

Łukasz Błazowski^{1,2,3}, Ryszard Kurzawa¹, Paweł Majak⁴

Przydatność diagnostyki molekularnej w ocenie etiologii, fenotypów klinicznych oraz ryzyka anafilaksji u dzieci

The usefulness of molecular diagnosis in the assessment of the aetiology, clinical phenotypes and risk of food-induced anaphylaxis in children

¹ Klinika Alergologii i Pneumonologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Rabka-Zdrój, Polska

² Zakład Patofizjologii, Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów, Polska

³ Oddział Pediatrii i Alergologii, Szpital Specjalistyczny, Jasło, Polska

⁴ Klinika Pneumonologii Dziecięcej, III Katedra Pediatrii, Uniwersytet Medyczny, Łódź, Polska

Adres do korespondencji: Łukasz Błazowski, Klinika Alergologii i Pneumonologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, OT w Rabce-Zdroju, ul. Prof. Jana Rudnika 3B, 34-700 Rabka-Zdrój, e-mail: l.blazowski@gmail.com

Streszczenie

Cel pracy: Anafilaksja związana z pokarmem występuje najczęściej w populacji dziecięcej, a jej przebieg jest nieprzewidywalny. Celem opracowania była analiza demograficzna i kliniczna anafilaksji indukowanej przez pokarm u dzieci z wykorzystaniem metod diagnostyki molekularnej. **Materiał i metoda:** Badaniem objęto 541 dzieci w wieku 0–18 lat, u których wystąpiły 893 reakcje natychmiastowe na pokarm. U każdego dziecka oznaczono stężenie IgE w stosunku do 112 molekuł alergenowych. Przeprowadzono analizę danych demograficznych i klinicznych w dwóch grupach wiekowych. Określono etiologię anafilaksji na poziomie alergenów źródłowych oraz na poziomie molekuł alergenowych. Określono też czynniki ryzyka ciężkiego przebiegu klinicznego reakcji. **Wyniki:** Do analizy włączono 631 reakcji anafilaktycznych na pokarm, które wystąpiły u 421 dzieci. W grupie dzieci w wieku 0–6 lat większość stanowili chłopcy ($p = 0,0023$) oraz dzieci z atopowym zapaleniem skóry ($p = 0,0001$), częściej obserwowano objawy ze strony skóry i błon śluzowych ($p < 0,0001$), a najczęstszą przyczyną anafilaksji była kazeina mleka, Bos d 8 ($p < 0,0001$). W grupie dzieci w wieku 7–18 lat anafilaksja była częstsza u dzieci bez astmy i atopowego zapalenia skóry ($p = 0,0001$), częściej przyczyną reakcji były orzechy laskowe ($p = 0,0005$), a w zakresie molekuł alergenowych 2S albumina orzecha włoskiego, Jug r 1 ($p = 0,0011$), częściej obserwowano anafilaksję indukowaną wysiłkiem ($p < 0,0001$) oraz częściej występowały objawy ze strony układu sercowo-naczyniowego ($p = 0,0247$). W badanej populacji cięższy przebieg anafilaksji był częstszy u dzieci bez astmy i atopowego zapalenia skóry ($p = 0,0428$) oraz w przypadku anafilaksji wywołanej przez 2S albuminę orzecha nerkowca, Ana o 3 ($p < 0,0001$) i alergen pszenicy, Tri a 14 ($p = 0,0143$). **Wnioski:** Diagnostyka molekularna pozwala na szczegółową ocenę etiologii oraz ryzyka ciężkiego przebiegu anafilaksji związanej z pokarmem.

Słowa kluczowe: anafilaksja związana z pokarmem, dzieci, epidemiologia, molekuly alergenowe

Abstract

Aim: Food-induced anaphylaxis is most common in the paediatric population and has an unpredictable course. The aim of this paper was to perform a demographic and clinical assessment of food-induced anaphylaxis in children using molecular diagnosis. **Materials and methods:** The study included 541 children aged 0–18 years who developed 893 sudden reactions to food. Levels of IgEs against 112 allergen molecules were measured in each child. We analysed demographic and clinical data in two age groups. The aetiology of anaphylaxis was determined at the level of source allergens and at the level of allergen molecules. We also determined the risk factors for severe clinical course of reactions. **Results:** A total of 631 food-induced anaphylactic reactions developed by 421 children were included in the analysis. The group of children aged 0–6 years was mostly composed of boys ($p = 0.0023$) and children with atopic dermatitis ($p = 0.0001$). Also, cutaneous and mucosal symptoms were more common ($p < 0.0001$), and milk casein, Bos d 8, was the most common cause of anaphylaxis in this group ($p < 0.0001$). In the group of 7–18-year-olds, anaphylaxis was more common in children with no asthma or atopic dermatitis ($p = 0.0001$); hazelnuts ($p = 0.0005$) and, in terms of allergen molecules, walnut 2S albumin, Jug r 1 ($p = 0.0011$), were a more common cause of reaction; as well as exercise-induced anaphylaxis ($p < 0.0001$) and cardiovascular symptoms ($p = 0.0247$) were more common. In the study population, more severe anaphylaxis was more common in children without asthma or atopic dermatitis ($p = 0.0428$) and in the case of anaphylaxis induced by cashew nut 2S albumin, Ana o 3 ($p < 0.0001$) and wheat allergen, Tri a 14 ($p = 0.0143$). **Conclusions:** Molecular diagnostics allows for a detailed assessment of the aetiology and the risk of severe food-induced anaphylaxis.

Keywords: food-induced anaphylaxis, children, epidemiology, allergen molecules

WSTĘP

Nadwrażliwość na pokarm dotyczy 6,8% dzieci do 10. roku życia⁽¹⁾, natomiast anafilaksja związana z pokarmem (*food-induced anaphylaxis*, FIA), będąca najczęstszym rodzajem anafilaksji w populacji pediatrycznej, występuje z częstością 1 na 5000 dzieci⁽²⁾. Anafilaksja stanowi reakcję potencjalnie śmiertelną, a jej przebieg jest nieprzewidywalny. Grupą najbardziej narażoną na FIA są niemowlęta i małe dzieci oraz młodzież⁽²⁾. Częstość występowania FIA w populacji dzieci polskich jest nieznana, dotychczas opublikowano jedynie wstępne badanie epidemiologiczne dotyczące etiologii anafilaksji u dzieci do 3. roku życia⁽³⁾. Wraz z rozwojem diagnostyki molekularnej w alergologii (*component resolved diagnostics*, CRD) możliwa jest obecnie ocena etiologii anafilaksji na poziomie cząsteczki alergenowej zawierającej epitop zdolny do połączenia się z alergenowo swoistą immunoglobuliną klasy E – IgE (asIgE)⁽⁴⁾. CRD daje również możliwość oceny ryzyka wystąpienia anafilaksji związanego z konkretną molekułą alergenową, a także określenia ciężkości przebiegu klinicznego ewentualnego epizodu FIA⁽⁴⁾.

Cele pracy obejmują ocenę demograficzną i kliniczną badanej populacji z analizą porównawczą w określonych grupach wiekowych, ustalenie etiologii anafilaksji na poziomie alergenów źródłowych i molekuł alergenowych oraz określenie fenotypów klinicznych związanych z ryzykiem ciężkiego przebiegu FIA na podstawie występowania i obrazu klinicznego anafilaksji związanej z pokarmem w dużej, homogennej populacji dzieci w wieku 0–18 lat.

MATERIAŁ I METODA

Struktura badania

Badaniem objęto 541 dzieci w wieku 0–18 lat leczonych z powodu ostrych reakcji alergicznych na pokarm w Klinice Alergologii i Pneumonologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc, OT w Rabce-Zdroju w okresie od 29 marca 2012 do 31 grudnia 2020 roku. Dokonano analizy dokumentacji medycznej obejmującej 893 epizody natychmiastowych reakcji na pokarm. Rozpoznanie systemowej reakcji alergicznej lub anafilaksji związanej z pokarmem ustalono na podstawie szczegółowego wywiadu i obrazu klinicznego, pozostających w ścisłej korelacji ze spożytym pokarmem, zgodnie z przedstawionymi poniżej definicjami opartymi na kryteriach National Institute of Allergy and Infectious Disease i Food Allergy and Anaphylaxis Network⁽⁵⁾, World Allergy Organization Anaphylaxis Committee⁽²⁾ oraz Australasian Society of Clinical Immunology and Allergy⁽⁶⁾. Stopień ciężkości anafilaksji określono, opierając się na 4-stopniowej skali Muellera⁽⁷⁾. Kryterium wykluczającym z badania był brak korelacji pomiędzy objawami a spożyciem pokarmu.

Dane medyczne były gromadzone oraz analizowane przez dwóch niezależnych badaczy, w tym jednego eksperta

w zakresie anafilaksji, który następnie wprowadzał je do informatycznej bazy danych. W analizie uwzględniono informacje demograficzne, współistniejące choroby atopowe, charakter objawów klinicznych i kolejność ich występowania, rodzaj, pochodzenie i dawkę pokarmu, który wywołał anafilaksję, obecność kofaktorów anafilaksji oraz dane na temat leczenia i jego wyników.

U każdego dziecka przeprowadzono szczegółową diagnostykę alergologiczną, polegającą m.in. na wykonaniu punktowych testów skórnych ze standardowymi ekstraktami alergenów pokarmowych i inhalacyjnych, zgodnie z obowiązującymi wytycznymi⁽⁸⁾, używając kontroli dodatkowo w postaci roztworu histaminy 10 mg/ml. Stosując standardowe procedury, w 1. dniu hospitalizacji od wszystkich dzieci pobrano próbki krwi w celu oznaczenia w surowicy stężenia alergenowo swoistych przeciwciał IgE (asIgE) w stosunku do natywnych ekstraktów alergenowych oraz molekuł alergenowych. Wykorzystano do tego celu system do diagnostyki monokomponentowej ImmunoCAP™100 (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Szwecja) oraz system do diagnostyki wielokomponentowej w stosunku do 112 molekuł alergenowych ImmunoCAP ISAC™112 (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Szwecja), postępując zgodnie z instrukcjami producenta opisanymi we wcześniejszej pracy autorów⁽⁹⁾. W przypadku braku zgodności co do alergenu przyczynowego wykonywano punktowe testy natywne z pokarmami, zgodnie z wytycznymi⁽⁸⁾.

Definicje

Anafilaksja związana z pokarmem (*food-induced anaphylaxis*, FIA)

Choroba o nagłym początku, rozwijająca się po ekspozycji na alergen pokarmowy i obejmująca: (i) objawy ze strony skóry/błon śluzowych (uogólniona pokrzywka, rumień, świąd, obrzęk naczynioruchowy) oraz objawy ze strony co najmniej jednego spośród układów: oddechowego (duszność, obturacja drzewa oskrzelowego, obrzęk w obrębie gardła/krtani) i/lub sercowo-naczyniowego (spadek ciśnienia tętniczego, dysfunkcje związane ze zmniejszeniem perfuzji tkanek ośrodkowego układu nerwowego), i/lub przewodu pokarmowego (uporczywe wymioty i/lub nasilone, kurczowe bóle brzucha) lub (ii) każdy gwałtowny spadek ciśnienia tętniczego i/lub nagła obturacja dolnych i/lub górnych dróg oddechowych, które wystąpiły po ekspozycji na alergen pokarmowy, niezależnie od obecności objawów skórnych^(2,5,6).

Systemowa reakcja alergiczna (*systemic allergic reaction*, SAR)

Łagodna, wolno postępująca reakcja ze strony wyłącznie jednego układu, ograniczona do objawów ze strony skóry/błon śluzowych (pokrzywka, niewielki obrzęk naczynioruchowy, rumień, świąd) lub przewodu pokarmowego (świąd jamy ustnej, nudności, ślinotok) albo górnych dróg oddechowych (łagodne objawy ze strony nosa, świąd gardła)⁽¹⁰⁾.

Współistniejące choroby atopowe

Astmę i stopień jej ciężkości rozpoznawano zgodnie z definicją zawartą w wytycznych Global Initiative for Asthma (GINA)⁽¹¹⁾. Rozpoznanie atopowego zapalenia skóry (AZS) ustalano na podstawie badania przedmiotowego z oceną stopnia ciężkości, zgodnie z kwestionariuszem SCORAD⁽¹²⁾.

Alergen

Molekuła alergenowa wykazująca na swojej powierzchni ekspresję epitopu, rozpoznawanego przez alergenowo swoiste przeciwciała klasy E⁽⁴⁾.

Analiza danych

W pierwszym etapie przeprowadzono analizę (i) danych demograficznych i klinicznych badanej populacji, (ii) przebiegu reakcji anafilaktycznych oraz (iii) etiologii anafilaksji na poziomie alergenów źródłowych i na poziomie molekuł alergenowych. W drugim etapie dokonano powyższych analiz odrębnie w dwóch grupach wiekowych: 0–6 lat oraz 7–18 lat, a wyniki porównano ze sobą metodami statystycznymi, poszukując istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi parametrami. Następnie przeanalizowano dane w poszukiwaniu czynników mogących mieć wpływ na ciężkość przebiegu klinicznego anafilaksji związanej z pokarmem.

Metody analizy statystycznej

Zmienne ciągle zaprezentowano przy pomocy mediany z przedziałem kwartylowym, zmienne nominalne oraz skategoryzowane – przy pomocy liczby i odsetka obserwacji. Zmienne nominalne lub skategoryzowane porównywano pomiędzy klinicznie zdefiniowanymi podgrupami z zastosowaniem dokładnego, dwustronnego testu Fishera lub testu Chi². Hipotezę zerową odrzucano przy

$p < 0,05$. Podczas opracowania statystycznego wykorzystano TIBCO Software Inc. (2017), Statistica (data analysis software system), version 13.

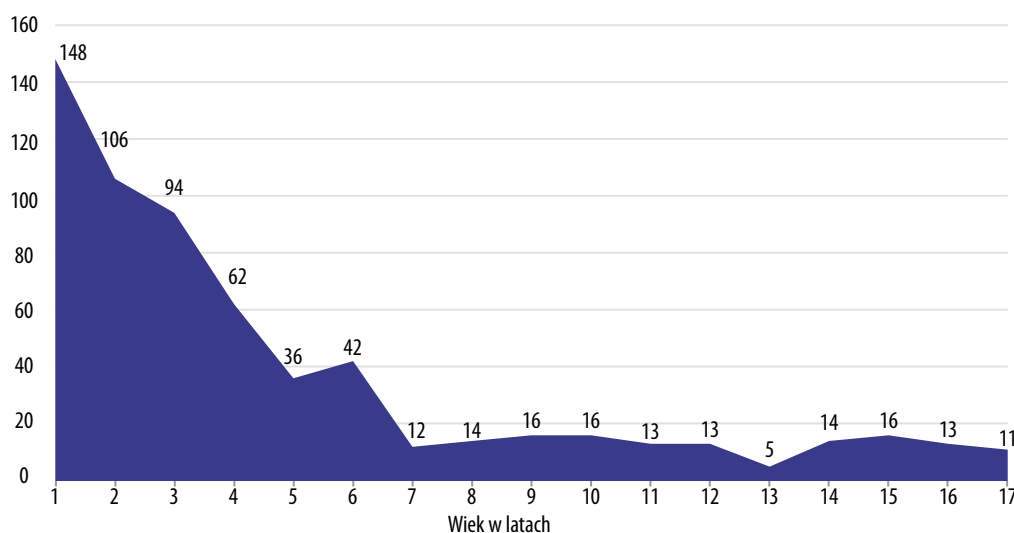
WYNIKI

Charakterystyka demograficzna i kliniczna badanej populacji

Po przeprowadzeniu szczegółowej weryfikacji do analizy włączono 631 reakcji anafilaktycznych na pokarm, które wystąpiły u 421 dzieci. W przypadku 262 epizodów kryteria anafilaksji nie zostały spełnione i zostały one zaliczone do łagodnych systemowych reakcji alergicznych (SAR). W 1. roku życia obserwowano 148 (23,5%), do 2. roku życia 254 (40,3%), do 3. roku życia 348 (55,2%), a do 6. roku życia 488 (77,3%) wszystkich reakcji (ryc. 1). Charakterystykę demograficzną oraz kliniczną badanej populacji przedstawiono w tab. 1. Anafilaksja wystąpiła ponad dwukrotnie częściej u chłopców (67,2%), a 17,8% dzieci nie miało żadnych chorób atopowych. W przypadku 29 (4,6%) reakcji kofaktorem anafilaksji był wysiłek fizyczny (*food-dependent exercise-induced anaphylaxis*, FDEIA), 7 (1,1%) epizodów miało przebieg dwufazowy. Adrenalinę podano w trakcie 52 (8,2%) reakcji. W 4-stopniowej skali Muellera 87 (13,8%) epizodów zakwalifikowano do 4. stopnia ciężkości.

Etiologia anafilaksji

Na ryc. 2 A i B przedstawiono etiologię FIA u dzieci wieku 0–18 lat, odpowiednio według źródeł alergenowych oraz molekuł alergenowych (alergenów). Najczęstszymi źródłami alergenowymi wywołującymi FIA w tej populacji były kolejno białka mleka krowiego (21,1%), białko jaja (14,9%) oraz orzechy arachidowe (14,9%), natomiast najczęstszymi molekułami były kazeina mleka,



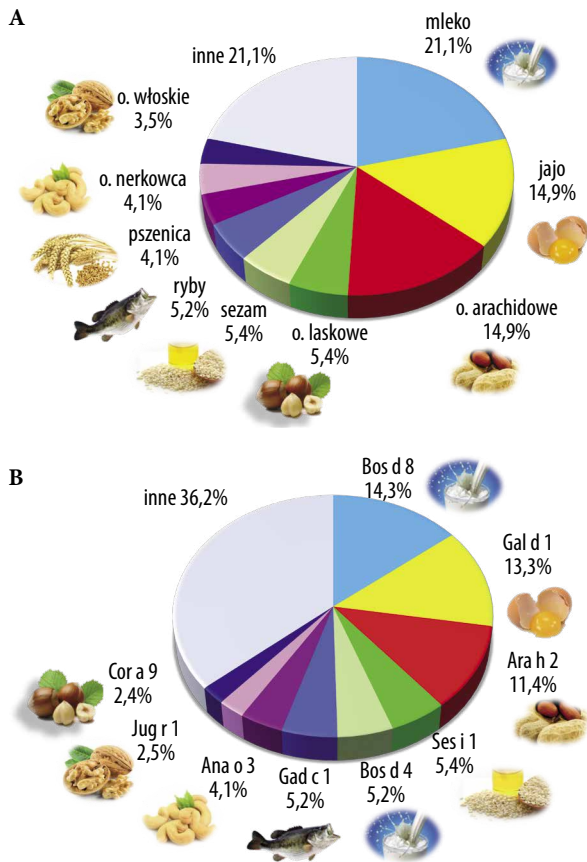
Ryc. 1. Częstość anafilaksji związanej z pokarmem w populacji dzieci w wieku 0–18 lat w poszczególnych latach życia. Dane przedstawiono w wartościach liczbowych. Opracowanie własne

Bos d 8 (14,3%), owomukoid białka jaja, Gal d 1 (13,3%) oraz 2S albumina orzechów arachidowych, Ara h 2 (11,4%).

Na ryc. 3 A, B oraz C przedstawiono etiologię FIA według źródeł alergenowych w poszczególnych latach życia dzieci. Najczęstszymi przyczynami anafilaksji w 1. roku życia były białka mleka krowiego ($n = 66$), a następnie w kolejności białko jaja ($n = 43$), pszenica ($n = 13$) i orzechy arachidowe ($n = 12$). Do 5. roku życia najczęstszym źródłem alergenowym powodującym FIA były białka mleka ($n = 124$), natomiast u dzieci powyżej 5. roku życia orzechy arachidowe ($n = 28$), a w następnej kolejności orzechy laskowe ($n = 21$).

Porównanie populacji dzieci w wieku 0–6 lat oraz 7–18 lat

W związku z wyraźnie większą częstością FIA u dzieci do 6. roku życia (ryc. 1) dokonano porównania charakterystyki demograficznej i klinicznej oraz etiologii anafilaksji pomiędzy populacją dzieci do 6. roku życia (okres niemowlęcy i przedszkolny) a populacją dzieci od 7. do 18. roku życia (okres szkolny i młodzież) (tab. 2–4, ryc. 4 A, B i 5 A, B).



Ryc. 2. Etiologia 631 przypadków anafilaksji związanej z pokarmem w populacji dzieci w wieku 0–18 lat; A. częstość według źródeł alergenowych; B. częstość według molekuł alergenowych (alergenów). Dane przedstawiono w wartościach procentowych (%). Opracowanie własne

Wiek (lata), mediana (przedział kwartylowy)	3 (2–6)	
	n	%
Płeć		
• żeńska	138	32,8
• męska	283	67,2
Choroby współistniejące		
• AZS (bez astmy)	123	29,2
• astma (bez AZS)	106	25,2
• AZS + astma	117	27,8
• bez astmy i bez AZS	75	17,8
Inne dane		
• FDEIA	29	4,6
• reakcja dwufazowa	7	1,1
• podanie adrenaliny	52	8,2
Stopień ciężkości (Mueller, 1966)⁽⁷⁾		
1	16	2,5
2	344	54,5
3	184	29,2
4	87	13,8

AZS – atopowe zapalenie skóry; **FDEIA** – food-dependent exercise-induced anaphylaxis, anafilaksja zależna od pokarmu indukowana wysiłkiem.

Tab. 1. Charakterystyka demograficzna i kliniczna badanej populacji ($n = 421$) oraz reakcji anafilaktycznych ($n = 631$) na pokarm. Opracowanie własne

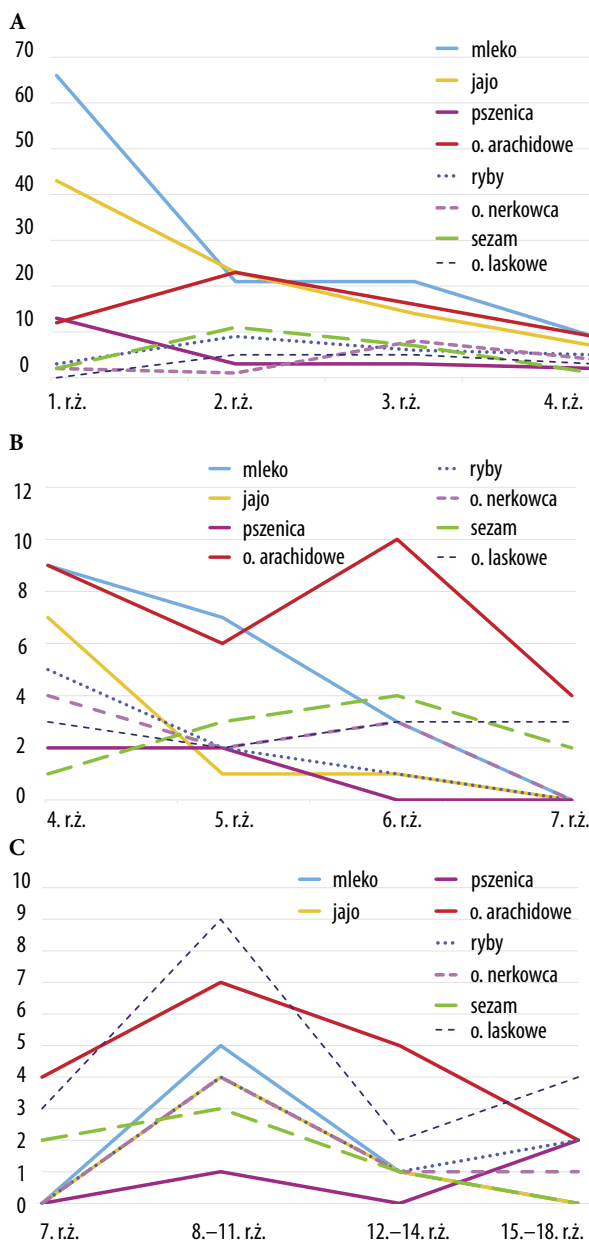
Cecha	Dzieci w wieku 0–6 lat		Dzieci w wieku 7–18 lat		p (chi ²)
	n	%	n	%	
Płeć					
• żeńska	100	29,0	38	50	0,0023
• męska	245	71,0	38	50	
Choroby współistniejące					
• AZS (bez astmy)	115	33,3	8	10,5	0,0001
• astma (bez AZS)	78	22,6	28	36,9	0,0128
• AZS + astma	103	29,9	14	18,4	0,0479
• bez astmy i bez AZS	49	14,2	26	34,2	0,0001
Inne					
• FDEIA	4	0,8	25	17,5	<0,0001
• reakcja dwufazowa	6	1,2	1	0,7	0,9375
• podanie adrenaliny	31	6,4	21	14,7	0,0025
Stopień ciężkości (Mueller, 1966)⁽⁷⁾					
1	11	2,2	5	3,5	
2	279	57,2	65	45,4	
3	138	28,3	46	32,2	
4	60	12,3	27	18,9	

AZS – atopowe zapalenie skóry; **FDEIA** – food-dependent exercise-induced anaphylaxis, anafilaksja zależna od pokarmu indukowana wysiłkiem.

Tab. 2. Porównanie charakterystyki demograficznej i klinicznej populacji dzieci w wieku 0–6 lat (345 dzieci, 488 reakcji) i 7–18 lat (76 dzieci, 143 reakcji). Opracowanie własne

Alergen źródłowy	Dzieci 0–6 lat		Dzieci 7–18 lat		p (chi ²)
	n	%	n	%	
Mleko krowie	127	26,0	6	4,2	<0,0001
Białko jaja	89	18,2	5	3,5	<0,0001
Orzechy arachidowe	76	15,6	18	12,6	0,2387
Sezam	28	5,7	6	4,2	0,4164
Ryby	26	5,3	7	4,9	0,8351
Pszenica	23	4,7	3	2,1	0,1605
Orzechy nerkowca	20	4,1	6	4,2	1
Orzechy laskowe	18	3,7	18	12,6	0,0005
Kiwi	12	2,5	5	3,5	0,5737
Orzechy włoskie	10	2,1	12	8,4	0,0017
Jabłko	10	2,1	6	4,2	0,2360
Brzoskwinia	3	0,6	5	3,5	0,0230

Tab. 3. Porównanie etiologii anafilaksji według najczęstszych alergenów źródłowych pomiędzy populacjami dzieci w wieku 0–6 lat (488 reakcji) i 7–18 lat (143 reakcji). Opracowanie własne



Ryc. 3. Etiologia anafilaksji według źródeł alergenowych w poszczególnych latach życia dzieci; A. 0–4 lat; B. 4–7 lat; C. 7–18 lat. Dane przedstawiono w wartościach liczbowych. Opracowanie własne

W grupie dzieci młodszych (0–6 lat) istotną większość stanowili chłopcy (71% vs 50%; $p = 0,0023$), dominowały objawy AZS bez astmy (33,3% vs 10,5%; $p = 0,0001$), przyczyną anafilaksji zdominowały białka mleka (26% vs 4,2%; $p < 0,0001$) i białka jaja (18,2% vs 3,5%; $p < 0,0001$), a w zakresie molekuł alergenowych kazeina, Bos d 8 (17,4% vs 3,5%; $p < 0,0001$), owomukoid, Gal d 1 (16,2% vs 3,5%; $p < 0,0001$) oraz alfa-laktalbumina, Bos d 4 (6,6% vs 0,7%; $p = 0,0014$).

W grupie dzieci starszych (7–18 lat) najliczniejszą grupę stanowili pacjenci z rozpoznaną astmą bez AZS (36,9% vs 22,6%; $p = 0,0128$) oraz dzieci bez innych chorób atopowych (34,2% vs 14,2%; $p = 0,0001$). Znamienne częściej obserwowano FDEIA (17,5% vs 0,8%; $p < 0,0001$) oraz częściej podawano adrenalinę (14,7% vs 6,4%; $p = 0,0025$). Ponadto znamienne częściej przyczyną FIA były orzechy laskowe (12,6% vs 3,7%; $p = 0,0005$), orzechy włoskie (8,4% vs 2,1%; $p = 0,0017$) oraz brzoskwinia (3,5% vs 0,6%; $p = 0,0230$), a w zakresie molekuł alergenowych 2S albumina orzecha włoskiego, Jug r 1 (7% vs 1,2%; $p = 0,0011$), białko z rodziny PR-10 orzecha laskowego, Cor a 1 (4,9% vs 0,2%; $p = 0,0003$) i białko z rodziny białek transportujących lipidy (*lipid transfer proteins*, LTP) brzoskwini, Pru p 3 (2,1% vs 0,2%; $p = 0,0458$). Reakcja anafilaktyczna na orzechy arachidowe była obok reakcji anafilaktycznej na orzechy laskowe najczęstszą przyczyną FIA w tej grupie wiekowej, jednak nie obserwowano istotnej różnicy w częstości w porównaniu z dziećmi w wieku 0–6 lat (12,6% vs 15,6%; $p = 0,2387$) (tab. 3), podobnie jak w przypadku głównego alergenu orzechów arachidowych, 2S albuminy, Ara h 2 (7,7% vs 12,5%; $p = 0,0770$) (tab. 4).

W grupie dzieci w wieku 0–6 lat najczęstsze objawy anafilaksji dotyczyły skóry i błon śluzowych i obserwowano je znamienne częściej niż u dzieci powyżej 6. roku życia (82,2% vs 67,1%; $p < 0,0001$) (tab. 5, ryc. 6). W grupie dzieci w wieku 7–18 lat najczęstsze objawy dotyczyły układu oddechowego (81,1%), a w porównaniu z dziećmi do 6. roku życia u dzieci starszych znamienne częściej występowały objawy ze strony układu sercowo-naczyniowego (18,9% vs 11,5%; $p = 0,0247$).

Alergen	Dzieci 0–6 lat		Dzieci 7–18 lat		p (chi ²)
	n	%	n	%	
Bos d 8	85	17,4	5	3,5	<0,0001
Gal d 1	79	16,2	5	3,5	<0,0001
Ara h 2	61	12,5	11	7,7	0,0770
Bos d 4	32	6,6	1	0,7	0,0014
Ses i 1	28	5,7	6	4,2	0,4164
Gad c 1	26	5,3	7	4,9	0,8351
Ana o 3	20	4,1	6	4,2	1
Tri a 19	13	2,7	1	0,7	0,2057
Cor a 9	12	2,5	3	2,1	1
Act d 1	10	2,1	3	2,1	1
Mal d 1	10	2,1	4	2,8	0,7526
Jug r 1	6	1,2	10	7,0	0,0011
Cor a 1	1	0,2	7	4,9	0,0003
Cor a 14	5	1,0	4	2,8	0,2304
Pru p 3	1	0,2	3	2,1	0,0458

Tab. 4. Porównanie etiologii anafilaksji według najczęstszych molekuł alergenowych pomiędzy populacjami dzieci w wieku 0–6 lat (488 reakcji) i 7–18 lat (143 reakcji). Opracowanie własne

Układ	0–6 lat		7–18 lat		p
	n	%	n	%	
Skóra i błony śluzowe	404	82,2	96	67,1	<0,0001
Pokarmowy	222	45,5	70	49,0	0,5047
Oddechowy	369	75,6	116	81,1	0,1781
Ośrodkowy układ nerwowy	84	17,2	29	20,3	0,3884
Sercowo-naczyniowy	56	11,5	27	18,9	0,0247

Tab. 5. Porównanie częstości występowania objawów ze strony poszczególnych układów w trakcie 488 reakcji anafilaksji w grupie dzieci 0–6 lat oraz 143 reakcji anafilaksji w grupie dzieci 7–18 lat. Opracowanie własne

Czynniki wpływające na ciężkość przebiegu klinicznego anafilaksji

Wiek

W porównaniu z dziećmi młodszymi (0.–6. roku życia) najcięższy, 4. stopień anafilaksji częściej (blisko progu znamienności statystycznej) obserwowano u dzieci starszych, w wieku 7–18 lat (18,9% vs 12,3%; $p = 0,0572$) (tab. 2).

Choroby atopowe

W porównaniu z dziećmi chorującymi równocześnie na astmę i AZS cięższy przebieg anafilaksji (3. i 4. stopień) występował znamienne częściej u dzieci, które nie miały astmy i AZS (odpowiednio 35,9% vs 50,7%; $p = 0,0428$) (tab. 6, ryc. 7). Natomiast u dzieci z astmą i AZS znamienne częściej był łagodny przebieg anafilaksji (64,1% vs 49,3%; $p = 0,0428$).

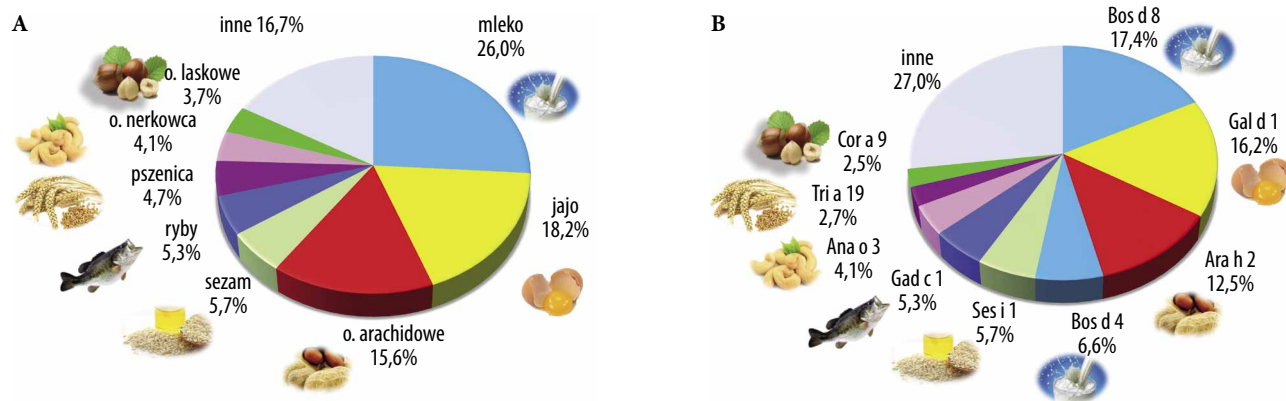
Alergeny będące przyczyną anafilaksji

Alergenami, które znamienne częściej wywoływały ciężkie reakcje 3. i 4. stopnia, były (i) na poziomie źródła alergenowego orzechy nerkowca (80,8%, $p < 0,0001$), (ii) na poziomie molekuł alergenowych 2S albumina orzecha nerkowca, Ana o 3 (80,8%, $p < 0,0001$) oraz białko pszenicy z rodziny LTP, Tri a 14 (71,4%, $p = 0,0143$) (tab. 7 i 8, ryc. 8 i 9). Alergenami, które znamienne częściej wywoływały łagodne reakcje 1. i 2. stopnia, były (i) na poziomie źródła alergenowego białka jaja (69,2%, $p = 0,0127$), (ii) na poziomie molekuł alergenowych owomukoid, Gal d 1 (70,2%, $p = 0,0091$).

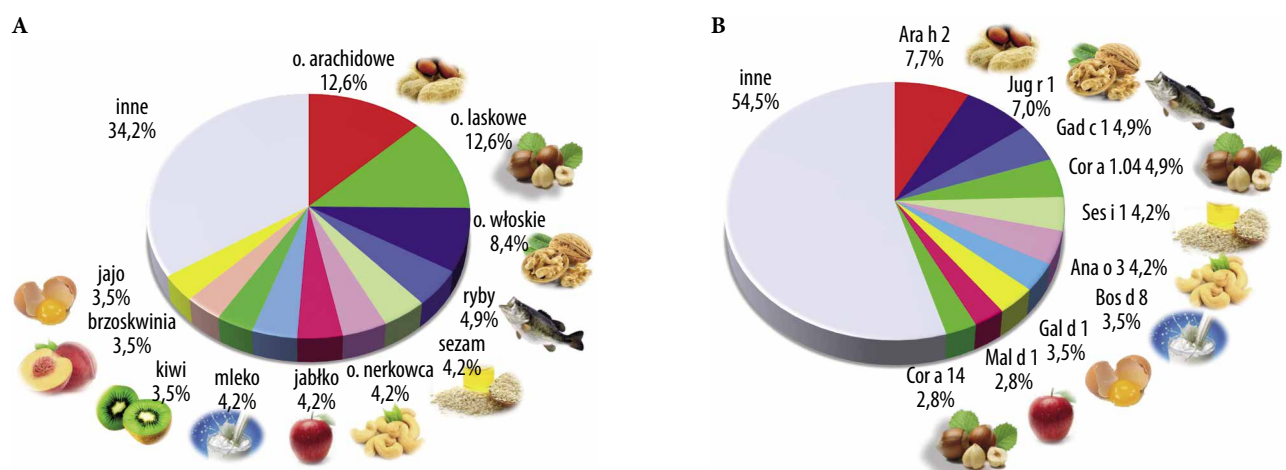
OMÓWIENIE

W pracy dokonano analizy danych epidemiologicznych, obrazu klinicznego oraz czynników ryzyka ciężkiego przebiegu anafilaksji indukowanej przez pokarm na podstawie 631 reakcji w jednorodnej populacji 421 dzieci polskich w wieku 0–18 lat. U wszystkich dzieci przeprowadzono diagnostykę alergenową odpowiedzialnego za wystąpienie anafilaksji na poziomie cząsteczki alergenowej (CRD). Wykazano znamienne różnice w wielu badanych parametrach w zależności od wieku. W porównaniu z dziećmi szkolnymi w grupie dzieci w wieku 0–6 lat większość stanowili chłopcy i dzieci z AZS, najczęstszymi przyczynami FIA były białka mleka krowiego i kazeina (Bos d 8), częściej też obserwowano objawy ze strony skóry i błon śluzowych. W porównaniu z dziećmi młodszymi w grupie dzieci w wieku 7–18 lat anafilaksja występowała częściej u dzieci bez chorób atopowych, częściej przyczyną reakcji były orzechy laskowe, a w zakresie molekuł alergenowych 2S albumina orzecha włoskiego (Jug r 1), częstsze były też FDEIA oraz objawy ze strony układu sercowo-naczyniowego. Istotnym efektem pracy jest ustalenie fenotypów klinicznych o większym ryzyku ciężkiego przebiegu FIA. 3. i 4. stopień ciężkości obserwowano znamienne częściej u dzieci, które nie miały żadnych chorób atopowych, oraz w przypadku anafilaksji wywołanej przez Ana o 3, 2S albuminę orzecha nerkowca, a także przez Tri a 14, białko LTP pszenicy.

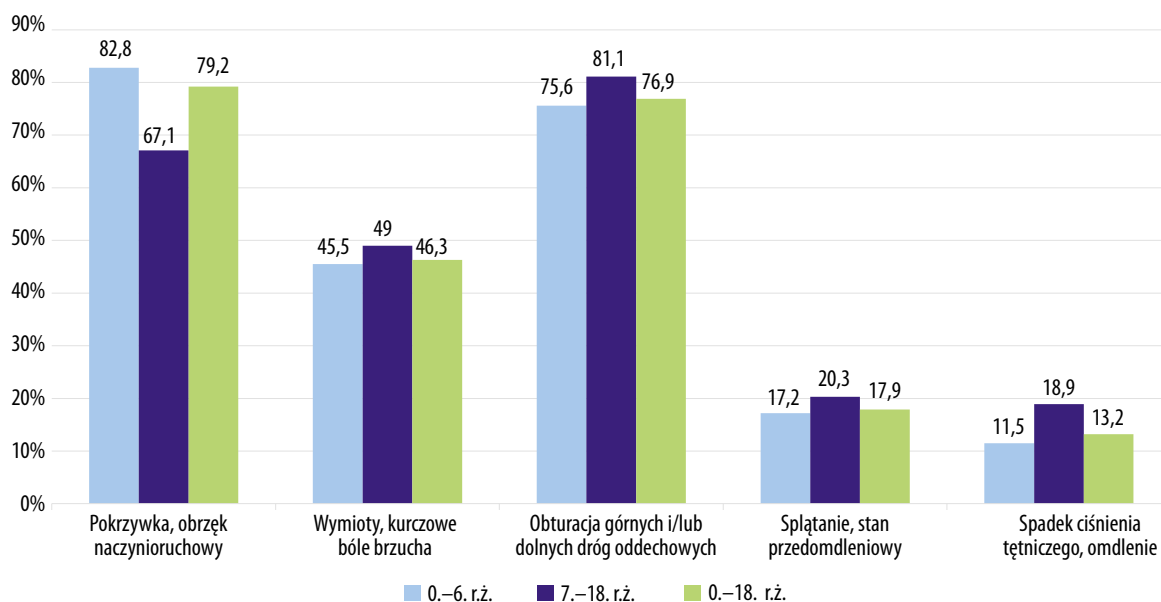
Badanie jest kompleksową oceną epidemiologiczną i kliniczną anafilaksji związanej z pokarmem w dużej populacji dzieci polskich. Dotychczas dostępne były jedynie wstępne



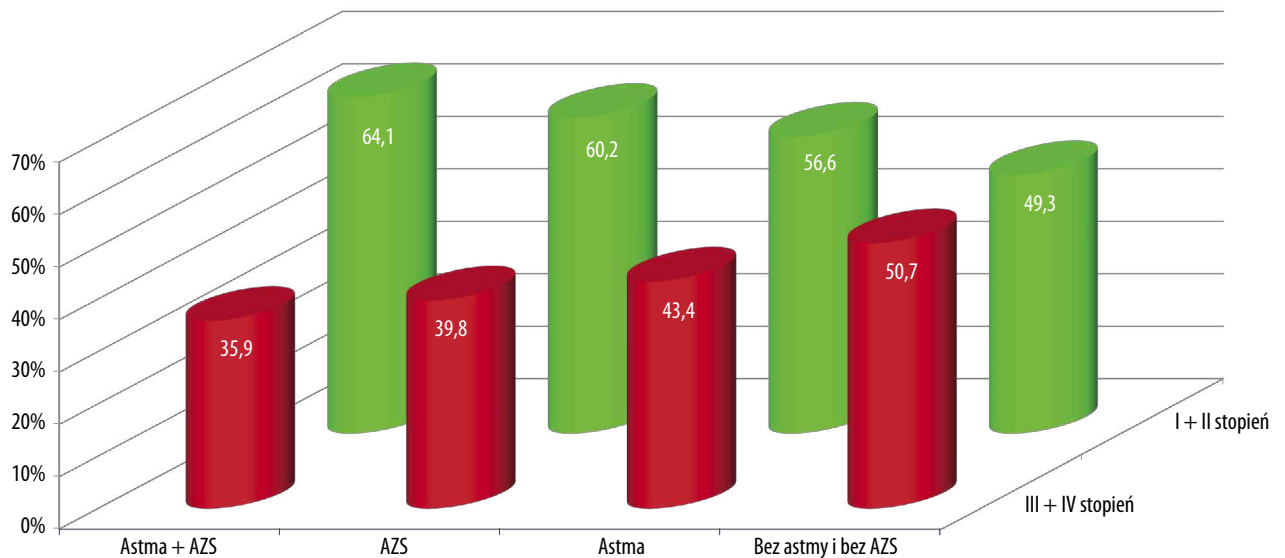
Ryc. 4. Etiologia 488 przypadków anafilaksji w populacji 345 dzieci w wieku 0–6 lat; A. według źródeł alergenowych; B. według molekul alergenowych. Opracowanie własne



Ryc. 5. Etiologia 143 przypadków anafilaksji w populacji 76 dzieci w wieku 7–18 lat; A. według źródeł alergenowych; B. według molekul alergenowych. Opracowanie własne



Ryc. 6. Częstość występowania objawów ze strony poszczególnych układów w przebiegu 631 przypadków anafilaksji u dzieci w wieku 0–18 lat z wyodrębnieniem grupy dzieci w wieku 0–6 lat (488 reakcji) oraz w wieku 7–18 lat (143 reakcje). Dane przedstawiono w wartościach procentowych (%). Opracowanie własne



Ryc. 7. Częstość występowania przebiegu klinicznego anafilaksji w 1. i 2. stopniu oraz w 3. i 4. stopniu w zależności od współwystępowania chorób atopowych. Dane przedstawiono w wartościach procentowych (%). Opracowanie własne

dane, oparte na badaniu ankietowym przeprowadzonym w grupie 305 polskich alergologów, w którym częstość anafilaksji związanej z pokarmem bez rozróżnienia wieku pacjentów ani źródła alergenowego stanowiła 29,8% wszystkich (297 przypadków) reakcji nadwrażliwości⁽¹³⁾. Ponadto w 2018 roku opublikowano częściowe badania epidemiologiczne, dotyczące etiologii 133 przypadków FIA u dzieci w wieku 0–3 lat⁽³⁾. W obecnym badaniu wykazano, że najczęstszą przyczyną anafilaksji u dzieci w wieku 0–18 lat były białka mleka krowiego (21,1%) i białko jaja (14,9%), jednak – podobnie jak w badaniu Milesa i wsp.⁽¹⁴⁾ – największą grupę (46,9%) stanowiły ziarna, do których zaliczamy m.in. orzechy drzewne, rośliny strączkowe, ziarna zbóż i ziarna właściwe. Dominacja ziaren jako przyczyny anafilaksji jest widoczna, począwszy od 2. roku życia, co przedstawiono na ryc. 3 A, 3 B i 3 C. Ryciny te dokumentują etiologię FIA w poszczególnych latach życia dzieci, biorąc pod uwagę osiem alergenów źródłowych, które najczęściej indukowały anafilaksję w badanej populacji.

Istotną wartością badania jest wykorzystanie diagnostyki molekularnej do oceny alergenu przyczynowego na poziomie molekuł alergenowych. Poza badaniami autorów⁽⁹⁾ w piśmiennictwie światowym dotychczas opublikowano tylko dwie prace, w których wykorzystano CRD do oznaczenia alergenów pokarmowych w bardzo małych grupach chorych z FIA^(15,16). W niniejszej pracy autorzy wykazali, że w przypadku 631 epizodów FIA najczęstszymi alergenami przyczynowymi były kolejno: Bos d 8 (kazeina mleka), Gal d 1 (owomukoid jaja), Ara h 2 (2S albumina orzecha arachidowego), Ses i 1 (2S albumina sezamu), Gad c 1 (parwalbumina dorsza), Ana o 3 (2S albumina orzecha nerkowca), Jug r 1 (2S albumina orzecha włoskiego) oraz Cor a 9 (11S globulina orzecha laskowego) (ryc. 2 B).

W opracowaniu wykazano, że prawie jedna czwarta (23,5%) epizodów FIA występuje w 1. roku życia, a zdecydowana

większość (77,3%) w pierwszych 6 latach życia, zatem do analizy porównawczej wybrano dwie grupy wiekowe – dzieci do 6. roku życia oraz dzieci w wieku 7–18 lat (tab. 2). Podobnie jak w innych badaniach^(17,18), w grupie dzieci w wieku 0–6 lat zdecydowaną przewagę stanowili chłopcy ($p = 0,0023$) oraz dzieci z AZS bez astmy ($p = 0,0001$). Dzieci starsze częściej miały astmę ($p = 0,0128$), podobnie jak w pracy Vetander i wsp.⁽¹⁶⁾, jednak odmiennie niż w cytowanej pracy u dzieci z anafilaksją w wieku 7–18 lat istotnie częściej nie występowała żadna z chorób atopowych. U starszych dzieci wielokrotnie częściej stwierdzano FDEIA ($p < 0,0001$), reakcje cechowały się cięższym przebiegiem klinicznym ($p = 0,0572$), częściej też podawano adrenalinę ($p = 0,0025$). Wnioski te są zgodne z wcześniejszą pracą autorów⁽⁹⁾, jak też z wynikami innych badań^(19,20).

Z klinicznego punktu widzenia niezwykle istotna jest wyraźnie odmienna etiologia anafilaksji w obu grupach, na poziomie zarówno źródeł alergenowych, jak i molekuł alergenowych (tab. 3 i 4, ryc. 4 A, B i 5 A, B). U dzieci młodszych wśród alergenów dominują kolejno: białka mleka (Bos d 8), białko jaja (Gal d 1), orzechy arachidowe (Ara h 2), sezam (Ses i 1), ryby (Gad c 1) i orzechy nerkowca (Ana o 3). U dzieci w wieku 7–18 lat najczęstsze alergeny to kolejno: orzechy arachidowe (Ara h 2), orzechy laskowe (Cor a 9), orzechy włoskie (Jug r 1), ryby (Gad c 1), sezam (Ses i 1) i orzechy nerkowca (Ana o 3).

Obraz kliniczny reakcji anafilaktycznych jest zazwyczaj bardzo zróżnicowany, a poszczególne układy są zajmowane w różnych konstelacjach. W badanej populacji, podobnie jak w pracach innych autorów⁽¹⁹⁾, najczęściej obserwowano objawy ze strony skóry i błon śluzowych (79,2%), jednak w grupie dzieci starszych występowały one znacznie rzadziej niż u dzieci do 6. roku życia (67,1% vs 82,8%; $p < 0,0001$) (tab. 5, ryc. 6). Wynik ten jest niezwykle istotny z klinicznego punktu widzenia, gdyż wskazuje,

Rozpoznanie	Bez astmy i bez AZS	Astma	AZS	AZS + astma
Bez astmy i bez AZS	–	0,334	0,1364	0,0428
Astma	0,3344	–	0,5857	0,2526
AZS	0,1364	0,5857	–	0,5295
AZS + astma	0,0428	0,2526	0,5295	–

AZS – atopowe zapalenie skóry.

Tab. 6. Porównanie ciężkości przebiegu klinicznego anafilaksji (1. i 2. stopień vs 3. i 4. stopień) pomiędzy grupami pacjentów z różnymi rozpoznaniem. Dane przedstawiono przy pomocy prawdopodobieństwa w teście Fishera (p-level) odrzucenia hipotezy zerowej mówiącej o braku istotnych różnic. Opracowanie własne

Alergen źródłowy	Stopień ciężkości				p
	1 + 2		3 + 4		
	n	%	n	%	
Orzechy nerkowca n = 26	5	19,2	21	80,8	<0,0001
Pszemica n = 26	13	50,0	13	50,0	0,5450
Brzoskwinia n = 14	7	50,0	7	50,0	0,5974
Orzechy arachidowe n = 94	53	56,4	41	43,6	0,9104
Kiwi n = 17	10	58,8	7	41,2	>0,9999
Mleko krowie n = 133	80	60,2	53	39,8	0,4319
Ryby n = 33	20	60,6	13	39,4	0,7210
Jabłko n = 16	10	62,5	6	37,5	0,8000
Orzech włoski n = 22	14	63,6	8	36,4	0,6624
Orzechy laskowe n = 36	23	63,9	13	36,1	0,4887
Sezam n = 34	22	64,7	12	35,3	0,3793
Białko jaja n = 94	65	69,2	29	30,8	0,0127

Tab. 7. Ciężkość kliniczna anafilaksji w zależności od alergenu źródłowego indukującego objawy. Porównania pomiędzy cięższym (3. i 4. stopień) i lżejszym (1. i 2. stopień) przebiegiem anafilaksji dokonano z zastosowaniem testu Fishera. Opracowanie własne

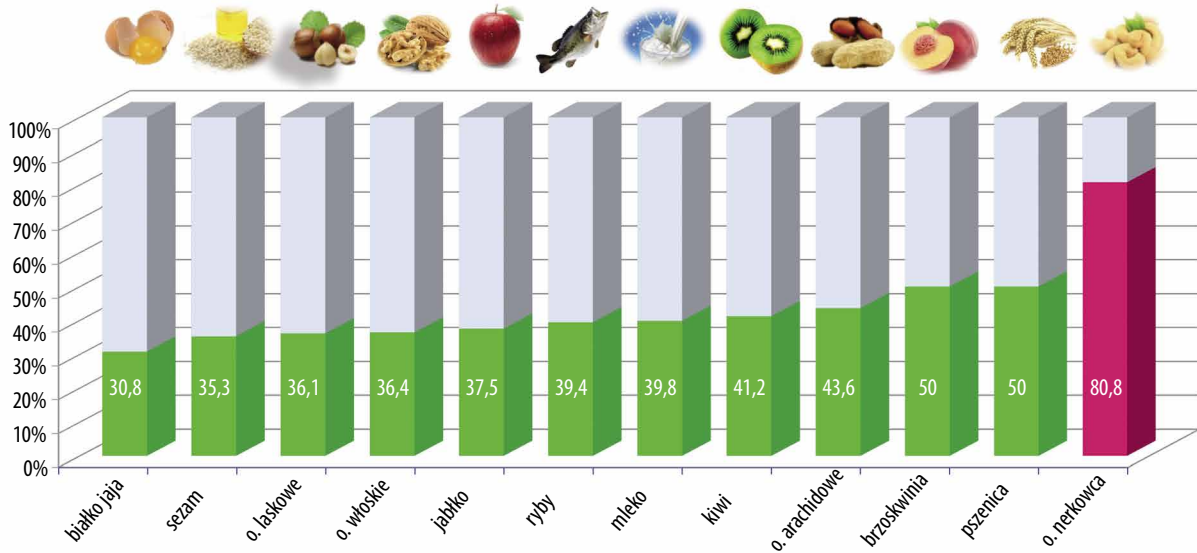
że nawet jedna trzecia dzieci w wieku 7–18 lat może nie prezentować objawów skórnych i śluzówkowych w trakcie reakcji anafilaktycznej na pokarm, co stwarza ryzyko opóźnienia rozpoznania i leczenia FIA. Najczęściej obserwowano objawy ze strony układu sercowo-naczyniowego (13,2%), jednak u dzieci starszych występowały one

Alergen	Stopień ciężkości				p
	1 + 2		3 + 4		
	n	%	n	%	
Ana o 3 n = 26	5	19,2	21	80,8	<0,0001
Tri a 14 n = 7	2	28,6	5	71,4	0,0143
Cor a 9 n = 15	8	53,3	7	46,7	0,7966
Bos d 8 n = 90	50	55,6	40	44,4	0,8183
Tri a 19 n = 14	8	57,1	6	42,9	>0,9999
Ara h 2 n = 72	43	59,7	29	40,3	0,7047
Gad c 1 n = 33	20	60,6	13	39,4	0,721
Act d 1 n = 13	8	61,5	5	38,5	0,786
Jug r 1 n = 16	10	62,5	6	37,5	0,8
Ses i 1 n = 34	22	64,7	12	35,3	0,3793
Gal d 1 n = 84	59	70,2	25	29,8	0,0091
Mal d 1 n = 14	10	71,4	4	28,6	0,4138
Bos d 4 n = 33	24	72,7	9	27,3	0,0713
Cor a 14 n = 9	7	77,8	2	22,2	0,3128
Cor a 1 n = 8	7	87,5	1	12,5	0,1469

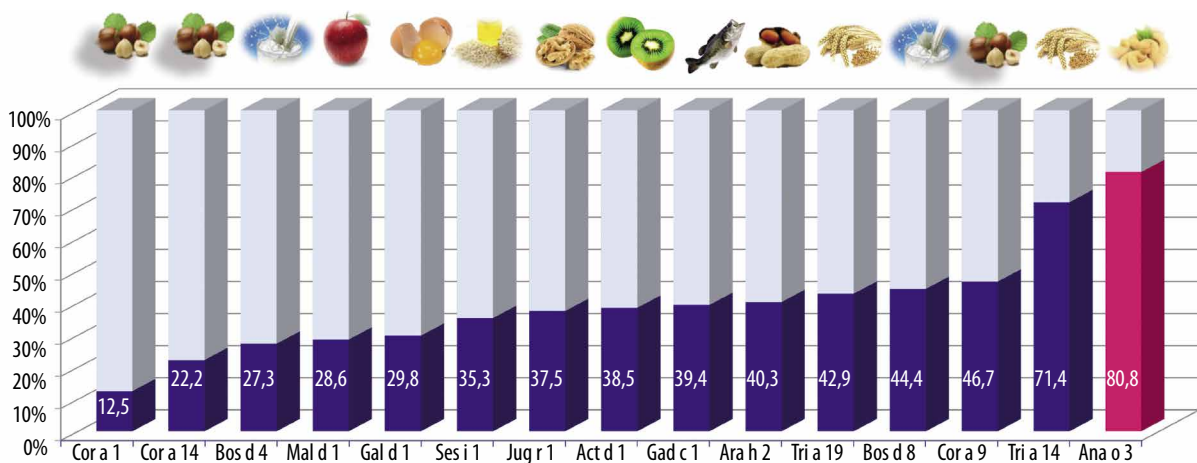
Tab. 8. Ciężkość kliniczna anafilaksji w zależności od molekuly alergenowej indukującej objawy. Porównania pomiędzy cięższym (3. i 4. stopień) i lżejszym (1. i 2. stopień) przebiegiem anafilaksji dokonano z zastosowaniem testu Fishera. Opracowanie własne

istotnie częściej (18,9% vs 11,5%; $p = 0,0247$), co prawdopodobnie było przyczyną cięższego przebiegu FIA w tej grupie wiekowej (tab. 2).

Analiza czynników wpływających na obraz kliniczny FIA przyniosła istotne wyniki, potwierdzone również we wcześniejszej pracy autorów⁽⁹⁾, które wskazują na istnienie różnych fenotypów klinicznych anafilaksji związanej z pokarmem u dzieci. Ryzyko ciężkiego przebiegu anafilaksji było większe w przypadku (i) dzieci starszych ($p = 0,0572$), (ii) dzieci, które nie miały astmy ani AZS ($p = 0,0428$), (iii) anafilaksji na 2S albuminę orzecha nerkowca (Ana o 3), (iv) anafilaksji na białko LTP pszenicy (Tri a 14). Natomiast znamienne łagodniejszy przebieg FIA występował u (i) dzieci chorujących na astmę i AZS oraz (ii) dzieci,



Ryc. 8. Częstość reakcji 3. i 4. stopnia w zależności od źródła alergenu jako przyczyny anafilaksji. Dane przedstawiono w wartościach procentowych (%). Opracowanie własne



Ryc. 9. Częstość reakcji 3. i 4. stopnia w zależności od molekuly alergenu jako przyczyny anafilaksji. Dane przedstawiono w wartościach procentowych (%). Opracowanie własne

u których przyczyną anafilaksji był owomukoid białka jaja (Gal d 1) (tab. 6–8, ryc. 7–9).

Atutami niniejszej pracy są obejmujący kilkaset epizodów zbiorów naturalnych reakcji anafilaktycznych indukowanych pokarmem, które wystąpiły w dużej i homogennej kohorcie dzieci od 1. do 18. roku życia, a także prospektywny charakter badania, pozwalający na zaplanowane i precyzyjne zebranie danych medycznych i ich analizę. Ponadto w rozpoznaniu molekuly alergenu odpowiedzialnej za wywołanie anafilaksji wykorzystano potencjał nowoczesnej diagnostyki molekularnej, co umożliwiło określenie nie tylko alergenów najczęściej wywołujących FIA, ale także – co ważniejsze – alergenów stwarzających największe ryzyko ciężkiego przebiegu klinicznego anafilaksji.

Praca ma również ograniczenia. Nie jest to badanie populacyjne, więc nie ma pewności, czy wyniki badania byłyby

podobne w przypadku populacji większej lub pochodzącej z innego regionu geograficznego. W diagnostyce alergologicznej autorzy nie opierali się na wynikach testów prowokacji pokarmem (*oral food challenge*, OFC), ponieważ użyteczność i bezpieczeństwo OFC w diagnostyce anafilaksji jest kwestionowane przez wielu badaczy^(21–24). W analizie danych nie brano również pod uwagę stężenia tryptazy w osoczu, ponieważ nie jest ono definitywnym markerem FIA u dzieci, rzadko przekracza zakres normy, a jego prawidłowa wartość nie wyklucza rozpoznania anafilaksji^(25–28).

WNIOSKI

1. Metody diagnostyki molekularnej w alergologii pozwalają na precyzyjne określenie alergenu odpowiedzialnego za wywołanie anafilaksji indukowanej pokarmem

na poziomie molekuly alergenowej co umożliwia ocenę ryzyka ciężkiego przebiegu anafilaksji w zależności od uczulenia na określoną molekułę.

2. Epidemiologia oraz cechy przebiegu klinicznego FIA u niemowląt i dzieci przedszkolnych są wyraźnie inne niż w przypadku anafilaksji u dzieci w wieku szkolnym i młodzieży.
3. Parametry demograficzne, przebieg kliniczny reakcji oraz identyfikacja obrazu molekularnego alergenu pozwalają na określenie różnych fenotypów klinicznych anafilaksji indukowanej przez pokarm u dzieci.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Podziękowania

Autorzy składają serdeczne podziękowania za współpracę i pomoc w opracowaniu danych medycznych całemu zespołowi Kliniki Alergologii i Pneumonologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc OT w Rabce-Zdroju, a zwłaszcza Elżbiecie Mazurek, Iwonie Sak, Beacie Gabis, Katarzynie Gregorczyk-Maślance, Annie Czyżewskiej-Dudek, Jadwidze Biela-Mazur, Karolinie Miśkiewicz, Marcinowi Bautowi i Adamowi Wójcikowi.

Piśmiennictwo

1. Venter C, Patil V, Grundy J et al.: Prevalence and cumulative incidence of food hypersensitivity in the first 10 years of life. *Pediatr Allergy Immunol* 2016; 27: 452–458.
2. Turner PJ, Worm M, Anotegui IJ et al. and WAO Anaphylaxis Committee: Time to revisit the definition and clinical criteria for anaphylaxis? *World Allergy Organ J* 2019; 12: 100066.
3. Błażowski Ł, Kurzawa R: Odrębności anafilaksji u niemowląt i małych dzieci. In: Kruszewski J (ed.): *Analiza przypadków klinicznych w alergologii. Leczenie farmakologiczne w praktyce polskich lekarzy. Część II*. PZWL, Warszawa 2018: 71–84.
4. Anotegui IJ, Melioli G, Canonica GW et al.: A WAO-ARIA-GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis (PAMD@): update 2020. *World Allergy Organ J* 2020; 13: 100091.
5. Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL et al.: Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report – Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 391–397.
6. Australasian Society of Clinical Immunology and Allergy (ASCI): Acute Management of Anaphylaxis. Available from: https://www.allergy.org.au/images/ASCI_HP_Guidelines_Acute_Management_Anaphylaxis_2020.pdf [cited: 15 May 2020].
7. Mueller HL: Diagnosis and treatment of insect sting sensitivity. *J Asthma Res* 1966; 3: 331–333.
8. Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC et al.: The skin prick test – European standards. *Clin Transl Allergy* 2013; 3: 3.
9. Blazowski L, Majak P, Kurzawa R et al.: Food allergy endotype with high risk of severe anaphylaxis in children – monosensitization to cashew 2S albumin Ana o 3. *Allergy* 2019; 74: 1945–1955.
10. Cox LS, Sanchez-Borges M, Lockey RF: World Allergy Organization systemic allergic reaction grading system: is a modification needed? *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5: 58–62.e5.
11. Global Initiative for Asthma: Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Updated 2020. Available from: <https://ginasthma.org/reports/> [cited: 15 May 2020].
12. Kunz B, Oranje AP, Labrèze L et al.: Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1997; 195: 10–19.
13. Jahnz-Rozyk K, Raciborski F, Śliwczyński M et al.: Anaphylaxis in Poland: the epidemiology and direct costs. *Postepy Dermatol Alergol* 2017; 34: 573–579.
14. Miles BT, Gabrielli S, Clarke A et al.: Rates of anaphylaxis for the most common food allergies. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020; 8: 2402–2405.e3.
15. Fernandes RA, Regateiro F, Pereira C et al.: Anaphylaxis in a food allergy outpatient department: one-year review. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2018; 50: 81–88.
16. Vetander M, Protudjer JLP, Lilja G et al.: Anaphylaxis to foods in a population of adolescents: incidence, characteristics and associated risks. *Clin Exp Allergy* 2016; 46: 1575–1587.
17. Ramsey NB, Guffey D, Anagnostou K et al.: Epidemiology of anaphylaxis in critically ill children in the United States and Canada. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7: 2241–2249.
18. Pouessel G, Jean-Bart C, Deschildre A et al.: Allergy Vigilance Network: Food-induced anaphylaxis in infancy compared to preschool age: a retrospective analysis. *Clin Exp Allergy* 2020; 50: 74–81.
19. Grabenhenrich LB, Dölle S, Moneret-Vautrin A et al.: Anaphylaxis in children and adolescents: the European Anaphylaxis Registry. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137: 1128–1137.
20. Worm M, Francuzik W, Renaudin JM et al.: Factors increasing the risk for a severe reaction in anaphylaxis: an analysis of data from the European Anaphylaxis Registry. *Allergy* 2018; 73: 1322–1330.
21. Turner PJ, Baumert JL, Beyer K et al.: Can we identify patients at risk of life-threatening allergic reactions to food? *Allergy* 2016; 71: 1241–1255.
22. Turner PJ, Wainstein BK: Crossing the threshold: can outcome data from food challenges be used to predict risk of anaphylaxis in the community? *Allergy* 2017; 72: 9–12.
23. Wainstein BK, Studdert J, Ziegler M et al.: Prediction of anaphylaxis during peanut food challenge: usefulness of the peanut skin prick test (SPT) and specific IgE level. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 603–611.
24. Grabenhenrich LB, Reich A, McBride D et al.: Physician's appraisal vs documented signs and symptoms in the interpretation of food challenge tests: the EuroPrevall birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol* 2018; 29: 58–65.
25. Simons FER, Arduso LR, Bilò MB et al.: International consensus on (ICON) anaphylaxis. *World Allergy Organ J* 2014; 7: 9.
26. Lieberman JA, Bingemann TA, Wang J: Diagnostic challenges in anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020; 8: 1177–1184.
27. De Schryver S, Halbrich M, Clarke A et al.: Tryptase levels in children presenting with anaphylaxis: temporal trends and associated factors. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137: 1138–1142.
28. Platzgummer S, Bizzaro N, Bilò MB et al.: Recommendations for the use of tryptase in the diagnosis of anaphylaxis and clonal mast cell disorders. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2020; 52: 51–61.