

месяцев после операции были $1039,48 \pm 308,40$, $568,77 \pm 162,01$ и $224,92 \pm 51,55$ IU/ml соответственно. Эти тесты показали, что понижение уровня IgE у лиц с грибковой гранулемой, получивших лечение, было статистически значимым ($p < 0,001$).

Таким образом, уровень общего IgE может быть использован в качестве надежного диагностического инструмента и для постоперационного мониторинга пациентов с грибковой гранулемой орбиты.

О.Р.

Реальные возможности современной диагностики аллергии

В.В. Сыров

Научно-клинический консультативный центр аллергологии и иммунологии, Москва

The actual allergy diagnostics

V.V. Syrov

This review article describes methods for diagnosing allergies, atopic diseases and drug intolerance, which can be used in ambulatory practice, such as skin prick tests, intradermal tests, patch tests, total IgE, eosinophilia and eosinophil cationic protein, tryptase, specific IgE, molecular allergodiagnosics, basophil activation test. As the representation of diagnostic methods, which are not recommended for use.

В диагностике аллергических заболеваний, которая всегда основывалась в первую очередь на клинических наблюдениях, позволяющих заподозрить тот или иной аллерген в генезе конкретных симптомов поражения органов-мишеней аллергических заболеваний, в последние годы произошла значительная трансформация. Это могло быть достигнуто в связи с введением в практику всё более точных методов *in vitro*, позволяющих использовать самые последние достижения исследований в области иммунологии. Однако многие хорошо изученные методы, доказавшие свою эффективность и достаточную точность, также применяются в алгоритме исследований, позволяющих провести диагностику с максимальной точностью и достоверностью. Не теряют актуальность и привычные для аллергологов методы *in vivo*.

В данной работе сделана попытка представить обзор основных методов диагностики аллергических заболеваний, допустимых к применению в аллергологической практике.

КОЖНЫЕ ТЕСТЫ

Кожные тесты позволяют подтвердить значимость отдельных аллергенов в развитии аллергических заболеваний. Результаты данного вида тестирования необходимо сопоставлять с клиническими и анамнестическими данными, так как положительный кожный тест при отсутствии клинических проявлений не является диагностически значимым. Результаты кожных проб, сопоставленных с клиникой заболевания, позволяют определить показания к аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ).

Противопоказания для проведения кожного тестирования:

- Прием антигистаминных препаратов.
- Прием антидепрессантов.
- Генерализованное поражение кожи.
- Анафилаксия в анамнезе.
- Положительный тест-контроль с физиологическим раствором.
- Выраженный дермографизм.

Кожный прик-тест (скарификационный тест)

Тест уколом или кожный прик-тест (КПТ) используется для выявления сенсibilизации к бытовому, пищевому, сезонным аллергенам и при лекарственной аллергии (стандартизированные концентрации лекарственных препаратов для кожных тестов приведены в таблицах 1–3).

Техника проведения и оценка кожного прик-теста

Тест проводят либо на передней поверхности

предплечья, либо на коже средней части спины. Для проведения КПТ выбирают участок кожи без воспалительных изменений, его предварительно обрабатывают спиртом. Пробы ставятся на расстоянии 2 см одна от другой. Одновременно делают пробу с 1%-ным раствором гистамина (положительный контроль) и пробу с растворителем (отрицательный контроль). Для КПТ используют 3–5%-ные водные экстракты аллергенов, в которые часто добавляют глицерин (для стабильности экстракта). Для выполнения пробы на кожу наносят по 1 капле аллергена. КПТ осуществляется проколом поверхностного слоя кожи специальным ланцетом через каплю аллергена. Прокол не должен вызывать кровотечения. Для каждого прокола используется новый ланцет. После этого аккуратно, с помощью салфетки, аллерген с кожи вытирается, при этом необходимо не допустить перекрёстной контаминации. КПТ можно проводить с помощью фазетов (покрытые аллергеном ланцеты), данная проба проводится без жидких экстрактов аллергенов. Также существует методика прик-прик-тестов (укол от укола), которая применяется для выявления сенсibilизации к овощам и фруктам. Для этого в качестве аллергена используют свежие фрукты и овощи, исследователь делает укол в определенный фрукт или овощ и следом в кожу исследуемого, для исследования используется как мякоть, так и кожура. Если фрукт сухой, то укол осуществляют через физиологический раствор. Оценка тестов осуществляется так же, как и при обычных КПТ. Положительным результатом является возникновение папулы в месте прокола кожи более 3 мм через 15–20 минут.

Результаты этих тестов в большинстве случаев коррелируют с результатами определения специфических IgE в крови методами ИФА (ELISA), RAST. Проведение КПТ, несмотря на появление различных методов диагностики, считается в современной медицине золотым стандартом в выявлении релевантных аллергенов при atopических заболеваниях. Однако КПТ не подходит для диагностики реакции на аспирин, пищевые добавки и на респираторные раздражители, такие как дым или аромат духов. В России и в странах бывшего СССР до настоящего времени используются скарификационные тесты (тесты с нанесением царапин), эти тесты менее достоверны и приносят

большой дискомфорт пациентам, поэтому скарификационные тесты не практикуются в большинстве развитых стран.

Внутрикожный тест

Данный вид исследования в основном используется для диагностики сенсibilизации к лекарственным препаратам (стандартизированные концентрации лекарственных препаратов для кожных тестов приведены в таблицах 1–3), яду перепончатокрылых насекомых, для диагностики аллергического бронхопульмонального аспергиллеза, некоторых инфекционных заболеваний и тогда, когда есть сомнения у доктора после проведения КПТ.

Техника проведения и оценка внутрикожных тестов

Для анализа используются туберкулиновые шприцы с иглой самого маленького диаметра [0,5 мм]. Тест проводится только на передней [ладонной] поверхности предплечья. Область кожи, на которой будет проводиться тест, обрабатывают тампоном со спиртовым раствором. Вводят иглу шприца под углом примерно 15 градусов внутрикожно, при этом кончик иглы срезом должен полностью войти в кожу и быть виден чрескожно, далее медленно надавливают на поршень до образования волдыря диаметром 5 мм, границы волдыря маркируются. В качестве контроля используется физиологический раствор, вводимый по той же методике. Тест оценивают через 20 минут. Нарастание волдыря, отека и покраснения более чем на 3 мм считается положительным результатом.

Внутрикожные тесты являются более чувствительными, чем КПТ, поэтому для их проведения используют концентрацию экстрактов в 100–1000 раз меньшую, в зависимости от вводимого аллергена. Несмотря на то, что прямые сравнения показывают, что внутрикожное тестирование более показательно, чем накожное, есть много факторов, учитывая которые, можно сказать, что КПТ больше подходит для рутинной практики. К этим факторам можно отнести следующие: экономия времени, комфорт и безопасность пациентов, стабильность экстрактов для КПТ (для на кожного тестирования можно использовать экстракт в 50%-ном глицерине, который обеспечивает боль-

шую стабильность, а для внутрикожного тестирования этот разбавитель не используется, так как глицерин может спровоцировать ложноположительные реакции). Несмотря на большую чувствительность внутрикожного тестирования, КПТ коррелирует с клиническими проявлениями аллергии лучше [1].

Аппликационный кожный тест (АТ)

Аппликационный тест, или патч-тест (patch test), применяется для выявления значимых веществ при контактном дерматите, атопическом дерматите, а также при некоторых формах лекарственной непереносимости. Для исследования, как правило, используется стандартный ряд

КОНЦЕНТРАЦИИ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КПТ И ВНУТРИКОЖНОГО ТЕСТА [2]

Таблица 1. Концентрации бета-лактамовых антибиотиков для накожного и внутрикожного тестирования

Препараты	Действующие вещества	Концентрация обычная [без разбавления]	Прик тест	Внутрикожный тест	
				Разбавление	Максимальная концентрация
Бета-лактамы антибиотиков	Пенициллолполи-L-лизин	5x10 ⁻⁵ mM	5x10 ⁻⁵ mM	1/1	5x10 ⁻⁵ mM
	Minor determinant mixtur	2x10 ⁻² mM	2x10 ⁻² mM	1/1	2x10 ⁻² mM
	Бензилпенициллин		10.000 UI		10.000 UI
	Амоксициллин	200 mg/mL	20 mg/mL	1/10	20 mg/mL
	Ампициллин		20 mg/mL		20 mg/mL
	Цефалоспорины		2 mg/mL		2 mg/mL

Таблица 2. Концентрация анестезирующих и послеоперационных препаратов для накожного и внутрикожного тестирования

Препараты	Действующие вещества	Неразбавленная концентрация мг/мл	Прик тест мг/мл	Внутрикожный тест	
				Разбавление	Максимальная концентрация мг/мл
Препараты для наркоза	Тиопентал	25	25	1/10	2.5
	Пропофол	10	10	1/10	1
	Кетамин	10	10	1/10	1
	Этомидат	2	2	1/10	0.2
	Мидазолам	5	5	1/10	0.5
	Фентанил	0.05	0.05	1/10	0.005
	Алфентанил	0.5	0.5	1/10	0.05
	Суфентанил	0.005	0.005	1/10	0.0005
	Ремифентанил	0.5	0.5	1/10	0.005
	Морфин	10	1	1/1000	0.01
	Атракуриум	10	1	1/1000	0.01
	Цисатракуриум	2	2	1/100	0.02
	Мивакуриум	2	0.2	1/1000	0.002
	Рокуроний	10	10	1/200	0.05
	Векуроний	4	4	1/10	0.4
	Панкуроний	2	2	1/10	0.2
	Суксаметоний	50	10	1/500	0.1

Таблица 3. Концентрации отдельных препаратов из других классов для накожного и внутрикожного тестирования

Препараты	Действующие вещества	Неразбавленная концентрация мг/мл	Прик тест мг/мл	Внутрикожный тест	
				Разбавление	Максимальная концентрация мг/мл
Антикоагулянты	Гепарины		Неразбавленный	1/10	
	Гепариноиды		Неразбавленный	1/10	
Соли платины	Карбоплатин	10	10	1/10	1
	Оксалиплатин	5	1	1/50	0.1
	Цисплатин	1	1	1/10	0.1
Таксол	Паклитаксел	6	6	1/6	1
	Доцетаксел	10	10	1/10	1
НПВС	Метамизол	400	400	1/1000	0.4
Биологические агенты	Адалинумаб	50	50	1/10	5
	Этанерцепт	50	25	1/10	5
	Инфликсимаб	10	10	1/10	1
	Омализумаб	125	12.5 ug/mL	1/100	1.25 ug/mL
	Ритуксимаб	10	10	1/10	1
	Цетуксимаб	5	5	1/10	0.5
Кортикостероиды	Гидрокортизона фосфат	100	100	1/10	10
	Метилпреднизолон	20	20	1/10	2
	Триамцинолон	40	40	1/10	4
	Будесонид	0,5	0,5		
	Дексаметазон	4	4	1/10	0.4
Другие	Местные анестетики		Неразбавленные	1/10	
	Контрастные препараты содержащие йод		Неразбавленные	1/10	
	Хелаты гадолиния		Неразбавленные	1/10	
	Патент синий		Неразбавленные	1/10	
	Метиленовый синий			1/100	
	Флуоресцеин		Неразбавленный	1/10	
	Блокаторы протонной помпы		40	1/10	4
	Хлоргексидинадиглюканат		5	1/2500	0.002

аллергенов, включающий наиболее распространенные и важные вещества, которые могут вызывать дерматит.

Существует несколько стандартных рядов аллергенов:

1. Европейский стандарт.
2. Международный стандарт.
3. Бельгийский стандарт.
4. Финский стандарт.
5. Финский стандарт серии GIRDCA.

6. Корейский стандарт.

7. Североамериканский стандарт.

8. Североамериканский фото-патч стандарт.

9. Шведский стандарт.

10. Венгерский стандарт.

Большинство химических веществ для АТ смешаны с вазелином и поставляются в шприце. Некоторые растворяют в воде и поставляют в бутылке. Они представляют собой набор в виде пластыря, состоящий из десяти небольших камер

Таблица 4. Стандартный европейский набор аллергенов для АТ

Соединения	Концентрация в % [м/м] в вазелине [в воде] ^а	Концентрация в мг/см ²
Калий бихромат	0.5	0.2
p-фенилендиамин	1.0	0.4
Тиурам смесь	1.0	0.4
ТМТМ	0.25	0.1
ТМТD	0.25	0.1
ТЕТD	0.25	0.1
РТD	0.25	0.1
Неомицин сульфат	20.0	8.0
Хлорид кобальта	1.0	0.4
Бензокаин	5.0	2.0
Сульфата никеля	5.0	2.0
Клиохинол	5.0	2.0
Канифоль	20.0	8.0
Парабены:	16.0	6.4
Метилпарабен	4.0	1.6
Этилпарабен	4.0	1.6
Пропилпарабен	4.0	1.6
Бутилпарабен	4.0	1.6
N-изопропил-N-фенил-4-фенилендиамин	0.1	0.04
Ланолин	30.0	12.0
Меркапто смесь:	2.0	0.8
N-циклогексилбензотиазил сульфенамид	0.5	0.2
Меркаптобензотиазол	0.5	0.2
Дибензотиазилдисульфид дисульфид	0.5	0.2
Морфолинилмеркаптобензотиазол	0.5	0.2
Эпоксидная смола	1.0	0.4
Перуанский бальзам (эфирное масло)	25.0	10.0
4-трет-бутилфенол формальдегидной смолы (смола РТВР)	1.0	0.4
Меркаптобензотиазол	2.0	0.8
Формальдегид	2.0	0.6
Ароматические смеси 1:	8.0	3.2
Коричный спирт	1.0	0.4
Коричный альдегид	1.0	0.4
Гидроксицитронеллаль	1.0	0.4
альфа-амил Цинамал	1.0	0.4
Гераниол	1.0	0.4
Эвгенол	1.0	0.4
Изоэвгенол	1.0	0.4
Эверния сливовая (дубовый мох абсолютный)	1.0	0.4
Сесквитерпеновые лактоны смесь	0.1	0.04
Алантолактон	0.033	0.013
Дегидрокостус лактон и костунолид	0.067	0.027
Кватерний-15	1.0	0.4
Примин	0.01	0.004
Метилхлоризотиазолинон (150 частей на миллион) и Метилизотиазолинон (50 частей на миллион)	0.02	0.006
Будесонид	0.01	0.004
Тиксокортолпивалат	0.1	0.04
Метилдибромоглутаронитрил	0.5	0.2
Ароматические смеси 2:	14.0	5.6
Гидроксиизогексил 3-циклогексен карбоксальдегида	2.5	1.0
Цитраль	1.0	0.4
Фарнезол	2.5	1.0
Кумарин	2.5	1.0
Цитронеллол	0.5	0.2
α-гексил Цинамал	5.0	2.0
Гидроксиизогексил 3-циклогексен карбоксальдегида	5.0	2.0
Метилизотиазолинон	0.20 ^а	0.06

РТD – дипентаметилениурам дисульфид; ТЕТD – тетраэтилтиурамдисульфид; ТМТD – тетраметилтиурамдисульфид; ТМТМ – тетраметилтиурамдисульфид моносульфид; а – растворенные в воде

для аллергенов на бумаге, обработанной гипоаллергенным клеем. Сами камеры, круглой или квадратной формы, выполнены из металла или пластика.

Техника проведения аппликационного теста

Небольшим количеством аллергенов на основе вазелина тщательно заполняют камеры. Жидкие растворы аллергенов наносят на фильтровальную бумагу, помещенную в камеру. Пластырь с камерами приклеивают к коже верхней части спины; в некоторых случаях их дополнительно закрепляют гипоаллергенной лентой. Каждый блок тщательно маркируют. Пластыри, как правило, устанавливают на 48 часов. Оценку тестов проводят после удаления пластыря и еще раз примерно через два дня. Европейский стандартный набор для АТ приведен в таблице 4.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАРКЕРОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В АЛЛЕРГИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

Содержание в крови IgE-антител (общий IgE)

Поскольку atopические заболевания, как правило, связаны с IgE-опосредованными реакциями, довольно часто повышается уровень общего IgE. Однако этот показатель может быть увеличен при других состояниях, например: гипер-IgE-синдром, селективный IgA-дефицит, паразитарные инвазии и другие заболевания. Поэтому определение общего IgE не является специфическим маркером диагностики аллергического заболевания. Данный вид обследования используется, например, для определения эффективности терапии при аллергическом бронхолегочном аспергиллезе, для подбора дозы омализумаба при лечении atopической астмы. Отсутствие повышенного уровня общего IgE также не может исключить наличие аллергической реакции.

Выявление эозинофилии и эозинофильного катионного белка (ЭКБ)

Выявление эозинофилов и ЭКБ (один из основных медиаторов эозинофилов) в различных жидкостях организма может быть очень полезно для диагностики различных аллергических заболеваний, например наличие эозинофилов в назальном

секрете высоко коррелирует с диагнозом аллергического ринита [3], в бронхо-альвеолярной жидкости – с бронхиальной астмой [4], в промывной жидкости из тонкой и толстой кишки – с пищевой аллергией [5].

Несмотря на важную роль эозинофилов и эозинофильного катионного белка в аллергическом воспалении, определение повышенного уровня этих маркеров в крови далеко не всегда свидетельствует об аллергии. Эозинофилия и повышение ЭКБ может также наблюдаться при следующих заболеваниях: иммунодефициты, паразитарные инвазии, заболевания кожи, заболевания желудочно-кишечного тракта. Однако определение уровня ЭКБ в крови может коррелировать с активностью астмы [6] и аллергического ринита [7], и в комплексе с другими методами может использоваться в диагностике аллергических реакций

Определение триптазы

Несмотря на то, что уровни триптазы могут повышаться при различных аллергических заболеваниях, определение этого маркера в большинстве случаев используется для диагностики анафилаксии и системного мастоцитоза [9, 10]. Тем не менее определение триптазы в назальном секрете коррелирует с проявлениями аллергического ринита [3], определение в крови коррелирует с крапивницей, ангионевротическим отеком, также уровни триптазы повышаются при аллергических реакциях на укус перепончатокрылых насекомых и аллергических реакциях на лекарственные средства [8]. Повышение бета-формы триптазы, тем более в течение четырех часов после анафилактической реакции, является маркером анафилаксии, и это факт важен, например, для дифференциальной диагностики с кардиогенным шоком и другими анафилактоидными реакциями [11].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АЛЛЕРГЕНОВ

Определение специфических IgE

Определение уровней специфических IgE в сыворотке крови используется для выявления сенсибилизации к бытовым, пылевым, грибковым, пищевым и лекарственным аллергенам. Метод основан на инструментальной оценке взаи-

модействия комплексов иммунореагентов – антигенов и антител IgE с использованием индикаторной метки (изотопной, ферментной, флюоресцентной и др.) с помощью RAST (радиоаллергосорбентного теста) и иммуноферментного анализа (ИФА твердофазного – ELISA). После внедрения метода ELISA метод RAST практически не используется. Так же, как и с КПТ, необходимо учитывать клиническую картину и анамнез болезни, так как положительные результаты тестирования при отсутствии клинических проявлений не являются значимыми. Также необходимо учитывать, что определение уровня специфических IgE не имеет ни прогностического, ни диагностического значения в качестве скрининга у новорожденных и для оценки риска развития анафилактических реакций на яд насекомых и пенициллины. Титр специфических IgE не связан с выраженностью клинических проявлений. Выраженность симптомов аллергии также зависит от:

- способности медиаторов аллергии к высвобождению;
- ответа органа-мишени на действие медиаторов;
- неспецифической гиперчувствительности.

К позитивным свойствам метода относятся:

- безопасность (исследование проводится *in vitro*, что исключает риск развития нежелательных эффектов у пациента);
- на результаты тестирования не влияет прием лекарственных средств;
- тест можно проводить при любом состоянии пациента;
- исследованием можно уточнять сомнительные результаты кожного тестирования.

Негативные свойства метода:

- большая стоимость по сравнению с КПТ;
- меньшая чувствительность по сравнению с КПТ;
- отсроченность в получении результатов исследования по сравнению с КПТ;
- невозможность диагностировать реакции на аллергены небелковой природы.

Данный метод исследования, безусловно, показан:

1. Пациентам, у которых есть противопоказания для проведения кожных тестов (см. выше).
2. Пациентам, у которых есть противоречие между результатами кожных тестов, клиникой заболевания и анамнезом болезни.

3. Пациентам, у которых в анамнезе были выявлены анафилактические реакции.

Молекулярная аллергодиагностика (МА)

В последнее время появляется все больше данных об эффективности молекулярной аллергодиагностики.

Для данного метода исследования применяются следующие термины.

1. Мажорные аллергены (major allergens) – это доминантные антигенные детерминанты в составе аллергена, которые представлены в нем в наибольшем количестве, наиболее крупные и наиболее иммуногенные. Как правило, они устойчивы к нагреванию.
2. Минорные аллергены (minor allergens) – антигенные детерминанты в составе аллергена, которые содержатся в меньшем количестве, но встречаются часто и в других аллергенах, обеспечивая перекрестную аллергию. Они более мелкие по размеру и менее иммуногенные. Обычно эти аллергены неустойчивы к нагреванию.
3. Рекомбинантные аллергены (recombinant allergens) в противоположность натуральным (natural allergens) – это искусственно созданные детерминанты.

Метод основан на определении специфических IgE не к экстрактам аллергенов, а к очищенным натуральным или рекомбинантным аллергенным молекулам. МА позволяет отличить истинную сенсibilизацию от перекрестной реактивности у пациентов с множественной гиперчувствительностью, и в некоторых случаях оценить риск развития системных реакций на аллерген.

Отличие истинной сенсibilизации от перекрестной реактивности очень важно учитывать при назначении аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ). Например, если у пациента по результатам КПТ и/или по результатам определения специфических IgE установлена сенсibilизация к аллергенам пыльцы березы и злаковых трав, это может быть связано с перекрестной реакцией на аллергены, которые, помимо основных молекул, находятся в аллергенных экстрактах [12, 13]. Таким белком в подобной ситуации является профилин березы [Bet v 2], который очень похож по своей структуре на профилин трав (Phl p 12). Таким образом, если в результате молекулярной

диагностики выявится сенсibilизация к основному (мажорному) аллергену пыльцы березы (Bet v 1) и одновременно к не основному (минорному) профилину трав [Phl p 12], АСИТ следует проводить исключительно аллергеном пыльцы березы.

Также с помощью МА можно распознать такие довольно часто встречающиеся перекрестные реактивности, как:

1. Перекрестная реактивность между аллергенными молекулами из близкородственных видов (например, между аллергенами различных видов трав или между аллергенами различных видов клещей).
2. Перекрестная реактивность белков с похожими функциями из дальнеродственных видов, которые принадлежат к одному белковому семейству (например члены белкового семейства тропомиозинов, такие как Der p 10 клеща домашней пыли и Penh 1 черной тигровой креветки).

Благодаря МА, также можно оценить риск развития аллергических реакций при пищевой аллергии. Продукты питания могут содержать различные аллергенные молекулы, как термостабильные, так и чувствительные к нагреванию. Лабильные молекулы, как правило, вызывают оральные симптомы и, если они термически обработаны, аллергическая реакция в большинстве случаев не возникает. С другой стороны, кроме оральных симптомов стабильные аллергены могут вызывать системные проявления. Например, высокий уровень сенсibilизации к овомукоиду (Gal d 1), говорит о том что высока вероятность развития аллергической реакции на яйца, включая жареные и вареные, а если такой сенсibilизации не выявлено, то реакции на термически обработанные яйца скорее всего не будет [14].

На сегодняшний день доступно около 130 аллергенных молекул для молекулярной аллергологической диагностики, и число этих молекул будет расти.

ТЕСТ АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ (ТАБ)

Несмотря на довольно большое количество методов диагностики аллергии, далеко не всегда удастся однозначно понять, есть ли реакция на аллерген или нет, например выявление аллергии на лекарства и пищевые добавки во многих случаях сводится к проведению небезопасных прово-

кационных тестов. Для данной проблемы может быть полезен тест активации базофилов (ТАБ). Этот метод диагностики, по сути, является провокационным тестом в пробирке.

Базофилы играют важную роль в развитии аллергической реакции немедленного типа. При контакте аллергенов с молекулами IgE на базофилах развивается каскад ферментных реакций, приводящий к высвобождению медиаторов воспаления из гранул базофилов. Данный процесс может происходить при так называемой псевдоаллергической реакции, т.е. без участия IgE антител. Псевдоаллергические реакции по клинической симптоматике очень похожи на IgE-опосредованные, но отличаются по механизму развития. Они не связаны с выработкой антител или участием сенсibilизированных лимфоцитов, в патогенезе этих реакций выделяют только две стадии – патохимическую и патофизиологическую. В псевдоаллергических реакциях активация базофилов происходит посредством триггерных механизмов, например:

- 1) за счет активации комплемента;
- 2) за счет чувствительности, опосредованной IgG или ауто-IgE-антителами;
- 3) за счет прямой активации базофилов [15].

Тесты активации базофилов известны уже достаточно давно. Однако в широкой практике они практически не применялись из-за низкой чувствительности и сомнительной специфичности. С открытием специфических маркеров активации (например CD63), уникальных маркеров базофильных гранулоцитов, а также с применением проточной цитометрии данный метод исследования стал более точным и специфичным, что позволяет использовать его довольно широко.

Использование ТАБ при выявлении лекарственной непереносимости

Чувствительность ТАБ в диагностике лекарственной аллергии в среднем составляет около 50%, а специфичность – до 93% [16]. В частности, показана хорошая чувствительность и специфичность ТАБ для лекарственных препаратов: бета-лактамы антибиотиков [17–19], миорелаксанты [20–22], хинолоны [23, 24], контрастные препараты [24, 25], пиразолы [26, 27]. При отрицательных результатах теста снижается риск системных реакций при проведении провокационных тестов,

это показано на примере исследования реакции на хинолоны [24]. ТАБ может быть особенно полезен при исследовании перекрестной реакции на миорелаксанты, для выявления неопасных веществ [28]. Тест также может использоваться для выявления реактогенности на: карбопластин [29], хлоргексидин [30], атропин [31], глатиромерацетат [32], метилпреднизолон [26], желатин, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксилэтилкрахмал, опиаты [33] и бычий сывороточный альбумин [34].

Важно понимать, что отрицательный результат теста не исключает реакцию на метаболиты данного препарата.

Использование ТАБ при диагностике пищевой аллергии

Чувствительность ТАБ в диагностике пищевой аллергии колеблется от 77% до 98%, специфичность – в диапазоне 75–100%. ТАБ в проведенных исследованиях был более точным, чем кожные прик-тесты и исследования специфических IgE [35–37].

Тест активации базофилов улучшает диагностику пищевой непереносимости и значительно снижает потребность в проведении провокационных тестов [37].

Использование ТАБ при диагностике аллергии на яд перепончатокрылых насекомых

Чувствительность ТАБ при диагностике аллергии на яды перепончатокрылых насекомых составляет 85–100%, специфичность – 83–100% [38–41]. У 4–6% пациентов, имеющих в анамнезе системные реакции после укусов перепончатокрылых насекомых, наблюдаются отрицательные результаты кожного тестирования и не определяется повышенное содержание специфических IgE к яду насекомых. Тест активации базофилов позволяет выявить около двух третей этих пациентов [42–44].

Использование ТАБ при диагностике ингаляционной аллергии

Для диагностики сенсибилизации на ингаляционные аллергены, как правило, достаточно проведения кожных тестов, выявления специфических IgE и сопоставления результатов с клиническими проявлениями. Однако для пациентов с локальным аллергическим ринитом, при котором

данные тесты отрицательны, ТАБ может быть полезен [45]. Также данный тест может использоваться для оценки эффективности анти IgE терапии [46, 47], АСИТ, что было показано на пациентах, получающих АСИТ аллергенами пыльцы березы [48, 49] и тимоевекки [50, 51].

При проведении ТАБ необходимо учитывать, что прием антигистаминных препаратов не влияет на его результаты [52, 53], в то время как приема системных кортикостероидов [52] и циклоспорина А [54] следует избегать. Также следует учитывать, что у пациентов с системным мастоцитозом (с повышенным уровнем триптазы в сыворотке) результаты диагностики аллергической реакции на яд перепончатокрылых насекомых с помощью ТАБ могут быть неоднозначны [55]. Исследование более достоверно, если проводится не позднее одного года после эпизода воздействия значимого аллергена [56–58]. Взятую для исследования кровь необходимо обработать не позднее 24 часов после взятия [59], так как базофилы могут потерять реактивность.

МЕТОДЫ, НЕ РЕКОМЕНДУЕМЫЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИИ

Не рекомендуется использовать следующие тесты для диагностики аллергии в связи с тем, что их механизмы не объяснены, а эффективность не доказана [60, 61]:

- определение высвобождения гистамина из базофилов/активация;
- стимуляция лимфоцитов;
- термография лица;
- исследование желудочного сока;
- эндоскопическая провокация аллергеном;
- исследование волос;
- прикладная кинезиология;
- провокация нейтрализации;
- определение специфических IgG4/IgG;
- определение специфических IgE в каловых массах;
- тест цитотоксичности;
- электродермальный тест [Вега];
- исследование высвобождения медиаторов [LEAP диета].

ВЫВОДЫ

Важно понимать, что при диагностике аллергии основным критерием является клиническая

картина и анамнез заболевания. Положительные результаты исследований в отрыве от клинической картины не информативны. Самым частым исследованием в диагностике значимых аллергенов остается КППТ. Несмотря на высокий уровень доказательности диагностики аллергии, далеко не у всех больных удастся достоверно выявить релевантные аллергены. К сожалению, для пищевой сенсibilизации и аллергии на лекарственные средства золотым стандартом остаются опасные для жизни и дорогостоящие провокационные тесты. Исходя из этого, актуальность поиска новых методов диагностики и необходимость доработки существующих по-прежнему сохраняется.

Исходя из доступности, воспроизводимости и информативности исследований, можно построить предположительный алгоритм последовательности аллергологического исследования.

1. КППТ.

2. В случае диагностики лекарственной непереносимости и аллергии на яд перепончатокрылых насекомых проводятся внутрикожные тесты.

3. В случае сомнительных результатов внутрикожных тестов с лекарственными препаратами и в случае диагностики контактного дерматита – патч-тесты.

4. В случае невозможности проведения КППТ или сомнительных результатов использовать определение специфических IgE в сыворотке крови.

5. В случае полисенсibilизации, для исключения перекрестов использовать определение специфических IgE в сыворотке крови к аллергокомпонентам.

6. В случае, когда все вышеописанные методы диагностики не позволили выявить значимый фактор, использовать ТАБ.

7. В случае, когда и использование ТАБ не привело к внятным результатам, использовать провокационные тесты.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Disease Summaries Allergy Diagnostic Testing Updated: July 2014 Originally posted: November 2007* Dr. John Oppenheimer Director of Clinical Research, Pulmonary and Allergy Associates Denville, NJ, USA Prof. Stephen Durham Department Allergy and Respiratory Medicine,

Imperial College, London, UK Dr. Harold Nelson National Jewish Medical and Research Center Denver, CO, USA Dr. Ole D. Wolthers Clinical Institute, Health, Aarhus University Asthma and Allergy Clinic, Children's Clinic Randers Randers, Denmark.

2. Brockow K., Garvey L.H., Aberer W., Atanaskovic-Markovic M., Barbaud A., Bilo M.B., Bircher A., Blanca M., Bonadonna B., Campi P., Castro E., Cernadas J.R., Chiriac A.M., Demoly P., Grosber M., Gooi J., Lombardo C., Mertes P.M., Mosbech H., Nasser S., Pagani M., Ring J., Romano A., Scherer K., Schnyder B., Testi S., Torres M., Trautmann A., Terreehorst I. on behalf of the ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group. Skin test concentrations for systemically administered drugs – an ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group position paper // *Allergy*. 2013; 68: 702–712.
3. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 1994 Nov-Dec;45(6):437-40. [Diagnosis of allergic rhinitis by determining of tryptase and eosinophil cationic protein in nasal secretions]. Rasp G.I., Bujna J.
4. Gerald C.-H. Koha, Lynette P.C. Shekb, Daniel Y.T. Gohb, Hugo van Beverb, David S.-Q. Koha. Eosinophil cationic protein: Is it useful in asthma? A systematic review // *Respiratory Medicine*. 2007. April. Vol. 101, Issue 4. P. 696–705.
5. Schwab D., Raithel M., Klein P., Winterkamp S., Weidenhiller M., Radespiel-Troeger M., Hochberger J., Hahn E.G. Immunoglobulin E and eosinophilic cationic protein in segmental lavage fluid of the small and large bowel identify patients with food allergy // *Am J Gastroenterol*. 2001;96(2):508.
6. Samarai A., al-Obaidi A., al-Janabi J., al-Samarai A. Role of Eosinophil Cationic Protein in Asthma and Confounding Factors // *The Internet Journal of Asthma, Allergy and Immunology*. 2008. Vol. 7, N. 2.
7. Beppu T.I., Ohta N., Gon S., Sakata K., Inamura K., Fukase S., Kimura Y., Koike Y. Eosinophil and eosinophil cationic protein in allergic rhinitis // *Acta Otolaryngol Suppl.* 1994;511:221–3.
8. Aberer E., 1, Savic S., 1, Bretterklieber A., 1, Reiter H., 1, Berghold A., 2, and Aberer W., 1. (1: Department of Dermatology and Venereology, Medical University of Graz, and 2: Institute for Medical Informatics, Statistics and Documentation, Medical University of Graz, Graz, Austria) Disease spectrum in patients with elevated serum tryptase

- levels // *Australasian Journal of Dermatology*. (2015) 56, 7–13.
9. Schwartz L.B. Diagnostic value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis // *Immunol Allergy Clin North Am*. 2006. Aug;26(3):451–63.
 10. Payne V.I., Kam P.C. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance // *Anaesthesia*. 2004. Jul;59(7):695–703.
 11. Saitoh J.I., Mitsuhata H., Horiguchi Y., Saitoh K., Fukuda H., Shimizu R. Usefulness of measurement of mast cell tryptase for differential diagnosis of anaphylaxis and anaphylactoid reaction // *Masui*. 1995. Sep;44(9):1265–8.
 12. Weber R.W. Cross-reactivity of pollen allergens: impact on allergen immunotherapy // *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007. Sep;99(3):203–11; quiz 212–3, 231.
 13. Santos A.I., van Ree R. Profilins: mimickers of allergy or relevant allergens? // *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;155(3):191–204. doi: 10.1159/000321178. Epub 2011. Feb 2.
 14. Caubet J.C.I., Kondo Y., Urisu A., Nowak-W grzyn A. Molecular diagnosis of egg allergy // *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011. Jun;11(3):210–5.
 15. Genovese A., Stellato C., Marsella C.V., Adt M., Marone G. Role of mast cells, basophils and their mediators in adverse reactions to general anesthetics and radiocontrast media // *Int Arch Allergy Immunol*. 1996;110:13–22.
 16. Hoffmann H.J., Santos A.F., Mayorga C., Nopp A., Eberlein B., Ferrer M., Rouzaire P., Ebo D.G., Sabato V., Sanz M.L., Pecaric-Petkovic T., Patil S.U., Hausmann O.V., Shreffler W.G., Korosec P., Knol E.F. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease // *Allergy*. 2015; 70:1393–1405.
 17. Eberlein B., Leon Suarez I., Darso U., Rueff F., Behrendt H., Ring J. A new basophil activation test using CD63 and CCR3 in allergy to antibiotics // *Clin Exp Allergy*. 2010;40:411–418.
 18. Sanz M.L., Gamboa P.M., Antepara I., Uasuf C., Vila L., Garcia-Aviles C. et al. Flow cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics // *Clin Exp Allergy*. 2002;32:277–286.
 19. Torres M.J., Padial A., Mayorga C., Fernandez T., Sanchez-Sabate E., Cornejo-Garc a J.A. et al. The diagnostic interpretation of basophil activation test in immediate allergic reactions to betalactams // *Clin Exp Allergy*. 2004;34:1768–1775.
 20. Abuaf N., Rajoely B., Ghazouani E., Levy D.A., Pecquet C., Chabane H. et al. Validation of a flow cytometric assay detecting in vitro basophil activation for the diagnosis of muscle relaxant allergy // *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104:411–418.
 21. Monneret G., Benoit Y., Debard A.L., Gutowski M.C., Topenot I., Bienvenu J. Monitoring of basophil activation using CD63 and CCR3 in allergy to muscle relaxant drugs // *Clin Immunol*. 2002;102:192–199.
 22. Ebo D.G., Bridts C.H., Hagendorens M.M., Mertens C.H., De Clerck L.S., Stevens W.J. Flow-assisted diagnostic management of anaphylaxis from rocuronium bromide // *Allergy*. 2006;61:935–939.
 23. Aranda A., Mayorga C., Ariza A., Dona I., Rosado A., Blanca-Lopez N. et al. In vitro evaluation of IgE-mediated hypersensitivity reactions to quinolones // *Allergy*. 2011;66:247–254.
 24. Rouzaire P., Nosbaum A., Denis L., Bienvenu F., Berard F., Cozon G. et al. Negativity of the basophil activation test in quinolone hypersensitivity: a breakthrough for provocation test decision-making // *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;157:299–302.
 25. Pinnobphun P., Buranapraditkun S., Kampitak T., Hirankarn N., Klaewsongkram J. The diagnostic value of basophil activation test in patients with an immediate hypersensitivity reaction to radiocontrast media // *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011;106:387–393.
 26. Gomez E., Blanca-Lopez N., Torres M.J., Requena G., Rondon C., Canto G. et al. Immunoglobulin E-mediated immediate allergic reactions to dipyrone: value of basophil activation test in the identification of patients. // *Clin Exp Allergy*. 2009;39:1217–1224.
 27. Gamboa P.M., Sanz M.L., Caballero M.R., Antepara I., Urrutia I., Jauregui I. et al. Use of CD63 expression as a marker of in vitro basophil activation and leukotriene determination in metamizol allergic patients. // *Allergy*. 2003;58:312–317.
 28. Ebo D.G., Venemalm L., Bridts C.H., Degerbeck F., Hagberg H., de Clerck L.S. et al. Immunoglobulin E antibodies to rocuronium: a new diagnostic tool // *Anesthesiology*. 2007;107:253–259.
 29. Iwamoto T., Yuta A., Tabata T., Sugimoto H., Gabazza E.C., Hirai H. et al. Evaluation of basophil

- CD203c as a predictor of carboplatin-related hypersensitivity reaction in patients with gynecologic cancer // *Biol Pharm Bull.* 2012;35:1487–1495.
30. Ebo D.G., Bridts C.H., Stevens W.J. IgE-mediated anaphylaxis from chlorhexidine: diagnostic possibilities // *Contact Dermatitis.* 2006;55:301–302.
 31. Cabrera-Freitag P., Gastaminza G., Goikoetxea M.J., Lafuente A., de la Borbolla J.M., Sanz M.L. Immediate allergic reaction to atropine in ophthalmic solution confirmed by basophil activation test // *Allergy.* 2009;64:1388–1389.
 32. Soriano Gomis V., Perez Sempere A., Gonzalez Delgado P., Sempere J.M., Niveiro Hernandez E., Marco F.M. Glatiramer acetate anaphylaxis: detection of antibodies and basophil activation test // *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2012;22:65–66.
 33. Leysen J., de Witte L., Sabato V., Faber M., Hagendorens M., Bridts C. et al. IgE-mediated allergy to pholcodine and cross-reactivity to neuromuscular blocking agents: lessons from flow cytometry // *Cytometry B Clin Cytom.* 2013; 84:65–70.
 34. Hausmann O.V., Gentinetta T., Bridts C.H., Ebo D.G. The basophil activation test in immediate-type drug allergy // *Immunol Allergy Clin North Am.* 2009;29:555–566.
 35. Ocmant A., Mulier S., Hanssens L., Goldman M., Casimir G., Mascart F. et al. Basophil activation tests for the diagnosis of food allergy in children // *Clin Exp Allergy.* 2009;39:1234–1245.
 36. Rubio A., Vivinus-Nebot M., Bourrier T., Saggio B., Albertini M., Bernard A. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children // *Allergy.* 2011;66:92–100.
 37. Santos A.F., Douiri A., Becares N., Wu S-Y., Stephens A., Radulovic S. et al. Basophil activation test discriminates between allergy and tolerance in peanut-sensitized children // *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134:645–52.
 38. Sainte-Laudy J., Sabbah A., Drouet M., Lauret M.G., Loiry M. Diagnosis of venom allergy by flow cytometry. Correlation with clinical history, skin tests, specific IgE, histamine and leukotriene C4 release // *Clin Exp Allergy.* 2000;30:1166–1171.
 39. Sturm G.J., Bohm E., Trummer M., Weiglhofer I., Heinemann A., Aberer W. The CD63 basophil activation test in Hymenoptera venom allergy: a prospective study // *Allergy.* 2004;59:1110–1117.
 40. Erdmann S.M., Sachs B., Kwiecien R., MollSłodowy S., Sauer I., Merk H.F. The basophil activation test in wasp venom allergy: sensitivity, specificity and monitoring specific immunotherapy // *Allergy.* 2004;59:1102–1109.
 41. Eberlein-König B., Varga R., Mempel M., Darsoń U., Behrendt H., Ring J. Comparison of basophil activation tests using CD63 or CD203c expression in patients with insect venom allergy // *Allergy.* 2006;61:1084–1085.
 42. Ebo D.G., Hagendorens M.M., Bridts C.H., de Clerck L.S., Stevens W.J. Hymenoptera venom allergy: taking the sting out of difficult cases // *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2007;17:357–360.
 43. Korosec P., Erzen R., Silar M., Bajrovic N., Kopac P., Kosnik M. Basophil responsiveness in patients with insect sting allergies and negative venom-specific immunoglobulin E and skin prick test results // *Clin Exp Allergy.* 2009;39:1730–1737.
 44. Korosec P., Silar M., Erzen R., Celesnik N., Bajrovic N., Zidarn M. et al. Clinical routine utility of basophil activation testing for diagnosis of hymenoptera-allergic patients with emphasis on individuals with negative venom-specific IgE antibodies // *Int Arch Allergy Immunol.* 2013;161:363–368.
 45. Gomez E., Campo P., Rondón C., Barrionuevo E., Blanca-Lopez N., Torres M.J. et al. Role of the basophil activation test in the diagnosis of local allergic rhinitis // *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:975–976.
 46. Nopp A., Johansson S.G.O., Ankerst J., Bylin G., Cardell L.O., Gronneberg R. et al. Basophil allergen threshold sensitivity: a useful approach to anti-IgE treatment efficacy evaluation // *Allergy.* 2006;61:298–302.
 47. Johansson S.G.O., Nopp A., Oman H., Ankerst J., Cardell L.O., Gronneberg R. et al. The size of the disease relevant IgE antibody fraction in relation to 'total-IgE' predicts the efficacy of anti-IgE (Xolair) // *Allergy.* 2009 Oct;64(10):1472–7.
 48. Ceuppens J.L., Bullens D., Kleinjans H., van der Werf J. PURETHAL Birch Efficacy Study Group. Immunotherapy with a modified birch pollen extract in allergic rhinoconjunctivitis: clinical and immunological effects // *Clin Exp Allergy.* 2009;39:1903–1909.
 49. Lalek N., Kosnik M., Silar M., Korosec P. Immunoglobulin G-dependent changes in basophil allergen threshold sensitivity during birch pollen

- immunotherapy // *Clin Exp Allergy*. 2010;40:1186–1193.
50. Schmid J.M., Wurtzen P.A., Dahl R., Hoffmann H.J. Early improvement in basophil sensitivity predicts symptom relief with grass pollen immunotherapy // *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134:741–744.
 51. Nopp A., Cardell L.O., Johansson S.G.O., Oman H. CD-sens: a biological measure of immunological changes stimulated by ASIT // *Allergy*. 2009;64:811–814.
 52. Sturm G.J., Kranzelbinder B., Sturm E.M., Heinemann A., Groselj-Strele A., Aberer W. The basophil activation test in the diagnosis of allergy: technical issues and critical factors // *Allergy*. 2009;64:1319–1326.
 53. Sturm E.M., Kranzelbinder B., Heinemann A., Groselj-Strele A., Aberer W., Sturm G.J. CD203c-based basophil activation test in allergy diagnosis: characteristics and differences to CD63 upregulation // *Cytometry B Clin Cytom*. 2010;78:308–318.
 54. Iqbal K., Bhargava K., Skov P.S., Falkencrone S., Grattan C.E. A positive serum basophil histamine release assay is a marker for ciclosporin-responsiveness in patients with chronic spontaneous urticaria // *Clin Transl Allergy*. 2012;2:19.
 55. Bidad K., Nawijn M.C., van Oosterhout A.J.M., van der Heide S., Elberink JNGO. Basophil activation test in the diagnosis and monitoring of mastocytosis patients with wasp venom allergy on immunothera-
py // *Cytometry B Clin Cytom*. 2014;86:183–190.
 56. Kvedariene V., Kamey S., Ryckwaert Y., Rongier M., Bousquet J., Demoly P. et al. Diagnosis of neuromuscular blocking agent hypersensitivity reactions using cytofluorimetric analysis of basophils // *Allergy*. 2006;61:311–315.
 57. Fernandez T.D., Torres M.J., Blanca-Lopez N., Rodriguez-Bada J.L., Gomez E., Canto G. et al. Negativization rates of IgE radioimmunoassay and basophil activation test in immediate reactions to penicillins // *Allergy*. 2009;64:242–248.
 58. Gomez E., Blanca-Lopez N., Torres M.J., Requena G., Rondon C., Canto G. et al. Immunoglobulin E-mediated immediate allergic reactions to dipyrone: value of basophil activation test in the identification of patients // *Clin Exp Allergy*. 2009;39:1217–1224.
 59. Sousa N., Martinez-Aranguren R., Fernandez-Benitez M., Ribeiro F., Sanz M.L. Comparison of basophil activation test results in blood preserved in acid citrate dextrose and EDTA // *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010;20:535–536.
 60. *Annals of allergy, asthma, & immunology*, March 2008. Vol. 100, Number 3, Supplement 3. Allergy Diagnostic Testing: An Updated Practice Parameter.
 61. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. December 2010. Vol. 126, Issue 6, Supplement, P. S1–S58. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-Sponsored Expert Panel. ■

Современные представления о формировании оральной толерантности (Часть 1)

Ю.С. Смолкин, Е.А. Грищенко

Кафедра аллергологии и клинической иммунологии ГОУ ИПК ФМБА
Научно-клинический консультативный центр аллергологии и иммунологии, Москва

Modern ideas about the formation of oral tolerance

Y.S. Smolkin, E.A. Grishchenko

Healthy individuals are constantly being exposed to nonself proteins yet do not elicit pathogenic responses, whereas those with allergies do. At the heart of these differences is the formation of tolerance. For patients with food allergy is most important oral tolerance.

Oral tolerance can be defined as the antigen-specific suppression of cellular and/or humoral immune responses following preceding oral exposure to the antigen. Tolerance can develop naturally or be acquired through therapeutic intervention (AIT). Why allergies naturally resolve in some individuals but not others is unclear.

This paper discusses the main factors and mechanisms involved in the formation of oral tolerance, in the breaking on the development of food allergies.