

## **ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ПСЕВДОАЛЛЕРГИЧЕСКИХ И ИСТИННЫХ РЕАКЦИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА-МЕТОДА**

Ахметова Н.Ш., Кусаинова Д.С., Таскынбай А.Е., Шаймерденов М.С.

Карагандинский государственный медицинский университет (100012, Караганда, Гоголя 40, РК), e-mail: [kds1985@mail.ru](mailto:kds1985@mail.ru)

В последние годы особую актуальность для врачей клинической практики представляют нежелательные реакции на прием или введение медикаментов. Диагностика лекарственной аллергии на сегодняшний день является сложной клинической проблемой. Спектр доступных для клинических лабораторий тестов *in vitro* весьма ограничен. Известен стандартный способ определения специфического иммуноглобулина Е с использованием биотинилированных аллергенов.

Всего обследовано 42 женщины и 30 мужчин в возрасте от 18 до 40 лет. Были проведены следующие ИФА-тесты: иммуноглобулин М к лямблиям, иммуноглобулин G к аскаридам, иммуноглобулин Е общий, иммуноглобулин Е специфический. Для проведения анализов иммуноглобулина Е специфического использовались стандартные биотинилированные аллергены, а также для диагностики лекарственной аллергии использовалось изобретение № 1091 «Способ изготовления аллергенов из имплантационной, медикаментозной, косметической и химической продукции для определения специфического иммуноглобулина Е в плазме крови» от 7 июня 2016 г. Изобретение относится к медицине, а именно к способам изготовления аллергенов из имплантационной, медикаментозной, косметической и химической продукции для определения специфического иммуноглобулина Е в плазме крови.

**Ключевые слова:** ИФА-метод, аллергия истинная, псевдоаллергия, лямблиоз, аскаридоз, иммуноглобулин Е специфический

### **DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF PSEUDOALLERGIC AND TRUE REACTIONS USING THE ELISA METHOD**

Akhmetova N.Sh., Kussainova D.S., Taskinbay A.E., Shaimerdenov M.S.

Karaganda State Medical University (100012, Karaganda, Gogol 40, RK), e-mail: [kds1985@mail.ru](mailto:kds1985@mail.ru)

In recent years, a particular urgency for clinicians in clinical practice is undesirable reactions to the administration or administration of medications. Diagnosis of drug allergy is today a complex clinical problem. The range of tests available for clinical laboratories *in vitro* is very limited. A standard method for the detection of specific immunoglobulin E using biotinillated allergens is known.

A total of 42 women and 30 men aged 18 to 40 years were examined. The following ELISA tests were performed: immunoglobulin M to lamblia, immunoglobulin G to ascarids, immunoglobulin E general, immunoglobulin E specific. For the analysis of immunoglobulin E specific, standard biotinillated allergens were used, as well as for the diagnosis of drug allergy, invention No. 1091 "Method of manufacturing allergens from implantation, medicament, cosmetic and chemical products for determination of specific immunoglobulin E in blood plasma" dated June 7, 2016 was used. refers to medicine, namely to methods of manufacturing allergens from implant, medicament, cosmetic and chemical products To determine the specific immunoglobulin E in blood plasma.

**Key words:** ELISA method, allergy true, pseudoallergia, giardiasis, ascariasis, immunoglobulin E specific

**Введение.** В последние годы особую актуальность для врачей клинической практики представляют нежелательные реакции на прием или введение медикаментов. Ведущими среди них являются токсические, аллергические реакции, дисбактериозы, воздействие на эмбрион, хромосомный аппарат человека и др. По данным ВОЗ, летальность от медикаментозной аллергии более чем в 5 раз превышает летальность от хирургических вмешательств, а распространенность возрастает до 17% у лиц, которые часто или длительный период принимают лекарственные препараты. Успешное лечение и предупреждение аллергических проявлений во многом зависят от установления первопричины, что бывает сделать весьма непросто [1]. Во-первых, сложность обнаружения первичных факторов, вызывающих аллергию, может быть обусловлена перекрестными реакциями. Во-вторых, при подозрении на «псевдоаллергию» необходимо провести более тщательное обследование внутренних систем организма – пищеварительной, эндокринной,

лимфатической и иммунной. Если же нарушений со стороны обменных процессов, а также признаков хронических инфекций не выявлено, то важной задачей является комплексное изучение состояния иммунитета и диагностика аллергии [2].

Диагностика лекарственной аллергии на сегодняшний день является сложной клинической проблемой. Спектр доступных для клинических лабораторий тестов *in vitro* весьма ограничен. Считают, что при характерном аллергологическом анамнезе и типичной клинической картине установить диагноз лекарственной болезни нетрудно. Однако в повседневной практике постановка диагноза усложняется из-за того, что аллергические, токсические и псевдоаллергические реакции, а также некоторые инфекционные заболевания имеют сходные клинические проявления. Особенно это усугубляется в случаях, когда лекарственная болезнь развивается на фоне уже имеющихся аллергических заболеваний, что проявляется лишь усилением их симптоматики. Не меньше трудностей возникает при поздних проявлениях лекарственной аллергии, когда не наблюдается связи между приемом лекарственных средств и возникновением симптомов заболевания [3].

Лабораторная диагностика аллергических заболеваний становится все более важной составляющей комплексного обследования, проводимого врачом-аллергологом. Важным преимуществом такой диагностики аллергических заболеваний является то, что она, в отличие от кожных аллергопроб, практически не имеет противопоказаний к проведению исследования. Взятие крови для анализа безопасно и может быть проведено у людей любого возраста и состояния, в т. ч. у грудных детей и беременных женщин. Лабораторные исследования можно выполнять и в период повышенной сенсibilизации или обострения заболевания, проводить на фоне лечения. В ряде случаев (элиминация конкретного аллергена, анти-IgE терапия) мониторинг лечения проводят при помощи соответствующих лабораторных исследований.

Увеличению роли лабораторной диагностики в аллергологии способствуют объективные причины, связанные со значительным ростом числа аллергических заболеваний и их распространенности. Существенно увеличилось и число аллергенов, которые способны привести к тяжелым клиническим последствиям, в т. ч. новых аллергенов искусственного происхождения. В таких условиях возникает потребность скринингового обследования большого числа людей с подозрением на аллергические заболевания [4].

Аллергены, вызывающие патологическую иммунную реакцию у пациента, называют причинно-значимыми или причинными аллергенами. Моноаллергенами называют выделенные из причинно-значимого аллергена отдельные вещества (белки, полисахариды, гликопротеиды, металлопротеиды), к эпитопам которых вырабатываются специфические антитела или рецепторы лимфоцитов. Моноаллергены играют большую роль в современной

аллергологии, так как в одном причинно-значимом аллергене может содержаться целый комплекс потенциальных моноаллергенных компонентов, но только один или несколько из них будут реальными этиологическими агентами аллергических реакций у конкретного пациента. Для определения специфических антител в наборах реагентов нового поколения используются препараты подобных аллергенов, полученные по технологиям высокой очистки экстракта природного источника или созданные путем биотехнологических процессов. Разработанные новые технологии позволяют провести анализ для выявления сразу большого числа аллергенов одновременно, выполнить скрининговое обследование без подробного выяснения анамнеза. В арсенале многих производителей наборов реагентов для аллергодиагностики тысячи аллергенов, к которым можно определять специфические антитела.

В лабораторной диагностике аллергических заболеваний определяют преимущественно уровень общих IgE-антител и специфических IgE- и IgG4-антител в сыворотке крови к отдельным аллергенам или группам аллергенов природного или искусственного происхождения. IgE-зависимая реакция возникает в течение нескольких минут после контакта с аллергеном, а IgG (IgG4)-зависимая (наиболее часто встречаемая при пищевой аллергии) развивается в более поздние сроки – через часы, иногда даже через несколько суток после контакта с аллергеном [5].

Известно, что специфическая диагностика лекарственной аллергии представляет собой комплекс методов, направленных на выявление лекарства-аллергена (или группы аллергенов), вызывающих заболевание у больного. На сегодняшний день большинство иммунологических исследований трудоемки, дороги и недоступны для медицинских учреждений лечебно-профилактического профиля. Поэтому, как правило, для этих целей используют вместо специфических иммунологических или биофизических тестов *in vitro* - провокационные тесты. На сегодняшний день наиболее достоверными методами лабораторной диагностики лекарственной аллергии являются проточная цитофлюориметрия (CAST, FLOW–тесты), иммуноферментный анализ на специфический иммуноглобулин E с панелями аллергенов [6].

Цель исследования: определить возможности ИФА-метода в дифференциальной диагностике псевдоаллергических и истинных реакций

Материалы и методы:

1. В нашей работе нами был использован иммуноферментный анализ. Исследования проводились на базе лаборатории аллергологического профиля ТОО «Аллергоскрин» г. Караганда, Республика Казахстан. Исследования проводили натошак.

Материалом для исследования явилась кровь, взятой из локтевой вены пациентов.

Было использовано следующее оборудование:

1. Вошер: BioTek ELx800 - Bio Tek Instruments, Inc 100 Tigan Street, Made in USA.

2. Шейкер: SHAKER-TERMOSTAT – SIA “ELMI”, LV-1006, Латвия, г. Рига, ул. Айэкрауклес 21-133.

3. Ридер: BioTek ELx50 – Bio Tek Instruments, Inc 100 Tigan Street, Made in USA.

4. Компьютер – система Windows 10, программа Gen 5 3.03.

5. Программа для обработки статистических данных – IBM SPSS Statistics 20.

Были использованы следующие реактивы:

- вектор Бест Лямблия-IgM-ИФА-Бест «Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к антигенам лямблий в сыворотке (плазме) крови»;

- вектор Бест Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ «Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к антигенам *Ascaris lumbricoides* в сыворотке (плазме) крови»;

- вектор Бест IgE-Аллергоскрин-ИФА-БЕСТ «Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации аллергенспецифических иммуноглобулинов класса E в сыворотке (плазме) крови»;

- вектор Бест IgE общий-ИФА-БЕСТ «Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации общего иммуноглобулина класса E в сыворотке крови».

Всего обследовано 42 женщин и 30 мужчин в возрасте от 18 до 40 лет. Были проведены следующие ИФА-тесты: иммуноглобулин М к лямблиям, иммуноглобулин G к аскаридам, иммуноглобулин E общий, иммуноглобулин E специфический. Для проведения анализов иммуноглобулина E специфического использовались стандартные биотиниллированные аллергены, а также для диагностики лекарственной аллергии использовалось изобретение № 1091 «Способ изготовления аллергенов из имплантационной, медикаментозной, косметической и химической продукции для определения специфического иммуноглобулина E в плазме крови» от 7 июня 2016 г. Изобретение относится к медицине, а именно к способам изготовления аллергенов из имплантационной, медикаментозной, косметической и химической продукции для определения специфического иммуноглобулина E в плазме крови.

Известен стандартный способ определения специфического иммуноглобулина E с использованием биотиниллированных аллергенов.

Однако известный способ ограничивается следующими видами биотиниллированных аллергенов: ингаляционные, плесневые, пищевые, бытовые, инсектные и растительные. Кроме того, лекарственные аллергены выпускается ограниченным спектром: к некоторым видам антибиотиков, анестетиков, гормональных препаратов, являющиеся в настоящее

время устаревшими и не используемые в практической медицине. Не выпускаются аллергены к косметической продукции, к различным видам имплантатов, которые широко используются в стоматологической и хирургической практике. Особое значение имеет определение аллергенов на производстве, в связи с ростом контингента больных с профессиональной патологией.

Результаты и обсуждения:

Поскольку наиболее частыми причинами псевдоаллергии являются – дисбактериоз, паразитарные инвазии (лямблиоз, аскаридоз и т.д.), то нами были выбраны в рамках иммуноферментной диагностики анализы на антитела острой фазы к лямблиям и аскаридам, как наиболее часто встречающихся видов паразитарных инфекций.

Среди 42 женщин у 30 были найдены антитела острой фазы к лямблиям и у 36 женщин - антитела к аскаридам. Среди 30 мужчин у 18 были диагностированы антитела острой фазы к лямблиям и у 15 мужчин – антитела к аскаридам.

Таким образом, 78,6% женщин и 55% мужчин были заражены гельминтами. Результаты обследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Количество пациентов, имеющих антитела острой фазы к лямблиям и аскаридам

	Лямблии положительные (абс %)		Лямблии отрицательные (абс %)		Аскариды положительные (абс %)		Аскариды отрицательные (абс %)	
	Женщины	30	71,4	12	28,6	36	85,7	6
Мужчины	18	60,0	12	40,0	15	50,0	15	50,0

У всех пациентов мужского и женского пола было обнаружено увеличение концентрации общего иммуноглобулина Е в плазме крови в разных процентных соотношениях.

Особенности интерпретации исследований общего IgE.

- Повышение или снижение уровня общего IgE не исключает и не подтверждает наличие сенсibilизации к конкретному аллергену.
- Повышение уровня общего IgE может быть не связано с атопией, а возникать при целом ряде других заболеваний, в том числе глистных инвазиях, иммунодефицитах, бронхо-пульмональном аспергиллезе и др. Верхняя граница нормы общего IgE (100 кЕ/л) у представителей зон, эндемичных по гельминтозам, может быть выше обычной.
- Высокий уровень аллергенспецифического иммуноглобулина Е характеризует наличие высокого уровня сенсibilизации только по отношению к конкретному изучаемому аллергену.

Таким образом, общий иммуноглобулин Е не явился диагностически информативным критерием и не мог использоваться в качестве индикатора дифференцировки истинных от псевдоаллергий. Общий Ig Е дает лишь общую характеристику распространенности аллергии, и не дифференцирует истинные и псевдоаллергии. В связи с этим в качестве достоверного критерия дифференцировки был использован ИФА-метод на иммуноглобулин Е специфический со стандартными панелями и аллергенами собственного изобретения.

Из 42 женщин у 21 были лабораторно подтверждена истинная аллергия посредством определения специфического иммуноглобулина Е к аллергенам. Из 30 мужчин у 15 была диагностирована лекарственная аллергия.

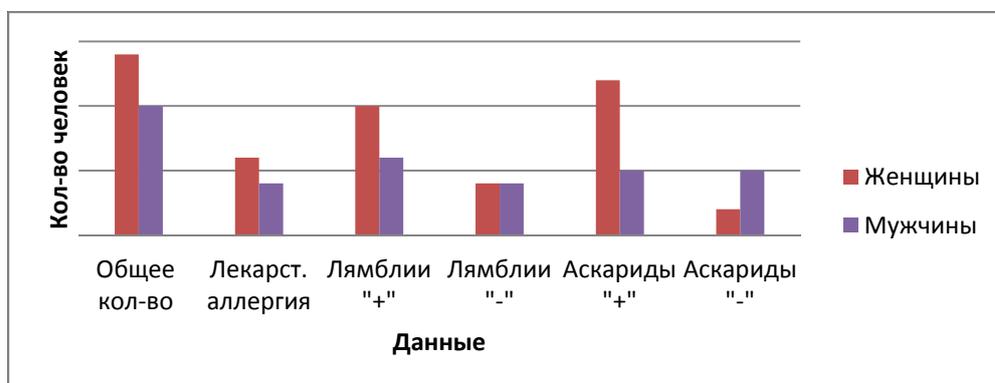
Следовательно, у 50% всех обследованных лиц была лабораторно дифференцирована истинная аллергия. В качестве основного диагностического критерия использовался иммуноферментный анализ на иммуноглобулин Е специфический с различными видами аллергенов (таблица 2)

Таблица 2 - Количество пациентов с лекарственной аллергией

	Общее количество (абс %)		Лекарственная аллергия (абс %)	
Женщины	42	100	21	50
Мужчины	30	100	15	50

Данные, изложенные в таблицах 1 и 2 объединены в диаграмме 1. На диаграмме наглядно представлено, что истинная аллергия была выявлена у 50% исследуемых лиц, причем встречалась равномерно, как у мужчин, так и у женщин. Можно заметить, что у женщин паразитарные инфекции были диагностированы чаще, чем у мужчин, а именно чаще встречался аскаридоз, что вызывало псевдоаллергические реакции, либо усугубляло имеющуюся истинную аллергию.

Диаграмма 1 – сводные данные полученных результатов обследованных лиц



Данные результатов анализов ИФА-теста на иммуноглобулин Е специфический к аллергенам у всех обследованных лиц были обработаны программой IBM SPSS Statistics 20 и представлены в таблице 3.

Согласно полученным данным и информации указанной в инструкции по применению диагностикумов АО «Вектор-Бест», минимальное значение указывало на отсутствие аллергии у пациента, а максимальное значение соответствовало исключительно высокому титру антител к аллергену. Среднее значение среди женщин составило 0,103 D и соответствовало среднему титру антител класса E к аллергену в плазме крови, а у мужчин 0,067 D, что указывало на отсутствие аллергии к препарату. Вычисленная средняя стандартная ошибка указывала на высокую достоверность полученных результатов.

Таблица 3 - Данные иммуноглобулина E специфического, обработанные IBM SPSS Statistics 20

	гол-во	Размах, D	min, D	max, D	среднее, D	ср.станд ошибка	станд. отклоне ние	диспер сии
Женщи ны	42	0,402	0,045	0,447	0,103	0,018	0,101	0,01
Мужчи ны	30	0,32	0,031	0,351	0,067	0,008	0,0483	0,002

В таблице 4 представлены аллергены на которые была проведена ИФА диагностика иммуноглобулина E специфического у женщин. Среди пациентов женского пола чаще всего встречалась аллергия к сорным травам. В остальных 15 случаях частота встречаемости к тому или иному аллергену была распределена равномерно.

Таблица 4 - Перечень аллергенов выявленных при диагностике истинной аллергии у лиц женского пола

	Частота встречаемости, человек	Частота встречаемости, %	Валидный процент
мепивастезин	3	14,3	14,3
микс-полынь	3	14,3	14,3
смесь луговые травы	3	14,3	14,3
сорбифер	3	14,3	14,3
смесь сорные травы	6	28,6	28,6
убистезин форте 4%	3	14,3	14,3
Итого	21	100,0	100,0

Среди 30 пациентов мужского пола обратившихся с жалобами на аллергические реакции у 15 была выявлена лекарственная аллергия, частота встречаемости среди диагностированных аллергенов была распределена равномерно. Результаты представлены в таблице 5.

Благодаря использованию изобретения представленного в интеллектуальной собственности №1091 спектр аллергенов значительно расширился (ограничение методики – аллергия на солнце и холод), что позволило произвести диагностику на лекарственные препараты различной формы (таблетированной, капсульной, порошковой, жидкой и др.).

Таблица 5 - Перечень аллергенов выявленных при диагностике истинной аллергии у лиц мужского пола

	Частота встречаемости, человек	Частота встречаемости, %	Валидный процент
бензилпенициллин	3	20,0	20,0
каптоприл	3	20,0	20,0
сорбифер	3	20,0	20,0
супракс солютаб	3	20,0	20,0
тизерцин	3	20,0	20,0
Итого	15	100,0	100,0

Выводы:

Таким образом, использование ИФА с определением специфического Ig E позволяет провести четкую границу между истинными и псевдоаллергическими реакциями, а также метод позволяет предположить степень гиперчувствительности немедленного типа, что крайне важно в прогнозе клинической картины на введение препарата и подбора лекарственных средств для пациентов-полиаллергиков с использованием премедикации.

Список литературы:

1. Дьячкова С.Я. Особенности лекарственной аллергии / С.Я. Дьячкова // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2016. - № 2.- с. 127-130.
2. Елисеева Т.И., Балаболкин И.И. Аллергические реакции на лекарственные средства: современные представления / Т.И. Елисеева, И.И. Балаболкин // Современные технологии в медицине. – 2016. - № 1.- с. 159-172.
3. Ибодуллаева Ш.Ю., Артикова М.А., Ахмедов К.Х. Проблемы лекарственной аллергии // III Международная научно-практическая конференция «Современные инновации: фундаментальные и прикладные исследования», - 2016, 1(3).
4. Мачарадзе Д.Ш. Аллергия на местные анестетики. Роль аллерголога. / Д.Ш. Мачарадзе // Лечащий врач. — 2015. — № 7. — С.66-73.
5. Рукавишников С.А., Пушкин А.С., Ахмедов Т.А., Прохоренко И.О. Основы клинической иммунологии: учебное пособие. – Самара: СамМИ «Реавиз». – 2015. – 118с.
6. Pichler, W. J. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity / W. Pichler, J. Tilch // Allergy. – 2004 – Vol. 59 – P. 809–820.