug r 3			rAra h 8	
		rTri a 14			nArt v 3			rBet v 2	
		nArt v 3						rHev b 8	
		rBet v 1						rMer a 1	
		rCor a 1.0401						rPhl p 12	
		rMal d 1						nMUXF3	
		rPru p 1							

171	172	173	174	175	176	177	178	179	180
nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 rPhl p 5 nAmb a 1 rFel d 1	nJug r 2 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rBet v 1 nArt v 3 nCry j 1 nCup a 1 nPla a 2 nArt v 1 rFel d 1 rFel d 4 nDer f 1 nDer f 2 nDer p 1 nDer p 2 rPol d 5	rAra h 9 rCor a 8 nJug r 3 nCyn d 1 nPhl p 4 rTri a 14 nArt v 3 nOle e 7 nCup a 3 rPla a 3 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rAra h 8 rAct d 8 nAct d 2	nJug r 2 nTri a aA_TI nCyn d 1 nPhl p 4 nCry j 1 nCup a 1 nPla a 2 nSal k 1 rApi m 1 rPol d 5 rVes v 5 nAct d 2 nMUXF3	rAna o 2 rAra h 3 nAra h 6 nGly m 6 rBet v 1 rApi m 1 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rGly m 4 rAra h 8	nArt v 1	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 rBet v 1 rPla l 1 rAlt a 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 nAct d 2 rBet v 1	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rBet v 1 nArt v 1 rPla l 1 rCan f 5 rFel d 1 rAsp f 1 rDer f 2 rDer p 2 rBet v 1	/	/

181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	
rPhl p 1 rPhl p 5 rPhl p 11 rBet v 1 nOle e 1 nArt v 1 rCan f 5 rFel d 1 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1	/	/	/	rPhl p 1 nArt v 1 rFel d 1 rDer f 2 rDer p 2 rLep d 2 rApi m 1	rAna o 2 rAra h 1 rAra h 2 rAra h 3 rAra h 6 nGly m 6 rDer f 2 rDer p 2 nApi m 4	rAra h 2 nAra h 6 nDer p 1 rDer p 2 rPhl p 1 rPhl p 2 rPhl p 6 rBet v 1 nOle e 1 nPla a 2 nArt v 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rEqu c 1 rFel d 1 rFel d 4 nMus m 1 nDer f 1	rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rPhl p 10 rAra h 9 rCor a 8 rPru p 3 rPhl p 5 rPhl p 6 rBet v 1 rAra h 1 rAra h 3 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rApi g 1	rAni s 3 nBla g 7 rDer p 10 nPen m 1	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 5 nPhl p 4 rPhl p 6 rPhl p 1 nCup a 1 rCan f 1 rCan f 5 rEqu c 1 rFel d 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 4 rBet v 1 nArt v 1 rPla l 1 rCan f 5 rFel d 1 rAsp f 1 rDer f 2 rDer p 2 rBet v 1

191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
rAra h 1	nGal d 2	/	nCyn d 1	rGad c 1	nDer f 1	nCry j 1	nBos d 4	/	rBet v 1
rAra h 2	nOle e 1		rPhl p 1	nPen m 2	rDer f 2	nCup a 1			rAra h 9
nAra h 6	rFel d 1		rPhl p 2	nCyn d 1	nDer p 1	nPla a 2			rPhl p 1
nGly m 5	rBet v 2		rPhl p 5	rPhl p 1	rDer p 2	rCan f 5			rCor a 8
	rHev b 8		rBet v 1	rPhl p 2	rBla g 1	rAra h 9			nPhl p 4
	rMer a 1		nCup a 1	nPhl p 4	rBla g 5	rHev b 6.01			nJug r 3
			nDer f 1	rPhl p 5	rCor a 8	rBet v 1			rBet v 1
			rDer f 2	rPhl p 6	rHev b 6.01	rPru p 3			rPru p 3
			nDer p 1	rBet v 1	rAln g 1	rTri a 14			rTri a 14
			rDer p 2	nAmb a 1	rCor a 1.0101	nArt v 3			rEqu c 1
			rBet v 1	rChe a 1	rCor a 1.0401	rPla a 3			nArt v 3
			rAln g 1	rPla l 1	rMal d 1	rBet v 1			rBet v 1
			rCor a 1.0101	rCan f 2	rPru p 1	rTri a 14			rAln g 1
			rCor a 1.0401	rCan f 5	rGly m 4	nArt v 3			rCor a 1.0101
			rMal d 1	rFel d 1	rAra h 8	rPla a 3			rCor a 1.0401
			rPru p 1	rAlt a 6	rAct d 8	rMal d 1			rMal d 1
			rAra h 8	rBlo t 5	rApi g 1	rPru p 1			rPru p 1
									rAra h 8
									nMUXF3

201	202	203	204	205	206	207	208	209	210
nJug r 2	/	nGal d 1	rCan f 5	/	nCyn d 1	nJug r 2	/	rBet v 1	rBet v 1
nCyn d 1		nGal d 2	rAsp f 6		rPhl p 1	nCyn d 1		nOle e 1	rBet v 1
rPhl p 1		nGal d 3	rHev b 6.01		nPhl p 4	rPhl p 1		rBet v 1	rAln g 1
nPhl p 4		nBos d 4	nBos d 6		rPhl p 11	nPhl p 4		rAln g 1	rCor a 1.0101
rPhl p 5		nBos d 5	nCan f 3		rBet v 1	rPhl p 5		rCor a 1.0101	rCor a 1.0401
rBet v 1		nBos d 8	nEqu c 3		nOle e 1	nCry j 1		rCor a 1.0401	rMal d 1
nCry j 1		rGad c 1	nFel d 2		rPla l 1	nCup a 1		rMal d 1	rPru p 1
nCup a 1		rAna o 2	rTri a 14		rCan f 5	nOle e 1		rPru p 1	rGly m 4
nOle e 1		rBer e 1	rBet v 1		rBet v 1	nPla a 2		rAra h 8	rAra h 8
nPla a 2		nCor a 9	rAln g 1		rAln g 1	rBet v 2			
rFel d 1		rJug r 1	rCor a 1.0101		rCor a 1.0101	rHev b 8			
rCor a 8		rAra h 1	rCor a 1.0401		rCor a 1.0401	rMer a 1			
nJug r 3		rAra h 2	rMal d 1		rMal d 1	rPhl p 12			
nArt v 3		rAra h 3	rPru p 1		rPru p 1	nMUXF3			
rBet v 1		nAra h 6	rGly m 4		rGly m 4				
rAln g 1		nGly m 6	rAra h 8		rAra h 8				
rCor a 1.0401		nAct d 1	rAct d 8		rAct d 8				
rMal d 1		nCyn d 1	rApi g 1		rBet v 4				
rPru p 1		rPhl p 1	rBet v 2		rPhl p 7				
nMUXF3		rPhl p 5	rHev b 8						
		rPhl p 6	rMer a 1						
		rBet v 1							

211	212	213	214	215	216	217	218	219	220		
/	nCyn d 1 rPhl p 1	rAra h 1 rAra h 2 rAra h 3 nAra h 6 nGly m 5 nGly m 6 rPhl p 1 rFel d 1 nApi m 4 rPol d 5 rVes v 5 nPen m 1	nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rBet v 1 nAct d 2 nPla a 2 rAlt a 1 nDer f 1 nDer p 1	rBet v 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rAct d 2 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	rFel d 1	nAct d 2	nCyn d 1 rPhl p 1 rBet v 1 nOle e 1 nArt v 1 rBet v 1 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rAct d 8 rApi g 1	nBos d lactoferrin nPhi p 4 rPhl p 11 nPla a 2 rVes v 5	nGal d 2 nBos d 4 nBos d 5 nBos d 8 rAna o 2 nCor a 9 rJug r 1 rAra h 1 rAra h 3 nGly m 5 nGly m 6 nTri a aA_TI nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 rBet v 1 rCup a 1 rChe a 1 rPla l 1	rAsp f 6 nBos d 6 rAra h 9 nJug r 3 rPru p 3 rTri a 14 nArt v 3 nOle e 7 rPla a 3 rBet v 1 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12 nMUXF3	/

221	222	223	224	225	226	227	228	229	230
nPen m 2	nGal d 1	nCup a 1	rAra h 1	nGal d 1	rBlo t 5	nEqu c 3	nCyn d 1	rBet v 1	nGal d 1
rBet v 1	nGal d 2	rOle e 9	rAra h 2	nGal d 2	nDer f 1		rFel d 1	rVes v 5	nGal d 3
rBlo t 5	nGal d 3	nPla a 2	nAra h 6	nGal d 3	rDer f 2		rBet v 1	rGad c 1	rGad c 1
nDer f 1	nBos d 4	rCan f 1	nGly m 5	nBos d 4	nDer p 1		rPhl p 1	rAln g 1	nAct d 1
nDer p 1	nBos d 5	rFel d 1	nGly m 6	nBos d 5	rDer p 2		rPhl p 5	rAln g 1	nAct d 1
rDer p 2	nBos d 8	rBlo t 5	nPhl p 4	nBos d 8	rLep d 2		rPhl p 6	rCor a 1.0101	nCyn d 1
rBet v 1	d nBos	nDer f 1	rBet v 1	nBos d lactoferrin	rBla g 2			rCor a 1.0401	rPhi p 1
rAln g 1	lactoferrin	rDer f 2	rCan f 1	rGad c 1	nBos d 6			rCor a 1.0401	rPhi p 1
rCor a 1.0101	nCor a 9	nDer p 1	rFel d 1	nPen m 4	nCan f 3			rCor a 1.0401	rPhi p 2
rCor a 1.0401	nJug r 2	rDer p 2	rAra h 9	nCor a 9	nEqu c 3			rCor a 1.0401	rPhi p 2
rPru p 1	rAra h 1	rBla g 2	rCor a 8	rJug r 1	nFel d 2			rCor a 1.0401	rPhi p 4
rGly m 4	rAra h 2	rBla g 5	nJug r 3	nJug r 2	nBla g 7			rCor a 1.0401	rPhi p 5
rAra h 8	rAra h 3	rVes v 5	rPru p 3	nSes i 1	rDer p 10			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	nAra h 6	nBos d 6	rTri a 14	nGly m 6	rAra h 9			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	nGly m 5	nCan f 3	nArt v 3	nFag e 2	rCor a 8			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	nGly m 6	rPru p 3	rPla a 3	rTri a 19.0101	nJug r 3			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	nTri a aA_TI	rBet v 1	rBet v 1	nTri a aA_TI	rPru p 3			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	nAct d 1	rAln g 1	rAln g 1	nAct d 1	rTri a 14			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	nCyn d 1	rCor a 1.0101	rCor a 1.0101	nCyn d 1	nArt v 3			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	rPhl p 1	rCor a 1.0401	rCor a 1.0401	nPhl p 4	nOle e 7			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	nPhl p 4	nMUXF3	rMal d 1	rOle e 1	1.0401			rCor a 1.0401	rPhi p 5
	rBet v 1		rPru p 1	nPla a 2	nAct d 2			rCor a 1.0401	rPhi p 5
			rAra h 8	rPla a 1	rBet v 2			rCor a 1.0401	rPhi p 5
			rApi g 1	rCan f 1	rHev b 8			rCor a 1.0401	rPhi p 5
			nMUXF3	rFel d 1	rMer a 1			rCor a 1.0401	rPhi p 5
				rAlt a 1	rPhl p 12			rCor a 1.0401	rPhi p 5
					nMUXF3			rCor a 1.0401	rPhi p 5

231	232	233	234			235	236		237	238	239	240	
/	nGal d 1 nGal d 2 nGal d 3 nBos d 4 nBos d 5 nBos d 8 nTri a aA_TI rPhl p 1 rFel d 1 nDer f 1 nDer p 1 nBos d 6 nCan f 3 nEqu c 3 nFel d 2 rTri a 14	/	nGal d 1 nGal d 2 nGal d 3 nBos d 4 nBos d 5 nBos d 8 nBos d lactoferrin nPen m 2 rAna o 2 rBer e 1 nCor a 9 rJug r 1 nJug r 2 nSes i 1 rAra h 1 rAra h 2 rAra h 3 nAra h 6	nGly m 5 nGly m 6 nFag e 2 nIn a aA TI nAct d 1 nCry d 1 nBos d 100 nPhl p 4 nPhl p 4 nCup a 1 rOle e 1 nPla a 2 nAmb a 1 nArt v 1 rPar j 2 nSal k 1 rEqu c 1	rFel d 4 nMus m 1 rAlt a 6 rAsp f 6 nDer f 1 nDer p 1 rPhl p 1 nApi m 4 nPhl p 4 nCup a 1 nCan f 3 nEqu c 3 nBos d 6 nBla g 7 nPla a 2 nArt v 1 rCor a 8 nJug r 3	rPru p 3 rTri a 14 rArt v 3 rOle e 7 rPla a 3 rBet v 1 rAln g 1 rHev b 6.01 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rDer p 2	/	nJug r 2 nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rBet v 1 nCry j 1 nCup a 1 nPla a 2 nArt v 1 rDer f 2 rGly m 4	rLep d 2 rVes v 5 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rAra h 8 nMuXF3	rPhl p 5 rVes v 5 rBet v 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rPol d 5 rVes v 5	rAra h 2	/	rTri a 19.0101 rCan f 1 rCan f 2 rCan f 5 rFel d 1 rFel d 4 rDer f 2 nCan f 3

241	242	243	244	245	246	247	248	249	250		
nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rBet v 1 rOle e 1 rFel d 1 rAlt a 1 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0401 rCor a 1.0401 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	rPhl p 1 rPhl p 2 rPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rBet v 1 rBet v 1 rOle e 1 rFel d 1 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rAra h 8	nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 11 rOle e 1 rChe a 1	/	nGal d 1 nGal d 2 nBos d 4 nBos d 5 nBos d 8 nCor a 9 rAra h 1 rAra h 2 nAra h 6 nGly m 6 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rAct d 8 rBet v 1 rOle e 1 rOle e 9 rCan f 1 rCan f 5 rEqu c 1	rFel d 1 nApi m 4 rBos d 6 nCan f 3 rFel d 2 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rPhl p 11 rOle e 1 rChe a 1 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12 nMuXF3	nCyn d 1 rAlt a 1 rDer f 2 rDer p 2 rLep d 2 nAct d 2	nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 rOle e 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rGly m 4 rPhl p 11 rOle e 1 rChe a 1 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12 nMuXF3	nGly m 6	nCup a 1 rCor a 8 rPhl p 1 nJug r 3 rPhl p 2 rPru p 3 rPhl p 4 nArt v 3 rPhl p 5 rPla a 3 nAct d 2	nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 2 rPhl p 3 rPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 7 rPhl p 8 rPhl p 9 rPhl p 10 rPhl p 11 rPhl p 12 rPhl p 13 rPhl p 14 rPhl p 15 rPhl p 16 rPhl p 17 rPhl p 18 rPhl p 19 rPhl p 20 rPhl p 21 rPhl p 22 rPhl p 23 rPhl p 24 rPhl p 25 rPhl p 26 rPhl p 27 rPhl p 28 rPhl p 29 rPhl p 30 rPhl p 31 rPhl p 32 rPhl p 33 rPhl p 34 rPhl p 35 rPhl p 36 rPhl p 37 rPhl p 38 rPhl p 39 rPhl p 40 rPhl p 41 rPhl p 42 rPhl p 43 rPhl p 44 rPhl p 45 rPhl p 46 rPhl p 47 rPhl p 48 rPhl p 49 rPhl p 50 rPhl p 51 rPhl p 52 rPhl p 53 rPhl p 54 rPhl p 55 rPhl p 56 rPhl p 57 rPhl p 58 rPhl p 59 rPhl p 60 rPhl p 61 rPhl p 62 rPhl p 63 rPhl p 64 rPhl p 65 rPhl p 66 rPhl p 67 rPhl p 68 rPhl p 69 rPhl p 70 rPhl p 71 rPhl p 72 rPhl p 73 rPhl p 74 rPhl p 75 rPhl p 76 rPhl p 77 rPhl p 78 rPhl p 79 rPhl p 80 rPhl p 81 rPhl p 82 rPhl p 83 rPhl p 84 rPhl p 85 rPhl p 86 rPhl p 87 rPhl p 88 rPhl p 89 rPhl p 90 rPhl p 91 rPhl p 92 rPhl p 93 rPhl p 94 rPhl p 95 rPhl p 96 rPhl p 97 rPhl p 98 rPhl p 99 rPhl p 100 rPhl p 101 rPhl p 102 rPhl p 103 rPhl p 104 rPhl p 105 rPhl p 106 rPhl p 107 rPhl p 108 rPhl p 109 rPhl p 110 rPhl p 111 rPhl p 112 rPhl p 113 rPhl p 114 rPhl p 115 rPhl p 116 rPhl p 117 rPhl p 118 rPhl p 119 rPhl p 120 rPhl p 121 rPhl p 122 rPhl p 123 rPhl p 124 rPhl p 125 rPhl p 126 rPhl p 127 rPhl p 128 rPhl p 129 rPhl p 130 rPhl p 131 rPhl p 132 rPhl p 133 rPhl p 134 rPhl p 135 rPhl p 136 rPhl p 137 rPhl p 138 rPhl p 139 rPhl p 140 rPhl p 141 rPhl p 142 rPhl p 143 rPhl p 144 rPhl p 145 rPhl p 146 rPhl p 147 rPhl p 148 rPhl p 149 rPhl p 150 rPhl p 151 rPhl p 152 rPhl p 153 rPhl p 154 rPhl p 155 rPhl p 156 rPhl p 157 rPhl p 158 rPhl p 159 rPhl p 160 rPhl p 161 rPhl p 162 rPhl p 163 rPhl p 164 rPhl p 165 rPhl p 166 rPhl p 167 rPhl p 168 rPhl p 169 rPhl p 170 rPhl p 171 rPhl p 172 rPhl p 173 rPhl p 174 rPhl p 175 rPhl p 176 rPhl p 177 rPhl p 178 rPhl p 179 rPhl p 180 rPhl p 181 rPhl p 182 rPhl p 183 rPhl p 184 rPhl p 185 rPhl p 186 rPhl p 187 rPhl p 188 rPhl p 189 rPhl p 190 rPhl p 191 rPhl p 192 rPhl p 193 rPhl p 194 rPhl p 195 rPhl p 196 rPhl p 197 rPhl p 198 rPhl p 199 rPhl p 200 rPhl p 201 rPhl p 202 rPhl p 203 rPhl p 204 rPhl p 205 rPhl p 206 rPhl p 207 rPhl p 208 rPhl p 209 rPhl p 210 rPhl p 211 rPhl p 212 rPhl p 213 rPhl p 214 rPhl p 215 rPhl p 216 rPhl p 217 rPhl p 218 rPhl p 219 rPhl p 220 rPhl p 221 rPhl p 222 rPhl p 223 rPhl p 224 rPhl p 225 rPhl p 226 rPhl p 227 rPhl p 228 rPhl p 229 rPhl p 230 rPhl p 231 rPhl p 232 rPhl p 233 rPhl p 234 rPhl p 235 rPhl p 236 rPhl p 237 rPhl p 238 rPhl p 239 rPhl p 240 rPhl p 241 rPhl p 242 rPhl p 243 rPhl p 244 rPhl p 245 rPhl p 246 rPhl p 247 rPhl p 248 rPhl p 249 rPhl p 250	

251	252	253	254	255	256	257	258	259	260
nGal d 2	nJug r 2	nJug r 2	nGal d 1	nMus m 1	nCyn d 1	rAra h 1	nJug r 2	nGal d 2	nCyn d 1
nCry j 1	nCyn d 1	nCyn d 1	nGal d 2	rBlo t 5	rPhl p 1	rAra h 2	nAct d 1	nBos d 4	rPhl p 1
nCup a 1	nPhl p 4	rPhl p 1	nGal d 3	nDer f 1	rPhl p 2	nAra h 6	nCyn d 1	rAna o 2	rPhl p 2
rOle e 1	rPru p 1	nPhl p 4	rPhl p 2	nBos d 4	rDer f 2	rPhl p 11	nGly m 5	nCor a 9	nPhl p 4
rOle e 9	nMUX F3	rBet v 1	nPhl p 4	nBos d 5	nDer p 1	rBet v 1	nGly m 6	rBet v 1	rPhl p 5
rPar j 2	nCry j 1	rPhl p 5	nBos d 8	rDer p 2	rFel d 1	nCyn d 1	nCry j 1	rAra h 1	rPhl p 11
rCan f 2	nCup a 1	rPhl p 6	nCor a 9	rLep d 2	nDer f 1	rPhl p 1	nCup a 1	nGly m 6	rBet v 1
rEqu c 1	nPla a 2	rPhl p 11	rJug r 1	nBos d 6	rDer f 2	rPhl p 2	rOle e 1	nTri a aA_TI	rOle e 1
rFel d 1	rFel d 1	nPla a 2	nJug r 2	nCan f 3	nDer p 1	nPhl p 4	nPla a 2	rChe a 1	rCan f 1
rFel d 4	rBet v 1	rFel d 1	nCyn d 1	nFel d 2	rDer p 2	rPhl p 5	nSal k 1	rCan f 2	rCan f 2
nMus m 1	rAln g 1	nDer f 1	rPhl p 1	rPru p 3	rLep d 2	rPhl p 6	rAsp f 6	rFel d 1	rFel d 1
rAlt a 1	rCor a 1.0101	nDer p 1	rPhl p 2	rBet v 1	rBet v 1	rBet v 1	nDer f 1	rAlt a 1	nDer f 1
rAsp f 6	rCor a 1.0401	nMUXF3	nPhl p 4	rAln g 1	rAln g 1	nAmb a 1	rDer f 2	rDer f 2	rDer f 2
rVes v 5	rMal d 1	rPhl p 5	rCor a 1.0101	rCor a 1.0101	rCor a 1.0101	rCan f 1	nDer p 1	rDer p 1	nDer p 1
rHev b 5	rPru p 1	rPhl p 6	rCor a 1.0401	rCor a 1.0401	rFel d 1	rDer p 2	rDer p 2	nDer p 1	nDer p 1
rPru p 3	rGly m 4	rBet v 1	rMal d 1	rPru p 1	rFel d 4	rLep d 2	rFel d 2	rDer p 2	rDer p 2
	rAra h 8	rOle e 9	rPru p 1	rAra h 8	rBlo t 5	rApi m 1	rPol d 5	rBet v 1	rBet v 1
	rAct d 8	rPar j 2	rGly m 4	rAra h 8	nDer f 1	rDer f 2	rVes v 5	rAln g 1	rAln g 1
	rApi g 1	rPla l 1	rAra h 8	rAct d 8	rAct d 8	nDer p 1	rBet v 1	rCor a 1.0101	rCor a 1.0401
	nMUF3	nSal k 1	rCan f 1	rCan f 1	rApi g 1	rDer p 1	rAln g 1	rMal d 1	rMal d 1
		rCan f 2	rCan f 2	nMUXF3	rFel d 4	rBet v 1	rCor a 1.0401	rPru p 1	rPru p 1
		rEqu c 1	rEqu c 1			rAln g 1	rCor a 1.0401	rGly m 4	rGly m 4
		rFel d 4	rFel d 4			rDer p 2	rMal d 1	rAct d 8	rAct d 8
						rBet v 2	rPru p 1	rGly m 4	rGly m 4
						rHev b 8	rAct d 8	rApi g 1	rApi g 1
						rAra h 8	rAra h 8	nMUXF3	nMUXF3
						rApi g 1	rBet v 2	rMer a 1	rMer a 1
						rBet v 2	rHev b 8	rPhl p 12	rPhl p 12

271	272	273	274	275	276	277	278	279	280
nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 rFel d 1 rHev b 8 rMer a 1	nBos d lactoferrin nJug r 2 nCyn d 1 nCyn d 1 nPhl p 4 nPhl p 4 nCry j 1 nCup a 1 nPla a 2 rPol d 5 rVes v 5 rPru p 1 nMUXF3	nJug r 2 nCyn d 1 rFel d 4 rPhl p 1 nMus m 1 rPhl p 2 rAsp f 6 rDer f 2 rDer p 2 nPen m 1 rPhl p 11 rBet v 1 rAIn g 1 rCor a 1.0101 nCup a 1 rOle e 1 rOle e 9 nPla a 2 nAmb a 1 rPla l 1 rCan f 1 rCan f 2 rCan f 5 rEqu c 1	rPhl p 1 rPhl p 5 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 5 rOle e 1 rOle e 1 nArt v 1 rEqu c 1 nMus m 1 rDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 rAct d 8 rApi g 1 rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12	rBer e 1 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 1 rPhl p 1 rOle e 1 rOle e 1 nArt v 1 rEqu c 1 nMus m 1 nDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rLep d 2	rBer e 1 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 5 rPhl p 11 rPhl p 6 nCup a 1 nArt v 1 rOle e 1 rBet v 2 rPla l 1 rHev b 8 rMer a 1 rDer f 2 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2	nCyn d 1 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 5 rPhl p 6 nPhl p 4 nArt v 1 rOle e 1 rBet v 2 rPla l 1 rHev b 8 rMer a 1 rCan f 1 rCan f 5 rFel d 1 nDer f 1	/	nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 11 nArt v 1 rOle e 1 rBet v 2 rPla l 1 rHev b 8 rMer a 1 rCan f 1 rCan f 5 rFel d 1 nDer f 1	

281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	
rBet v 1 rCan f 1 rFel d 1 rBet v 1	nMUXF3	nCyn d 1 rPhl p 1 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 nCup a 1 nPla a 2 rFel d 1 nMUXF3	nPen m 4 nBla g 7 nPen m 1	rAra h 1 rAra h 2 nAra h 6 nCyn d 1 rPhl p 1 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rBet v 1 rPla l 1 rFel d 1 rAsp f 3 nDer f 1	rDer f 2 nDer p 1 rDer p 2 rApi m 1 nJug r 3 rPru p 3 rBet v 1 rAln g 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rMal d 1 rPru p 1 nMUXF3	/	rPru p 3	rOle e 1 nArt v 1 rApi m 1 rVes v 5	/	nJug r 2 nCyn d 1 nPhl p 4 rAra h 9 nJug r 3 rPru p 3 rTri a 14 nArt v 3 nOle e 7 rPla a 3

291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302
nJug r 2	/	nJug r 2	rPhl p 5	rAna o 2	nCyn d 1	nPhl p 4	/	nCyn d 1	/	rVes v 5	/
nCyn d 1		nCyn d 1	rPhl p 6	nGly m 6	rPhl p 1	rPol d 5		rPhl p 1			
nPhl p 4		rPhl p 1	nArt v 1	rBet v 1	nPhl p 4	rVes v 5		rPhl p 2			
nCup a 1		rPhl p 2	rPol d 5	rBet v 1	rPhl p 6			nPhl p 4			
nPla a 2		nPhl p 4	rVes v 5	rCor a 1.0401	rBet v 1			rPhl p 5			
nArt v 1		rPhl p 5		rMal d 1	nArt v 1			rPhl p 6			
rPol d 5		rPhl p 6		rPru p 1	rFel d 1			rBet v 1			
rVes v 5		rPhl p 11		rAra h 8	rBet v 1			nAmb a 1			
rAni s 3		rBet v 1			rAln g 1			rDer f 2			
nBla g 7		rOle e 1			rCor a 1.0101			rDer p 2			
nDer p 10		rDer f 2			rCor a 1.0401			rBet v 1			
nPen m 1		rDer p 2			rMal d 1			rAln g 1			
nMUXF3		rPol d 5						rCor a 1.0101			
		rVes v 5						rCor a 1.0401			
		rBet v 1						rMal d 1			
		rAln g 1						rPru p 1			
		rCor a 1.0101						rGly m 4			
		rCor a 1.0401						rAra h 8			
		rMal d 1						rApi g 1			
		rPru p 1									
		nMUXF3									

## Priloga 3: OBDELAVA PODATKOV

### Hrana

	Egg white			Egg yolk/chicken meat	Cow's milk				Carp	Cod
	nGal d 1	nGal d 2	nGal d 3	nGal d5	nBos d 4	nBos d 5	nBos d 8	nBos d lactoferrin	rCyp c 1	rGad c 1
POZITIVNI	23	24	15	1	19	16	18	10	4	5
POVPREČNA VREDNOST	11,4	5,0	8,1	1,4	9,8	7,7	8,6	0,7	0,6	1,12
NEGATIVNI	279	278	287	301	283	286	284	292	52	297
IZMERJENI	302	302	302	302	302	302	302	302	56	302
NEIZMERJENI	0	0	0	0	0	0	0	0	246	0
FREKVENCA	7,6	7,9	5,0	0,3	6,3	5,3	6,0	3,3	7,1	1,7
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302

	Shrimp			Cashew nut	Brazil nut	Hazel nut	Walnut		Sesame seed	Peanut		
	nPen m 2	nPen m 4	rAna o 2	rBer e 1	nCor a 9	rJug r 1	nJug r 2	nSes i 1	nAra h 1	nAra h 2	nAra h 3	
POZITIVNI	52	2	14	8	193	184	39	9	0	25	26	
POVPREČNA VREDNOST	29,4	24,6	2,7	3,8	2,2	13,2	3,1	12,7	/	3,3	0,5	
NEGATIVNI	241	244	288	294	283	228	207	293	51	49	49	
IZMERJENI	246	246	302	302	302	246	246	302	51	51	51	
NEIZMERJENI	56	56	0	0	0	56	56	0	251	251	251	
FREKVENCA	2,03252	0,8	4,6	2,6	6,3	7,3	15,9	3	0	3,9	3,9	
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	

	Peanut				Soybean		Buckwheat	Wheat		Wheat		Kiwi	
	rAra h 1	rAra h 2	rAra h 3	nAra h 6	nGly m 5	nGly m 6	nFag e 2	nTri a 18	nTri a Gliadin	rTri a 19.0101	nTri a A_A_Tl	nAct d 1	nAct d 5
POZITIVNI	187	21	12	22	128	229	510	011	012	7	1413	914	015
POVPREČNA VREDNOST	26	17,6	8,4	11,8	6,3	5,3	9,2	/	/	4,2	1,5	22,2	/
NEGATIVNI	233	230	239	224	290	280	241	56	56	295	288	293	302
IZMERJENI	251	251	251	246	302	302	246	56	56	302	302	302	302
NEIZMERJENI	51	51	51	56	0	0	56	246	246	0	0	0	0
FREKVENCA	7,2	8,4	4,8	8,9	4	7,3	2,0	0	0	2,3	4,6	3	0
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302

## Aeroalergeni

	Bermuda grass	Timothy grass							Birch	Japanese cedar	Cypress	Olive
	nCyn d 1	rPhi p 1	rPhi p 2	nPhi p 4	rPhi p 5	rPhi p 6	rPhi p 11	rBet v 1	nCry j 1	nCup a 1	nOle e 1	
POZITIVNI	124	116	52	104	84	58	34	98	37	54	42	
POVPREČNA VREDNOST	11,2	23,1	14,2	5,3	24,7	8,5	15,5	20,0	4,2	7,0	5,2	
NEGATIVNI	178	186	250	198	218	244	268	204	265	248	175	
IZMERJENI	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	217	
NEIZMERJENI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85	
FREKVENCA	41,1	38,4	17,2	34,4	27,8	19,2	11,3	32,5	12,3	17,9	19,4	
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	

	Olive pollen	Plane tree		Ragweed	Mugwort	Goosefoot	Wall pelitory	Plantain	Saltwort	
	rOle e 1	rOle e 9	rPla a 1	nPla a 2	nAmb a 1	nArt v 1	rChe a 1	rPar j 2	rPla l 1	nSal k 1
POZITIVNI	20	7	0	52	14	36	13	3	23	9
POVPREČNA VREDNOST	11	1,9	/	2,9	27,5	4,9	6,4	1,1	28,2	0,9
NEGATIVNI	65	239	302	250	288	266	233	299	223	293
IZMERJENI	85	246	302	302	302	302	246	302	246	302
NEIZMERJENI	217	56	0	0	0	0	56	0	56	0
FREKVENCA	23,5	2,8	0	17,2	4,6	11,9	5,3	1	9,3	3
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302

	Dog		Dog	Horse	Cat		Mouse	Alternaria	
	rCan f 1	rCan f 2	rCan f 5	rEqu c 1	rFel d 1	rFel d 4	nMus m 1	rAlt a 1	rAlt a 6
POZITIVNI	24	10	25	202	78	15	153	17	4
POVPREČNA VREDNOST	22,2	16,1	9	9,9	13,7	7,4	6,3	20,5	15,2
NEGATIVNI	278	292	221	226	224	287	287	285	298
IZMERJENI	302	302	246	246	302	302	302	302	302
NEIZMERJENI	0	0	56	56	0	0	0	0	0
FREKVENCA	8	3,3	10,2	8,1	25,8	5	5	5,6	1,3
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302

	Aspergillus		Aspergillus			Cladosporium	B.Tropicalis	D. Farinae	
	rAsp f 2	rAsp f 4	rAsp f 1	rAsp f 3	rAsp f 6	rCla h 8	rBlo t 5	nDer f 1	rDer f 2
POZITIVNI	04	05	37	2	98	1	109	60	75
POVPREČNA VREDNOST	/	/	0,6	13,8	3,5	1,1	9,6	17,8	28,4
NEGATIVNI	56	56	299	300	293	301	236	242	227
IZMERJENI	56	56	302	302	302	302	246	302	302
NEIZMERJENI	246	246	0	0	0	0	56	0	0
FREKVENCA	0	0	1	0,7	3	0,3	4,1	19,9	24,8
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302

	D.Pteronyssinus	D. Pteronyssinus	D. Pteronyssinus	Storage mite	L. Destructor	Cockroach	Cockroach		
	nDer p 2	nDer p 1	rDer p 2	rEur m 2	rLep d 2	rBla g 4	rBla g 1	rBla g 2	rBla g 5
POZITIVNI	1310	57	58	5	19	011	112	213	314
POVPREČNA VREDNOST	11,1	14,1	24	3,5	8,9	/	0,8	0,4	0,4
NEGATIVNI	38	245	193	51	227	56	301	300	299
IZMERJENI	51	302	251	56	246	56	302	302	302
NEIZMERJENI	251	0	51	246	56	246	0	0	0
FREKVENCA	25,5	18,9	23,1	8,9	7,7	0	0,3	0,7	1
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302

## Drugi vrstno specifični alergeni

	Honey bee venom	Honey bee venom	Honey bee venom	Paper wasp	Common wasp	Anisakis	Latex	Latex			Latex
	nApi m 1	rApi m 1	nApi m 4	rPol d 5	rVes v 5	rAni s 1	rHev b 6	rHev b 1	rHev b 3	rHev b 5	rHev b 6.01
POZITIVNI	6	15	7	25	35	2	1	22	23	14	65
POVPREČNA VREDNOST	2,6	2,3	1,7	3	2,4	0,9	2,1	1,5	0,8	1,4	6
NEGATIVNI	45	236	295	221	211	300	55	300	300	301	240
IZMERJENI	51	251	302	246	246	302	56	302	302	302	246
NEIZMERJENI	251	51	0	56	56	0	246	0	0	0	56
FREKVENCA	11,8	6	2,3	10,2	14,2	0,7	1,8	0,7	0,7	0,3	2,4
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302

## Navzkrižno reaktivni alergeni

	Cow's milk/meat	Dog	Horse	Cat	Anisakis	Cockroach	D. Pteronyssinus	Shrimp		Shrimp
	nBos d 6	nCan f 3	nEqu c 3	nFel d 2	rAni s 3	nBla g 7	rDer p 10	rPen a 1	nPen i 1	nPen m 1
POZITIVNI	15	13	6	10	7	12	102	2	23	11
POVPREČNA VREDNOST	10,3	16,4	17,5	18,6	4,6	3,1	3,9	2,6	2,8	3,4
NEGATIVNI	287	289	296	292	295	290	292	54	54	291
IZMERJENI	302	302	302	302	302	302	302	56	56	302
NEIZMERJENI	0	0	0	0	0	0	0	246	246	0
FREKVENCA	5	4,3	2	3,3	2,3	4	3,3	3,6	3,6	3,6
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302

	Peanut	Hazelnut	Walnut	Peach	Peach	Wheat	Mugwort	Olive pollen	Plane tree	Birch	Alder
	rAra h 9	rCor a 8	nJug r 3	nPru p 3	rPru p 3	rTri a 14	nArt v 3	nOle e 7	rPla a 3	rBet v 1	rAln g 1
POZITIVNI	26	21	30	3	304	17	33	135	216	95	77
POVPREČNA VREDNOST	2,4	2,3	3,9	2,2	2,4	1,6	2,2	3	3,1	19,6	9,6
NEGATIVNI	220	281	216	48	221	229	269	233	225	207	225
IZMERJENI	246	302	246	51	251	246	302	246	246	302	302
NEIZMERJENI	56	0	56	251	51	56	0	56	56	0	0
FREKVENCA	10,6	7	12,2	5,9	12	6,9	10,9	5,3	8,5	31,5	25,5
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302

	Hazel pollen	Hazelnut	Apple	Peach	Soybean	Peanut	Kiwi	Kiwi	Celery	Carrot	Kiwi
	rCor a 1.0101	rCor a 1.0401	rMal d 1	rPru p 1	rGly m 4	rAra h 8	nAct d 8	rAct d 8	rApi g 1	rDau c 1	nAct d 2
POZITIVNI	777	84	81	103	49	60	28	239	29	210	2111
POVPREČNA VREDNOST	10,7	8,4	9,2	5,5	4,1	3,4	2,5	1,6	4,8	0,5	3,3
NEGATIVNI	225	218	221	199	253	242	49	228	273	54	281
IZMERJENI	302	302	302	302	302	302	51	251	302	56	302
NEIZMERJENI	0	0	0	0	0	0	251	51	0	246	0
FREKVENCA	25,5	27,8	26,8	34,1	16,2	19,9	3,9	9,2	9,6	3,6	7
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302

	Birch	Olive	Latex	Annual mercury	Timothy grass	Bromelin	CCD	Birch	Timothy grass
	rBet v 2	nOle e 2	rHev b 8	rMer a 1	rPhi p 12	nAna c 2	nMUXF3	rBet v 4	rPhi p 7
POZITIVNI	32	5	3312	3213	24	714	37	1	115
POVPREČNA VREDNOST	<b>7,8</b>	<b>3,5</b>	<b>11,2</b>	<b>9,6</b>	<b>4,8</b>	<b>1,2</b>	<b>3,8</b>	<b>16</b>	<b>15</b>
NEGATIVNI	270	52	269	270	278	49	209	301	301
IZMERJENI	302	57	302	302	302	56	246	302	302
NEIZMERJENI	0	245	0	0	0	246	56	0	0
FREKVENCA	<b>10,6</b>	<b>8,8</b>	<b>10,9</b>	<b>10,6</b>	<b>7,9</b>	<b>12,5</b>	<b>15</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>
SKUPAJ	302	302	302	302	302	302	302	302	302

## Priloga 4: PRIMERJAVA PHADIA 100 IN ISAC

Metoda	ISAC (ISU-E)		PHADIA 100 (kU <sub>A</sub> /l)	
	Vir alergena	čebela	osa	čebela
Koda alergena	rApi m 1	rVes v 5	rApi m 1	rVes v 5
1	8,8	.	3,6	.
2	0*	0,6	.	5,6
3	0*	1,5	.	36,6
4	0*	0,7	.	0,9
5	1,2	8,6	3,09	6,26
6	0,4	0,4	0,57	0,43
7	0*	0,5	.	0,53
8	0*	0,8	.	0,5
9	0*	5,7	.	4,91
10	0*	0,4	.	0
11	1	3,4	1,21	5,24
12	0*	3,8	.	1,84
13	0*	8,8	.	24,9
14	0*	0,6	.	0,5
15	0,6	0*	1,13	.
16	0*	0,6	.	0,44
17	0*	0,7	.	1,75
18	0,3	0*	1,29	.
19	0*	0,7	.	0,58
20	0*	5,9	.	3,68
21	0,6	6,6	1,61	6,16
22	0,3	0*	0	.
23	0,4	0*	1,78	.
24	0	3,9	0	29,7
25	0*	0,8	.	0,55
26	0*	0,3	.	1,16
27	0*	0,5	.	0
28	0*	0,6	.	1,74
29	0*	0,7	.	1,15
30	0*	0,8	.	1,54
31	9,2	5,2	4,21	6,15
32	0*	1,4	.	1,59
33	0*	4,3	.	6,94
34	0,5	0*	0,37	.
35	0*	9,7	.	9,92
36	1	0*	0,77	.
37	1,3	1,3	0,8	0,76
38	0*	0,6	.	6,6

39	0*	2	.	2,79
40	0*	1,5	.	5,17
41	0*	0,5	.	0,79
42	0*	0,4	.	0,58
43	0*	0	.	0,79
44	0	0	0	0
45	0*	0	.	0
46	0	0*	0	.
47	0*	0	.	0
48	0	0*	0	.
49	0	0*	0,53	.
50	0	0	0	0
51	0	0	0	0
52	0	0	0	0
53	0	0	0	0,81
54	0	0	0	0
55	0	0	0,68	2,52
56	0	0	0	0
57	0	0	0,66	0
58	0	0	0	0
59	0	0	0	0
60	0	0	0	0
61	0	0	0	0
62	0	0	0	0
63	0	0	0	0
64	0	0	0	0
65	0	0	1,19	0
66	0	0	0	0
67	0	0	0	0
68	0	0	0	0
<b>Pozitivni</b>	<b>13</b>	<b>35</b>	<b>16</b>	<b>36</b>
<b>Povprečje</b>	<b>1,969231</b>	<b>2,422857</b>	<b>1,468125</b>	<b>5,0575</b>
<b>Negativni</b>	<b>24</b>	<b>23</b>	<b>21</b>	<b>22</b>
<b>Število oseb</b>	<b>37</b>	<b>58</b>	<b>37</b>	<b>58</b>