

Клиническая лабораторная диагностика аллергических реакций немедленного типа в России: современные диагностические решения

В. И. Бутвиловская¹, О. А. Свитич², С. Ю. Конаныхина², О. А. Заседателева¹, А. В. Чудинов¹

¹ ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта Российской академии наук», Москва, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова Российской академии медицинских наук», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Во всем мире отмечается глобальный рост аллергических заболеваний, характеризующийся не только увеличением числа случаев, но и возрастающей тяжестью течения. В последние десятилетия аллергические заболевания превратились в одну из наиболее значимых общемировых проблем для систем здравоохранения и общества. Это обусловлено тремя ключевыми тенденциями: высокой распространенностью (аллергии занимают третье место в мире после сердечно-сосудистых и онкологических патологий, а в ряде регионов лидируют), стремительным ростом заболеваемости (удваивающейся каждые десять лет) и возрастающей тяжестью протекания. Несмотря на прогресс в медицине, более тяжелые формы аллергических заболеваний приводят к увеличению числа случаев временной нетрудоспособности и инвалидности, что снижает качество жизни пациентов. Российская Федерация сталкивается с аналогичной ситуацией. Поскольку большинство аллергических заболеваний вызвано реакциями немедленного типа, ключевым условием их эффективной терапии является своевременная и точная клиническая лабораторная диагностика. Современная диагностика в аллергологии предлагает широкий арсенал эффективных методов, которые позволяют уточнить диагноз для каждого конкретного пациента и прогнозировать успех терапии. Ключевыми участниками аллергических реакций немедленного типа выступают аллерген-специфические иммуноглобулины класса E (IgE). Именно их выявление лежит в основе многих диагностических процедур. Исследование выполняется как для отдельных аллергенов различной природы, так и для комплексов аллергенов (панелей). Полученный результат представляют как в виде концентрации IgE, так и в виде класса аллергической реакции. В обзоре рассмотрены вопросы сопоставления результатов определения IgE при помощи тест-систем различных производителей, применяемых для клинической лабораторной диагностики реакций немедленного типа в Российской Федерации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аллергодиагностика, сравнение методов диагностики, IgE, ИФА, ImmunoCAP.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках выполнения Соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации от «29» апреля 2025 г. № 075–15–2025–285 с Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

Clinical laboratory diagnostics of immediate allergic reactions in Russia: modern diagnostic solutions

V. I. Butvilovskaya, O. A. Svitich, S. Yu. Konanykhina, O. A. Zasedateleva, A. V. Chudinov

¹ Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² I. I. Mechnikov Vaccine and Serum Research Institute, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

SUMMARY

A global increase in allergic diseases is being observed worldwide, characterized not only by an increasing incidence but also by increasing severity. In recent decades, allergic diseases have become one of the most significant global challenges for healthcare systems and society. This is due to three key trends: high prevalence (allergies rank third globally after cardiovascular and oncological pathologies, and in some regions, they are the leading cause of disease), a rapidly increasing incidence (doubling every ten years), and increasing severity. Despite medical advances, more severe forms of allergic diseases lead to increased cases of temporary disability and permanent disability, which reduces patients' quality of life. The Russian Federation faces a similar situation. Since most allergic diseases are caused by immediate reactions, timely and accurate clinical laboratory diagnostics are key to their effective treatment. Modern allergy diagnostics offer a wide range of effective methods that allow for a more precise diagnosis for each individual patient and predict the success of treatment. Allergen-specific immunoglobulin E (IgE) is a key player in immediate allergic reactions. Its detection underlies many diagnostic procedures. Testing is performed for both individual allergens of various types and for allergen complexes (panels). The results are presented as both the IgE concentration and the allergic reaction class. This review examines the comparison of IgE test results using test kits from various manufacturers used for clinical laboratory diagnosis of immediate allergic reactions in the Russian Federation.

KEYWORDS: diagnostic of allergy, comparison of diagnostics methods, IgE, ELISA, REAST, ImmunoCAP.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was conducted under the Agreement on the Provision of Grants from the Federal Budget in the Form of Subsidies in Accordance with Clause 4 of Article 78.1 of the Budget Code of the Russian Federation dated April 29, 2025, No. 075–15–2025–285 with the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Введение

Диагностика аллергических состояний традиционно проводится комплексно и включает несколько взаимосвязанных этапов: тщательный сбор аллергологического анамнеза, клиническое обследование пациента, лабораторные исследования, кожные и провокационные тесты. Методы сбора анамнеза

и клинического обследования остаются относительно неизменными, кожные и провокационные тесты также претерпели минимальные изменения. Наиболее значительные преобразования произошли в области лабораторной диагностики (*in vitro*) благодаря развитию современных иммуноаналитических технологий, появлению новых методических подходов.

Согласно классификации по Кумбсу и Джеллу [1], существует 4 различных типа аллергических реакций в зависимости от внутреннего механизма и типа аллергена. У больных крайне редко существуют изолированные друг от друга типы реакций. Наиболее характерно сочетание двух-трех или даже всех типов реакций, выраженных в различной степени. Реакции немедленного типа относятся к I типу по классификации Кумбса и Джелла, связаны с развитием иммунного ответа на аллерген, при этом образуются реагирующие с аллергеном sIgE и/или сенсibilизированные лимфоциты.

В основе метода *in vitro* диагностики аллергических заболеваний (АЗ) лежит иммунохимическое определение комплекса аллергена со специфическим иммуноглобулином E (sIgE) при помощи вторичных антител, конъюгированных с меткой: изотопной, ферментной, хемилюминесцентной, флуоресцентной. Однако, при кажущейся простоте метода, возникает ряд трудностей при определении sIgE наборами реагентов различных производителей, которые связаны с отсутствием единых стандартизованных аллергенов, используемых для изготовления наборов реагентов [2], наличием перекрестных реакций между аллергенами различной природы (паналлергенами) [3], ложноположительными реакциями обусловленные наличием sIgE к CCD (Cross-Reactive Carbohydrate Determinants) в сыворотке/плазме крови пациента [4].

Все это в итоге приводит к отсутствию возможности прямого сопоставления данных, полученных с использованием тест-систем разных производителей, трудностям в отслеживании динамики уровня sIgE при смене диагностической системы.

Цель данного обзора – обобщить информацию по сопоставлению результатов анализа определения sIgE к аллергенам различной природы в диагностике *in vitro* аллергических реакций немедленного типа, полученных с использованием диагностикумов, представленных на рынке Российской Федерации.

Аллергия – это реакция гиперчувствительности, запускаемая иммунологическими механизмами. Термин «аллергия», введенный австрийским педиатром К. Пирке (Clemens von Pirquet) в 1906 г. [5], применяется для обозначения клинических реакций, в которых участие иммунологических механизмов является обязательным и доказанным.

Методы клинической лабораторной диагностики (*in vitro*) аллергических заболеваний основаны на комплексном применении высокоточных лабораторных методов. Эти методы позволяют безопасно идентифицировать сенсibilизацию пациента к широкому спектру аллергенов (пыльцевые, пищевые, эпидермальные и др.). Ключевое значение лабораторных исследований заключается в их способности объективно оценивать тяжесть аллергического заболевания, прогнозировать динамику заболевания, оценивать эффективность проводимого лечения.

Лабораторная диагностика является вспомогательным методом в диагностике аллергических заболеваний и проводится при несовпадении данных аллергологического анамнеза и результатов аллергологического обследования на разных его этапах (кожные пробы, провокационные тесты) [6].

В диагностике АЗ применяется двухуровневый подход, включающий: диагностические исследования – направленные на верификацию аллергена и подтверждение диагноза, и прогностические тесты – позволяющие оценить риски развития или прогрессирования заболевания, что особенно важно для разработки персонализированных схем терапии (АСИТ) [7].

Современные методы определения sIgE должны соответствовать ряду строгих критериев: обеспечивать точность, высокую чувствительность и специфичность, а также быть стандартизованными. Предпочтение отдается автоматизированным системам определения sIgE, поскольку они исключают человеческий фактор и гарантируют полную стандартизацию процесса. Кроме того, идеальный тест должен быть лишен возможности перекрестных реакций с другими классами иммуноглобулинов.

Калибровка системы должна соответствовать референс-стандарту для общего IgE ВОЗ (75/502). Согласно требованию ВОЗ, 1 МЕ/мл соответствует 2,4 нг/мл IgE [8].

В большинстве отечественных диагностических тест-систем, используемых в Российской Федерации, для интерпретации результатов иммуноанализа (обнаружение комплекса аллерген – специфический иммуноглобулин E) используют диапазон содержания sIgE в сыворотке крови пациента (класс аллергической реакции), указанный в *таблице 1*. Такие соотношения между содержанием sIgE и классом аллергической реакции были приняты на основании корреляции результатов RAST (Radioallergosorbent Test, был изобретен и представлен на рынке в 1974 году компанией Pharmacia Diagnostics AB в Уппсале, Швеция.) с результатами кожных проб [9].

Принципы качественного и количественного определения sIgE в диагностике *in vitro*

Методы определения содержания sIgE в сыворотке крови основаны на связывании исследуемого белка (аллергена) со специфичным к нему антителом (sIgE) с образованием комплекса антиген–антитело, регистрируемого с помощью метки, которая может присутствовать на вторичном проявляющем антителе. Для определения концентрации sIgE в сыворотке/плазме крови пациента используют твердофазные иммунохимические методы (аллерген сорбирован или химически иммобилизован

Таблица 1
Классы аллергической реакции

Рейтинг RAST	Уровень sIgE (МЕ/мл)
Класс 0	<0,35 – аллергия отсутствует
класс 1	0,35–0,7 – очень малое количество антител, бессимптомная аллергия (без клинических проявлений)
Класс 2	0,7–3,5 – малое количество антител, симптомы аллергии могут проявлять себя
Класс 3	3,5–17,5 – выраженное количество антител, есть симптомы аллергии
Класс 4	17,5–50 – высокое содержание антител, при котором отсутствие аллергии невозможно
Класс 5	50–100 – очень высокое количество антител; острые приступы аллергии
Класс 6	>100 – чрезвычайно высокое количество антител, острые приступы аллергии

на твердой подложке): RAST (радиоаллергосорбентный тест, в настоящее время практически не используется), иммунофлуоресцентные, иммуноферментные (ИФА), иммунохемилюминесцентные методы (ИХЛА), иммуноблоттинг, метод REAST (метод реверсивного иммуноанализа, когда аллерген находится в жидкой фазе). Каждый из них имеет свои преимущества и недостатки [10], которые будут подробно рассмотрены ниже.

Радиоаллергосорбентный тест (RAST) – первый стандартизированный метод определения sIgE. Целлюлозный носитель, с ковалентно пришитыми молекулами аллергенов, взаимодействует с sIgE сыворотки/плазмы крови с последующей инкубацией твердой фазы с anti-IgE антителами, несущими радиоактивную метку [11]. Дальнейшее развитие технология RAST получила в виде аналитической платформы ImmunoCAP («Фадия АВ» (Phadia АВ), Швеция). Этот новый тест заменил оригинальный RAST примерно в 80% коммерческих клинических лабораторий по всему миру, где проводится тестирование на специфические Ig E.

В технологии ImmunoCAP реализована иммунофлуоресцентная *in vitro* диагностика АЗ. В основе принципа – определение sIgE и IgE общего автоматическим способом с использованием анализатора ImmunoCAP. Этот метод является мировым общепризнанным стандартом количественного определения специфических IgE к аллергенам из различных источников. В технологии ImmunoCAP используется флуоресцентная метка (фермент β-галактозидаза, который взаимодействует с субстратом, образуя флуоресцирующий продукт).

CAP (capsuled polymer) – полимерный носитель с чрезвычайно развитой поверхностью, на которой иммобилизованы аллергены, как природные экстракты, так и рекомбинантные компоненты аллергенов [12]. Через носитель пропускается сыворотка либо плазма крови, при этом реализуется связывание всех специфических иммуноглобулинов образца с иммобилизованными аллергенами вне зависимости от их изоформа. В дальнейшем носитель инкубируют с флуоресцентно мечеными антивидовыми anti-IgE-антителами, и регистрируют сигнал флуоресценции.

Огромный избыток иммобилизованных на твердой фазе молекул аллергена по отношению ко всему пулу специфичных антител позволяет избежать процессов конкуренции за связывание между антителами различных классов, что обеспечивает возможность количественного анализа. За счет данной особенности методы RAST и ImmunoCAP позволяют провести количественное определение любых sIgE по заранее стандартизированным калибровочным пробам IgEобщ. после их взаимодействия с твердой фазой, содержащей антиизотипические антитела [8].

Стоит отметить, что на данный момент ImmunoCAP является единственной сертифицированной FDA (Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств, США) алергодиагностической платформой и сертифицированным методом количественного анализа sIgE [13].

В России метод ImmunoCAP представлен прибором «Анализатор автоматический иммунохемилюминесцентный Phadia для *in vitro* диагностики аллергических, аутоиммунных и воспалительных заболеваний, с принадлежностями» (ФСЗ 2011/09143) и наборами реагентов «Реагенты

и наборы реагентов диагностических *in vitro* к автоматизированным приборам серий Phadia и ImmunoCAP» (ФСЗ 2011/09247), производства «Фадия АВ» (Phadia АВ), Швеция.

Набор реагентов ImmunoCAP Specific IgE 0–100, является единственным анализом на специфические IgE для количественного определения с пределом обнаружения 0,1 МЕ/мл, подтвержден CLSI/NCCLS-17A «Пределы обнаружения и количественного определения», октябрь 2004 г. [13, 14]. В Российской Федерации нет официально опубликованных рекомендаций для алергологов, свидетельствующих об изменении интерпретирования классов аллергических реакций на основе предела обнаружения 0,1 МЕ/мл, но ImmunoCAP указан в качестве «золотого стандарта» *in vitro* диагностики АЗ в клинических рекомендациях в Российской Федерации [15]. Ряд авторов указывают на важность определения низких концентраций sIgE (менее 0,35 МЕ/мл) особенно в педиатрии [16, 17].

В России пациенты часто вынуждены обращаться для проведения *in vitro* серологических тестов на АЗ в различные лаборатории, где в большинстве случаев результаты тестирования получают с помощью аналитических систем для определения концентрации аллерген-специфических IgE как зарубежного, так и отечественного производства, значительно отличающихся по методу выполнения исследования, по стоимости оборудования, реагентов и расходных материалов. При этом значения sIgE, полученные с применением различных тест-систем, не взаимозаменяемы [18].

Тест-система ImmunoCAP рассматривается специалистами большинства стран в качестве одной из лучших по диагностическим показателям среди остальных рутинных тест-систем определения sIgE в пробе сыворотки/плазмы крови человека из-за высокой диагностической точности (специфичность и чувствительность). В то же время на рынке Российской Федерации присутствуют более дешевые аналитические системы, применяемые в том числе в педиатрической практике. Поэтому, сведения о результатах сопоставления тестов на sIgE приобретают важное значение. Ниже будет приведен обзор существующих на рынке РФ диагностических тест-систем для *in vitro* определения sIgE в сыворотке/плазме крови пациента и сопоставление результатов клинической валидации таких систем с ImmunoCAP.

В лабораторной диагностике, включая алергологию, как правило, при сопоставлении результатов двух разных тест-систем используют такие понятия как диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность (PPA-процент позитивного и NPA-процент негативного согласия) теста, с уровнем статистической значимости $p < 0,05$.

Эти критерии были введены Yerushalmy J. et al. [19] в 1947 г. и остаются основой для сопоставления результатов любых диагностических систем.

В случае определения sIgE в формате качественного и полуколичественного анализа сопоставление результатов для разных тест-систем затруднено, поскольку результат определения может быть выдан тестом в формате «да» / «нет» или в виде класса аллергической реакции. Тем не менее общепринятым подходом в сравнении результатов тестов на sIgE при помощи наборов реагентов различных

производителей считается следующее: если уровень sIgE выше 0,35 МЕ/мл, результат определения sIgE – «положительный»; если уровень sIgE менее 0,35 МЕ/мл, результат определения sIgE – «отрицательный» [20].

При сопоставлении результатов количественного определения sIgE используется еще и такой параметр как ICC (Intraclass Correlation Coefficient, коэффициент внутриклассовой корреляции) – это статистический показатель, используемый для оценки согласованности (reliability) количественных методов, например, при сравнении результатов разных аллерготестов (ImmunoCAP, PROTIA, Immulite) [21, 22, 23]. ICC оценивает, насколько результаты разных методов/лабораторий согласуются между собой (например, PROTIA vs. ImmunoCAP). Воспроизводимость (reproducibility) – если один и тот же тест повторяют в одинаковых условиях.

$$ICC = \frac{\text{межгрупповая дисперсия}}{\text{межгрупповая дисперсия} + \text{внутригрупповая дисперсия}}$$

Диапазон значений для ICC:

- 1 – идеальная согласованность;
- 0,75–0,9 – хорошая согласованность;
- <0,5 – слабая согласованность.

Например, в исследовании Lee et al. [21] ICC между PROTIA и ImmunoCAP для sIgE к арахису и березе составил 0,92, что указывает на высокую согласованность результатов тестов. Для клеща (*D. pteronyssinus*) и пищевых аллергенов (молоко, пшеница, яйцо) ICC был ниже (0,61–0,75), вероятно, из-за различий в компонентном составе.

Стоит отметить, что высокий ICC ≠ клиническая эквивалентность. Например, даже при ICC > 0,9, PROTIA может давать ложноотрицательные результаты для минорных аллергенов (например, Ara h 8).

Тест-системы для диагностики АЗ на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА)

В начале 1970-х годов независимые работы исследователей [31, 32] привели к созданию иммуноферментного анализа (ИФА) – метода, используемого для выявления аллерген-специфических IgE (sIgE), который впоследствии стал стандартным в лабораторной диагностике и получил наиболее широкое применение. Объясняется этот факт особыми преимуществами ферментной метки, которая не только позволяет «проявлять» комплексы антиген-антитело, но и обладает следующими отличительными свойствами:

- Высокая чувствительность: ферменты катализируют превращение субстрата в окрашенный продукт, обеспечивая усиление сигнала в тысячи раз.
- Позволяет детектировать очень малые количества sIgE (порядка 0,1–0,35 МЕ/мл).
- Безопасность и стабильность: в отличие от радиоизотопов (RAST), ферменты (пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза) нетоксичны и не требуют специальных условий хранения.
- Универсальность: один и тот же фермент можно использовать с разными субстратами (хромогенными, флуорогенными, хемиллюминесцентными), адаптируя метод под задачи исследования.

- Автоматизация и стандартизация: ферментные реакции легко интегрируются в автоматизированные анализаторы, что снижает влияние человеческого фактора.
- Широкая линейка детектируемых антител: помимо IgE, метод применим для количественного определения IgG, IgM и других изотипов.

Коммерческие ИФА-системы (наборы для иммуноанализа sIgE) выпускаются сейчас рядом отечественных и зарубежных компаний и представлены на российском рынке следующими компаниями: ООО НПО «Иммунотекс» (ФСР 2012/13307), Россия; «Др. Фооке-Ахтеррат Лаборатория ГмбХ» (Dr. Fooke-Achterrath Laboratorien GmbH) (ФСЗ 2007/00940), Германия; «Р-Биофарм АГ» (R-Biopharm AG) (ФСЗ 2009/05902), Германия. Наличие калибровочных проб (стандартных сывороток) с известным содержанием аллерген-специфических IgE (аттестованных по стандарту ВОЗ 75/502/ WHO 75/502) позволяет количественно или полуколичественно определить присутствие различных иммуноглобулинов в сыворотке/плазме крови пациента.

Широкое применение в качестве твердых носителей для ковалентного связывания аллергенов получили в последнее время целлюлозные диски (аллергодиски), которые при проведении анализа помещаются в лунки иммунологического планшета. Аллергодиски представлены на российском рынке компанией «Др. Фооке-Ахтеррат Лаборатория ГмбХ» (Dr. Fooke-Achterrath Laboratorien GmbH) (ФСЗ 2007/00940), Германия; компанией «Р-Биофарм АГ» (R-Biopharm AG) (ФСЗ 2009/05902), Германия.

Тест-системы для диагностики АЗ на основе реверсивного иммуноферментного анализа (REAST)

В России для *in vitro* диагностики АЗ часто используются тест-системы, основанные на методе REAST – реверсивный аллергосорбентный тест («capture» REAST) – с использованием биотинилированных жидкофазных моно- и микст-аллергенов. Отличие «capture» REAST от классических вариантов ИФА состоит в том, что в планшет с сорбированными моноклональными антителами к IgE человека вносятся исследуемый образец сыворотки/плазмы крови пациента и раствор биотинилированного аллергена.

Реакция твердой фазы с сывороткой крови приводит к сорбции на поверхности иммунологического планшета исключительно пула иммуноглобулинов E. Выявление иммуноглобулинов конкретной специфичности реализуется в реакции с биотинилированными аллергенными компонентами, с последующей стадией инкубации образующихся иммунных комплексов со стрептавидином, несущим ферментативную метку. Чувствительность тест-системы повышается за счет того, что растворенный аллерген обладает большей доступностью для связи со специфическим IgE, чем аллерген, связанный с поверхностью планшета [33].

Основными производителями таких тест-систем на рынке в Российской Федерации являются ООО «Компания Алкор Био», Россия (ФСР 2011/10272 для IgEобщ. и ФСР 2011/12177 для sIgE); ООО «ХЕМА», Россия (ФСР 2010/09769), АО «Вектор-Бест», Россия (РЗН 2015/2666); также представлена аналогичная продукция компании «Др. Фооке-Ахтеррат Лаборатория ГмбХ» (Dr. Fooke-

Achterrath Laboratorien GmbH), Германия (ФСЗ 2007/00940). В этих тест-системах применяются полуколичественный или количественный методы интерпретации данных.

Результаты сравнения тест-системы производства ООО «Компания Алкор Био» с ImmunoCAP описаны в работе [29]. По общепризнанной практике за точку cut-off принимали концентрацию sIgE равную 0,35 МЕ/мл [20]. Относительно данной величины были разделены положительные и отрицательные результаты анализов, рассчитано совпадение позитивного (PPA) и негативного (NPA) согласия двух методик, а также число совпадений количественных результатов как для всей совокупности полученных данных, так и для каждого аллергена по отдельности. Всего было проанализировано 320 показателей для 40 пациентов. Оценена совокупность всех выполненных тестов и установлена статистически значимая корреляция между результатами, полученными с помощью ImmunoCAP и с помощью набора «АллергоИФА-специфические IgE» (коэффициент ранговой корреляции Спирмена – 0,95 при уровне значимости $p < 0,01$). В 94,4% случаев наблюдали совпадение результатов «качественного ответа» тестирования («да – нет» – выявление диагностически значимого уровня sIgE, в противном случае концентрацию sIgE принимали как диагностически незначимую, если она не достигала величины 0,35 МЕ/мл). Несовпадение «качественного» ответа двух методов наблюдали лишь в 5,6% случаев. При этом в 3,4% случаев тестирование пациентов с помощью ImmunoCAP обнаруживало наличие антител при отрицательном результате в тест-системе «АллергоИФА-специфические IgE», а в 2,2% случаев имела место обратная ситуация (выявление антител системой «АллергоИФА-специфические IgE» и негативный результат теста ImmunoCAP). Расхождение результатов наблюдали для низких концентраций антител, не имеющих четкого клинического значения (в классе от 0 до 1 расхождения наблюдали в 3,7% случаев; в классе от 0 до 2 расхождения наблюдали в 1,3% случаев; в классе от 0 до 3 расхождения наблюдали в 0,7% случаев). Отсутствие антител (0 класс сенсibilизации) по результатам тест-системы «АллергоИФА-специфические IgE» сочеталось с низкой концентрацией антител, полученной с помощью тестирования на ImmunoCAP (что соответствовало 1–2 классу сенсibilизации). В то же время отсутствие антител по данным тестирования на ImmunoCAP сочеталось с наличием невысокой концентрации антител по данным «АллергоИФА-специфические IgE» (1 класс сенсibilизации).

Сравнение качественных результатов (наличие или отсутствие антител к изучаемым аллергенам), полуколичественных результатов, выраженных в классах сенсibilизации, а также количественных результатов, выраженных в единицах концентрации МЕ/мл (или кU/l в зарубежной литературе), показали различную чувствительность тестов «АллергоИФА-специфические IgE» и ImmunoCAP к различным аллергенам.

Для полуколичественной оценки значений концентрации sIgE, полученных на двух тест-системах, использовали разделение результатов на группы в зависимости от классов сенсibilизации, отражающих связь концентрации sIgE у пациентов с клинической картиной. Выявлено, что в 50,7% случаев (162 тестов) результаты обоих тестов по классу сенсibilизации совпадали, а в 42,5% случаев (135 тестов) – отличались, но не более чем на один класс. В остальных 6,2% (20 тестов) и 0,9% случаев (3 теста) результаты различались на 2 и 3 класса, соответственно. Всего в 93% случаев значения концентраций sIgE, полученные с помощью методик ImmunoCAP и «АллергоИФА-специфические IgE», оставались в пределах одного или двух соседних классов сенсibilизации.

При анализе количественных результатов, полученных методами «АллергоИФА-специфические IgE» и ImmunoCAP для отдельных аллергенов, показано, что наиболее близкие значения концентраций sIgE наблюдались для аллергенов ольхи, сосны и ивы. Сравнение классов сенсibilизации показало, что статистически значимые различия концентрации sIgE к аллергенам отсутствовали для групп сравнения: тополя, сосны, ольхи, березы, лещины, ивы. В то же время статистически значимые отличия концентрации sIgE к аллергенам выявлены в группах сравнения: клена и дуба (критерий Уилкоксона (табл. 2), $p = 0,013$, $p = 0,005$ соответственно).

Несмотря на сильную корреляцию между сравниваемыми группами аллергенов, совпадение результатов (коэффициент Спирмена больше 0,9) наблюдали для 6 аллергенов из 8 рассматриваемых (коэффициенты Спирмена (табл. 2): клен – 0,965, ольха – 0,919, лещина – 0,938, дуб – 0,927, тополь – 0,901, сосна – 0,916, береза – 0,785, ива – 0,821).

Такие различия в результатах объясняются прежде всего тем, что аллергены для производства двух разных тест-систем получены из разных источников. Известно, что крупные производители реагентов применяют обычно собственные аллергенные препараты, получаемые по оригинальным методикам [2]. В связи с этим выявленное авторами [29] несовпадение результатов анализов (5,6% случаев), полученных двумя рассматриваемыми тестами, наиболее вероятно связано

Таблица 2
Коэффициенты, используемые для сравнения результатов определения sIgE различными тест-системами в диагностике *in vitro* реакций немедленного типа

Коэффициент	Применение	Публикации
ICC	Согласованность количественных методов	[21, 22, 23, 40]
Cohen's κ (коэффициент каппа Коэна или коэффициент Коэна κ)	Согласие для категориальных данных (классы 0–6)	[23, 24, 25, 40]
Spearman's ρ (коэффициент Спирмена ρ)	Ранговая корреляция (нелинейные данные)	[23, 26, 27, 28, 29, 35, 36]
Wilcoxon signed-rank test (критерий Уилкоксона)	Проверяет, различаются ли две зависимые выборки	[29]
Процедура сравнения Пассинга–Баблока (Passing–Bablok regression). При сравнении двух методов рассчитываются коэффициенты a и b линейного уравнения $y = ax + b$	Метод непараметрического регрессионного анализа, представленный Вольфгангом Баблоком и Генрихом Пассингом в 1983 году. Используется для сравнения двух методов измерения	[30]

с отличиями в аллергенном составе препаратов, используемых производителями для связывания соответствующих IgE-антител. Производители тест-систем, как правило, используют различные методики получения и очистки нативных аллергенов, а также разные способы детекции результирующего сигнала анализа, что несомненно, накладывает определенные ограничения на возможности объективного сопоставления результатов. В то же время альтернативные методики диагностики *in vivo* обладают еще большей вариативностью условий постановки анализа и учета полученных результатов [34]. Следовательно, можно констатировать диагностическую значимость двух рассматриваемых методик по данным аллергенам как сопоставимую.

Сопоставление результатов определения sIgE методом REAST от ООО «Компания Алкор Био» (Россия) в сравнении с MAST-CLA («Hitachi» (Япония)) представлено в публикации Аак О. В., и результаты опубликованы на сайте компании www.alkorbio.ru. 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 контрольных и 20 положительных (по данным MAST-CLA) больных, госпитализированных в клинику института с диагнозами: бронхиальная астма, atopический дерматит, аллергический ринит. Результаты анализа на sIgE, полученные методом MAST-CLA и «АллергоИФА-специфический IgE» оценивали по коэффициенту корреляции Пирсона: для t3–0,636; для w6–0,582; для e1–0,617; для h1–0,655; для d1–0,538; для d2–0,597. Специфичность теста на sIgE для набора «АллергоИФА-специфический IgE» для отдельных аллергенов следующая: для t3–100%; для w6–75%; для e1–85%; для h1–90%; для d1–65%; для d2–95%. Чувствительность теста на sIgE для набора «АллергоИФА-специфический IgE» для отдельных аллергенов: для t3–75%; для w6–65%; для e1–90%; для h1–100%; для d1–65%; для d2–40%.

Значения специфичности, полученные для набора «АллергоИФА-специфический IgE» и биотинилированных аллергенов производства «Компания 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.

Результаты сравнения тест-системы производства ООО «ХЕМА», Россия и АО «Вектор-Бест», Россия с ImmunoCAP не представлены в публикациях.

Сравнение результатов определения sIgE методом REAST производства «Др. Фооке-Ахтеррат Лаборатория ГмбХ» (набор реагентов ALLERG-O-LIQ) с ImmunoCAP опубликованы в работах [35, 36]. Наблюдалась хорошая корреляция для ингаляционных аллергенов t3, g6, e1, e5 (коэффициент Спирмена ~ 0,95), однако для пищевых аллергенов f2, f4, f14, f17 наблюдались существенные отличия (коэффициент Спирмена ~ 0,6).

Оба метода (ИФА и REAST) обладают недостатками вследствие низкой эффективности иммобилизации белков на твердую фазу. Прямой вариант ИФА может предоставить заниженные данные по концентрациям sIgE из-за процессов конкуренции за связывание с иммобилизованными в планшете аллергенными молекулами между различными изотипами антител одинаковой специфичности [37].

Реверсивная схема иммуноанализа REAST позволяет нивелировать влияние других изотипов антител, так как они элиминируются из реакции после стадии инкубации с сывороткой/плазмой крови. Однако очевидно, что сорбция на поверхность всего пула антител класса E снижает чувствительность метода. Кроме того, стоит учитывать, что результаты анализа в подобном формате могут зависть от общего уровня иммуноглобулина E, так как на стадии инкубации с пробой при высоких концентрациях IgE есть конкуренция между антителами интересующей специфичности и остальными.

Сравнительная характеристика аллергосорбентных и «REAST» технологий ИФА [10] приведена в *таблице 3*.

Таблица 3
Сравнительная характеристика аллергосорбентных и «REAST» (или «capture») технологий ИФА [10]

Параметры	Классические твердофазные аллергосорбентные тесты	Реверсивный аллергосорбентный тест (REAST/или «capture»)	Преимущества REAST-технологии ИФА
Твердая фаза (т.ф.)	Лунка, диск, мембрана	Лунка	Нет необходимости использования «твердой фазы» с высокой сорбционной емкостью
Требования к сорбционной емкости т.ф.	Высокие	Низкие	Повышение качества за счет снижения влияния емкости «твердой фазы». Возможность использования лунок микропланшетов
Аллергены	Фиксированы на «твердой фазе» (лунка микропланшета, диск, мембрана)	Жидкие биотинилированные	Меньшая степень изменения аллергена
Выбор аллергенов	Панели аллергенов, сформированные производителем	Свободный выбор – индивидуальный подбор любого сочетания аллергенов	Нет привязки к панелям производителей
Условия реакции аллерген – специфический IgE	Уменьшение площади контакта аллергена за счет сорбции на твердой фазе	Полная доступность аллергена	Увеличение степени доступности аллергена для связи с IgE
Необходимость в специальном оборудовании (в дополнение к стандартному для ИФА)	Для аллергенов на дисках	Не требуется	Удобство для лаборатории
Детекция	Одноволновая	Двухволновая	Расширение диапазона определяемых концентраций, повышение точности результата с IgE

Хемилюминесцентный анализ

Большую популярность в Российской Федерации завоевал автоматизированный иммунный анализ АЗ, основанный на явлении хемилюминесценции (ИХЛА) – Immulite. В работе [38] авторы рекомендуют повсеместно внедрять анализаторы Immulite в аллергодиагностику, особенно педиатрию, как удобный и чувствительный метод определения sIgE (предел обнаружения 0,1 МЕ/мл (kU/l)).

Характеристики автоматических хемилюминесцентных анализаторов отличаются шириной диапазона тестов; производительностью – более 100 тестов в час; возможностью выполнения экстренных исследований; двусторонней связью с лабораторной информационной системой; штриховым способом кодирования первичных пробирок с образцами; хранением калибровочных кривых (табл. 4).

В Российской Федерации в клинической практике используются «Анализаторы иммунохемилюминесцентные Immulite One, Immulite 1000, Immulite 2000, Immulite 2000XPi, с принадлежностями», производства «Сименс Хелскеа Диагностикс Инк.» (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.), США (ФСЗ 2007/00551) и «Наборы реагентов для иммунохемилюминесцентного анализа на анализаторах IMMULITE One, IMMULITE 1000, IMMULITE 2000 для *in vitro* диагностики: диагностика аллергии и лекарственный мониторинг», производства «Сименс Хелскеа Диагностикс Продактс Лимитед» (Siemens Healthcare Diagnostics Products Limited), Великобритания (ФСЗ 2007/00718). Результаты выдаются в числовом формате, что позволяет не только подтвердить наличие сенсибилизации, но и оценить ее степень.

Сравнение Immulite и ImmunoCAP представлено в работах [39, 40, 41]. Основные выводы при сравнении двух тестов следующие: коэффициент корреляции результатов тестов: $r=0,95$ для яичного белка, $r=0,93$ для молока и $r=0,95$ для арахиса ($p<0,001$) [39]. Определение ICC, показало значимую связь между двумя методами обнаружения sIgE для *Alternaria* (ICC 0,92), *D. farinae* (ICC 0,91), эпителия собаки (ICC 0,96) и эпителия кошки (ICC 0,91), яичного белка (ICC 0,87), таракана (ICC 0,86), ржи (ICC 0,78), молока (ICC 0,78), полыни (ICC 0,75), пшеницы (ICC 0,86), и сои (ICC 0,89). Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена для всех аллергенов, за исключением креветки, были выше 0,7.

Immulite дает на 10–15% более низкие значения для sIgE > 50 kU/l [40, 41], что свидетельствует о систематическом смещении значений при использовании данной тест-системы. ImmunoCAP более чувствителен для низких уровней sIgE (<0,35 kU/l (МЕ/ml)). Оба метода калиброваны по стандарту ВОЗ 75/502, но существуют различия в природе антигенных экстрактов (аллергенах). ImmunoCAP и Immulite показывают хорошую корреляцию,

но эти тест-системы не взаимозаменяемы из-за систематических различий. Для научных исследований предпочтительнее ImmunoCAP (более чувствителен). В клинической практике Immulite может быть удобнее (скорость выполнения анализа, стоимость теста по сравнению с ImmunoCap).

Несмотря на ряд преимуществ, автоматизированный хемилюминесцентный анализ имеет и ряд недостатков, главным из которых является высокая стоимость одного исследования (в 3–6 раз выше, чем стоимость одного исследования методами классического ИФА, иммуноблота; в 2–3 раза выше стоимости реверсивного варианта ИФА) [10].

Варианты ИФА, основанные на технологии выявления аллерген-специфических иммуноглобулинов E на нитроцеллюлозных мембранах (иммуноблотинг)

В отличие от классического иммуноблота, где антигены разделяются электрофоретически по молекулярным массам, в упрощенных системах для аллергодиагностики антигены (аллергены) просто наносятся в фиксированные зоны нитроцеллюлозной мембраны. После того как проба сыворотки крови пациента наносится на тестовую нитроцеллюлозную мембрану, как правило заключенную в пластиковую кассету, и инкубируется при комнатной температуре, аллерген-специфические IgE-антитела, содержащиеся в пробе сыворотки крови, вступают в реакцию с аллергенами, нанесенными на тестовую нитроцеллюлозную мембрану кассеты, и связываются с ними. Несвязавшиеся sIgE удаляются путем промывки. После этого на нитроцеллюлозную мембрану наносят антитела к человеческим иммуноглобулинам E, меченные биотином, и инкубируют при комнатной температуре. Антитела вступают в реакцию со специфическими иммуноглобулинами E, связавшимися после первой инкубации пробы сыворотки крови с соответствующими аллергенами на тестовой нитроцеллюлозной мембране. На следующем этапе на тестовую нитроцеллюлозную мембрану, после тщательной промывки подходящим отмывочным буфером, наносят стрептавидин, конъюгированный со щелочной фосфатазой. После образования комплекса стрептавидин – биотин, не связавшийся конъюгат стрептавида со щелочной фосфатазой удаляется путем тщательной промывки нитроцеллюлозной мембраны.

После нанесения субстрата для щелочной фосфатазы на тестовую нитроцеллюлозную мембрану кассеты происходит специфическая ферментативная реакция окрашивания щелочной фосфатазы, что ведет к формированию окрашенного преципитата на мембране кассеты (проявление полосок/дотов (пятен), каждая из которых

Таблица 4

Преимущества и недостатки хемилюминесцентного автоматизированного метода анализа sIgE [10]

Преимущества	Недостатки
Высокая аналитическая чувствительность (10^{-21} – 10^{-23} моль) и производительность (более 100 тестов)	Необходимость приборного обеспечения, отсутствие возможности визуальной оценки результата исследований
Широкий диапазон определяемых концентраций с сохранением высокой точности на любом отрезке калибровочной кривой	Относительно высокая стоимость 1 исследования (в 3–6 раз выше, чем стоимость одного исследования методами классического ИФА, иммуноблота; в 2–3 раза выше стоимости реверсивного варианта ИФА)
Обширный спектр диагностируемых аллерген-специфических IgE	Невозможность экспресс (за 30 минут) анализа
Возможность формирования индивидуального набора аллергенов	Обязательность высокой специальной квалификации персонала

находится на месте фиксации определенного аллергена). Интенсивность окрашивания полосок/дотов (пятен), прямо пропорциональна содержанию (концентрации) специфических иммуноглобулинов Е в пробе сыворотки крови.

Применяются три принципиально разных метода интерпретации данных: качественный, полуколичественный и количественный. Каждый из них имеет свои особенности, преимущества и ограничения.

Качественный анализ подразумевает визуальную (субъективную) оценку интенсивности окрашивания тестовых полосок/пятен по сравнению с контрольными образцами. Результат *in vitro* диагностики формируется в бинарном формате – «обнаружено/не обнаружено» (подтверждается или исключается наличие специфических антител sIgE к конкретным аллергенам). Преимущества такого подхода является: простота, быстрота, отсутствие необходимости в сложном оборудовании.

Такой принцип анализа реализован в тестах: «Набор реагентов для качественного определения аллергенспецифических антител в сыворотке, плазме и/или цельной крови человека для экспресс диагностики аллергии (АЛЛЕРГО-ЭКСПРЕСС) по ТУ 9398–006–73678649–2014», производства ООО НПО «Иммунотэк» (ФСР 2010/08686), Россия; «Набор реагентов для качественного определения специфических IgE в сыворотке и плазме крови человека «АллергоБлот-Скрин», по ТУ 21.20.23–645–98539446–2022» (РЗН 2024/22607), производства ООО «Компания Алкор Био», Россия; «Набор реагентов «SGTi-Allergy Screen» для анализа аллерген-специфических IgE-антител в сыворотке или плазме человека методом иммуноблоттинга» (РЗН 2025/25723), производства «Сугентех, Инк.» (Sugentech, Inc.), Корея; «Набор реагентов EUROLINE для определения *in vitro* специфических IgE к ингаляционным аллергенам методом иммуноблота» (ФСЗ 2012/13576), производства «Евроиммун АГ» (EUROIMMUN AG), Германия и Allergy Lateral Flow Assay (ALFA) Rapid test, производства «Др. Фооке-Ахтеррат Лаборатория ГмбХ» (Dr. Fooke-Achterrath Laboratorien GmbH), Германия.

К сожалению, нам не удалось найти результаты сравнения тестов отечественных производителей на основе иммуноблота с ImmunoCAP. Для (ALFA) Rapid test, производства «Др. Фооке-Ахтеррат Лаборатория ГмбХ» (Dr. Fooke-Achterrath Laboratorien GmbH), Германия в работе [36] 50 сывороток были протестированы на наличие специфических IgE к пыльце тимфеовки (gb). В результате 35 из 50 сывороток продемонстрировали положительный результат на тест-системах ALLERG-O-LIQ и ImmunoCAP. Между результатами ALFA, ImmunoCAP и ALLERG-O-LIQ наблюдалась отличная согласованность. Значения площади под ROC кривой (AUC) составило 1,0, а диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность между методами – 100%.

Для полуколичественного или количественного методов анализа sIgE при помощи иммуноблотов регистрация результатов анализа проводится, как правило, на автоматических анализаторах.

На российском рынке представлен анализатор «Анализатор RIDA X-Screen для аллергодиагностики *in vitro* с принадлежностями», производства «Р-Биофарм АГ»

(R-Biopharm AG), Германия (РЗН 2015/2648) предназначенный для получения полуколичественного результата анализа после проведения иммуноанализа на стрипах (нитроцеллюлозная мембрана с сорбированными аллергенами) – «Наборы реагентов *in vitro* для аллергодиагностики», производства «Р-Биофарм АГ» (R-Biopharm AG), Германия (ФСЗ 2009/05902).

Примером современного мультиплексного количественного анализа sIgE к аллергенам различных групп, сорбированных на нитроцеллюлозной мембране, является «Набор для диагностического анализа *in vitro* для количественного определения аллерген-специфических IgE-антител в сыворотке или плазме человека с использованием метода иммуноблоттинга в вариантах исполнения» (РЗН 2021/14464), производства «ПротеомеТех Инк.» (ProteomeTech Inc.), Корея. Варианты исполнения представлены: PROTIA Allergy-Q Атопическая панель (20 панелей под скрининг), PROTIA Allergy-Q 64 Респираторная панель, PROTIA Allergy-Q 64 Пищевая панель, PROTIA Allergy-Q 96М панель. PROTIA Allergy Q – мультиплексный диагностический набор для диагностики АЗ [21, 23], вызванных широким спектром аллергенов. Принцип метода количественного определения sIgE к аллергенам различных групп основан на твердофазном ИФА, включает в себя нитроцеллюлозные мембраны с различными аллергенами, адсорбированными на регулярных интервальных линиях, что позволяют тестировать десятки специфических аллергенов в одной пробе сыворотки крови пациента.

PROTIA Allergy Q использует новую технику параллельного размещения мембран и позволяет оценивать разнообразные аллергены в ходе одного теста, по сравнению с другими изделиями для *in vitro* диагностики АЗ, метод работы которых основан на принципе иммуноблота (используют только одну мембрану). Образующийся на мембране комплекс аллерген-sIgE обнаруживают при помощи видоспецифических анти-IgE антител, конъюгированных с биотином. После обработки иммуноблота конъюгатом стептавидина с щелочной фосфатазой и специфичным субстратом, регистрируется цветная реакция при помощи устройства для измерения цвета «Анализатор иммунологический фотометрический Q-SMART для диагностики *in vitro* на панелях PROTIA (РЗН 2021/14798), производства «ПротеомеТех Инк.» (ProteomeTech Inc.), Корея.

Авторы [23] сообщают о высокой корреляции результатов определения sIgE при помощи PROTIA Allergy-Q 64 Атопу в сравнении с ImmunoCAP к 10 аллергенам (Der f 1, Der f 2, Bet v 1, Fel d 1, Que a 1, α -лактальбумин, β -лактоглобулин, казеин, ω -5 глиадин и α -Gal). Эти аллергены были выбраны для сопоставления PROTIA Allergy-Q 64 Атопу и ImmunoCAP поскольку являются одними из наиболее частых причин респираторной аллергии [42], кроме того, Bet v1 и Que a1 относятся к семейству белков, связанных с патогенезом, класса 10 (PR-10). Семейство PR-10 является частой причиной синдрома оральной аллергии [43].

Хотя PROTIA Allergy Q показывает хорошую корреляцию с ImmunoCAP, диагностическая чувствительность – 85–95%, диагностическая специфичность – 90–98% в зависимости от аллергена (коэффициент корреляции > 0,9 для большинства аллергенов) [23], PROTIA менее точен

для мажорных/минорных компонентов арахиса, яичного белка и коровьего молока. Рекомендуется подтверждение ImmunoCAP или ImmunoSolid-phase Allergy Chip (ISAC) в сложных случаях выявления АЗ.

Несмотря на то, что система PROTIA Allergy Q продемонстрировала некоторые расхождения с ImmunoCAP, PROTIA Allergy Q обладает рядом клинических преимуществ. Этот метод позволяет получить точные уровни IgE в международных единицах kU/l (МЕ/мл) в соответствии с международным референтным препаратом ВОЗ 75/502 для человеческого IgE.

Количественное измерение sIgE может помочь врачам выбрать аллергены-виновники, которые необходимо включить или исключить из аллерген-специфической иммунотерапии и стратегии избегания [44]. Более того, это позволяет отслеживать изменения уровня sIgE у детей с пищевой аллергией в ходе клинического течения [45].

Преимуществами мультиплексных наборов на основе иммуноблотинга для определения sIgE являются следующие параметры: короткое время анализа, небольшой объем образца крови и больше клинической информации об sIgE к широкому спектру аллергенов. В исследовании [23] показано, что, несмотря на минимальные требования к объему сыворотки, система PROTIA Allergy Q показала высокий процент совпадения с системой ImmunoCAP для большинства протестированных аллергенов, что позволяет предположить, что она может быть альтернативным методом диагностики аллергии.

Компанией «Hitachi» (Япония) был разработан множественный аллергосорбентный тест (на нитроцеллюлозных нитях) с применением количественного хемилюминесцентного анализа (тест-система «MAST-CLA»). Тест «MAST-CLA» популярен в России. Для анализа используют панель, представляющую собой полый прозрачный пластмассовый корпус с параллельно расположенными внутри тонкими целлюлозными нитями, на которых адсорбированы аллергены; панель заполняется сывороткой крови пациента. После инкубации с образцом и промывки от несвязавшихся белков, добавляют проявляющий реагент, включая люминол, а также H_2O_2 . Анализ проводится в автоматическом анализаторе (люминометре) MAST-CLA [46].

Имеется несколько типов панелей аллергенов тест-системы MAST-CLA, которые содержат до 36 аллергенов, например, «пищевая панель», «смешанная российская панель» и др. Этот метод является одним из самых чувствительных на сегодняшний день методов в определении специфических IgE и IgG, минимальная определяемая концентрация IgE составляет 0,1 нг/мл (приблизительно 0,042 МЕ/мл). К недостаткам данного метода относятся его недостаточная точность, а также высокая стоимость прибора и реагентов для хемилюминесцентной детекции. В Российской Федерации на рынке представлен как «Реагенты, расходные материалы и принадлежности для анализаторов CLA, CLA-1, AP 1800», производства «Минарис Медикал Америка, Инк.» (Minaris Medical America, Inc.), США (ФСЗ 2008/01654).

Результаты сравнения MAST-CLA теста представлены в работах [47, 48], тест прошел испытания в сравнении с кожными пробами, провокационными тестами и методами

in vitro диагностики, включая ImmunoCAP [49]. Результаты сравнения продемонстрировали следующие показатели: диагностическая чувствительность – 85–95%, диагностическая специфичность – 90–98% в зависимости от аллергена.

Несмотря на удобство использования, быстрое время получения результата (около 20 мин), к основным недостаткам методов диагностики АЗ на основе иммуноблотинга можно отнести отсутствие возможности выбора конкретных аллергенов для диагностики *in vitro* аллергического заболевания, врач вынужден работать с уже готовыми панелями аллергенов. Тесты на основе многопараметрического определения sIgE при помощи иммуноблотинга являются ценным инструментом для первичного скрининга и экспресс-диагностики, но не могут полностью заменить ImmunoCAP в сложных клинических случаях и при необходимости точного количественного определения специфических IgE. Оптимальным является комбинированное использование обоих методов в зависимости от клинической ситуации.

Анализ аллерген-специфических иммуноглобулинов класса Е на микрочипах

Перспективным и высокоэффективным методом для анализа широкой панели аллерген-специфических иммуноглобулинов Е является использование биологических микрочипов с зондами белковой природы (используются как экстракты природных аллергенов, так и рекомбинантные алергокомпоненты). Биологический микрочип с иммобилизованными аллергенными белками позволяет в ходе одного анализа провести мультиплексное определение sIgE, циркулирующих в сыворотке крови. Схема анализа в большинстве аналитических платформ, использующих метод анализа на микрочипах в целях алергодиагностики, заключается в инкубации сыворотки крови на биологическом микрочипе с последующей обработкой микрочипа антивидовыми anti-IgE-антителами, содержащими либо ферментативную, либо флуоресцентную метку. Дальнейшая регистрация сигналов флуоресценции от каждой ячейки индивидуально позволяет определить профиль sIgE, характерный для данного пациента.

В России представлены следующие зарубежные наборы реагентов на основе технологии биологических микрочипов:

«Набор реагентов для одновременного количественного определения специфических IgE к алергокомпонентам и экстрактам аллергенов и полуколичественного определения общего IgE в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа на алергочипе ALEX2 (Allergy Explorer2)» (ПЗН 2021/14105), «Набор реагентов ALEX2/50 (Allergy Explorer2/50) для одновременного количественного определения специфических IgE к алергокомпонентам и экстрактам аллергенов и полуколичественного определения общего IgE в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа на алергочипе ALEX2» (ПЗН 2023/21699) и анализатор «Устройство для считывания и обработки результатов ImageXplorer при сканировании алергочипов технологии ALEX», производства «МакроЭррей Диагностика ГмбХ» (MacroArray Diagnostics GmbH), Австрия (ПЗН 2021/15181).

Метод анализа с помощью биочипа Alex2 представляет собой твердофазный иммунологический анализ. Экстракты аллергенов или молекулярные компоненты аллергенов, связанные с наночастицами, системно осаждаются на твердой фазе, образуя макроскопическую матрицу. Вначале аллергены, связанные с частицами, реагируют со специфическим иммуноглобулином E, который присутствует в образце пациента. По истечении периода инкубации неспецифические IgE отмывают. Затем добавляют меченные ферментом детектирующие антитела к IgE человека, которые образуют комплексы со специфическими IgE человека, связанными с аллергенами на наночастицах. Во второй стадии промывки добавляют субстрат, который превращается в нерастворимый окрашенный осадок с помощью связанного с антителами фермента. Наконец, реакцию фермент- субстрат останавливают путем добавления блокирующего стоп-реагента. Количество осадка пропорционально концентрации sIgE в образце пробы пациента. После завершения исследования изображение биочипа анализируют с помощью сканера ImageXplorer. Результаты теста анализируют с помощью программного обеспечения Raptor и указывают в kU/l. Результаты общего IgE указывают также в kU/l.

Данные по клинической валидации Alex на территории РФ представлены авторами [50, 51].

Сравнение Alex с ImmunoCAP, проведенное [52], продемонстрировало существенное совпадение между этими двумя методами, с несколько меньшим согласием в обнаружении IgE в экстракте, чем в молекулярных компонентах, как для ингаляционных аллергенов, так и для пищевых аллергенов. Общее согласие по пищевым аллергенам привело к умеренному согласию по экстрактам (коэффициент каппа $k = 0,64$ для ингаляционных аллергенов и $k = 0,51$ для пищевых аллергенов) и значительному согласию по молекулярным компонентам (коэффициент каппа $k=0,92$ для компонент ингаляционных аллергенов и $k=0,72$ для компонент пищевых аллергенов).

Отличительной чертой Alex является использование раствора для блокировки CCD (Cross-Reactive Carbohydrate Determinants); CCD – это углеводные структуры, присутствующие в аллергенах растений, насекомых и моллюсков. Имунная система некоторых пациентов вырабатывает anti-CCD IgE, которые связываются с CCD в разных аллергенах, давая ложные положительные результаты или вызывая перекрестную реактивность. Анти-CCD IgE обычно не вызывают симптомов (не клинически значимы), но могут маскировать истинную сенсibilизацию к белковым аллергенам. На сегодняшний день ингибирование CCD реализовано в платформах Alex и ImmunoCAP.

Компания «Фадиа АБ» (Phadia AB), Швеция предлагает аллергобиочип для компонент разрешающей аллергодиагностики ImmunoCAP ISAC E 112i- набор реагентов *in vitro* ImmunoCAP ISAC E 112i для измерения уровня аллерген-специфических антител IgE» (РЗН 2021/1551).

Аллергочип ImmunoCAP ISAC представляет собой твердофазный иммуноанализ. Аллергенные компоненты, которые иммобилизованы в твердом субстрате в формате микроматрицы, реагируют со специфическим IgE из образца пациента. После отмывки неспецифических IgE

добавляются антитела к IgE человека с флуоресцентной меткой для образования комплекса. После инкубации несвязанные антитела к IgE человека с флуоресцентными метками удаляются путем отмывки.

Далее процедура продолжается проведением измерения флуоресцентного сигнала, для чего используется «Анализатор биологических микрочипов LuxScan 10K-A с принадлежностями», производства «КапиталБио Текнолоджи Корпорейшен» (CapitalBio Technology Corporation), Китай (ФСЗ 2012/13203).

Чем выше (в относительных единицах флуоресценции) значение ответа, тем больше специфического IgE присутствует в образце. Результаты теста анализируются с использованием программного обеспечения- Phadia MIA (ФСЗ 2012/13203), которое вычисляет показатель в стандартизированных единицах ISAC для специфического IgE (ISU-E). Метод измерения – флуориметрия.

К основным преимуществам технологии биочипов в аллергодиагностике относятся: миниатюризация анализа, использование минимального количества пробы пациента, возможность определения более 100 sIgE в одном образце пробы за одну постановку анализа.

Сравнение мультиплексных тест-систем для определения sIgE ImmunoCAP ISAC sIgE 112 и ALEX приведено в работе Нерелиус Ш. и др. [30]. Сравнение результатов, полученных при определении sIgE двумя тест-системами, проводили с использованием процедуры сравнения Пассинга–Баблока с применением линейного регрессионного анализа (табл. 2). Для некоторых аллергенов, а также их компонент, например для *D. pteronyssinus* (клещ домашней пыли, d1) и для тимофеевки, gb, а так же для их компонент (Phl p 5 тимофеевки и Der p 1 *D. pteronyssinus*) регрессионные кривые близки к линейной функции, описываемой уравнением $y=x$. Для другой части аллергенов, например для лесного ореха, пыльцы оливы, компоненты Jug r 1 лесного ореха и Gal d 2 белка куриного яйца регрессионные кривые соответствуют уравнению $y=Ax$, где $A \ll 1$. Для цельных аллергенов общая согласованность классов составила 53 %.

Сравнение результатов определения sIgE при помощи Аллергочипа ImmunoCAP ISAC и моноплексного ImmunoCAP авторами [53] показало высокую сходимость результатов анализа – свыше 90 %, но как правило, ISAC более эффективен для выявления первичной сенсibilизации, а ImmunoCAP точнее для мониторинга АСИТ (аллерген- специфической иммунотерапии).

Развитие отечественной технологии белковых микрочипов для анализа аллерген-специфических иммуноглобулинов класса E

Российский рынок аллергодиагностики долгое время зависел от зарубежных технологий (ImmunoCAP, Thermo Fisher; ALEX, MacroArray Diagnostics; Immulite, Siemens). Однако санкционное давление и курс на импортозамещение создают уникальные возможности для отечественных разработчиков.

В России, с начала нулевых годов развивается отечественная технология с использованием биологических микрочипов, направленная на анализ белок-белковых

взаимодействий *in vitro*, в частности, для анализа взаимодействий аллерген-sIgE [54–59]. При иммобилизации белковых молекул (аллергенов, иммуноглобулинов и других белков) в качестве зондов на биочипе очень важно создать условия, при которых эти молекулы сохраняли бы свои нативные свойства и не денатурировали бы в процессе производства и хранения биочипов. Подходящей средой для белков является акриламидный гель низкой плотности [54–57]. Однако, кинетика образования белок-белковых комплексов в ячейках из акриламидного геля составляет 22 часа [54–60] и белковые микрочипы, содержащие белковые молекулы, иммобилизованные в трехмерных элементах полиакриламидного геля на поверхности стекла, в настоящее время производятся только для экспериментальных исследований [54–59].

Последние несколько лет развивается альтернативный способ изготовления биочипа, в котором биомолекулы иммобилизуются на биополимерах в виде трехмерных щеток, выращенных на пластиковой подложке биочипа с использованием кварцевой фотомаски. Этот подход был вначале использован для иммобилизации ДНК и ДНК-ДНК гибридизации с пробой длиной до 600 нуклеотидов [61–63], а затем – для иммобилизации аллергенов и антигенов для определения sIgE в сыворотке крови [60]. Нужно отметить, что на таких щеточных биочипах кинетика ДНК-гибридизации (время насыщения гибридизационных сигналов) составляет 1–2 часа [63], а кинетика образования белок-белковых комплексов составляет 3 часа [60]. Емкость трехмерных щеточных ячеек сравнима с емкостью трехмерных гелевых ячеек, и такая чувствительность позволяет детектировать флуоресцентные изображения щеточных биочипов с помощью флуоресцентного микроскопа (а не сканнера, как в зарубежных технологиях). Важным качеством щеточных биочипов также является использование пластика из полиэтилентерефталата в качестве подложки – более коммерчески доступного материала в сравнении со стеклянной подложкой.

Заключение

Анализ результатов сопоставления определения sIgE различными тест-системами, выявил ключевые сложности, с которыми сталкиваются лаборатории и врачи: проблема стандартизации и сопоставимости результатов тестов, разные калибровочные стандарты, разный формат отчетности, разная панель аллергенов и экстрактов: даже для одного и того же аллергена (например, пыльцы березы) разные производители используют различные экстракты, которые могут содержать неидентичные наборы белков. Это напрямую влияет на чувствительность и специфичность определения sIgE.

Особые сложности возникают с молекулярной диагностикой *in vitro*. Разные мультиплексные системы (например, ALEX2, ImmunoCAP ISAC) включают разный набор рекомбинантных и нативных компонентов. Смена системы может привести к «потере» диагностируемого важного мажорного или минорного аллергена, что кардинально меняет понимание профиля сенсибилизации пациента (например, возможности проведения АСИТ или прогноза тяжести реакции).

При выборе мультиплексной тест-системы для аллергодиагностики *in vitro* необходимо сопоставить исследования, полученные с использованием данной тест-системы с результатами, полученными с использованием стандартного метода, таким как ИФА или REAST.

Список литературы / References

1. Coombs R.R.A., Gell P.G.H. *Clinical aspects of immunology*. Davis; 1963.
2. Goikoechea M.J., Sanz M.L., Garcia B.E., Mayorga C., Longo N., Gamboa P.M. et al. Recommendations for the use of *in vitro* methods to detect specific immunoglobulin E: are they comparable? *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. 2013; 23 (7): 448–454.
3. Желтикова Т.М., Ахалкина И.Г., Антропова А.Б., Кошищева А.Ю., Мазурин С.А., Мокроносова М.А. Современные проблемы сенсибилизации к паналлергенам. *Российский иммунологический журнал*. 2024; 27 (4): 907–912.
4. Zhelkova T.M., Akhalkina I.G., Antropova A.B., Konishcheva A.Yu., Mazurina S.A., Mokronosova M.A. Modern problems of sensitization to panallergens. *Russian immunological journal*. 2024; 27 (4): 907–912. (In Russ.).
5. Altmann F. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo Journal International*. 2016; 25: 98–105. <https://doi.org/10.1007/s40629-016-0115-3>. Epub 2016 Jun 25.
6. Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов (РААКИ). Федеральные клинические рекомендации по диагностике аллергических заболеваний. 2015. Russian Association of Allergists and Clinical Immunologists (RAACI). *Federal Clinical Guidelines for the Diagnosis of Allergic Diseases*. 2015. (In Russ.).
7. Горячкина А.А., Терехова Е.П. Принципы диагностики аллергических заболеваний: учебное пособие для врачей. М.: РМАПО; 2012.
8. Goryachkina A.A., Terekhova E.P. *Principles of Diagnosis of Allergic Diseases: A Study Guide for Physicians*. Moscow: RMAPO; 2012. (In Russ.).
9. Луткова Т.С., Карзакова Л.М., Журавлева Н.В., Андреева Н.П., Ухтерова Н.Д., Комельгина Н.А. и др. Современные подходы к диагностике и терапии аллергических заболеваний. *Acta Medica Eurasica*. 2021; (3): 60–68. <https://doi.org/10.47026/2413-4864-2021-3-60-68>
10. Lutkova T.S., Karzakova L.M., Zhuravleva N.V., Andreeva N.P., Ukhterova N.D., Komelygina N.A., et al. Modern Approaches to the Diagnosis and Treatment of Allergic Diseases. *Acta Medica Eurasica*. 2021; (3): 60–68. (In Russ.). <https://doi.org/10.47026/2413-4864-2021-3-60-68>
11. Hamilton R.G., Adkinson F.N. *In vitro* assays for the diagnosis of IgE-mediated disorders. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2004; 114 (2): 213–224. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.06.046>
12. Ahlstedt S., Eriksson N., Lindgren S., Roth A. Specific IgE determination by RAST compared with skin and provocation tests in allergy diagnosis with birch pollen, timothy pollen and dog epithelium allergens. *Clinical Allergy*. 1974; 4 (2): 131–140. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.1974.tb01370.x>
13. Митин Ю.А. Лабораторная диагностика аллергических заболеваний. СПб.: ВмедА; 2017.
14. Mitin Yu.A. *Laboratory diagnostics of allergic diseases*. St. Petersburg: Military Medical Academy; 2017. (In Russ.).
15. Ceska M., Lundkvist U. A new and simple radioimmunoassay for measurement of Ig E. *Immunochimistry*. 1972; 9 (10): 1021–1030. [https://doi.org/10.1016/0019-2791\(72\)90112-7](https://doi.org/10.1016/0019-2791(72)90112-7)
16. Ewan P.W., Coote D. Evaluation of a capsulated hydrophilic carrier polymer (the ImmunoCAP) for measurement of specific IgE antibodies. *Allergy*. 1990; 45 (1): 22–29. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1990.tb01080.x>
17. Wachholz P.A., Dearman R.J., Kimber I. Detection of allergen-specific IgE antibody responses. *Journal of Immunotoxicology*. 2005 Jul. 1; 1 (3): 189–99. DOI: 10.1080/15476910490919140
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline (EP17-A)*. Wayne, PA: CLSI; 2004.
19. Аллергология. Федеральные клинические рекомендации. Под ред. П.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. М.: Фармфармус Принт Медиа; 2014.
20. *Allergology. Federal Clinical Guidelines*. Edited by R.M. Khaïtov, N.I. Ilyina. Moscow: Farmarus Print Media; 2014. (In Russ.).
21. Рыбникова Е.А., Федоскова Т.Г., Продеус А.П. Лабораторная диагностика аллергии в ежедневной практике врача: практическое руководство. М.: Практическая медицина; 2019.
22. Rybnikova E.A., Fedoskova T.G., Prodeus A.P. *Laboratory Diagnostics of Allergies in Daily Physician Practice: A Practical Guide*. Moscow: Practical Medicine; 2019. (In Russ.).
23. Bala A.M., Kleschenko A.B., Chursinova Yu.V. Current possibilities of an allergy laboratory diagnosis. *Russian Medical Journal. Medical Review*. 2019; 1 (III): 56–61.
24. Wang J., Goodbold J.H., Sampson H.A. Correlation of serum allergy (IgE) tests performed by different assay systems. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008; 121 (5): 1219–1224. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.12.1150>
25. Yerushalmy J. Statistical problems in assessing methods of medical diagnosis, with special reference to X-ray techniques. *Public Health Reports*. 1947; 62 (40): 1432–1449.
26. Diaz-Vazquez C., Torregrosa-Berfe M.J., Carvajal-Urueña I., Cano-Garcinúa A., Fos-Escribá E., García-Gallego A. et al. Accuracy of ImmunoCAP Rapid in the diagnosis of allergic sensitization in children between 1 and 14 years with recurrent wheezing: the IReNE study. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2009; 20 (6): 601–609. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2008.00827.x>
27. Lee J.-H., Park H.J., Park K.H., Jeong K.Y., Park J.-W. Performance of the PROTIATM Allergy-Q® System in the Detection of Allergen-specific IgE: A Comparison With the ImmunoCAP® System. *Allergy, Asthma & Immunology Research*. 2015; 7 (6): 565–572. <https://doi.org/10.4168/aa.2015.7.6.565>
28. Nösslinger H., Mair E., Oostingh G.J., Ahlgrimm-Siess V., Ringauf A., Lang R. Multiplex Assays in Allergy Diagnosis: Allergy Explorer 2 versus ImmunoCAP ISAC E112. *Diagnostics*. 2024; 14 (10): 976. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14100976>
29. Kim Y., Lee S., Park H., Jang T., Jung K. Validation of PROTIATM Allergy-Q 64 Atopy® as a Specific IgE Measurement Assay for 10 Major Allergen Components. *Allergy, Asthma & Immunology Research*. 2019; 11 (6): 422–432. <https://doi.org/10.4168/aa.2019.11.3.422>
30. Sastre J., Lluch-Bernal M., Bustillo M., Fernández-Nieto M. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy*. 2012; 67 (5): 709–711. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2012.02808.x>
31. Matricardi P.M., Kleine-Tebbe J., Hoffmann H.J., Valenta R., Hilger C., Hofmaier S. et al. EAACI Molecular Allergy User's Guide. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2016; 27 (S23): 1–250. <https://doi.org/10.1111/pai.12563>
32. Lee H., Ryu J.H., Choi A.-R., Kim Y., Oh E.-J. Inter-laboratory comparison of semiquantitative allergen-specific Immunoglobulin E test: 7 years of experience in Korea. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2022; 36 (2): e24222. <https://doi.org/10.1002/jcla.24222>
33. Bernardini R., Arasi S., Barni S., SIAIP Allergy Diagnostic Commission. Multiparametric or multiplex systems in allergy diagnostics. *Italian Journal of Pediatric Allergy and Immunology*. 2024; 38 (2): 17–21. <https://doi.org/10.53151/2531-3916/2024-436>
34. Williams P., Onell A., Baldracchini F., Hui V., Jolles S., El-Shanawany T. Evaluation of a novel automated allergy microarray platform compared with three other allergy test methods. *Clinical and Experimental Immunology*. 2016; 184 (1): 1–10. <https://doi.org/10.1111/cei.12721>

29. Сновская М. А., Намазова-Баранова Л. С., Малышев В. С., Кожевникова О. В., Батырова А. С., Вишнева Е. А. Диагностическое определение sIgE к аллергенам пыльцы деревьев тест-системой «Алкор-Био» и методом ImmunoCAP. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (4): 225–229. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-4-225-229>
30. Nerasova S. A., Namazova-Baranova L. S., Malyshev V. S., Kozhevnikova O. V., Batoryova A. S., Vishneva E. A. Diagnostic determination of sIgE to tree pollen allergens using the Alkor-Bio test system and the ImmunoCAP method. Clinical laboratory diagnostics. 2017; 62 (4): 225–229. (In Russ.). <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-4-225-229>
31. Нерелиус Ш., Андерссон М., Сегард Л., Шванбек М., Кофлер С., Бертольд М. Сравнительное исследование Allergy Explorer (ALEX) и платформ ImmunoCAP. Российский аллергологический журнал. 2020; 17 (1): 35–45. <https://doi.org/10.36691/RAJ.2020.17.1.007>
32. Nerelius S., Andersson M., Segard L., Schwanbeck M., Kofler S., Berthold M. Comparative study of Allergy Explorer (ALEX) and ImmunoCAP platforms. Russian Journal of Allergy, 2020; 17 (1): 35–45. (In Russ.). <https://doi.org/10.36691/RAJ.2020.17.1.007>
33. Engvall E., Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. Immunochemistry. 1971; 8(9): 871–874. [https://doi.org/10.1016/0019-2791\(71\)90454-x](https://doi.org/10.1016/0019-2791(71)90454-x)
34. Rubenstein K. E., Schneider R. S., Ullman E. F. Homogeneous enzyme immunoassay. A new immunochemical technique. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1972; 47(4): 846–851. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(72\)90570-9](https://doi.org/10.1016/0006-291X(72)90570-9)
35. Невская Л. В., Лавренчик Е. А., Жадова М. Ю. Аллергены на основе рекомбинантных белков. Иммунология. 2018; 39(4): 239–242.
36. Nevskaya L. V., Lavrenchik E. A., Zhdanova M. Yu. Allergens based on recombinant proteins. Immunology. 2018; 39(4): 239–242. (In Russ.).
37. Kimek L., Hoffmann H. J., Renz H., Demoly P., Werfel T., Matricardi P. M. et al. Diagnostic test allergens used for in vivo diagnosis of allergic diseases are at risk: a European Perspective. Allergy. 2015; 70(10): 1329–31. <https://doi.org/10.1111/all.12676>
38. Kleine-Tebbe J. Allergen-specific IgE-values to inhalants and food allergens: Dr. Fooke ALLERG-O-IQ versus Pharmacia CAP-System. Allergologie. 2004; 27(4): 129–135.
39. Lucassen R., Schulte-Pelkum J., Csuvarzski C., Kleine-Tebbe J., Mahler M. Evaluation of a Novel Rapid Test System for the Detection of Allergic Sensitization to Timothy Grass Pollen against Established Laboratory Methods and Skin Prick Test. Journal of Allergy. 2010; 20(10): 524084. <https://doi.org/10.1155/2010/524084>
40. Kadooka Y., Okamoto K., Kato M., Hachimura S., Ise W., Kaminogawa S. A method for measuring specific IgE in sera by direct ELISA without interference by IgG competition or IgG autoantibodies to Ig E. International Archives of Allergy and Immunology. 2000; 122 (4): 264–269. <https://doi.org/10.1159/000024410>
41. Рыбникова Е. А., Продеус А. П., Федоскова Т. Г. Современные подходы к лабораторной диагностике аллергии – в помощь практикующему врачу. Медицинский обозрение. 2021; 5 (1): 43–49. <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2021-5-1-43-49>
42. Rybnikova E. A., Prodeus A. P., Fedoskova T. G. Modern approaches to laboratory diagnostics of allergies – to help the practicing physician. Medical review. 2021; 5 (1): 43–49. (In Russ.). <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2021-5-1-43-49>
43. Hamilton RG, Mudd K, White MA, Wood RA. Extension of food allergen specific IgE ranges from the ImmunoCAP to the Immulite systems. Ann Allergy Asthma Immunol. 2011; 107 (2): 139–44. doi:10.1016/j.anaai.2011.04.012
44. Park K. H., Lee J., Sim D. W., Lee S. C. Comparison of Singleplex Specific IgE Detection Immunoassays: ImmunoCAP Phadia 250 and Immulite 2000 3gAllergy. Annals of Laboratory Medicine. 2018; 38 (1): 23–31. <https://doi.org/10.3343/alim.2018.38.1.23>
45. Wang J., Godbold JH, Sampson HA. Correlation of serum allergy [IgE] tests performed by different assay systems. J Allerg Clin Immunol. 2008; 121 (5): 1219–24. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.12.1150
46. Calderón M. A., Kleine-Tebbe J., Linneberg A., De Blay F., Hernandez Fernandez de Rojas D., Virchow J. C. et al. House dust mite respiratory allergy: an overview of current therapeutic strategies. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. In Practice. 2015; 3 (6): 843–855. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2015.06.019>
47. Asam C., Hofer H., Wolf M., Agias L., Wallner M. Tree pollen allergens-an update from a molecular perspective. Allergy. 2015; 70 (10): 1201–1211. <https://doi.org/10.1111/all.12696>
48. Cox L., Nelson H., Lockey R., Calabria C., Chacko T., Finegold I. et al. Allergen immunotherapy: a practice parameter third update. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2011; 127 (1, Suppl.): S1–S55. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2015.06.019>
49. Sampson H. A. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2001; 107 (5): 891–896. <https://doi.org/10.1067/jmai.2001.114708>
50. Lee S., Lim H. S., Park H. Y., Park Y. H., Kim J. H., Moon J. D. et al. A new automated multiple allergen simultaneous test-chemiluminescent assay (MAST-CLA) using an AP7205 analyzer. Clinica Chimica Acta. 2009; 402 (1–2): 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.01.014>
51. Miller S. P., Marinkovich V. A., Riege D. H., Sell K. W., Hawley D. A. Application of the MAST™ Immunodiagnostic System to the determination of allergen-specific IgE. Clinical Chemistry. 1984; 30 (9): 1467–1472.
52. Han Y., Woo Y. R., Kim H. S., Lee J. D., Choi S., Yu J., Cho S. H. Allergic Sensitization Pattern in the Korean Dermatologic Patients. Annals of Dermatology. 2022; 34 (6): 431–441. <https://doi.org/10.5021/ad.21.260>
53. 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 and Asthma Proceedings. 2003; 24 (4): 253–258.
54. Ненашева Н. М., Себекина О. В., Хамитова Э. И., Малышева М. В. Различные клинические проявления у монозиготных близнецов при схожих результатах аллергодиагностики. Клинический случай. Практическая аллергология. 2023; (2).
55. Nenasheva N. M., Sebekina O. V., Khamitova E. I., Malysheva M. V. Different clinical manifestations in monozygotic twins with similar results of allergy diagnostics. Clinical case. Practical allergology. 2023; (2). (In Russ.).
56. Мокроносорова М. А., Филимонова О. И., Желтикова Т. М. Профиль IgE-сенситизации к белкам запаса у пациентов с аллергическими заболеваниями. Клиническая лабораторная диагностика. 2023; 68 (11): 680–685. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-11-680-685>
57. Mokronosova M. A., Filimonova O. I., Zheltikova T. M. Profile of IgE sensitization to storage proteins in patients with allergic diseases. Clinical laboratory diagnostics. 2023; 68 (11): 680–685. (In Russ.). <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-11-680-685>
58. Buzzulini F., Da Re M., Scala E., Martelli P., Conte M., Brusca I. et al. Evaluation of a new multiplex assay for allergy diagnosis. Clinica Chimica Acta. 2019; 493: 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.025>
59. Mellioli G., Bonifazi F., Bonini S., Maggi E., Mussap M., Passalacqua G. et al. Italian Board for ISAC (IBI). The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. Clinical Biochemistry. 2011; 44(12): 1005–1011. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.05.007>
60. Rubina A. Y., Dementieva E. I., Stomakhin A. A., Darii E. L., Pan'kov S. V., Barsky V. E. et al. Hydrogel-based protein microchips: Manufacturing, properties, and applications. Biotechniques. 2003; 34 (5): 1008–1022. <https://doi.org/10.2144/033455r01>
61. Zubsov D. A., Savvateeva E. N., Rubina A. Y., Pan'kov S. V., Kononova E. V., Moiseeva O. V. et al. Comparison of surface and hydrogel-based protein microchips. Analytical Biochemistry. 2007; 368 (2): 205–213. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2007.06.005>
62. Feyzkhanova G. U., Filippova M. A., Talibov V. O., Dementieva E. I., Maslennikov V. V., Reznikov Y. P. et al. Development of hydrogel biochip for in vitro allergy diagnostics. Journal of Immunological Methods. 2014; 406: 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2014.02.007>
63. Smoldovskaya O., Feyzkhanova G., Voloshin S., Arefieva A., Chubarova A., Pavlushkina L. et al. Allergen-specific IgE and IgG4 patterns among patients with different allergic diseases. Allergy Organization Journal. 2018; 11: 35. <https://doi.org/10.1186/s40413-018-0208-1>
64. Butvilovskaya V. I., Smoldovskaya O. V., Feyzkhanova G. U., Filippova M. A., Pavlushkina L. V., Voloshin S. A. et al. Modification of Anti-Glycan IgG and IgM Profiles in Allergic Inflammation. Molecular Biology. 2018; 52 (4): 634–643. <https://doi.org/10.1134/S02689331804004X>
65. Buanova A. A., Yukina M. Y., Cheranov V. V., Suchalko O. N., Shmitko A. O., Samitova A. F. et al. Trio-Based Exome Sequencing and High-Resolution HLA Typing in Families of Patients with Autoimmune Adrenal Insufficiency and Autoimmune Polyglandular Syndrome. PLoS ONE. 2024; 19 (4): e0312335. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0312335>
66. Miftakhov R. A., Shtylev G. F., Kachulyak D. A., Shishkin I. Y., Vasiliskov V. A., Butvilovskaya V. I. et al. Protein Biochips with Three-Dimensional Hydrogel or Polymer Brush Elements for the Detection of Human Serum Immunoglobulin E Specific to Inhalation Allergens. International Journal of Molecular Sciences. 2024; 25 (24): 13047. <https://doi.org/10.3390/ijms252413047>
67. Мифтахов Р. А., Лапа С. А., Шершов В. Е., Заседателева О. А., Гусейнов Т. О., Спицын М. А. и др. Получение активных карбоксильных групп на поверхности полиэтилентерефталатной пленки и количественный анализ этих групп с помощью цифровой люминесцентной микроскопии. Биофизика. 2018; 63 (4): 661–668.
68. Miftakhov R. A., Lapa S. A., Shershov V. E., Zasedateleva O. A., Guseinov T. O., Spitsyn M. A., et al. Production of active carboxyl groups on the surface of polyethylene terephthalate film and quantitative analysis of these groups using digital fluorescence microscopy. Biophysics. 2018; 63 (4): 661–668. (In Russ.).
69. Мифтахов Р. А., Лапа С. А., Кузнецова В. Е., Золотов А. М., Василисков В. А., Шершов В. Е. и др. Влияние длины спейсеров на свойства ДНК-зондов в гибридном анализе. Биоорганическая химия. 2021; 47 (6): 841–844.
70. Miftakhov R. A., Lapa S. A., Kuznetsova V. E., Zolotov A. M., Vasiliskov V. A., Shershov V. E., et al. Effect of spacer length on the properties of DNA probes in hybridization analysis. Bioorganic Chemistry. 2021; 47 (6): 841–844. (In Russ.).
71. Мифтахов Р. А., Иконникова А. Ю., Василисков В. А., Лапа С. А., Левашова А. И., Кузнецова В. Е. и др. Биочип с ячейками из шесточленных полимеров с реактивными карбоксильными группами для анализа ДНК. Биоорганическая химия. 2023; 49 (5): 1–8.
72. Miftakhov R. A., Ikonnikova A. Yu., Vasiliskov V. A., Lapa S. A., Levashova A. I., Kuznetsova V. E., et al. Biochip with cells made of brush polymers with reactive carboxyl groups for DNA analysis. Bioorganic Chemistry. 2023; 49 (5): 1–8. (In Russ.).

Статья поступила / Received 25.01.2026.
Получена после рецензирования / Revised 10.02.2026
Принята в печать / Accepted 20.02.2026

Сведения об авторах

Бутвиловская Вероника Игоревна, к.х.н, научный сотрудник лаборатории нуклеотид-модифицированных нуклеиновых кислот¹. ORCID: 0000-0003-3071-5886

Свиitch Оксана Анатольевна, д.м.н., академик РАН, директор². ORCID: 0000-0003-1757-8389

Конаныкина Светлана Юрьевна, к.м.н, главный врач консультативно-диагностического центра, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологических методов исследования². ORCID: 0000-0001-7071-8067

Заседателева Ольга Александровна, к.ф.-м.н, научный сотрудник Лаборатории нуклеотид-модифицированных нуклеиновых кислот¹. ORCID: 0009-0008-3461-8876

Чудинов Александр Васильевич, к.х.н, руководитель Лаборатории нуклеотид-модифицированных нуклеиновых кислот ИМБ РАН¹. ORCID: 0000-0001-5468-4119

¹ ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгарда Российской академии наук», Москва, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова Российской академии медицинских наук», Москва, Россия

Автор для переписки: Бутвиловская Вероника Игоревна.
E-mail: v.butvilovskaya@gmail.com

Для цитирования: Бутвиловская В. И., Свиitch О. А., Конаныкина С. Ю., Заседателева О. А., Чудинов А. В. Клиническая лабораторная диагностика аллергических реакций немедленного типа в России: современные диагностические решения. Медицинский алфавит. 2026; (7): 14–25. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2026-7-14-25>

About authors

Butvilovskaya Veronika I., PhD Chemical Sci, researcher at the Laboratory of Nucleotide-Modified Nucleic Acids¹. ORCID: 0000-0003-3071-5886

Svitich Oxana A., Dr Med Sci (habil.), RAS academician, director². ORCID: 0000-0003-1757-8389

Konanykhina Svetlana Yu., PhD Med Sci, chief physician at the Consultative and Diagnostic Center, leading researcher at the Laboratory of immunological research methods². ORCID: 0000-0001-7071-8067

Zasedateleva Olga A., PhD Physico-mathematical Sci, researcher at the Laboratory of Nucleotide-Modified Nucleic Acids¹. ORCID: 0009-0008-3461-8876

Chudinov Alexander V., PhD Chemical Sci, head of the Laboratory of Nucleotide-Modified Nucleic Acids¹. ORCID: 0000-0001-5468-4119

¹ Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² I. I. Mechnikov Vaccine and Serum Research Institute, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

Corresponding author: Butvilovskaya Veronika I. E-mail: v.butvilovskaya@gmail.com

For citation: Butvilovskaya V. I., Svitich O. A., Konanykhina S. Yu., Zasedateleva O. A., Chudinov A. V. Clinical laboratory diagnostics of immediate allergic reactions in Russia: modern diagnostic solutions. Medical alphabet. 2026; (7): 14–25. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2026-7-14-25>