

формой ГВ, и 80 отрицательных образцов. В рамках клинических испытаний проводилось сравнение работы набора с тест-системой для количественного определения HBsAg методом хемилюминесцентного анализа «ARCHITECT HBsAg» производства «Abbott Laboratories» (США). Анализ полученных данных показал полное совпадение результатов качественного анализа, т.е. 100% чувствительность и специфичность набора «Алкор Био».

При сравнении данных о количественном уровне HBsAg в исследуемых образцах отмечена сопоставимость показателей, полученных в тест-системе «ГепатитИФА-HbsAg» производства «Алкор Био» и референтном наборе. Коэффициент корреляции составил  $r=0,99$ . В качестве примера в Таблице 1 приведены результаты количественной оценки HbsAg в низкотитражных образцах испытуемой панели [7].

Все вышеперечисленные сыворотки содержат незначительное (относительно диапазона 0,1 нг/мл - 1,0 мг/мл) количество HBsAg. Результаты клинических испытаний позволяют сделать вывод о высокой чувствительности и специфичности «ГепатитИФА-HBsAg» и рекомендовать набор к широкому применению в лабораторной практике не только для качественного, но что важно, для количественного определения HBsAg.

### Заключение

Количественное определение HBsAg у пациентов с вирусным гепатитом В является важной характеристикой для прогноза естественного течения инфекции и оценки эффективности противовирусной терапии. Заслуживает огромного внимания возможная роль маркера в определении окончательного срока терапии у больных ХГВ, получающих нуклеозидные аналоги. В качестве тест-системы для количественного определения HBsAg рекомендуется набор «ГепатитИФА-HBsAg», показавший в клинических испытаниях 100% чувствительность и специфичность для выявления ВГВ в сыворотке крови, а также высокий коэффициент корреляции с данными хемилюминесцентного метода. Набор «ГепатитИФА-HBsAg» производства «Алкор Био» можно использовать как для проведения массовых скрининговых исследований по качественному выявлению HBsAg, так и для проведения мониторинга естественного течения ХГВ и эффективности проводимой терапии, который основан на количественном определении HBsAg.

Ссылки на литературные источники сохраняются в издательстве и высылаются по просьбе читателей.

## НАБОР «АЛЛЕРГОИФА-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ IgE» КОМПАНИИ «АЛКОР БИО». ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В НИИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ им. П.Н. КАШКИНА

О.В. Аак, канд. хим. наук, ведущ. науч. сотр., А.В. Соболев, д-р мед. наук, профессор  
НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова



**Аак О.В.,**  
канд. хим. наук, ведущ. науч. сотр.

НИИ медицинской микологии  
им. П.Н. Кашкина Северо-Западного  
государственного медицинского  
университета им. И.И. Мечникова

**Д**распространенность аллергических заболеваний имеет ярко выраженную тенденцию к росту, что отчетливо прослеживается повсеместно и для большинства нозологических форм аллергии, включая атопические варианты течения. Наиболее убедительные данные были получены во время проведения III национального обследования здоровья и питания в США (1988-1994 г.г.) при комплексном исследовании, включающем постановку кожных проб к 10 распространенным аллергенам у более чем 30 тыс. случайно выбранных человек. Оказалось, что больше половины обследованных американцев страдают атопической формой аллергии. Сравнение с результатами предыдущего обследования (1976-1980 г.г.) показало увеличение частоты сенсибилизации к распространенным аллергенам от 2,1 до 5,5 раз [1].

Особое значение уделяется выявлению больных с атопическим вариантом аллергии. Именно у этой группы пациентов возможно проведение аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ), которая позволяет снизить чувствительность к аллергенам и уменьшить риск развития поливалентной аллергии. Для решения этой задачи требуется проведение аллергообследований с определением уровня специфических IgE (sIgE) к причинно-значимым аллергенам.

В настоящее время большинство анализов на sIgE выполняются методом иммуноферментного анализа (ИФА). Первый анализ sIgE был выполнен радиоаллергосорбентным методом в 1972 г. (Phadebas IgE Test), при этом использовались бумажные диски с иммобилизованными аллергенами. Первый вариант «обращенного» ИФА (REAST) sIgE был описан испанскими авторами в 1983 г. [2]. Было предложено улавливать из анализируемой пробы все IgE, а sIgE затем проявлять конъюгатами пероксидазы с аллергенами. В 1986 г. метод был универсализован применением общего для всех аллергенов проявляющего реагента — конъюгата стрептавидин-пероксидаза, аллергены же модифицировались биотинилированием [3]. Это удлиняло ИФА на одну стадию, но оказалось возможным сократить продолжительность анализа путем преформирования в растворе иммунных комплексов аллерген-sIgE и IgE-биоанти-IgE. Термин «обращенный» был использован авторами, чтобы подчеркнуть отличие от аллергосорбентного ИФА с иммобилизованными на твердой фазе аллергенами. Поскольку на первой

стадии происходит извлечение из пробы sIgE иммобилизованными на твердой фазе улавливающими антителами, то метод можно было бы назвать ИФА с использованием улавливающих антител. В настоящее время эта методика получила название реверсивный или «capture»-вариант ИФА.

В аллергосорбентном варианте ИФА нанесенные на твердую фазу экстракты аллергенов содержат палитру посторонних белков, гликопротеидов и полисахаридов. Это, во-первых, уменьшает специфическую сорбционную емкость аллергосорбентов, что снижает чувствительность анализа. Во-вторых, без должной предварительной обработки экстракта высока вероятность получения сорбента, обладающего и неспецифической емкостью, что приводит к частичной, а иногда и полной потере специфичности анализа. На специфичность аллергосорбентного метода могут оказывать негативное влияние высокие концентрации общего IgE и гемолиз. В отличие от аллергосорбентного варианта в «capture»-варианте ИФА иммуносорбент создан на основе антител к IgE (МАТ), что исключает перекрестные неспецифические реакции с иммуноглобулинами классов А, G, М и D и положительно влияет на специфичность. Так же важной особенностью «capture»-варианта является возможность использования серии калибраторов IgE для построения калибровочной кривой. Представление результатов не в балльной шкале, а в виде цифрового значения концентрации позволяет сравнивать результаты, полученные в различных лабораториях и с использованием реагентов различных производителей, следить за эффективностью лечения и предсказывать возможность клинических проявлений аллергии.

«Capture»-вариант ИФА быстро завоевал популярность, в настоящее время ряд зарубежных фирм производят биотинилированные аллергены и другие реагенты для иммуноферментного анализа. В их числе ZenTech, Dr. Fooke, Allermatrix, Siemens Healthcare Diagnostics. В 2010 г. в их ряды вступил и «Алкор Био», выпустив набор реагентов «АллергоИФА-специфические IgE». Анализ удобен для выполнения в разных клинических лабораториях независимо от их производительности. Достигается это использованием единого для всех аллергенов иммуносорбента — планшета, в лунках которого иммобилизованы анти-IgE антитела. Создание иммуносорбента на основе антител, а не препарата аллергена обеспечивает анализу гибкость, возможность формирования произвольного перечня аллергенов по показаниям врача, а также снижает неспецифические реакции. Аллерген же несет на себе биотинную метку и проявляется на твердой фазе в составе иммунных комплексов со sIgE конъюгатом специфического к биотину белка с пероксидазой хрена. Окончание анализа фотометрическое. Результаты регистрируются на любом вертикальном планшетном фотометре [4].

В НИИ медицинской микологии имени П.Н. Кашкина проводится аллергологическое обследование больных с использованием тест-систем компании «Алкор Био». В начале работы были проведены ограниченные испытания. Сравнивались наборы «АллергоИФА-специфические IgE» и биотинилированные аллергены к ним компании «Алкор Био» с MAST-CLA наборами компании «Hitachi Chemical Diagnostics». Для испытаний были взяты 6 отечественных биотинилированных аллергенов: береза бородавчатая (t3), полынь обыкновенная (w6), эпителий кошки (e1), домашняя пыль (h1), клещи *Dermatophagoides pteronissinus* (d1) и *Dermatophagoides farina* (d2). Каждый аллерген испытывали на 20 здоровых людях и 20 пациентах, страдающих тяжелыми формами atopических заболеваний. Средний возраст пациентов составил 28 лет, из них 54% — мужчины, 46% — женщины. Концентрация общего IgE в большинстве сывороток больных была высо-

кой или очень высокой. По результатам испытаний сделан вывод о высокой специфичности и хорошей чувствительности тест-системы «АллергоИФА-специфические IgE» и целесообразности её применения для выявления причинно значимых аллергенов [4].

Аллергодиагностика является неотъемлемой частью при установлении возможных причин кашля и подборе методов лечения. При лёгочной форме муковисцидоза кашель является одним из основных симптомов заболевания. В начальной стадии болезни кашель возникает в основном по утрам и сопровождается отхождением небольшого количества мокроты. Из-за повышенной вязкости мокроты отхождение её затруднено, что приводит к бактериальному воспалению, отёку и инфильтрации стенки бронхов. Больные муковисцидозом входят в группу риска по развитию аллергического бронхолёгочного аспергиллёза (АБЛА), особенно дети в возрасте до 10 лет с наличием полипозного риносинусита. Установление у них выраженной сенсибилизации к грибам является очень важным и при удовлетворении не менее 6 критериев АБЛА (включая высокий — более 417 МЕ/мл уровень общего IgE) требует назначения антимикотических препаратов.

**Клинический пример 1.** Больной Б., 27 лет, находится под наблюдением в микологической клинике с диагнозом «Муковисцидоз, смешанная форма, средней степени тяжести, ремиссия. Вторичный хронический обструктивный бронхит, ремиссия. Двусторонние бронхоэктазы». По данным 2011 года, уровень общего IgE составлял 237 Ед/мл, а уровень специфических IgE-антител к *A. fumigatus* составлял 2,27 МЕ/мл (средний уровень). Аллергологическое обследование проводилось с использованием тест-систем «АллергоИФА-специфические IgE». Количество эозинофилов в периферической крови составляло 8%. Диагноз АБЛА подтверждён не был и антимикотическая терапия не проводилась.

В 2012 году больному было проведено повторное аллергологическое и микологическое обследование. Уровень общего IgE составил 171 Ед/мл. Динамики остальных показателей не наблюдалось. Диагноз АБЛА подтверждён также не был и антимикотическая терапия не проводилась.

**Клинический пример 2.** Больная П., 7 лет, жаловалась на длительный кашель. Уровень общего IgE составлял 475 Ед/мл. При аллергологическом обследовании с использованием MAST-панели на 36 аллергенов была выявлена поливалентная сенсибилизация, в том числе к грибам рода *Aspergillus* (++), аллергия к пыльце берёзы (++), полыни (++), шерсти собаки (++), домашней пыли (+). Для проверки, не обусловлена ли поливалентная сенсибилизация высоким уровнем неспецифического сигнала, было назначено дополнительное аллергообследование с использованием тест-системы «АллергоИФА-специфические IgE». Было установлено, что у ребёнка имеется низкий (0,6 МЕ/мл) уровень специфических к *A. fumigatus* IgE, что по совокупности лабораторных и клинических данных не позволяет установить диагноз АБЛА на момент обследования и, следовательно, нет необходимости лечения антимикотическими препаратами.

Следует отметить, что аномально высокий уровень фонового сигнала не характерен для сывороток больных муковисцидозом, а является индивидуальной особенностью сыворотки пациента на момент взятия крови. Приведенные клинические случаи иллюстрируют высокую специфичность тест-систем, в основе которых лежит «capture»-вариант иммуноферментного анализа. Мы рекомендовали биотинилированные аллергены и наборы «АллергоИФА-специфические IgE» к использованию в практике клинко-диагностических лабораторий

*Ссылки на литературные источники сохраняются в издательстве и высылаются по просьбе читателей.*