



Сравнение набора реагентов “АллергоИФА-специфический IgE” и биотинилированных аллергенов компании “Алкор Био” с MAST-CLA Hitachi Chemical Diagnostics при определении специфических IgE у больных атопическими заболеваниями

О.В. Аак

канд. хим. наук, ведущ. науч. сотр.,

А.В. Соболев

*д-р мед. наук, профессор НИИ медицинской
микологии им. П.Н. Кашкина*

*ГОУ ДПО “Санкт-Петербургская медицинская академия
последипломного образования Росздрава”*

По данным разных авторов, как в России, так и за рубежом до 40% населения в той или иной форме страдают аллергическими заболеваниями, такими как аллергический ринит, бронхиальная астма, атопический дерматит, крапивница, ангиоотек, которые в большой степени обусловлены иммунными механизмами с участием специфических к тому или иному аллергену иммуноглобулинов E (sIgE). По результатам аллергообследования больных в клинике нашего института 50–80% (в зависимости от нозологии) обследованных являются атопиками.

Распространенность атопии диктует необходимость создания и совершенствования систем и средств определения уровня или, в последнее время, концентрации sIgE. Не вдаваясь в историю вопроса, можно заметить, что в настоящее время за рубежом наибольшее распространение получили диагностические системы ImmunoCAP (Phadia), Immulite (Siemens), MAST-CLA (Hitachi). Эти системы, прошедшие мультицентровые испытания в сравнении с тестами *in vivo*, часто используются как референтные разработчиками новых методов анализа.

Созданный в 1976 г. MAST-CLA метод [1] прошел испытания в сравнении с кожными пробами, провокационными тестами и методами *in vitro* диагностики, включая ImmunoCAP [2, 3, 4]. В MAST-CLA тесте использован иммунохемилюминесцентный метод анализа. В качестве твердой фазы применяются целлюлозные нити, на которые ковалентно присоединен аллерген. Нити заключены в плоский проточный элемент, что упрощает и ускоряет промывку. На первой стадии анализа происходит сорбция сы-

вороточных sIgE. После промывки и удаления несвязавшихся компонентов сыворотки иммобилизованные sIgE проявляются конъюгатом поликлональных анти-IgE антител с пероксидазой хрена. На завершающей стадии ферментативной реакции в качестве субстрата используется люминол. Интенсивность хемилюминесценции регистрируется фотоумножителем. Результаты анализа выражаются в классах от 0 до 4.

В 1990-е гг. в Европе появляются разработки нового метода для количественного определения sIgE, в которых используются твердая фаза с сорбированными специфичными к IgE антителами и биотинилированные аллергены. Так, компания Radim Diagnostics в 1993 г. предложила вариант анализа, отличавшийся улавливанием твердой фазой преформированных в растворе иммунных комплексов “sIgE-биотинилированный аллерген”, что сокращало время исследования [5]. Дальнейшее развитие этот метод, названный реверсивным аллергосорбентным тестом, получил в компании “Алкор Био” (г. Санкт-Петербург) и был реализован в наборе “АллергоИФА-специфический IgE” с биотинилированными аллергенами [6] (рис. 1). Исследование выполняется на полистироловых планшетах в стандартной технике иммуноферментного анализа и не требует специального оборудования. Анализ удобен для выполнения независимо от производительности клинической лаборатории. 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 биотиновую метку и проявляется на твердой фазе в составе иммунных комплексов с sIgE конъюгатом специфичного к биотину белка с пероксидазой хрена. Окончание анализа фотометрическое. Результаты регистрируются на любом вертикальном планшетном фотометре.

В представленной работе была поставлена задача сравнения наборов “АллергоИФА-специфический IgE” и биотинилированных аллергенов (“Алкор Био”) с MAST-CLA наборами “Российская панель IV” (Hitachi Chemical Diagnostics).

Для испытаний были взяты 6 отечественных биотинилированных аллергенов: береза бородавчатая (t3), полынь обыкновенная (w6), эпите-



Рис. 1. Набор “АллергоИФА-специфический IgE” производства компании “Алкор Био”



лий кошки (e1), домашняя пыль (h1), клещи *Dermatophagoides pteronissinus* (d1) и *Dermatophagoides farina* (d2).

Каждый аллерген испытывали на 20 контрольных и 20 положительных (по данным MAST-CLA) больных, госпитализированных в клинику института с диагнозами бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический ринит. Средний возраст пациентов составил $28,23 \pm 16,5$ лет, из них 54% – мужчины, 46% – женщины.

Скарификационные тесты, за исключением единичных случаев, не проводились вследствие госпитализации больных в стадии обострения основного заболевания, невозможности отмены антигистаминных и кортикостероидных препаратов. Аллергию на тот или иной аллерген подтверждали совпадением результатов лабораторных тестов с анамнезом заболевания, а также результатами элиминационных мероприятий.

Результаты обрабатывали с помощью программы StatSoft Statistica 8.0.

Полученные данные (рис. 2) показывают, что больные, страдающие заболеваниями, вызванными или отягощенными атопией, проходящие лечение в условиях стационара, имеют ярко выраженную сенсibilизацию к причинным аллергенам, во всяком случае при оценке в классах MAST. При рассмотрении результатов следует помнить, что 4-й класс MAST не имеет верхней границы, – это обстоятельство могло сказаться на силе корреляции результатов. В целом полученные коэффициенты корреляции (таблица) следует принять хорошими для аллергенов t3, w6, e1, h1 и удовлетворительными при параметрической оценке для аллергенов d1 и d2.

Значения У-интерсепта близки к нулю для аллергена пыльцы березы (t3) и невелики для аллергенов пыльцы полыни (w6), домашней пыли (h1) и эпителия кошки (e1).

**Клиническая чувствительность, специфичность
и результаты корреляционного анализа для реверсивного
аллергосорбентного теста**

Аллерген	Чувствительность, %	Специфичность, %	Коэффициент корреляции Пирсона, $p < 0,05$	Коэффициент корреляции гамма, $p < 0,05$
t3 (береза бородавчатая)	75	100	0,636	0,779
w6 (полынь обыкновенная)	65	75	0,582	0,582
e1 (эпителий кошки)	90	85	0,617	0,699
h1 (домашняя пыль)	100	90	0,655	0,869
d1 (клещ <i>Dermatophagoides pteronissinus</i>)	65	65	0,538	0,363
d2 (клещ <i>Dermatophagoides farina</i>)	40	95	0,597	0,523

Отрицательные интерсепты для клещевых аллергенов (d1, d2), очевидно, требуют уточнения в дальнейших исследованиях с накоплением данных в области первых классов MAST.

Значения специфичности, полученные для набора “АллергоИФА-специфический IgE” и биотинилированных аллергенов производства “Алкор Био”, в среднем выше, чем в опубликованных сравнительных исследованиях других методов. Это уменьшает риск гипердиагностики. Клиническая же чувствительность для всех аллергенов, кроме домашней пыли, ниже, чем у MAST-панелей.

Основываясь на имеющемся опыте работы с биотинилированными аллергенами, следует добавить, что метод устойчив к таким факторам неспе-

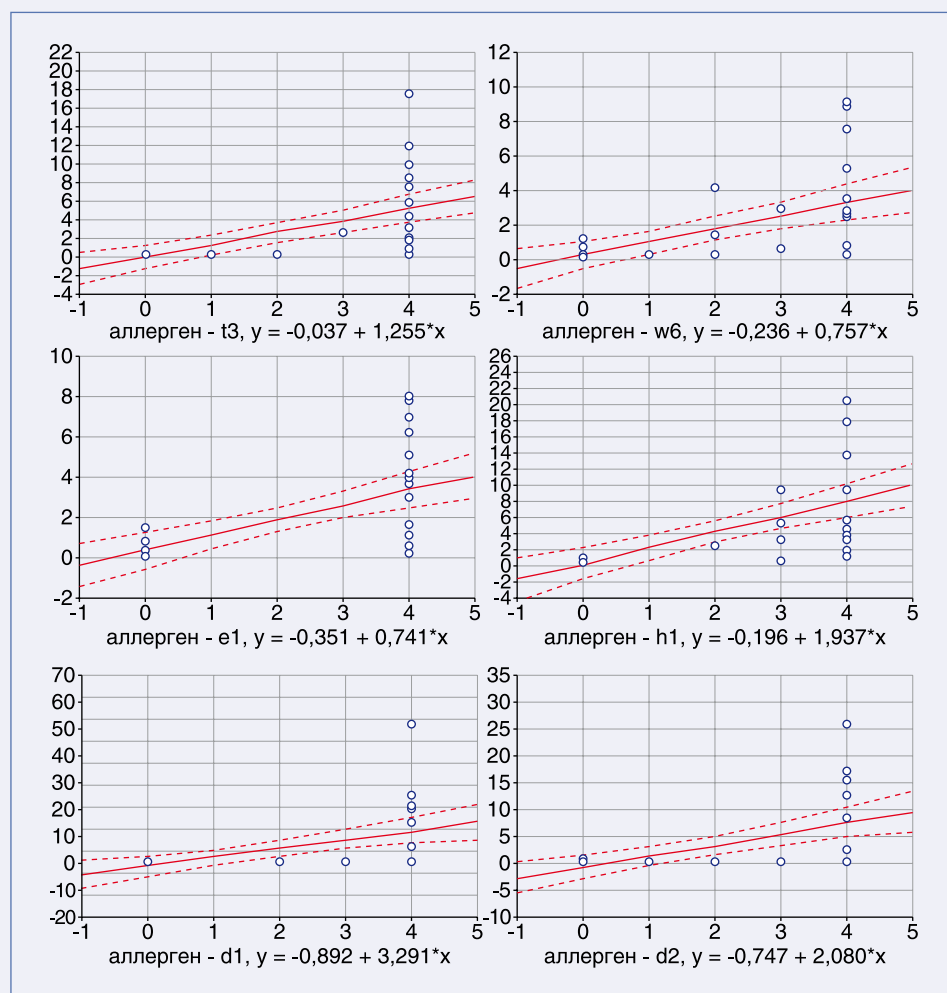


Рис. 2. Диаграммы рассеяния при определении sIgE к 6 аллергенам методом иммуноферментного анализа с биотинилированными аллергенами и MAST-CLA (по оси абсцисс отложены классы MAST, по оси ординат – ед./мл sIgE)

цифических реакций, как присутствие в сыворотке гемоглобина, повышенное содержание общего IgE, и не идентифицированным в настоящее время индивидуальным сывороточным факторам неспецифического связывания твердой фазой.

Проведенное исследование показало высокую специфичность и хорошую чувствительность реверсивного аллергосорбентного теста. Биотинилированные аллергены и наборы “АллергоИФА-специфический IgE” компании “Алкор Био” могут быть рекомендованы к использованию в практике клиничко-диагностических лабораторий. В случае обследования на стадии дебюта аллергического заболевания, если требуется высокая чувствительность, предпочтительнее использовать MAST-CLA метод. Набор “АллергоИФА-специфический IgE” показал хорошую корреляцию с MAST-CLA для аллергенов t3 (береза бородавчатая), w6 (полынь обыкновенная), e1 (эпителий кошки) и h1 (домашняя пыль).

Список использованной литературы

1. *Соболев А.В., Аак О.В.* Современная аллергодиагностика: опыт работы // *Hi + Med. Высокие технологии в медицине.* 2011. № 2. С. 8–10.
2. *Nepper-Christensen S., Backer V., DuBuske L.M., Nolte H.* 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, N 4. P. 253–258.
3. *Miller S.P., Marinkovich V.A., Riege D.H.* et al. Application of the MAST™ Immunodiagnostic system to the determination of allergen-specific IgE // *Clin. Chem.* 1984. Vol. 30, N 9. P. 1467–1472.
4. *Ruzzenente O., Lippi G., Dima F.A.* et al. AP 1800HCD: towards automation of the CLA assay // *Giorn. It. Allergol. Immunol. Clin.* 2004. Vol. 14. P. 165–171.
5. *Plebani M., Bernardi D., Basso D.* et al. Measurement of specific immunoglobulin E: intermethod comparison and standardization // *Clin. Chem.* 1998. Vol. 44, N 9. P. 1974–1979.
6. *Кочиш Л.Т.* Диагностические наборы компании “Алкор Био” // *Справочник заведующего КДЛ.* 2011. № 4. С. 33–36.