

Современные аспекты лабораторной аллергодиагностики

Климцева Ксения

Руководитель проекта

«Аллергодиагностика»

Тел.: (812) 677-21-65 доб. 452

E-mail: kklimtseva@alkorbio.ru



Аллергия (*allos – иной, ergos – действие*) – это неадекватный по силе иммунный ответ на аллерген, т. е. гиперчувствительность к данному аллергену.

Аллерген – сложное вещество, иммунный ответ на которое реализуется сенсibilизацией или аллергической реакцией

Сенсibilизация – приобретение организмом специфической повышенной чувствительности к чужеродным веществам — аллергенам

Типы аллергических реакций

Тип реакции	Иммунный механизм	Клинические примеры
1 Анафилактический	IgE-опосредованный	Анафилаксия, БА, АР, АК, АД, некоторые случаи крапивницы и желудочно-кишечных реакций на пищу, латексная аллергия
2 Цитотоксический	IgG и IgM-антитела, вз/д с антигенными компонентами клетки/гаптеном/антигеном вызывают повреждение клетки	Гемолитическая болезнь новорожденных, лекарственная аллергия
3 Иммунокомплексный	IgG и IgM-антитела участвуют в образовании растворимых циркулирующих иммунных комплексов	СКВ, РА, пищевая и лекарственная аллергия
4 Гиперчувствительность замедленного типа	Сенсибилизированные лимфоциты	Контактный дерматит, лекарственная аллергия, аллергия на латекс, туберкулиновая проба

(по P. Gell, R. Coombs, 1975)

Актуальность проблемы аллергодиагностики



У каждого 3-го человека во всем мире выявляют одно или несколько аллергических заболеваний

- 300 млн. человек в мире страдают **бронхиальной астмой** (от 1 до 18 %)
- **Аллергический ринит** выявляется у 10-30 % мирового населения
- **Пищевой аллергией** страдают 240-550 млн человек в мире
- **Аллергия на латекс** встречается у 5-22% медицинских работников



Факторы риска развития аллергических заболеваний:

- неблагоприятная экологическая ситуация – загрязнение воздуха и глобальное потепление
- изменение качества питания
- высокие стрессовые нагрузки
- бесконтрольное использование антибиотиков



Рост количества
аллергических заболеваний



*Для эффективного лечения
аллергического заболевания
необходима
**своевременная и достоверная
диагностика***



Диагностика аллергических заболеваний

- сбор аллергологического анамнеза;
- общее клинико-лабораторное обследование;
- специфическая клиническая аллергодиагностика (in vivo);
- специфическая лабораторная аллергодиагностика (in vitro)

Специфическая клиническая аллергодиагностика (in vivo)

✓ Кожное тестирование:

- скарификационный тест
- prick–тест
- Накожные тесты
- Подкожные инъекции растворов аллергенов

✓ Провокационные тесты с аллергенами

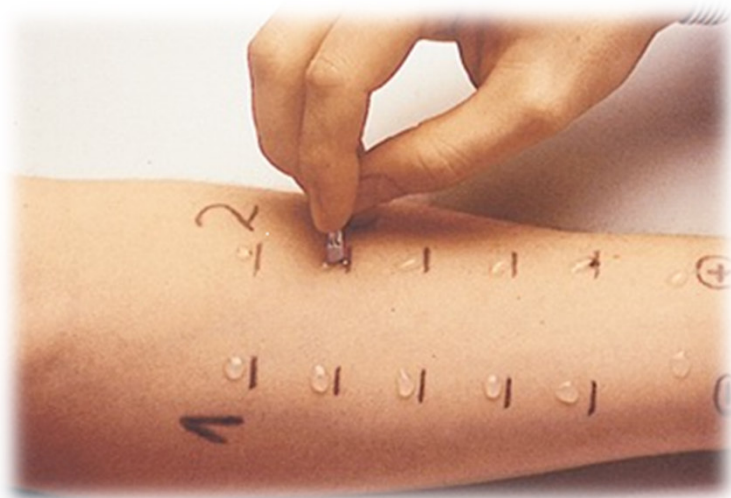
✓ Элиминационный тест



IN VIVO аллергодиагностика

Достоинства:

- ✓ Специфичность
- ✓ Доступность
- ✓ Наглядность
- ✓ Низкая стоимость



Недостатки:

- ✓ Ряд противопоказаний
- ✓ Полуколичественный метод оценки
- ✓ Возможность тестирования только в период ремиссии
- ✓ Необходимость отмены ряда противоаллергических препаратов перед исследованием
- ✓ Риск провокации аллергического заболевания
- ✓ Риск возникновения первичной сенсибилизации
- ✓ Ограниченное количество тестов, которые можно поставить одновременно

Противопоказания кожного и провокационного тестирования:

- Обострение аллергического заболевания
- Беременность и лактация
- Ранний детский возраст
- Декомпенсированное течение бронхиальной астмы
- В анамнезе – возникновение анафилактического шока при проведении кожного тестирования
- Острые инфекционные заболевания (ОРЗ, ангина, пневмония)
- Обострение хронических инфекционных заболеваний (туберкулез, сифилис и т.д.)
- Декомпенсация заболеваний внутренних органов
- Аутоиммунные заболевания в стадии обострения
- Первичные иммунодефицитные состояния
- Злокачественные новообразования
- СПИД

Лабораторная аллергодиагностика:

Безопасность для пациента – отсутствие контакта с аллергеном

- Возможность диагностики во время обострения аллергического заболевания
- Отсутствие необходимости отмены назначенной терапии
- Исключена опасность развития тяжелых реакций при проведении тестирования
- Отсутствие противопоказаний

А так же:

- ✓ Высокая специфичность и чувствительность метода
- ✓ Объективный характер оценки результатов, возможность количественной оценки
- ✓ Возможность выявления при одном обследовании большого числа аллергенов
- ✓ Использование сыворотки для исследования в любой лаборатории (тесты на расстоянии)

Преимущества аллергодиагностики методом ИФА:

- Высокие чувствительность и специфичность
- Экономическая доступность
- Простота эксперимента
- Использование универсального оборудования
- Получение достоверных воспроизводимых результатов
- Возможность автоматизации на всех этапах анализа



СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКА (IN VITRO)

- общий IgE
- специфические IgE



1 ЭТАП АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ IN VITRO

Количественное определение содержания общего IgE в сыворотке крови человека «ИФА-общий IgE»

- Диагностики аллергических заболеваний и оценка эффективности их лечения
- Оценки риска развития аллергических реакций у детей (при наличии аллергических заболеваний у родителей)
- Диагностики гельминтозов

1 ЭТАП АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ IN VITRO

Количественное определение содержания общего IgE в сыворотке крови человека «ИФА-общий IgE»

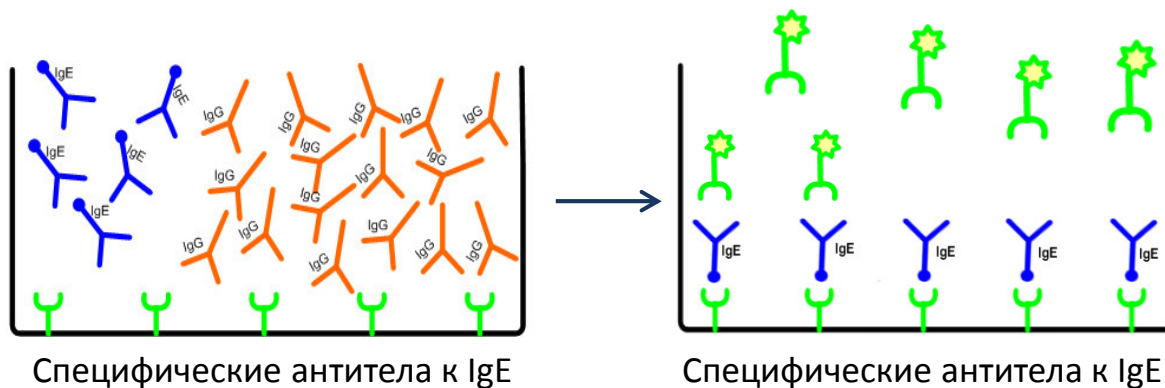
Диапазон ожидаемых значений: содержание общего IgE в сыворотке крови у 79 здоровых лиц в возрасте 21–45 лет:

48% – менее 25 МЕ/мл,
34% – от 25 до 100 МЕ/мл,
18% – более 100 МЕ/мл.

и у 226 больных, страдающих различными аллергическими заболеваниями, в возрасте 21–45 лет:

8% – менее 25 МЕ/мл,
22% – от 25 до 100 МЕ/мл,
70% – более 100 МЕ/мл.

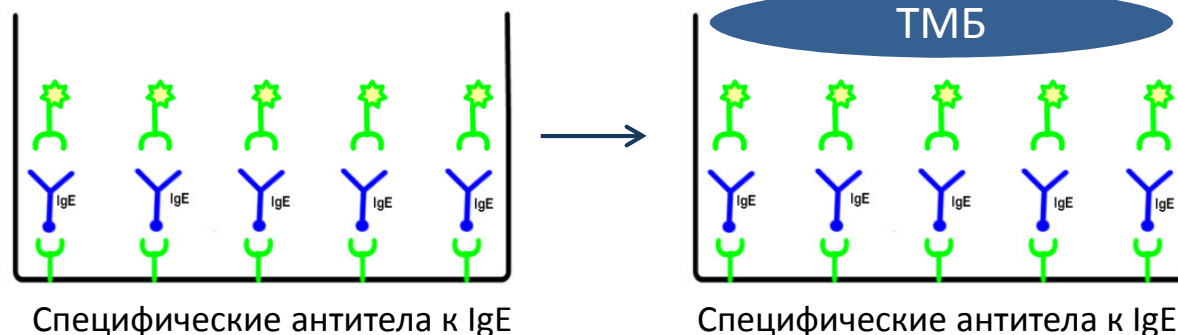
Определение общего IgE твердофазным ИФА-одностадийный «сэндвич»



Основная инкубация

90 минут, +37°C

500-800 об/мин



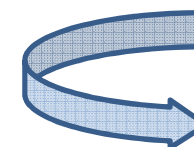
Инкубация с ТМБ

15-30 минут, КТ

или

10 минут, +37°C,

500-800 об/мин



405 нм

2 ЭТАП АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ IN VITRO

Количественное определение специфических IgE в сыворотке крови человека «АллергоИФА-специфические IgE»

- Необходимость уточнения причинно-значимого аллергена во всех случаях, особенно при сомнительных результатах кожного тестирования
- Дифференциальная диагностика аллергических и неаллергических заболеваний
- Затруднение или невозможность проведения тестов in vivo
- Выявление скрытой сенсибилизации
- Мониторинг концентрации IgE при проведении аллерген-специфической иммунотерапии

2 ЭТАП АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ IN VITRO

Количественное определение специфических IgE в сыворотке крови человека «АллергоИФА-специфические IgE»

Концентрация IgE	Класс	Уровень специфического IgE
≤ 0,35 МЕ/мл	0	Клинически не значимый
0,36 - 0,5 МЕ/мл	0 - 1	Очень низкий
0,51 - 1,0 МЕ/мл	1	Низкий
1,1 - 5,0 МЕ/мл	2	Средний
5,1 - 25 МЕ/мл	3	Высокий
25 - 75 МЕ/мл	4	Очень высокий
> 75 МЕ/мл	5	Исключительно высокий

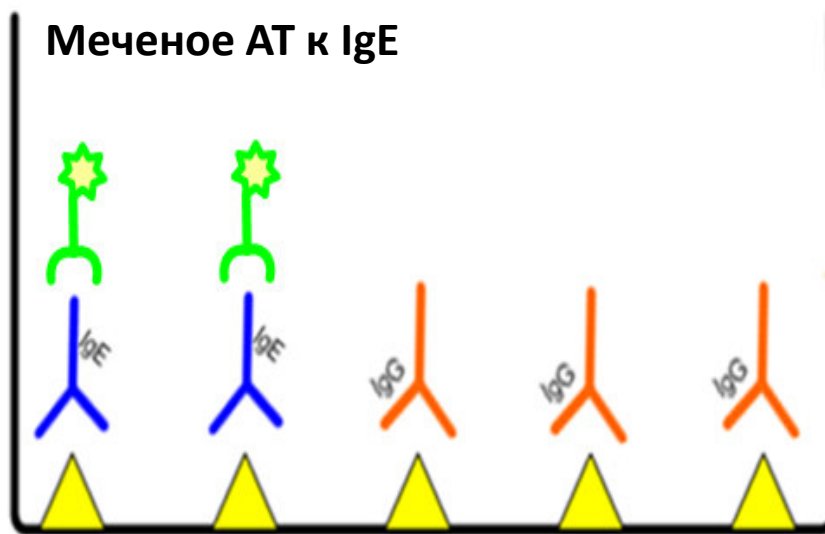


Варианты ИФА-анализа специфических IgE

Аллергосорбентный тест

ТМБ

Меченое АТ к IgE

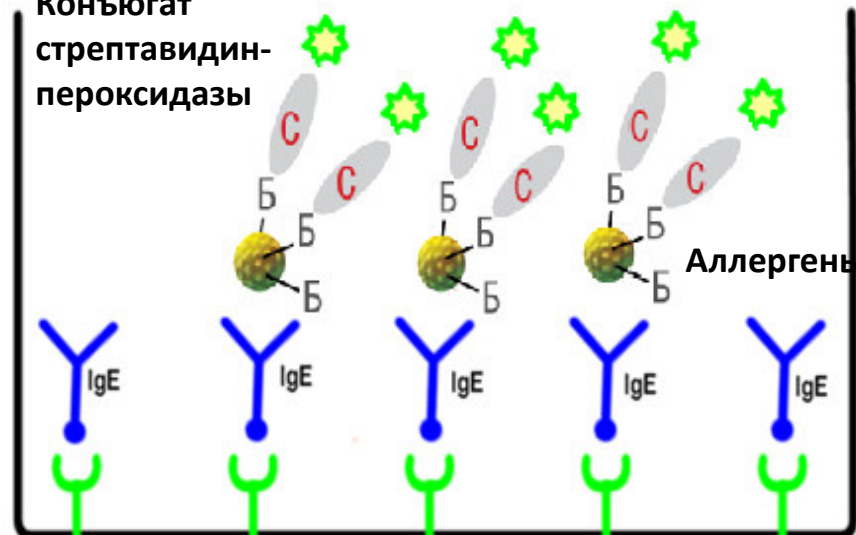


Аллерген

Реверсивный аллергосорбентный тест («capture»-вариант)

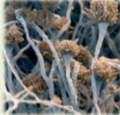
ТМБ

Конъюгат
стрептавидин-
пероксидазы



Специфические антитела к IgE

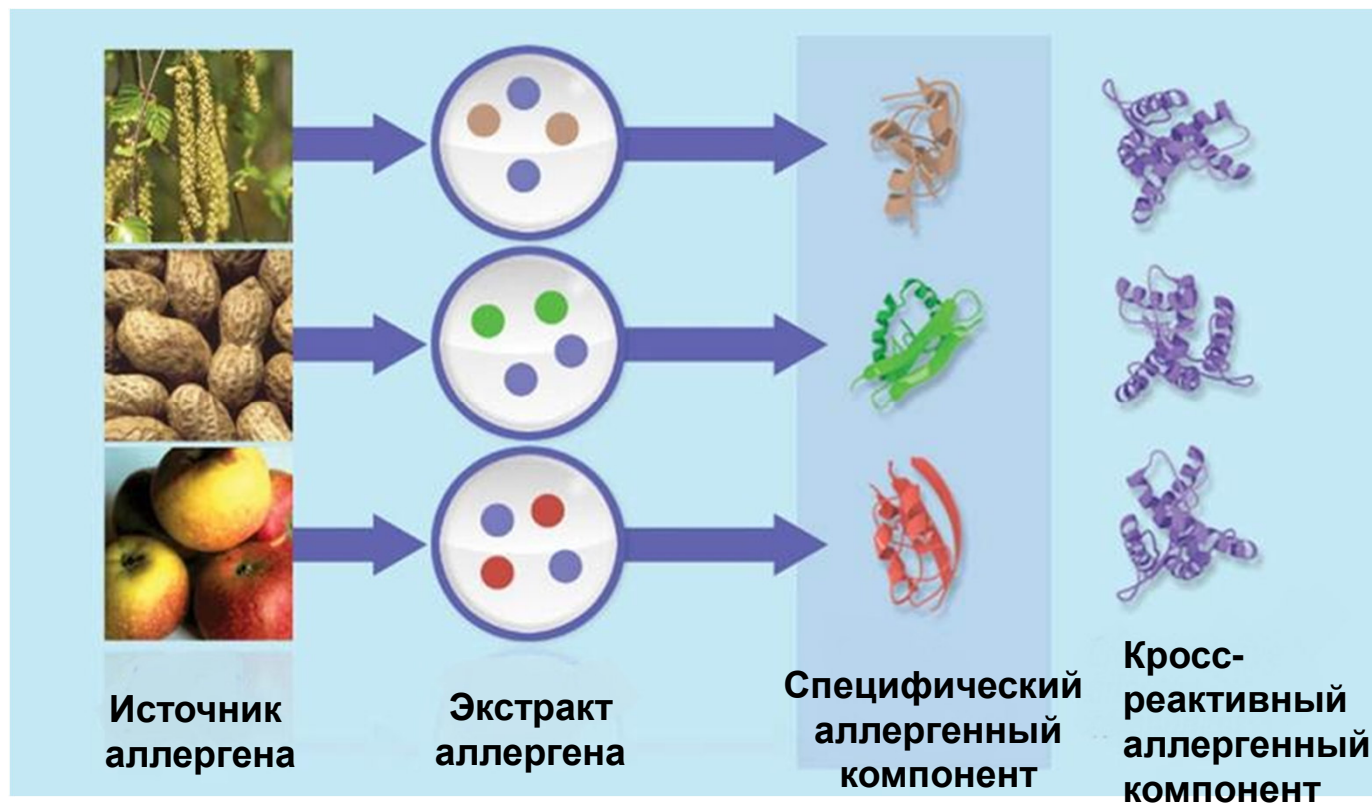
Жидкие биотинилированные аллергены и смеси

 Пищевые аллергены	 Лекарственные аллергены
 Эпидермальные	 Пыльца деревьев
 Луговые травы	 Сорные травы
 Профессиональные	 Плесневые и дрожжевые
 Инсектные аллергены	 Клещевые аллергены
 Аллергокомпоненты	 Аллергены домашней пыли
 Прочие аллергены	 Паразитарные аллергены
 Смеси аллергенов	

*Ознакомиться с полным перечнем аллергенов можно на сайте <http://www.alkorbio.ru/> и в каталоге продукции

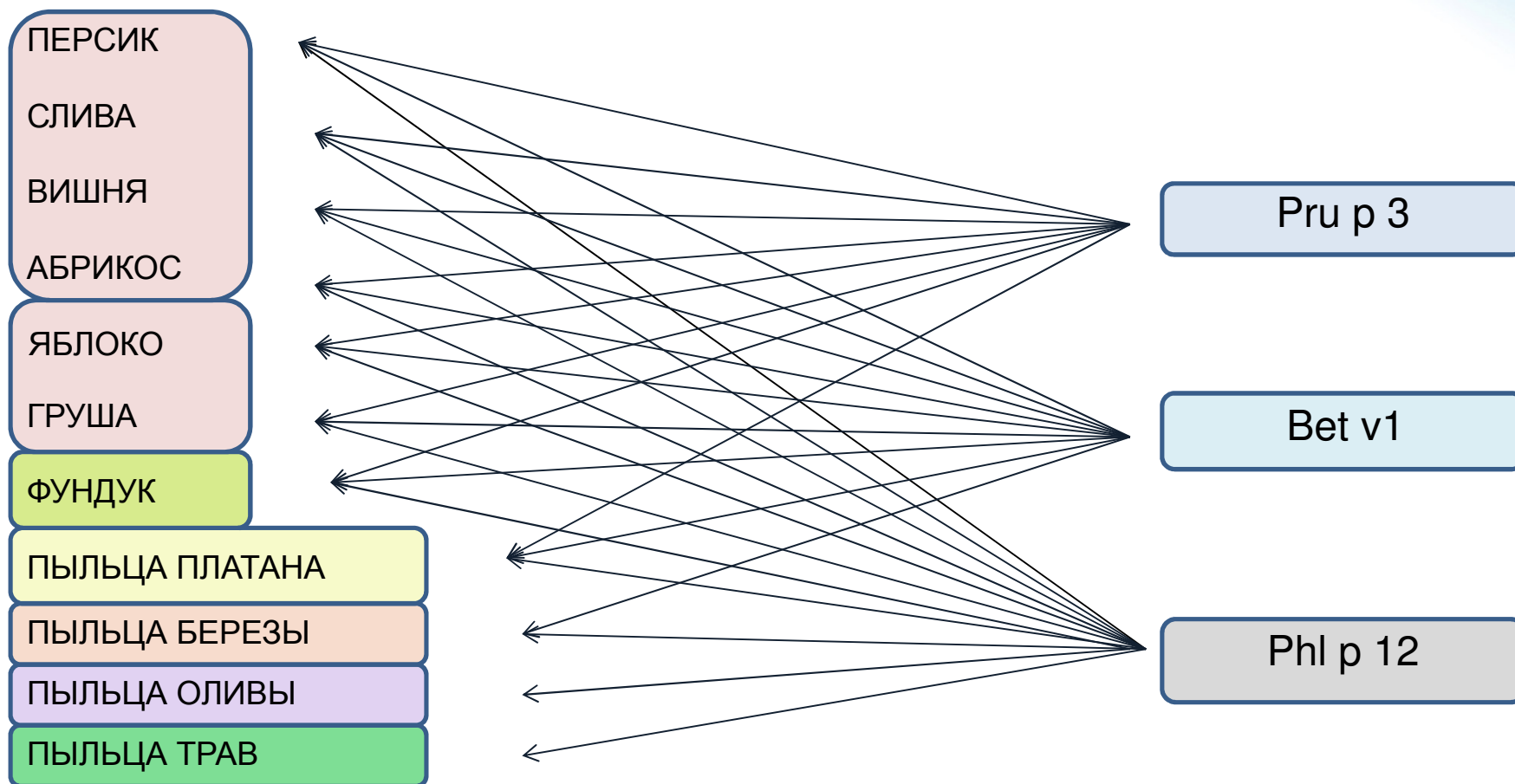
Аллергокомпоненты

- молекулы, выделенные из аллергенов, которые способны связываться со специфическим IgE.



Могут быть получены из натуральных источников аллергена (нативные, очищенные) или при помощи рекомбинантной ДНК технологии (рекомбинантные).

Кросс-реактивность аллергенов



Прогноз частоты и тяжести клинических симптомов



Прогноз эффективности АСИТ

экстрактом аллергенов «Пыльца деревьев»

Мажорный компонент – Bet v 1

Минорные, перекрестно-реагирующие компоненты – Bet v 2, Bet v 4

Эффективность АСИТ	Bet v 1 «+»	Bet v 1 «+»	Bet v 1 «-»
	Bet v 2, 4 «-»	Bet v 2, 4 «+»	Bet v 2, 4 «+»/ «-»
	Высокая	Средняя	Слабая

Реагенты для иммунотерапии стандартизуются по мажорным компонентам (Bet v 1), поэтому моносенсибилизированным пациентам подходит АСИТ

Справочник заведующего КДЛ, №5 2012

- Было проведено сравнение двух тест-систем с применением 10 одноименных аллергенов: Derm. pteronyssinus (d1), Derm. farinae (d2), домашняя пыль (h1), эпителий кошки (e1), плевел (g5), тимофеевка луговая (g6), ольха серая (t2), береза бородавчатая (t3), лещина (t4), полынь обыкновенная (w6).
- Использованы 767 сывороток крови пациентов (от 56 до 96 сывороток на каждый из 10 аллергенов).
- Сопоставлены результаты 171 кожной скарификационной пробы (от 9 до 32 проб на каждый из изученных аллергенов)



ОСНАЩЕНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРИИ

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

Л.Т. Кочиш

зав. лабораторией аллергологии,

О.Ю. Мухортых

науч. сотр. лаборатории аллергологии,

ООО "Вега" группы компаний "Алкор Био", Санкт-Петербург,

Н.А. Иванова

канд. мед. наук, доцент кафедры детских болезней,

Г.А. Кузьмина

зав. отделением клиники детских болезней,

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



Справочник заведующего КДЛ, №5 2012

Характеристика показателей тест-системы «Алкор Био»
в сравнении с референтной тест-системой «Phadia»

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

Высокая специфичность (91-100%) и чувствительность (92-100%) тест-системы «АллергоИФА-специфические IgE» и по-сравнению с референтной тест-системой «ImmunoCAP System »

Справочник заведующего КДЛ, №5 2012

Сравнение результатов тест-систем

(Алкор Био и Phadia)

и данных скарификационных кожных

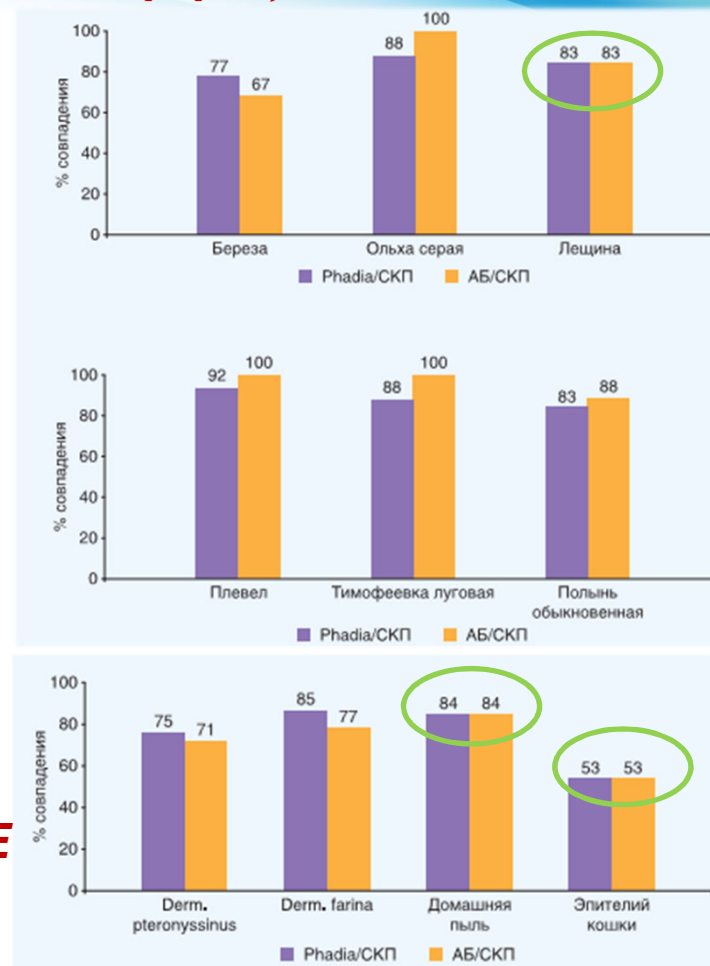
проб (СКП)

для пыльцевых аллергенов

и

для бытовых аллергенов

Для 9 из 10 аллергенов - частота совпадений результатов определения IgE с кожными пробами: более 67% - «АллергоИФА-специфически IgE», более 75 % - «ImmunoCAP System»



Специфические IgE: интерпретация результатов исследований

- ✓ Обнаружение аллергенспецифического IgE определяет только сенсibilизацию и не доказывает, что именно этот аллерген причиной аллергического заболевания
- ✓ Результаты определения специфических IgE не всегда совпадают с результатами кожного тестирования

Интерпретация лабораторных данных и окончательное заключение должны быть сделаны лечащим врачом на основании сопоставления результатов лабораторных исследований с клинической картиной, данными аллергологического анамнеза и дополнительных методов исследования



Заключение:

-  Перспективность развития лабораторной аллергодиагностики
-  Высокое качество продукции Алкор Био – наличие RU и CE-mark
-  Оптимальное соотношение цена/качество
-  Удобная комплектация – все реагенты входят в состав набора и готовы к использованию
-  Возможность выбора ассортимента аллергенов и смесей аллергенов в зависимости от потребности лаборатории
-  Длительные сроки годности
-  Возможность постановки на автоматическом анализаторе

Спасибо за внимание!

