



АКАДЕМИЯ
ПОСТДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ФГБУ ФНКЦ ФМБА РОССИИ

Кафедра иммунопатологии и иммунодиагностики

Аллергология и иммунология

Авторы: сотрудники кафедры

2022г.

Диагностика в аллергологии и практика врача-аллерголога

АПО ФГБУ ФНКЦ ФМБА РФ
Профессор, д.м.н. Ю.С.Смолкин



Основная цель современной диагностики - максимально точное определение релевантного аллергена



- ▶ Диагноз складывается из совокупности информации о пациенте
- ▶ Задача диагностического метода - определить признаки, подтверждающие или опровергающие диагноз.
- ▶ Выполнение исследования не цель, а средство
- ▶ Критическое осмысление необходимо даже в случае применения самых совершенных методов

Диагностический алгоритм строится на представлении о природе заболевания



«Золотой
стандарт»
диагностики -
провокационная
проба с
аллергеном

Провокационные пробы

- Двойная слепая провокационная оральная проба - пищевая аллергия
- Интраназальные / конъюнктивальные пробы с нативными аллергенами
- Тесты с метахолином и маннитолом, гипертоническим солевым раствором для выявления, гиперреактивности
- Prick & patch test

Это только косвенные методы...

- Определение медиаторов и цитокинов
- Определение сенсibilизации: sIgE и т.п.

Вид теста	Частота реакций	ссылка
Оральный провокационный тест (молоко, яйцо, пшеница, соя)	28% тяжелые 33% среднетяжелые	Perry, T. 2004
Prick test	20 : 100 000 системные реакции - 6 смертей (WAO)	Kowalski, M. 2016
Назальные провокационные пробы	Анафилаксия - редко, описаны случаи БОС, тяжелой назальной обструкции	Kowalski, M. 2016 Систематических обзоров нет
Проба с маннитолом	15% легкие, 5-7% средне-тяжелые реакции	Brannan, J. 2005

Провокационные оральные пробы сопряжены с риском системных реакций,
 причём риски анафилаксии не зависели от дозы продукта.
 Ингаляции аллергеном вызывают тяжелый БОС даже при легкой астме

Факторы риска системных реакций при проведении кожного тестирования

- ▶ Ранний возраст < 6 месяцев (риск реакции в 12,5%)
- ▶ Анафилаксия в анамнезе
- ▶ Полисенсibilизация
- ▶ Тесты со свежей пищей, с латексом (prick-prick)
- ▶ Распространенный дерматит и неконтролируемая астма
- ▶ Внутрикожные тесты
- ▶ Все смерти при кожном тестировании произошли при тестировании с числом аллергенов >90

Развитие сенсбилизации у человека имеет возрастные особенности (Разный возраст - разные методы исследования?)

Низкий уровень IgE у детей
раннего возраста

Преимущественная
сенсбилизация к мажорным
аллергенам в первые годы

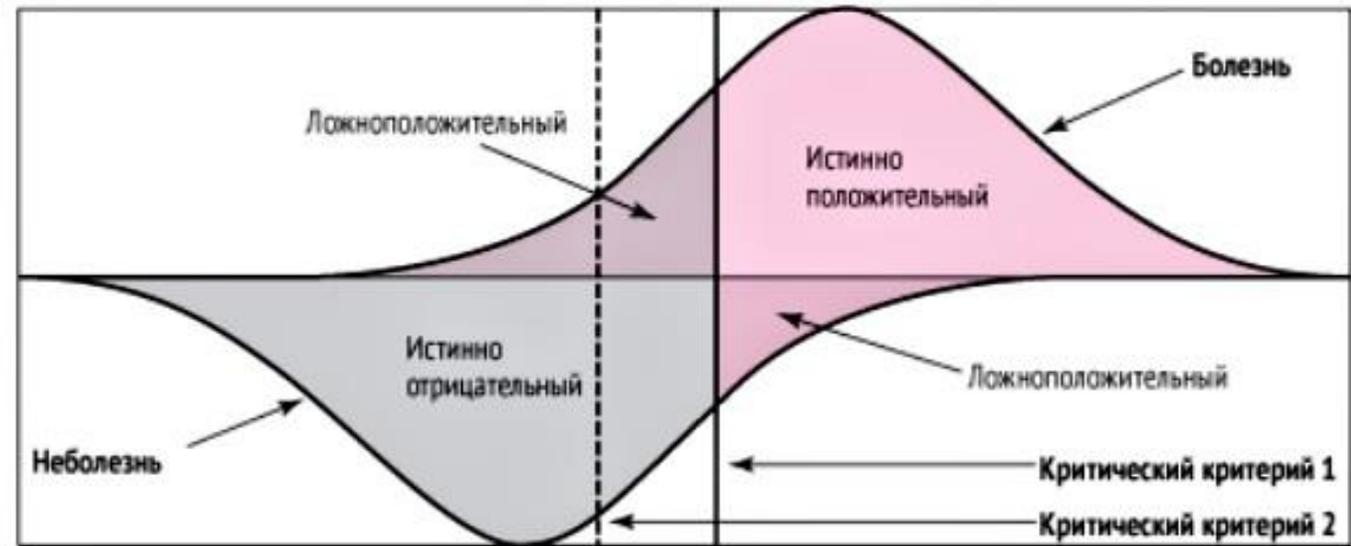
Расширение спектра
сенсбилизации при
длительном “стаже”
заболевания

Разная клиническая значимость
определяемых уровней sIgE



Требования к «идеальному» исследованию:
сочетание высокой чувствительности и специфичности

- ▶ В разных возрастных группах требуются принципиально иные подходы к диагностике.
- ▶ В младенчестве - приоритет для высокой чувствительности (низкие концентрации sIgE)
- ▶ В детском возрасте - “molecular spreading” - феномен требует использовать высокочувствительный исследование *in vitro* для диагностики
- ▶ В старших возрастных группах отдаём предпочтение специфичности перед чувствительностью методов для установления релевантных и перекрёстных аллергенов (в связи с множественной сенсibilизацией и высокими уровнями sIgE)



Hatzler, L, et al. / *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 130.4 (2012): 894-901.

Canonica, Giorgio Walter, et al. "A WAO-ARIA-GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics." *World Allergy Organization Journal* 6.1 (2013):1.

Этапы лабораторного обследования пациента с подозрением на аллергическую патологию

Скрининг пациентов -Анамнез, IgE общий, эозинофилия крови, Phadiator | Фадиатоп



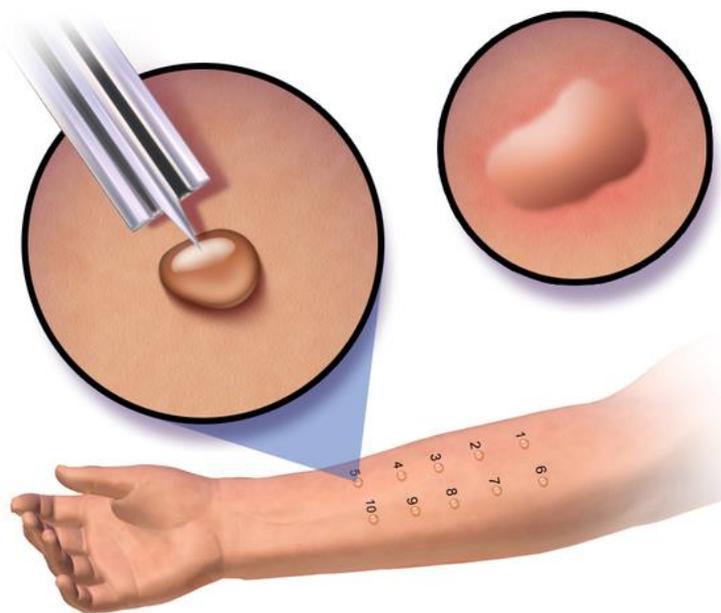
Уточнение сенсibilизации - кожные пробы или sIgE к натуральным экстрактам



Изучение перекрестной сенсibilизации и сочетанной патологии
АЛЛЕРГОЧИП (ISAC, ALEX)

- ▶ 1. ПРИЦЕЛЬНЫЙ СБОР АНАМНЕЗА ДЛЯ
 - ▶ А. Исключения из диагностики явных аллергенов, вызывающих острые немедленные реакции
 - ▶ Б. Выявления подозреваемых в реакции аллергенов
- ▶ 2. ПРОВЕДЕНИЕ КОЖНЫХ ТЕСТОВ
 - ▶ А. С подозреваемыми аллергенами
 - ▶ Б. С наиболее статистически вероятными для данного возраста аллергенами
- ▶ 3. ЭЛИМИНАЦИОННАЯ ДИЕТА:
 - ▶ исключение «выявленных» аллергенов на 3-4 недели, с последующим проведением провокационного теста с подозреваемым продуктом, а при отсутствии реакции - возвращение его в рацион, несмотря на положительный кожный тест
- ▶ 4. ТЕСТЫ IN VITRO
 - ▶ необходимы при невозможности проведения прик-теста, но исключение из пищевого рациона не может быть более 3-х недель без проверочного провокационного теста при отсутствии свидетельств об острых немедленных реакциях на данный продукт

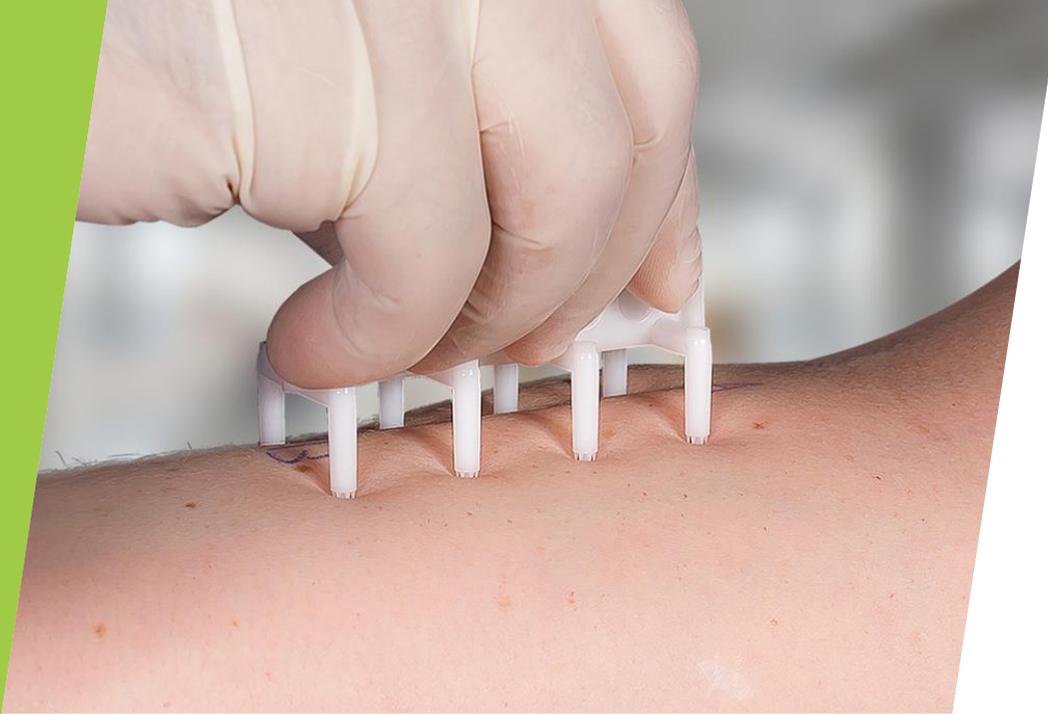
ПРАВИЛЬНЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ПИЩЕВУЮ АЛЛЕРГИЮ



Провокационные (*in vivo*) и лабораторные
методы (*in vitro*) в аллергологии
единство и борьба противоположностей

Проблемы методики кожного тестирования:

- невозможность в обострение
- риск анафилаксии
- сложно сравнивать результаты. Причины:
 1. разная реактивность кожи
 2. разная шкала оценки в Европе и США (мм\+)
 3. экстракты локальных производителей
 4. Различия в методике постановки проб.



Heinzerling L. et al. / Clinical and translational allergy. 2013(3) №. 1.

Focke M., et al. / European journal of clinical investigation. 2009(1).№. 5

In vitro

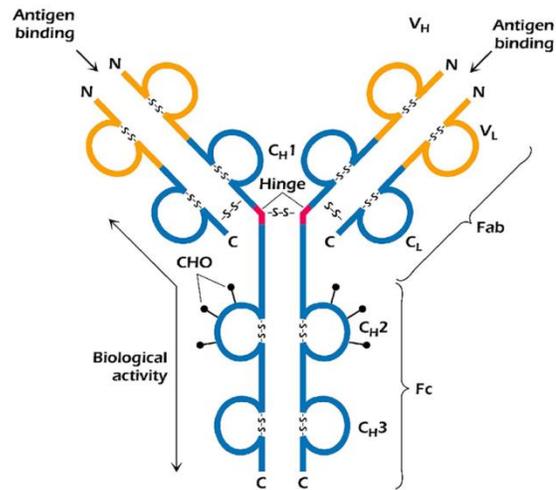
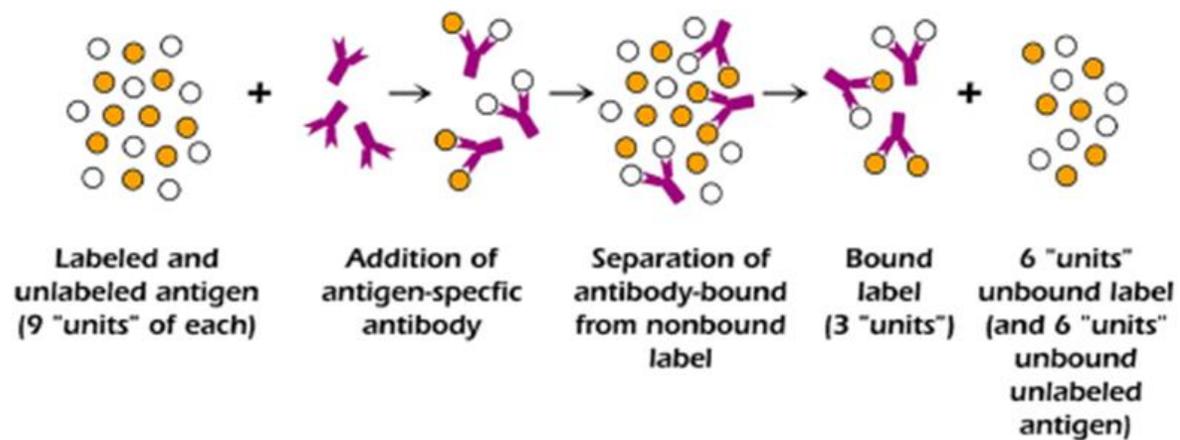


Figure 5.3. Schematic representation of an immunoglobulin molecule showing immunoglobulin-fold domains formed by intrachain disulfide bonds.

Immunology: A Short Course, Seventh Edition. Richard Coico and Geoffrey Sunshine.
© 2015 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd.
Companion Website: www.wiley.com/go/coico/immunology/

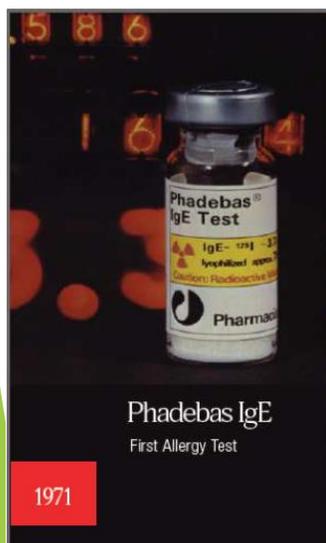
WILEY Blackwell

- ▶ 1967 открытие IgE В 1967 IgE был открыт двумя независимыми исследовательскими командами: Teruko и Kimishige Ishizaka в США и Gunnar Johansson и Hans Bennich в Университетском Госпитале Уппсалы причинами позднего открытия стали:
- ▶ Низкая концентрация в плазме
- ▶ IgG/IgE = 12 vs 0.00005 mg/ml



RAST - золотой стандарт

- ▶ Связывание антигена, меченного радионуклидом с исследуемым антителом
- ▶ Подсчет радиоактивности sIgE, связанного с антигеном



1971

Heinzerling L. et al. /Clinical and translational allergy. 2013(3) №. 1.

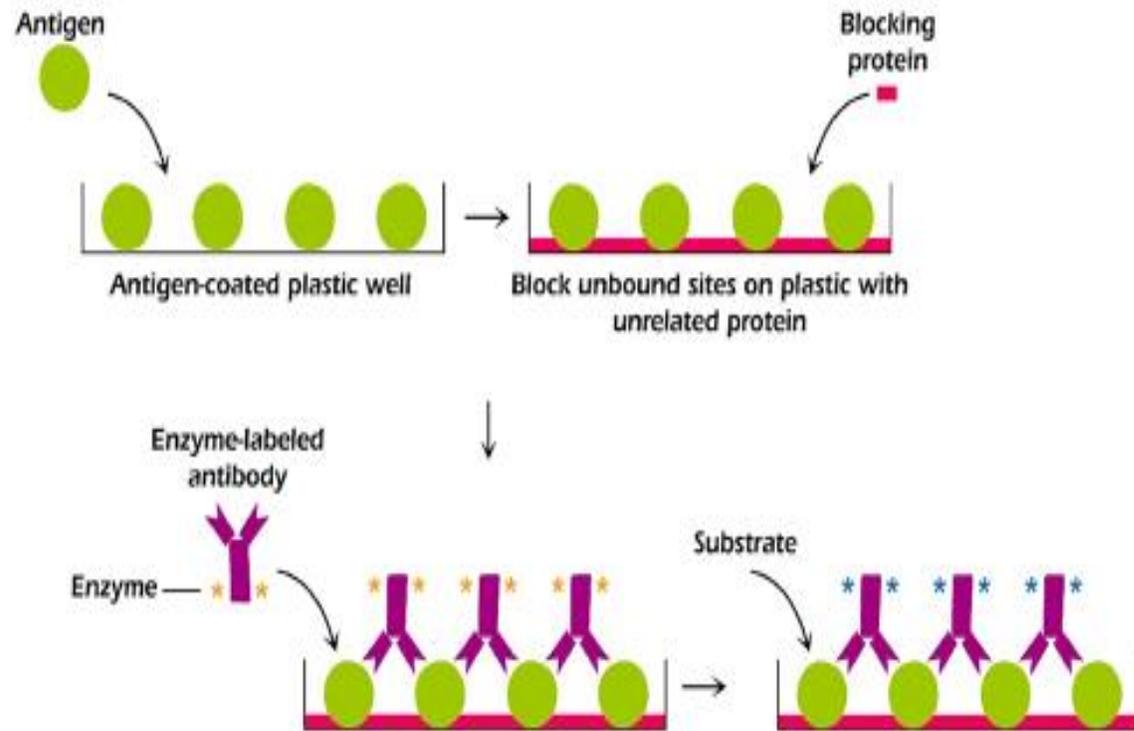


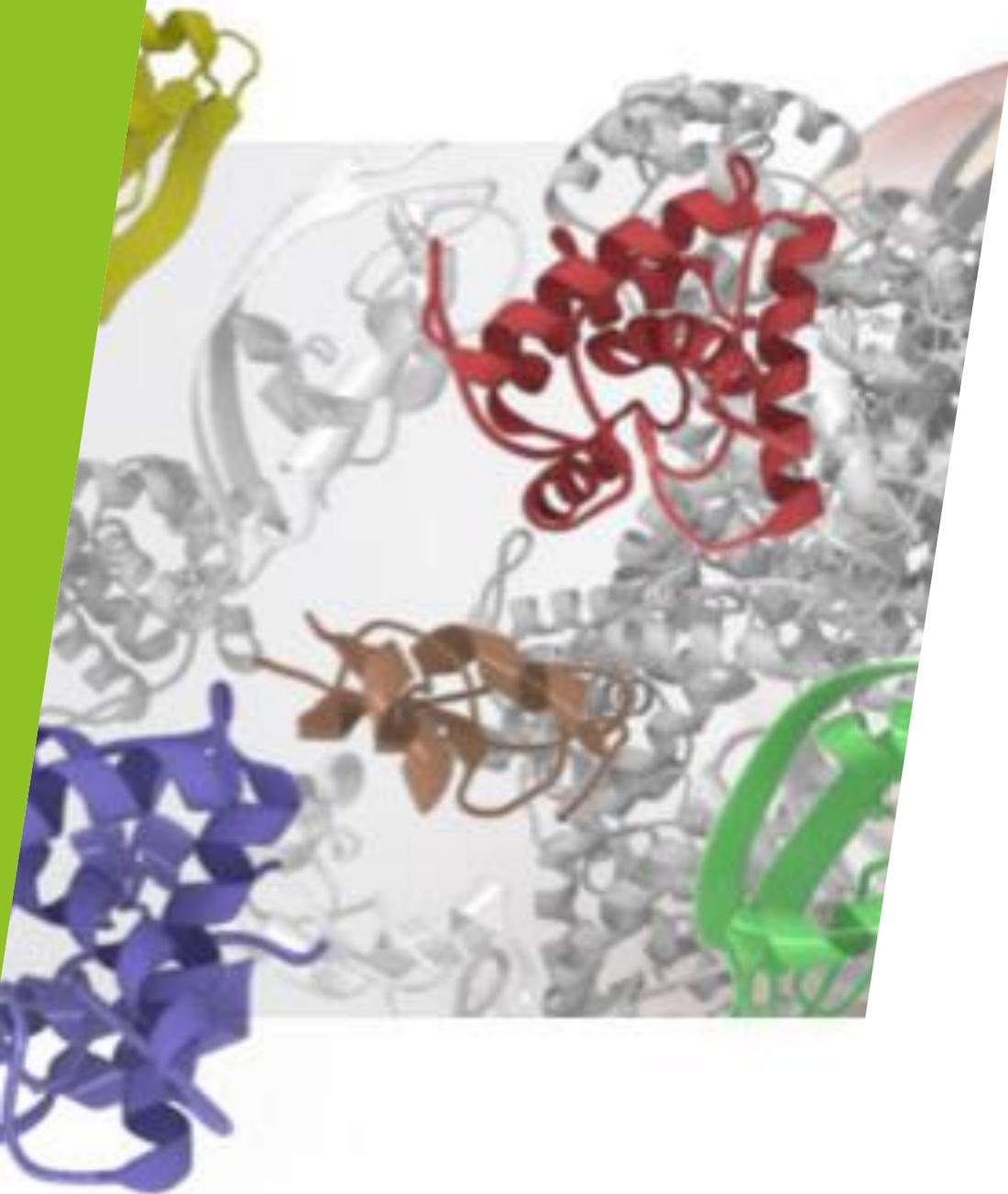
Figure 5-16 A representative ELISA using a well coated directly with antigen

Эволюция методов обследования в аллергологии

Методика прошла путь от RAST до ИФА с рекомбинантными аллергенами на микрочипах

Принципы обоснования молекулярной диагностики

- ▶ Растения, животные не однородны и содержат множество белков.
- ▶ белки имеют разные свойства: химические, физические, иммунологические
- ▶ Ограниченное число белков является аллергенами

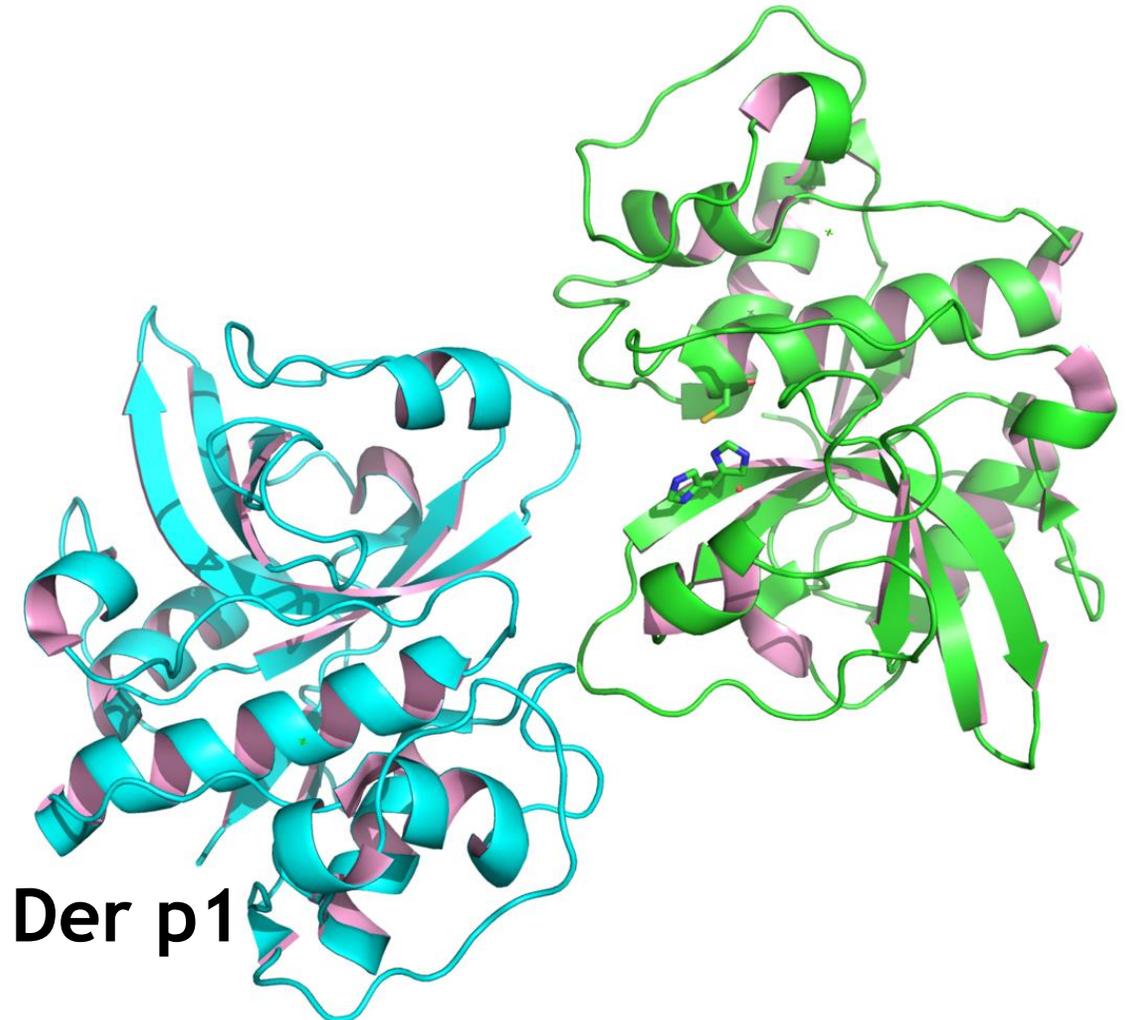


Сложность приготовления экстрактов

[http: www.allergen.org](http://www.allergen.org)

- ▶ Береза - 7 аллергенов;
- ▶ Клещи домашней пыли *D. farina* 39 молекул;
- ▶ Кошка - 8
- ▶ Собака - 7
- ▶ Тимофеевка - 9

Представленность в натуральных экстрактах неодинаковая и непропорциональная



Различные типы сенсibilизации требуют дифференцированных методов диагностики



Клещи домашней пыли - экстракты представлены относительно полной смесью тел и фекалий клещей



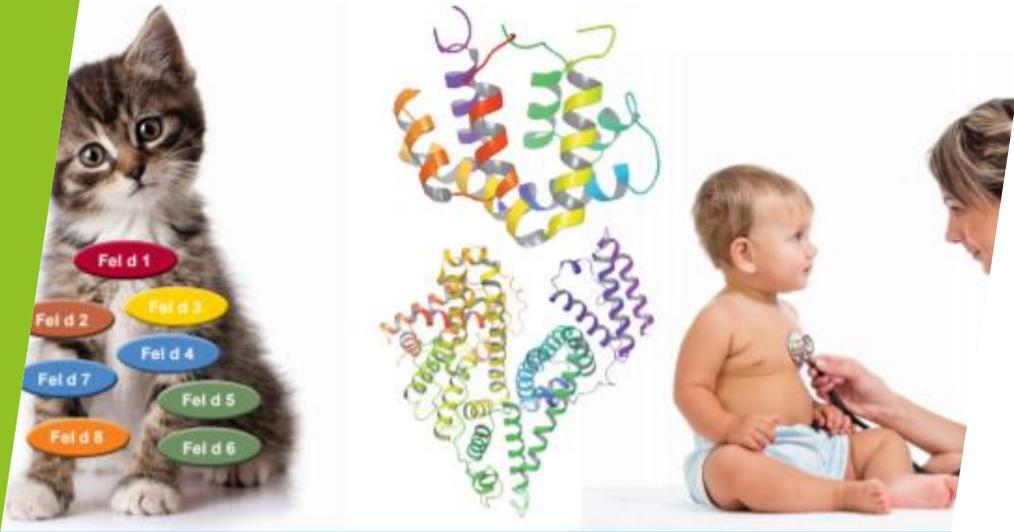
Аллергены растений - мажорные и минорные аллергены в различных сочетаниях.



Орехи и пища - разнообразие белков с различной аллергенной активностью



Кошки и собаки состав и пропорция белков неизвестны, представленность простатического антигена собак?



EAACI

MOLECULAR ALLERGOLOGY

USER'S GUIDE

Молекулярная аллергология (МА)

- ▶ Современное направление в аллергологии, занимающаяся изучением сенсibilизации к отдельным протеиновым группам аллергенов.
- ▶ Эволюционная ступень аллeрготестирования
- ▶ МА не отрицает предшествующий опыт
- ▶ https://www.eaaci.org/document/s/Molecular_Allergology-web.pdf

Преимущества молекулярной диагностики

- ▶ Возможность дифференцировать истинную сенсibilизацию от сенсibilизации вследствие перекрестной реактивности
- ▶ Способна сыграть важную роль в уточнение источника пищевой аллергии
- ▶ Прогнозирование АСИТ, возможно мониторинг эффективности

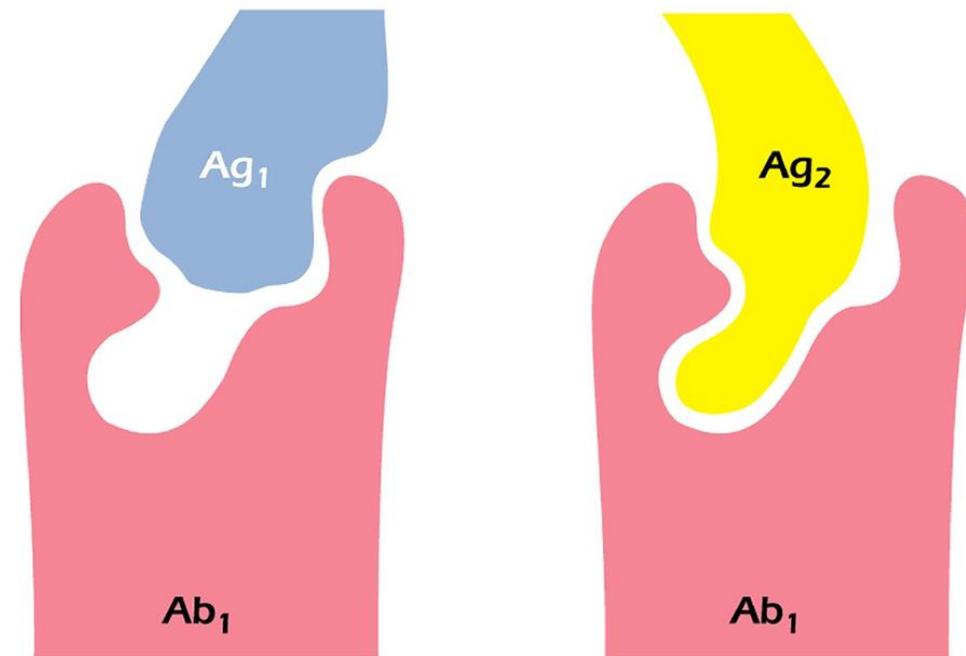


Figure 5.6. A representation of how an antibody of a given specificity (Ab) can exhibit binding with two different epitopes (Ag1 and Ag2).

Шкала тяжести реакций исходя из структуры
аллергенного белка.

PR - 10

LTP

Запасной протеин 2S

минорные
аллергены

мажорные
аллергены

Art v3

Phl p7,12

Bet v2,4

Bet v1

Phl p1-5

Amb a1

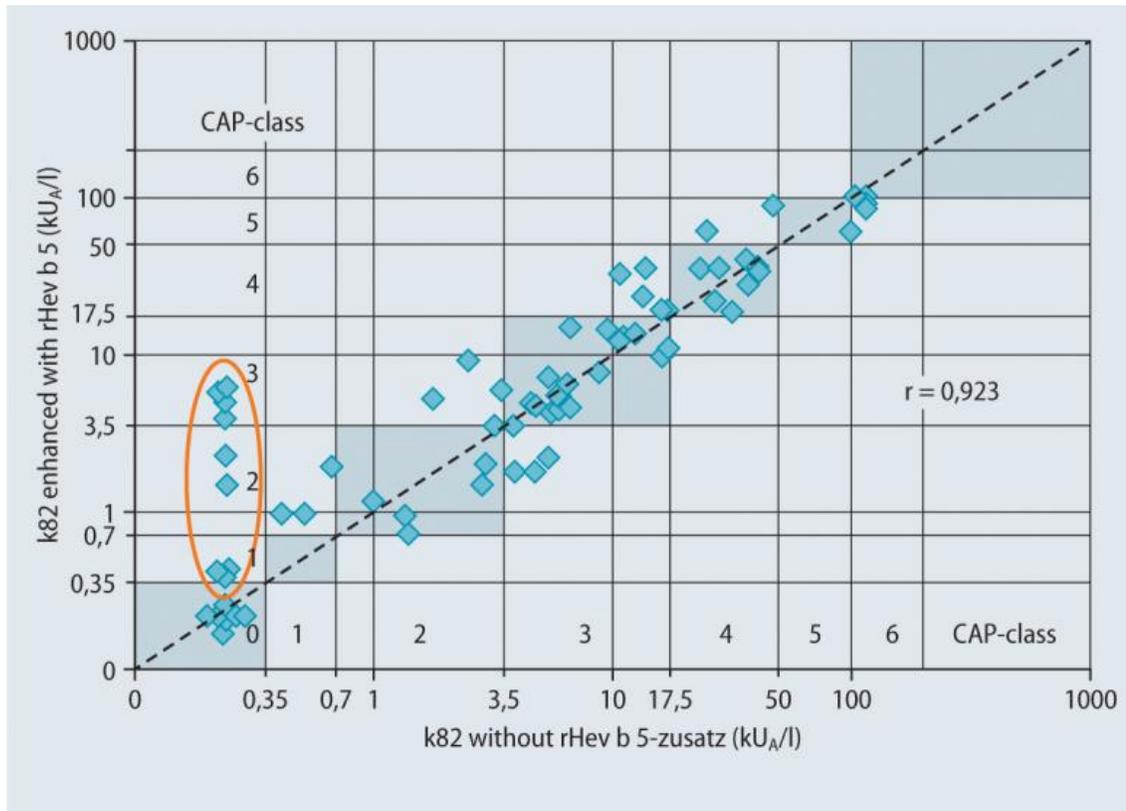
Art v1

Алгоритм
прогноза
эффективности
АСИТ

Анализ «немой» сенсibilизации - предиктор развития аллергических заболеваний (MeDALL)

- ▶ Определение sIgE к Fel d1 и Can f1 в 4 года у детей прогнозировало клинические проявления аллергии к животным к 16 годам
- ▶ Предикторами астмы к возрасту 16 лет, было наличие сенсibilизации ≥ 3 аллергенам:
 - ▶ к Ara h 1 (арахис), Bet v 1 (береза), Fel d 1 (кошка), Phl p 1 (timoфеевка) (BAMSE - Швеция)
 - ▶ Der p 1, Der f 2 (клещи пыли), Phl p 1, Phl p 5 (timoфеевка), Fel d 1 (кошка) (MAAS - Манчестер)

При использовании одинаковых аллергенов технология проведения анализа имеет принципиальное значение и объясняет разную чувствительность (на примере латекса)



Корреляция между мультиплексным анализом (ISAAC) и использованием ИФА (Immiposар) к индивидуальным аллергенам. Различия связаны с большей чувствительностью в области малых концентраций

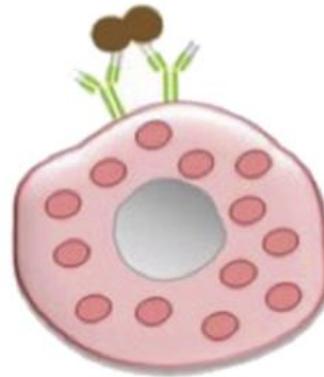
ISAC vs ALEX: принципиальные отличия

- ▶ ISAC 112 компонентов из 65 источников
 - ▶ Высокоточное лазерное считывание чипа
 - ▶ Использование мультиплексоного анализа в крупной лаборатории (контроль качества, но медленные результаты)
 - ▶ Исключительно рекомбинатные белки
 - ▶ Ограниченный набор пищевых аллергенов
- ▶ ALEX - 287
 - ▶ Фотометрическое считывание информации
 - ▶ Возможность быстрого проведения теста
 - ▶ Портативность установки
 - ▶ Наличие в составе натуральных экстрактов и рекомбинантных белков
 - ▶ Большой набор пищевых аллергенов

Сложность сравнения результатов

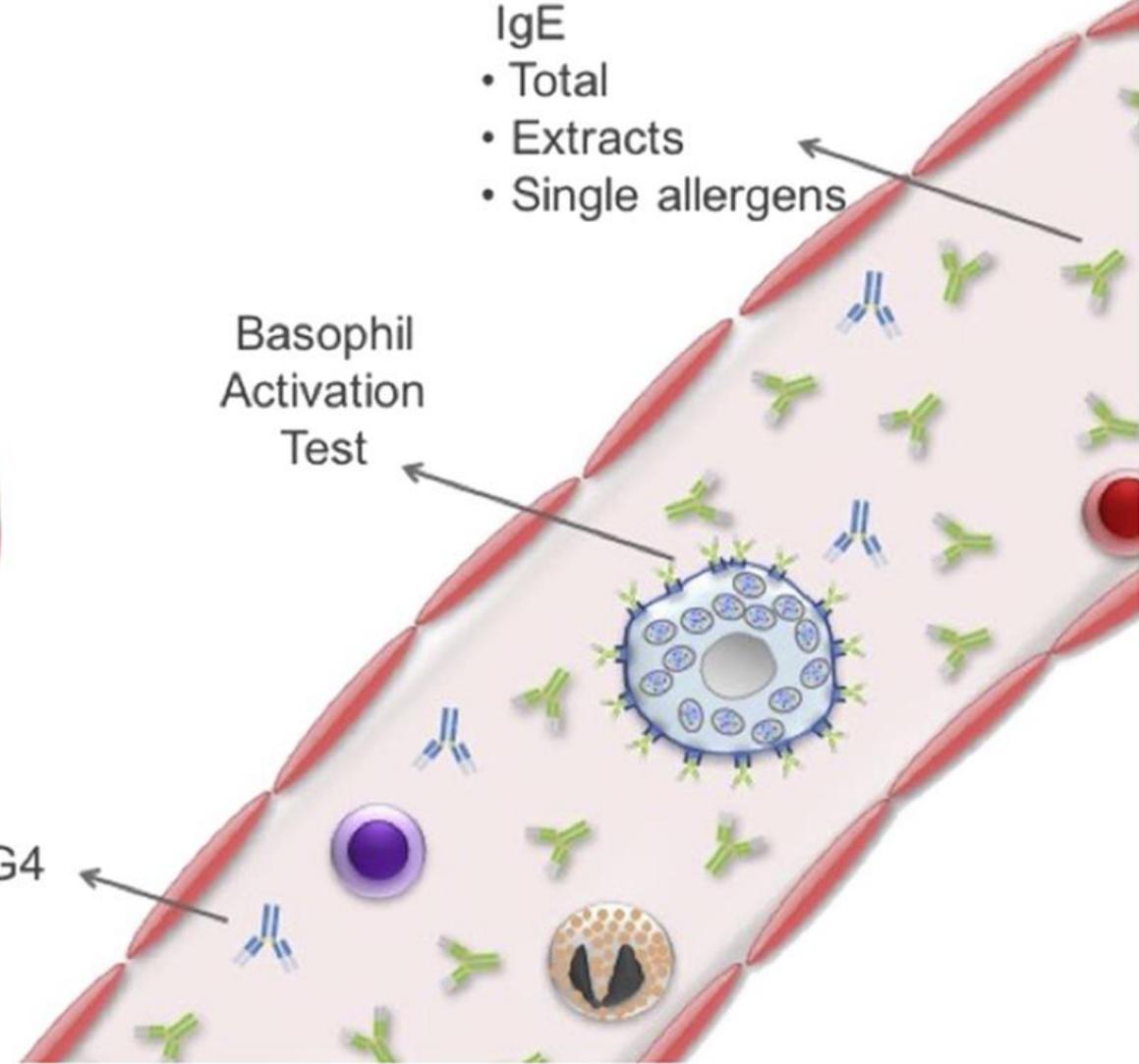
- ▶ Кожные тесты не могут использоваться для проверки sIgE, т.к. SPT могут быть положительными при нулевом IgE
- ▶ sIgE с экстрактами никогда полностью не коррелируют с sIgE с рекомбинантными белками, т.к. по умолчанию содержат больше белков и в другой концентрации
- ▶ При анализе исследований для разных аллергенов получены разные корреляционные связи между SPT, ИФА и микрочипами
- ▶ Разные ИФА показывают разные результаты

Skin Prick Test



Basophil Activation Test

IgG4

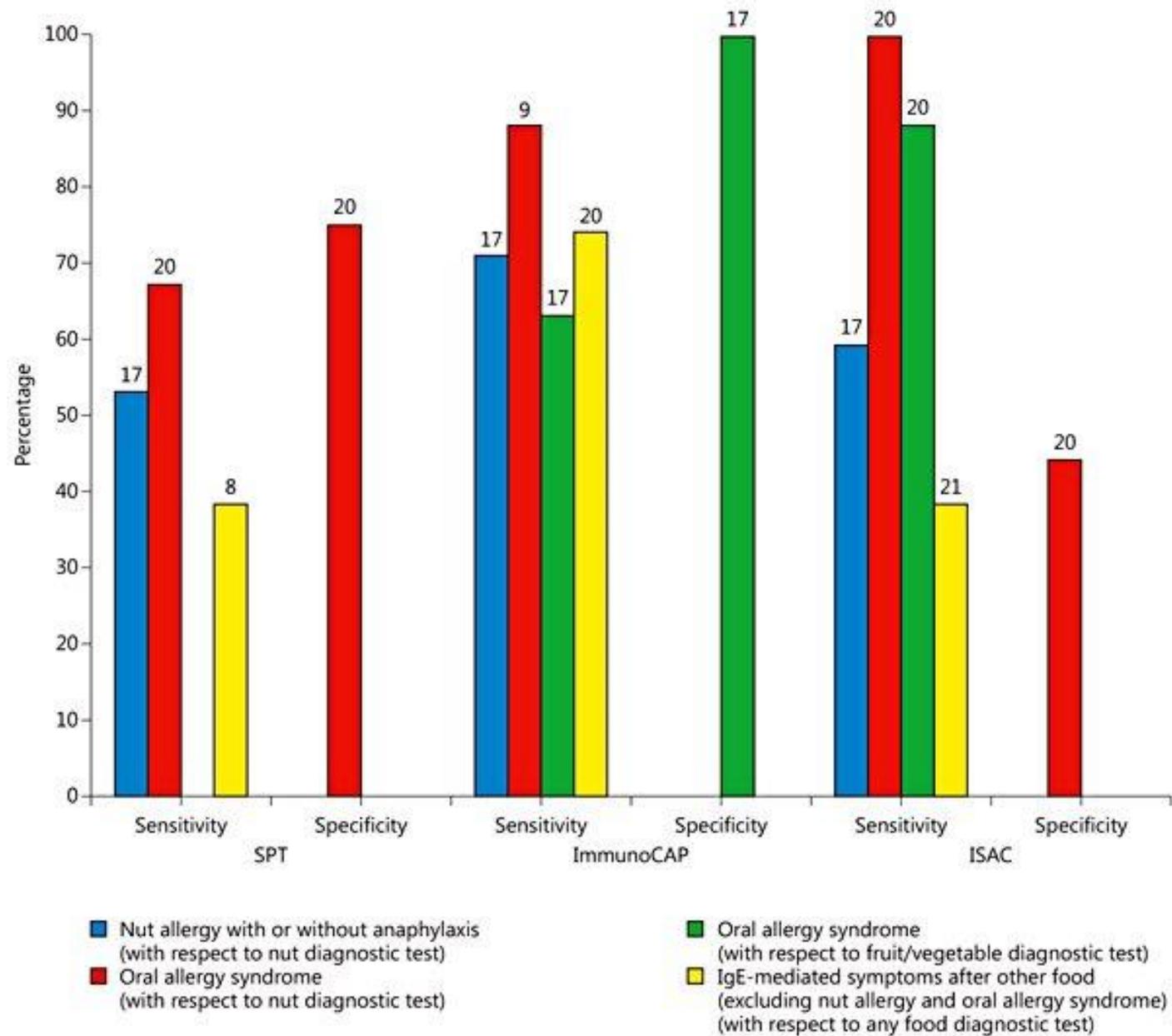


Griffiths R. L. M. et al. International archives of allergy and immunology. - 2017.

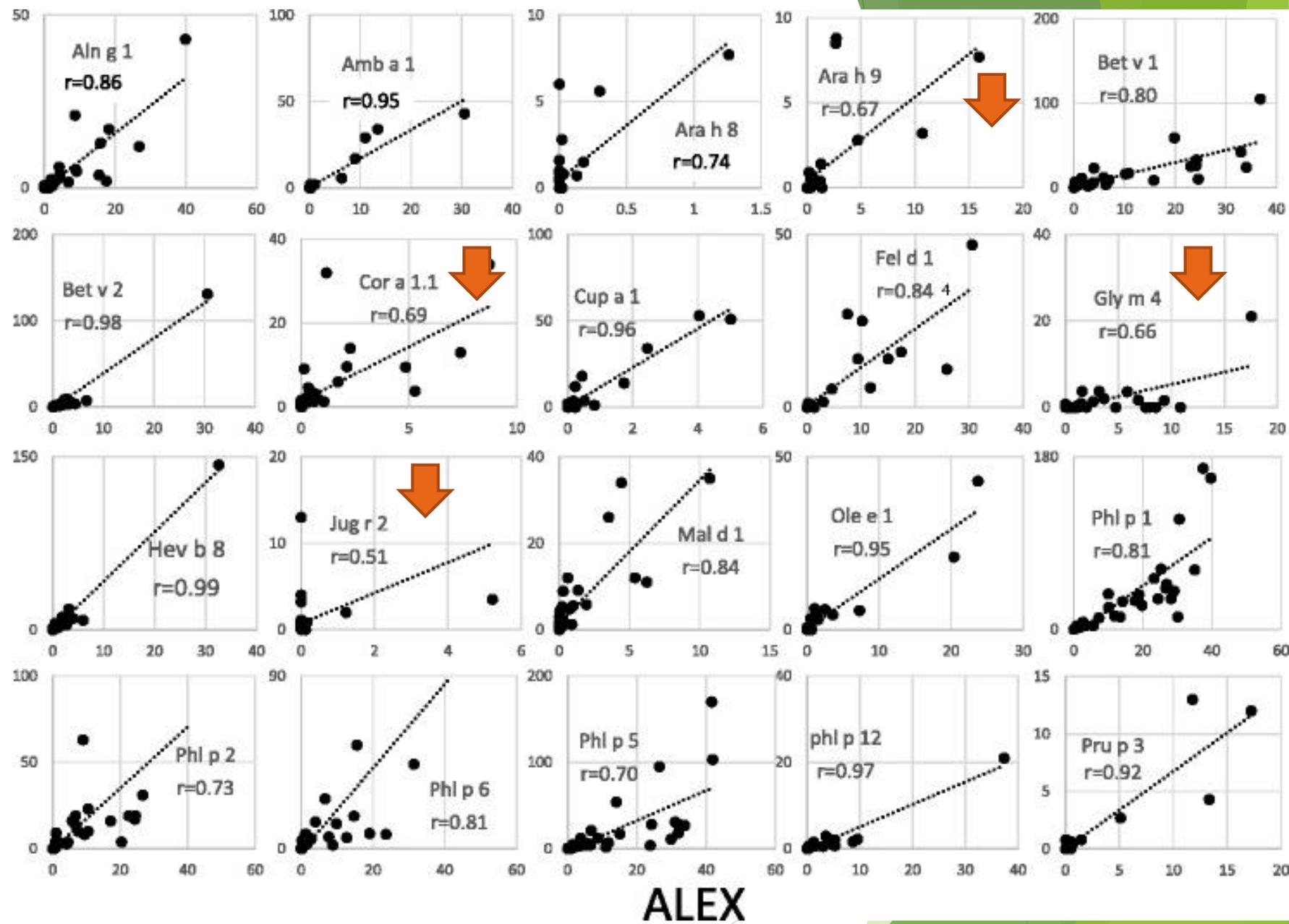
Santos A. F., Brough H. A. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice. - 2017.

Пищевая аллергия на орехи

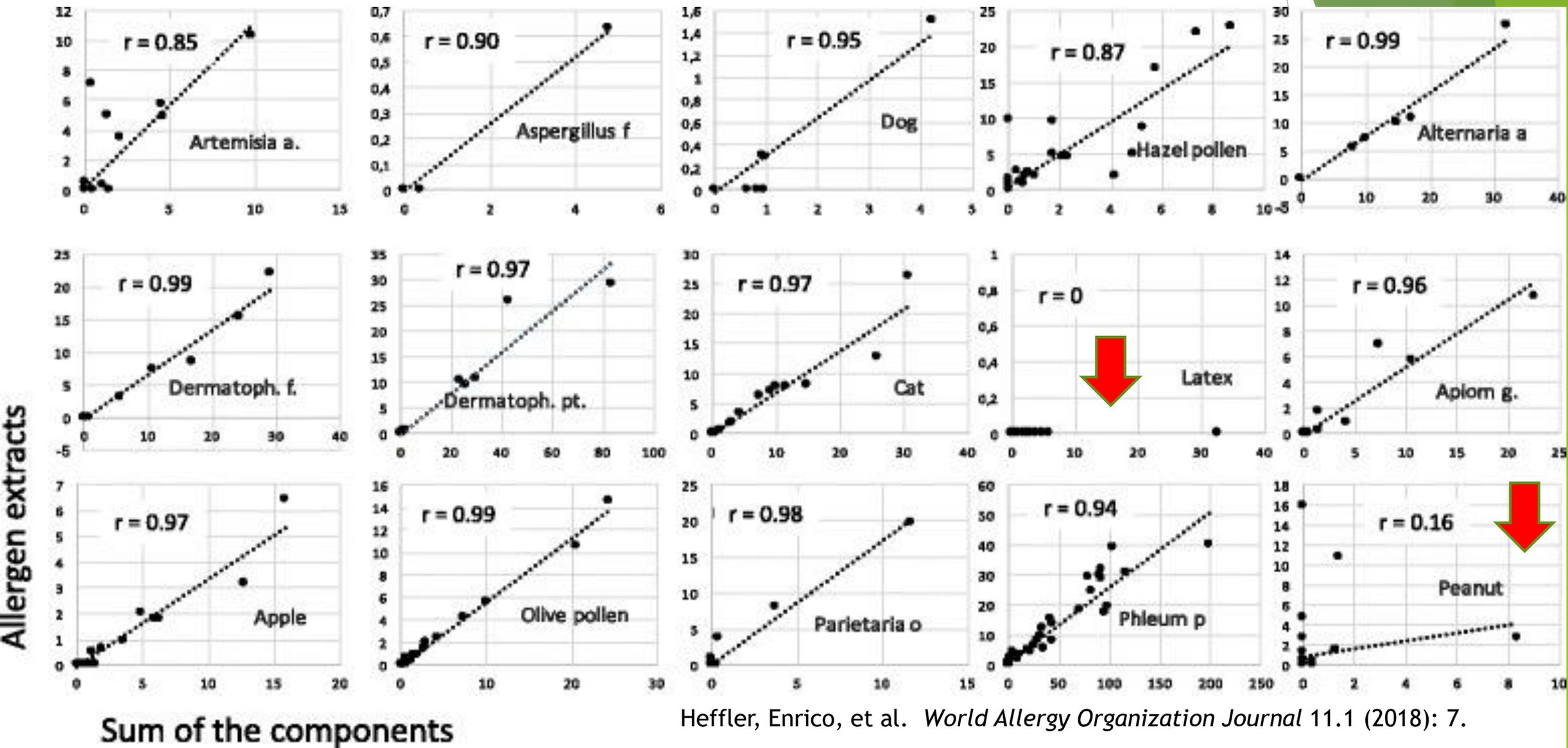
Тип реакции	SPT, %	ISAC, %	Immunoscap, %
Все симптомы	53	59	66
Оральный АС	33	88	63
анафилаксия	56	65	71



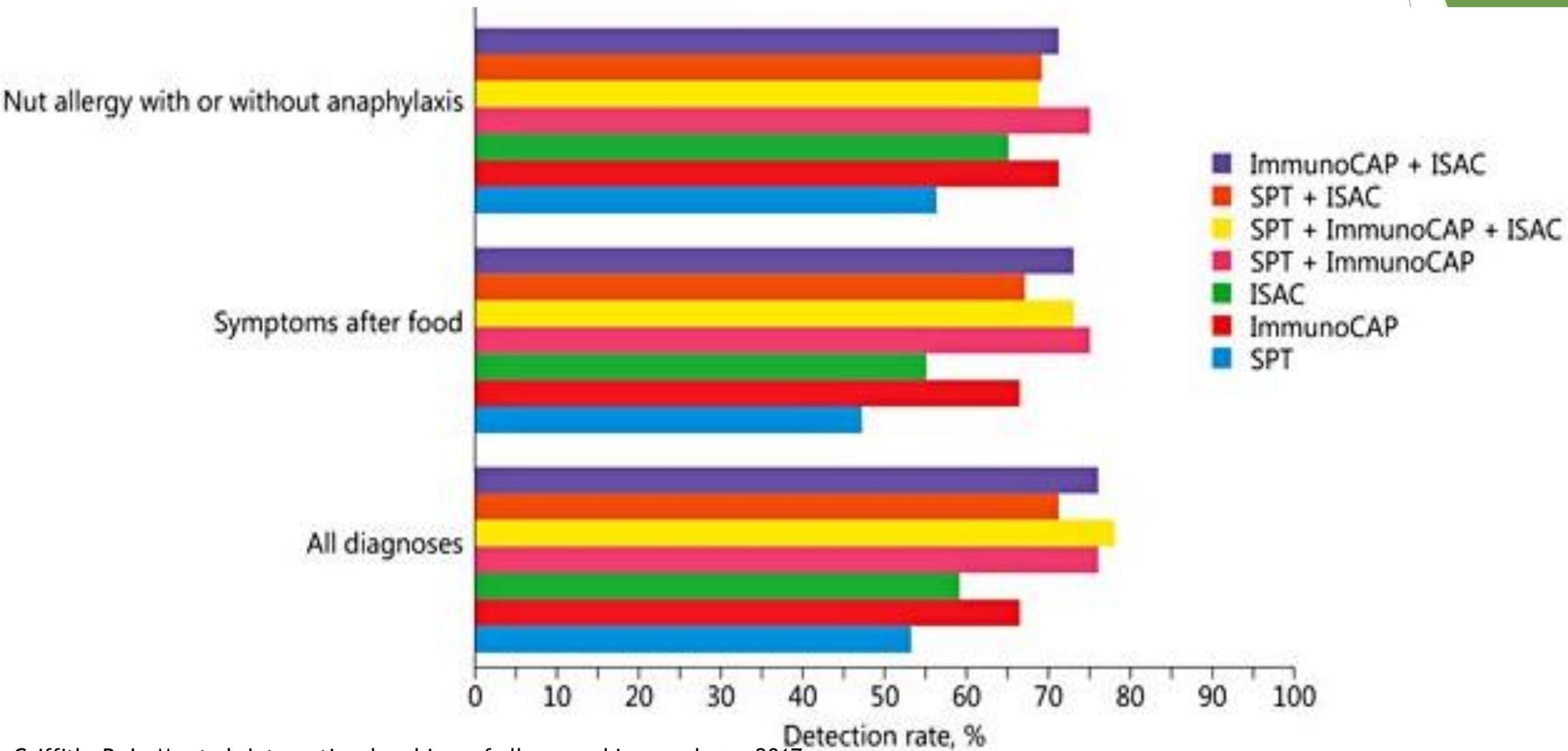
Корреляция между
результатами
ALEX vs ISAC
кроме орехов,
корреляция очень
высокая



Корреляция между суммой компонентов (горизонтальная ось) и нативными экстрактами (вертикальная ось), полученными на ALEX

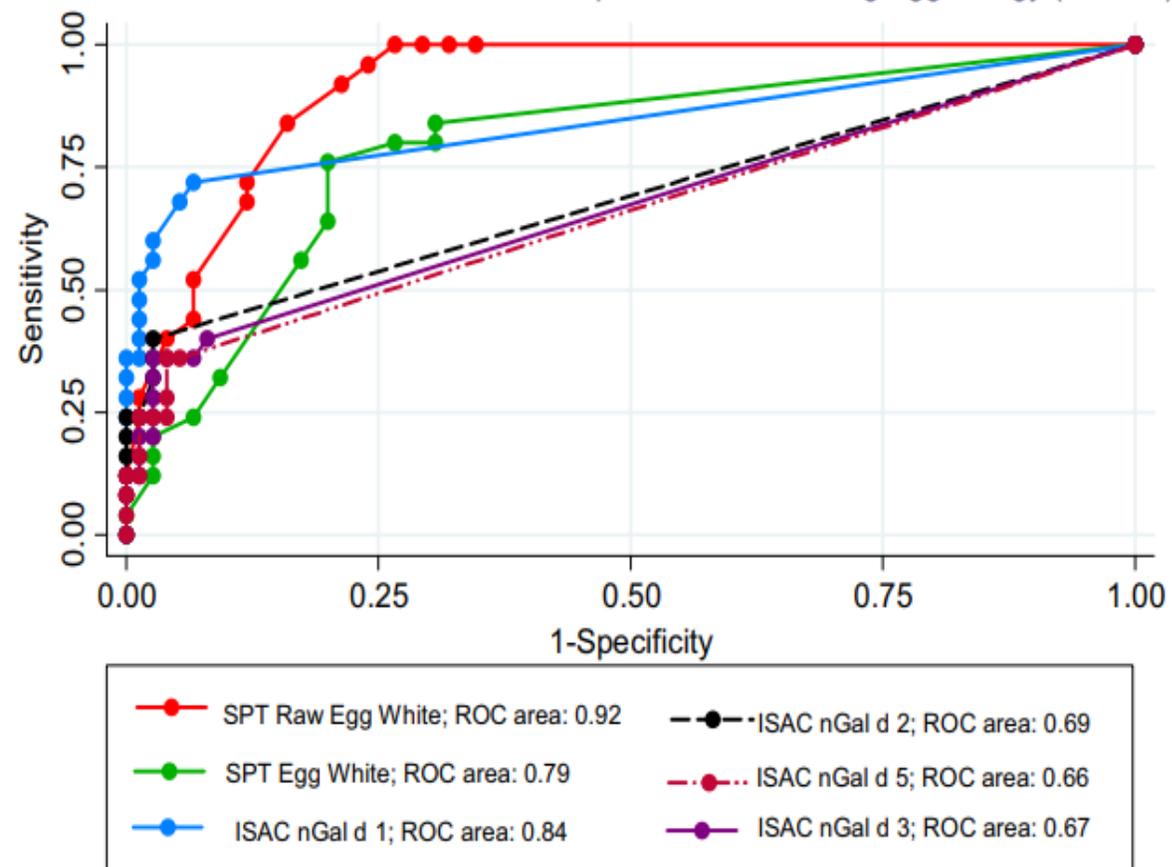


Сравнение чувствительности SPT, ISAC и Immunoscap в разных клинических случаях

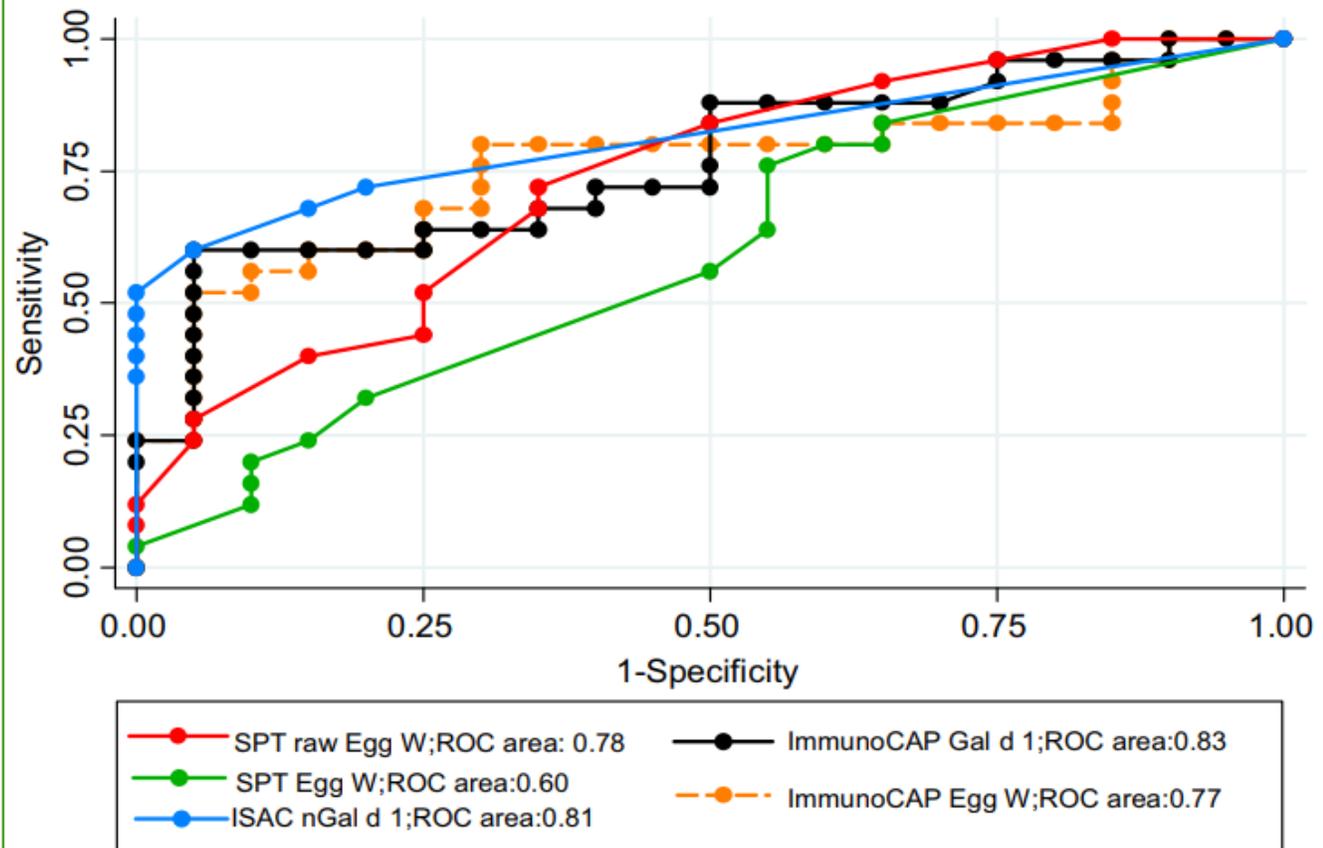


Сравнение методов при аллергии на яйцо (Claudia L., 2016)

ROC Curves for SPT and ISAC Components in Predicting Egg Allergy (n = 100)



ROC for SPT, ISAC and ImmunoCAPs in prediction of egg allergy in egg-sensitized patients (n = 54)



заключение

- ▶ Возрастные особенности развития сенсibilизации диктуют необходимость использования методов с высокой чувствительностью в раннем детском возрасте Иммуносар.
- ▶ методы с высокой специфичностью (микрочипы) - показаны для уточнения диагноза у лиц, имеющих полисенсibilизацию и, вероятно, не годятся для скрининга*.
- ▶ Использование микрочипов с большим количеством аллергенов может быть полезно в некоторых случаях для установления причины анафилаксии
- ▶ Кожные прик-тесты остаются стартовым методом обследования, благодаря простоте и стоимости. Необходимо учитывать возможность ложно положительных результатов.
- ▶ Сочетание нескольких методов обследования дает максимально правдоподобную картину заболевания.

Дети до года - SPT, sIgE

Ранний возраст: SPT, sIgE. Микрочип в случае полисенсibilизации

Для уточнения причин анафилаксии, определения запасных белков, LTP - микрочип



**АКАДЕМИЯ
ПОСТДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ФГБУ ФНКЦ ФМБА РОССИИ**

Отдел повышения квалификации, ординатуры и образовательных технологий

 **(495) 601 91 79 ;
(495) 491-35-27**

 **opk@medprofedu.ru**

 **www.medprofedu.ru**

 **Москва,
Волоколамское шоссе, д.
91**

**Кафедра иммунопатологии
и иммунодиагностики**

 **Телефон 8-926-539-97-49**

 **Телефон (499) 612-81-17**

 **(499) 612-81-48**

 **[email. logot12@list.ru](mailto:logot12@list.ru)**

 **Москва, Каширское шоссе,
д.24**