

---

## ОСНАЩЕНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРИИ

---

### Сравнительная характеристика тест-системы “АллергоИФА – специфические IgE” ООО “Компания Алкор Био” и “ImmunoCAP” фирмы Phadia

**Л.Т. Кочиш**

зав. лабораторией аллергологии,

**О.Ю. Мухортых**

науч. сотр. лаборатории аллергологии,

ООО “Вега” группы компаний “Алкор Био”, Санкт-Петербург,

**Н.А. Иванова**

канд. мед. наук, доцент кафедры детских болезней,

**Г.А. Кузьмина**

зав. отделением клиники детских болезней,

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

По данным разных исследователей, как в России, так и за ее пределами [2, 4, 7, 10] до 40% населения страдают аллергическими заболеваниями, обусловленными преимущественно иммунными механизмами с участием специфических к различным аллергенам иммуноглобулинов E (sIgE). Распространенность и значительная тяжесть аллергопатологии инициировали усилия по созданию и совершенствованию тест-систем для определения уровня содержания sIgE в сыворотке крови [1, 3, 7, 8, 9].

Первым в 1967 г. для этих целей был разработан радиоаллергосорбентный тест (RAST), позволявший определять *in vitro* уровень sIgE в сыворотке крови [11]. Однако чувствительность этого метода была ограничена твердой фазой (простые целлюлозные диски), на которой сорбировались аллергены с радионуклидной меткой, его автоматизация – маловероятна, а утилизация радиоактивных отходов – весьма проблематична [5].

Далее в процессе совершенствования появились тест-системы второго поколения для диагностики аллергии *in vitro*, не использующие, в отличие от RAST, специальную радиоактивную метку. При этом разница в харак-

теристиках наборов разных производителей, использовавших различные экстракты аллергенов и типы антител, привела к получению весьма противоречивых результатов. Поэтому в 1992 г. специальный комитет Американской академии аллергии и иммунологии рекомендовал применение количественных методов определения, при которых результаты представляются в единицах, пропорциональных содержанию sIgE [6]. Соответственно полученные результаты стали выражать в количественных единицах – kU/L (U – международная единица, МЕ), где 1 МЕ/мл равна 2,4 нг IgE на 1 л. Для рассматриваемых технологий второго поколения была также введена аттестация калибровочных образцов по международному стандарту ВОЗ.

Тест-системы второго поколения подразделяют в зависимости от типа носителя, на который сорбируются аллергены, – на твердофазные и жидкофазные. Следует отметить, что выбор твердой фазы в качестве носителя аллергенов создает определенные сложности с учетом необходимости обеспечения максимальной сорбционной емкости и доступности аллергенов для реакции со специфическими IgE. Тест-системы, использующие аллергены в жидкой фазе, напротив, характеризуются сравнительно большей доступностью аллергенов для связи с IgE за счет протекания реакции в жидкой среде.

Жидкофазные аллергены применяют, в частности, для проведения реверсивного аллергосорбентного теста (“capture”, REAST). В его основе лежит метод, описанный ранее V. Olivieri et al. [8] и усовершенствованный M. Plebani et al. [9, 10]. В ходе такого анализа используются мышинные моноклональные антитела к человеческому IgE, нанесенные в лунки микропланшета (твердая фаза), а также растворы жидкофазных аллергенов со специальными биотиновыми метками. В ходе первой стадии реакции после введения сывороток и жидких биотинилированных аллергенов в лунки микропланшета F<sub>c</sub>-фрагменты всех имеющихся молекул IgE в сыворотке связываются с F<sub>ab</sub>-фрагментами фиксированных мышинных моноклональных антител. А биотинилированный аллерген – с F<sub>ab</sub>-фрагментами IgE-антител, специфичных к данному аллергену, если таковые присутствуют в сыворотке крови. На второй стадии в лунки добавляют конъюгат стрептавидин-пероксидазы для определения количества биотина, оказавшегося на твердой фазе вместе с вступившими в реакцию аллергенами, что позволяет в дальнейшем количественно определять концентрацию соответствующих sIgE в сыворотке крови.

Реверсивный аллергосорбентный тест был реализован в первом отечественном наборе с биотинилированными аллергенами “АллергоИФА-специфические IgE” (“Алкор Био”, Санкт-Петербург, Россия) [2, 3]. Анализ выполняется на полистироловых планшетах в стандартной технике иммуноферментного анализа (ИФА). Удобство исследований достигается за счет использования единого для всех аллергенов иммуносорбента – планшета, в лунках которого иммобилизованы моноклональные анти-IgE антитела.

За счет создания иммуносорбента, содержащего антитела к IgE, а не фиксированные на твердой фазе аллергены, исключена возможность перекрестной реакции с другими типами иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM, IgD). Также устранено влияние других неспецифических факторов, присутствующих в сыворотке крови и нередко сказывающихся на результате при проведении обычного непрямого метода ИФА. Аллерген же несет на себе биотиновую метку и проявляется на твердой фазе в составе иммунных комплексов с sIgE и конъюгатом, специфичным к биотину с пероксидазой хрена. Результаты анализа регистрируются на планшетном фотометре. Необходимо отметить, что такая тест-система проста в использовании и позволяет выполнять анализы на автоматическом анализаторе. Возможность свободного выбора аллергенов придает анализу гибкость и способность к формированию произвольного репертуара аллергенов для проведения индивидуализированного анализа у каждого конкретного пациента.

В статье представлены результаты оценки специфичности и чувствительности тест-системы “АллергоИФА – специфические IgE” в сравнении с референтной тест-системой “ImmunoCAP System” шведской фирмы “Phadia”, являющейся признанным “золотым стандартом” ИФА для определения sIgE в аллергологии. Представлен результат анализа обеих тест-систем с данными кожных скарификационных проб *in vivo*, считающихся более точными, но и более инвазивными, что накладывает на их проведение целый ряд ограничений.

Исследование было проведено в Санкт-Петербурге на базе лаборатории аллергологии ООО “Вега” группы компаний “Алкор Био”. Клинический материал предоставлен клиникой детских болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова и ГУЗ “Детская городская больница № 1”.

В первой части исследования было проведено сравнение специфичности и чувствительности двух тест-систем с применением 10 одноименных аллергенов: *Derm. pteronyssinus* (d1), *Derm. farinae* (d2), домашняя пыль (h1), эпителий кошки (e1), плевел (g5), тимopheевка луговая (g6), ольха серая (t2), береза бородавчатая (t3), лещина (t4), полынь обыкновенная (w6). Для этого были использованы 767 сывороток крови пациентов (от 56 до 96 сывороток на каждый из 10 аллергенов). Результаты анализов с использованием референтной тест-системы “ImmunoCAP System” шведской фирмы “Phadia” дали 383 положительных и 384 отрицательных результата. В тест-системе “АллергоИФА – специфические IgE” были определены соответственно 377 положительных и 390 отрицательных результатов.

Во второй части исследования было проведено сопоставление результатов 171 кожной скарификационной пробы (от 9 до 32 проб на каждый из изученных аллергенов), среди которых было 43 отрицательных и

128 положительных реакций, с результатами анализов сывороток крови этих пациентов, проведенных с использованием двух сравниваемых тест-систем.

Были установлены высокие показатели специфичности и чувствительности отечественной тест-системы “АллергоИФА – специфические IgE” по сравнению с тест-системой “ImmunoCAP System” (табл. 1). В частности, специфичность тест-системы “АллергоИФА – специфические IgE” варьировала в пределах от 91 до 100%, а для пяти из аллергенов (g5, g6, t2, t3, w6) этот показатель был равен 100%. Чувствительность колебалась от 92 до 100%, а по двум аллергенам (h1 и g6) этот показатель также составил 100%.

Следует особо отметить, что коэффициент корреляции Пирсона при сопоставлении результатов анализов с использованием тест-систем “АллергоИФА – специфические IgE” и “ImmunoCAP System” был высоким для всех десяти исследуемых аллергенов и варьировал от 0,86 до 0,99 ( $p < 0,05$ ). Таким образом, статистический анализ полученных количественных данных также подтвердил высокую степень совпадения положительных и отрицательных результатов при использовании обеих тест-систем.

Сравнение результатов анализов, проведенных с использованием отечественной и референтной тест-систем и с реакциями скарификационных кожных проб (СКП), представлены на диаграммах 1, 2.

Таблица 1

**Характеристика показателей тест-системы “Алкор Био” в сравнении с референтной тест-системой “Phadia”**

№ п/п	Шифр	Наименование аллергена	Кол-во сывороток	Специфичность (%)	Чувствительность (%)	Эффективность (%)	Коэфф-т корреляции $p < 0,05$
1	d1	Derm. pteronyssinus	80	95	95	95	0,92
2	d2	Derm. farinae	61	97	92	95	0,97
3	h1	Домашняя пыль	80	97	100	99	0,96
4	e1	Эпителий кошки	80	91	98	94	0,86
5	g5	Плевел	80	100	93	96	0,91
6	g6	Тимофеевка луговая	56	100	100	100	0,96
7	t2	Ольха серая	81	100	98	99	0,97
8	t3	Береза бородавчатая	96	100	98	99	0,99
9	t4	Лещина	72	97	94	96	0,92
10	w6	Полынь обыкновенная	81	100	93	96	0,94

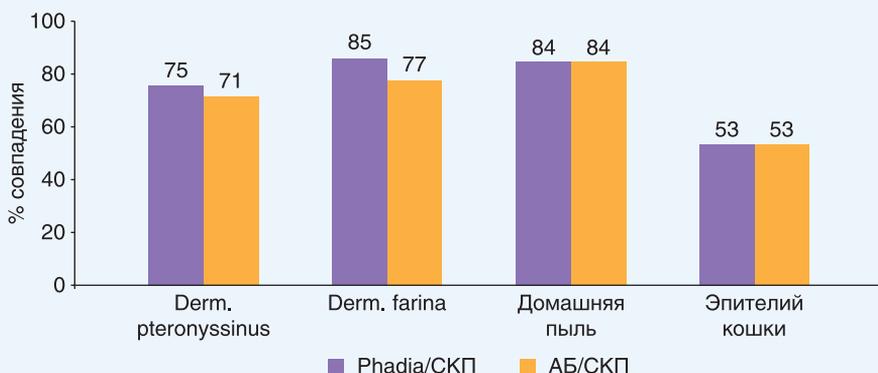


Рис. 1. Сравнение результатов тест-систем (“Алкор Био”, “Phadia”) и данных скарификационных кожных проб (СКП) для бытовых аллергенов

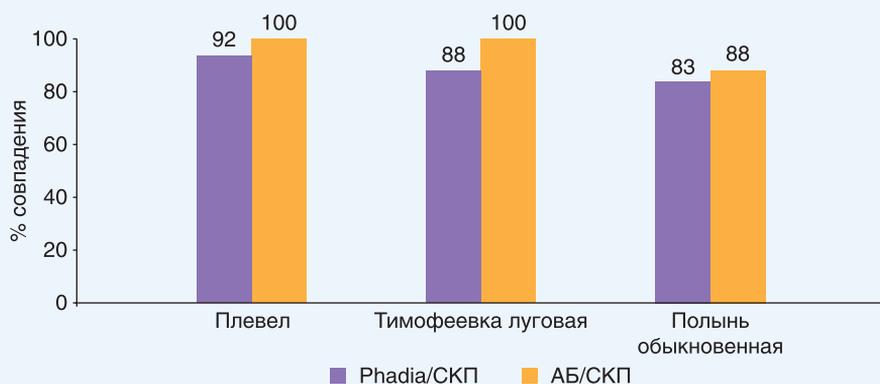
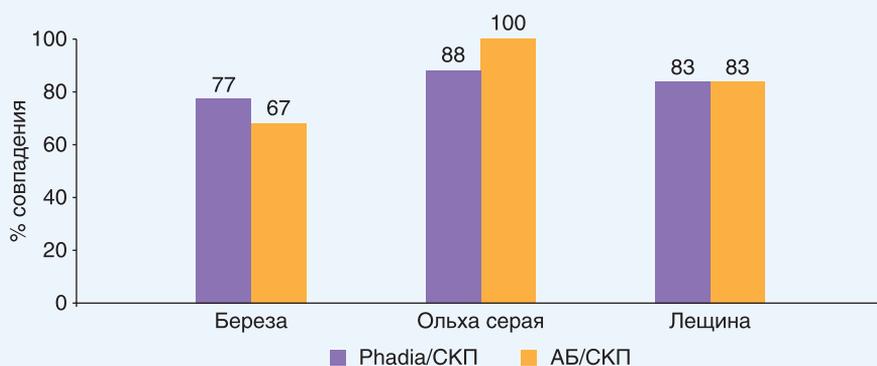


Рис. 2. Сравнение результатов тест-систем (Алкор Био, Phadia) и данных скарификационных кожных проб (СКП) для пыльцевых аллергенов

В ходе проведенного исследования было установлено, что для подавляющего большинства (9 из 10) аллергенов частота совпадений результатов опре-

деления sIgE с кожными пробами составила от 71 до 100% – у тест-системы “АллергоИФА – специфические IgE” и от 75 до 100% – у тест-системы “ImmunoCAP System”. Лишь по аллергену эпителия кошки (e1) частота совпадения с кожными пробами была отмечена для обеих тест-систем на достаточно низком уровне – 53%. Вероятно, невысокая чувствительность выявления специфических антител связана с участием неIgE – опосредованного механизма развития иммунного ответа на аллерген эпителия кошки (e1).

Полное совпадение изученного показателя в обеих тест-системах было отмечено по 5 аллергенам (e1, g6, h1, t4, w6). По 4 аллергенам (d1, d2, t2, t3) больше совпадений с результатами кожных проб (на 4–12%) было отмечено для тест-системы “ImmunoCAP System”. По одному аллергену (g5) – на 8% больше совпадений с кожными пробами было получено для тест-системы “АллергоИФА – специфические IgE”.

Проведенные исследования подтвердили высокую специфичность (91–100%) и чувствительность (92–100%) тест-системы “АллергоИФА-специфические IgE” по сравнению с референтной тест-системой “ImmunoCAP System”, а также продемонстрировали хорошую корреляцию с результатами кожных проб. Реализованный в наборе “capture”-вариант ИФА позволяет с достаточно высокой точностью выявлять sIgE в сыворотке крови к различным аллергенам.

Тест-система и аллергены к ней имеют регистрационное удостоверение Росздравнадзора и разрешены к использованию на территории РФ.

### Список использованной литературы

1. Аак О.В., Соболев А.В. Сравнение набора реагентов “АллергоИФА-специфический IgE” и биотинилированных аллергенов компании “Алкор Био” с MAST-CLA Hitachi Chemical Diagnostics при определении специфических IgE у больных atopическими заболеваниями // Справочник заведующего КДЛ. 2011. № 9. С. 50–54.
2. Кочиш Л.Т. Высокотехнологичная компания “Алкор Био”: современный подход к разработке и производству иммуноферментных тест-систем для аллергодиагностики // Справочник заведующего КДЛ. 2011. № 4. С. 33–36.
3. Кочиш Л.Т., Мухомых О.Ю., Бегаева Н.Н., Верлыго Е.А. Результаты сравнительного исследования тест-систем “АллергоИФА – специфические IgE” ООО “Компания Алкор Био” и “UniCAP System” фирмы Phadia // Российский аллергологический журнал. 2012. № 1. Вып.1. С. 164–165.
4. Соболев А.В., Аак О.В. Современная аллергодиагностика: опыт работы // Hi+Med. Высокие технологии в медицине. 2011. Вып. № 2. С. 8–10.
5. Leimgriber A. et al. Clinical evaluation of a new in vitro assay for specific IgE, the ImmunoCAP system // Clin. experimental allergy. 1991. Vol. 21. P. 127–131.
6. Locky R. et al. The use of in vitro tests for IgE antibody in the specific diagnosis of the IgE-mediated disorders and in the formulation of allergen immunotherapy. Position statement American Academy of Allergy and immunology // J. Allergy Clin. Immunology. 1992. Vol. 90. P. 263–267.

7. *Nepper-Christensen S.* et al. In vitro diagnostic evaluation of patients with inhalant allergies: summary of probability outcomes comparing results of CLA- and CAP-specific immunoglobulin E test systems // *Allergy Asthma Proc.* 2003. Vol. 24. № 4. P. 253–258.

8. *Olivieri V.* et al. Capture assay for specific IgE // *J. Immunol. Methods.* 1993. Vol. 155. P. 65–72.

9. *Plebani M.* et al. Clinical evaluation of a new quantitative method for specific IgE antibodies // *Eur. J. Clin. Chem. Biochem.* 1996. Vol. 34. P. 579–584.

10. *Plebani M.* et al. Measurement of specific immunoglobulin E: intermethod comparison and standardization// *Clin. Chem.* 1998. Vol. 44. № 9. P. 1974–1979.

11. *Wide L., Bennich H., Johansson S.G.O.* Diagnosis of allergy by an in-vitro test for allergen antibodies // *Lancet.* 1967. Vol. 102. P. 1105–1107.