

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ORIGINAL RESEARCH

УДК 612.017.3:616-079

DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2020.1.10892

А. Є. Богомолов¹, С. В. Зайков²

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова¹
Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика²

АНАЛІЗ ДІАГНОСТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ІМУНОБЛОТИНГУ РІЗНИХ ВИРОБНИКІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ДО ПИЛКОВИХ АЛЕРГЕНІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ РЕСПІРАТОРНИМИ АЛЕРГІЧНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ

Аналіз діагностичних параметрів імуноблотингу різних виробників для визначення сенсibilізації до пилоквих алергенів у пацієнтів із респіраторними алергічними захворюваннями

А. Є. Богомолов¹, С. В. Зайков²

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова¹

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, Київ²

Резюме. В умовах великого обсягу іноді заангажованої інформації лікар не завжди здатний зрозуміти переваги та недоліки кожного з методів та правильно оцінити параметри їх діагностичної цінності.

Мета дослідження – порівняти діагностичні параметри різних систем серологічного дослідження методом імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергенів пилкової групи у пацієнтів із респіраторними алергічними захворюваннями – алергічним ринітом та бронхіальною астмою.

Матеріали і методи. У ході дослідження обстежено 88 пацієнтів з алергічним ринітом та/або atopічною астмою за допомогою трьох різних методів специфічної алергічної діагностики (*in vivo* та *in vitro*). Критеріями включення були діагноз алергічного риніту (як інтермітуючого, так і персистуючого) та/або atopічної астми. Прик-тест проводили за класичною методикою тестування відповідно до нормативних документів із комерційними екстрактами алергенів. Вестерн-блот для визначення рівнів IgE виконували з використанням тест-систем RIDA AllergyScreen (R-Biopharm AG, Дармштадт, Німеччина) і Euroline (Euroimmun).

Результати. Результати двох систем визначення специфічного IgE до алергенів пилкової групи методами Rida AllergyScreen та Euroline не завжди дуже добре узгоджуються між собою унаслідок систематичного розходження показників. Результати визначення специфічних IgE до окремих алергенів у цілому добре узго-

Analysis of the diagnostic parameters of immunoblotting of different manufacturers for the determination of sensitization to pollen allergens in patients with respiratory allergic diseases

A. Ye. Bogomolov¹, S. V. Zaikov²

M. Pyrohov Vinnytsia National Medical University¹

P. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv²

e-mail: zaikov1960@gmail.com

Summary. In the context of the large amount of sometimes unfair information, the physician is not always able to understand the advantages and disadvantages of each method and correctly evaluate the parameters of their diagnostic value.

The aim of the study – to compare the diagnostic parameters of different systems of serological examination by immunoblot method for the determination of sensitization to allergens of pollen group in patients with respiratory allergic diseases – allergic rhinitis and bronchial asthma.

Materials and Methods. In the study, 88 patients with allergic rhinitis and/or atopic asthma were examined with three different methods of specific allergic diagnosis (*in vivo* and *in vitro*). Inclusion criteria were a diagnosis of allergic rhinitis (both intermittent and persistent) and/or atopic asthma. The prick test was conducted according to the classic test method according to the normative documents with commercial allergen extracts. Western blots for the determination of IgE levels were performed using RIDA AllergyScreen test systems (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany) and Euroline (Euroimmun).

Results. The results of two systems for determining specific IgE for pollen allergens by the Rida AllergyScreen and Euroline methods do not always agree very well due to the systematic divergence of indicators. The results of determining specific IgE for individual allergens are generally in good agreement with each other and the results

©А. Є. Богомолов, С. В. Зайков, 2020

ISSN 2706-6282(print)
ISSN 2706-6290(online)

Вісник медичних і біологічних досліджень
Bulletin of Medical and Biological Research

1, 2020

джуються між собою та результатами шкірного тестування методом прик-тесту, втім до пилоквих алергенів полину, берези, ліщини та вільхи система Euroline не завжди узгоджується з результатами шкірного тестування методом прик-тесту, даючи хибно-негативні результати.

Висновки. Подальший аналіз узгодження та діагностичних параметрів методів в інших групах алергенів є необхідним для узагальнення усіх результатів дослідження.

Ключові слова: прик-тест; алергія; імуноблотинг; IgE.

ВСТУП

Вестерн-блот (імуноблотинг) – це техніка, яку використовують як у наукових, так і прикладних дослідженнях вже більше 3-х десятиріч [1]. З самого початку її розробили в якості способу визначення конкретного білка в складному зразку. В алергології цей метод на практиці означає визначення певних імуноглобулінів різних класів у сироватці крові, власне, що дозволяє побічно кваліфікувати рівень сенсibiliзації хворого до конкретного алергену або ж алергенів [2, 3]. Провідні якості методу включають мультиплексність (адже в один і той же час визначається наявність антитіл до кількох алергенів, частіше до 20), одноразовий забір маленької кількості крові для вивчення і невелика кількість протипоказань [4–7]. Утім, в умовах великого обсягу іноді заангажованої інформації лікар не завжди здатний зрозуміти переваги та недоліки кожного з методів та правильно оцінити параметри їх діагностичної цінності.

Усі вищеперераховані моменти зумовлюють необхідність зіставити не тільки вивчення серологічних методів визначення сенсibiliзації з традиційним шкірним тестуванням, але й зіставити характеристики імуноблотингу різних виробників. Наше дослідження направлене на визначення діагностичних параметрів імуноблоту різних виробників порівняно з класичним прик-тестом у розрізі визначення сенсibiliзації до пилоквих алергенів.

Метою дослідження було порівняти діагностичні параметри різних систем серологічного дослідження методом імуноблоту для визначення сенсibiliзації до алергенів пилкової групи у пацієнтів із респіраторними алергічними захворюваннями – алергічним ринітом та бронхіальною астмою.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У процесі цього дослідження за допомогою трьох різних методів специфічної алергологічної діагностики (in vivo та in vitro) було обстежено 88 пацієнтів, хворих на бронхіальну астму та алергічний риніт. Дослідження було відкритим, проспективним, порівняльним.

of skin testing by the prick test, however, for wormwood, birch, hazel and alder pollen allergens, the Euroline system does not always match the results of skin testing by the prick test negative results.

Conclusions. Further analysis of the consistency and diagnostic parameters of the methods for other allergen groups is necessary to summarize all the results of the study.

Key words: prick test; allergy; immunoblotting; IgE.

Шкірне тестування проводили, використовуючи стандартизований метод прик-тесту за допомогою ланцетів вітчизняними алергенами виробництва Вінницького МП «Імунолог». Техніка постановки шкірних тестів та оцінювання результатів шкірного тестування проводили відповідно до Наказу МОЗ і АМН України № 127/18 від 02.04.2002 р. «Про організаційні заходи по впровадженню сучасних технологій діагностики та лікування алергічних захворювань».

Кількісне визначення специфічних IgE в сироватці крові виконували за допомогою методу імуноблоту «Euroimmun» (Milena Biotec GmbH, Німеччина) та імуноблоту «RIDA® AllergyScreen» (R-Biopharm AG, Німеччина) відповідно до методик проведення таких досліджень з інструкцій виробників.

Статистичну обробку результатів, побудову діаграм та розподілів значень статистичного аналізу виконали за допомогою програмного пакета IBM SPSS Statistics 21.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

За результатами шкірного тестування методом прик-тесту моносенсибилізацію виявили у 12 пацієнтів (13,3 % випадків). Найчастіше спостерігали сенсibiliзацію до таких пилоквих алергенів, як жита – 34 особи (37,7 % випадків), берези – 32 пацієнти (35,5 %) та вільхи – 24 особи (26,6 %). Результати шкірного тестування пацієнтів подано на рисунку 1.

Після проведення шкірного тестування методом прик-тесту в якості референт-методу усіх пацієнтів обстежили за допомогою серологічного методу імуноблотингу двох різних виробників відповідно до методів дослідження.

Для якісного аналізу діагностичної значимості методів було використано ROC-аналіз, що являє собою побудову графіка залежності чутливості методу від відносної кількості хибнонегативних результатів. Графіки ROC-кривих для виявлення специфічного IgE методами AllergyScreen та Euroline для визначення сенсibiliзації до алергенів пилок вільхи, берези, ліщини, дуба, жита, полину та подорожника показано на рисунках 2–8 відповідно.

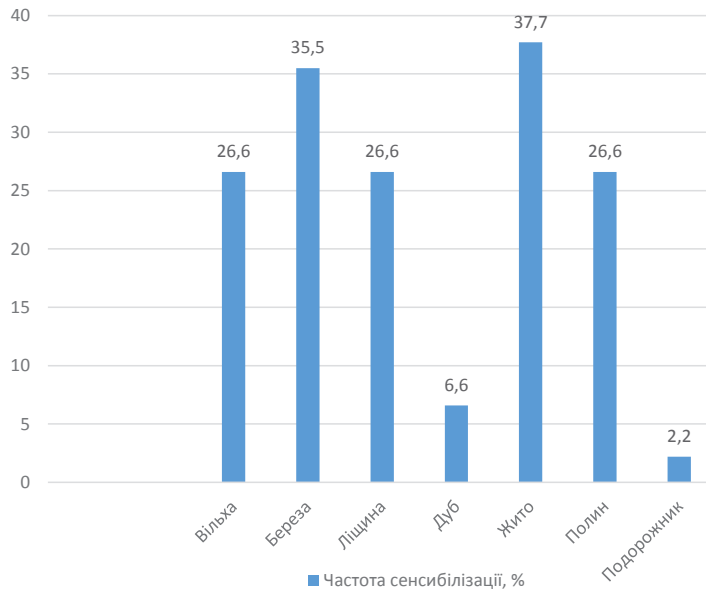


Рис. 1. Частота сенсibiлізації окремими алергенами за даними прик-тестів.

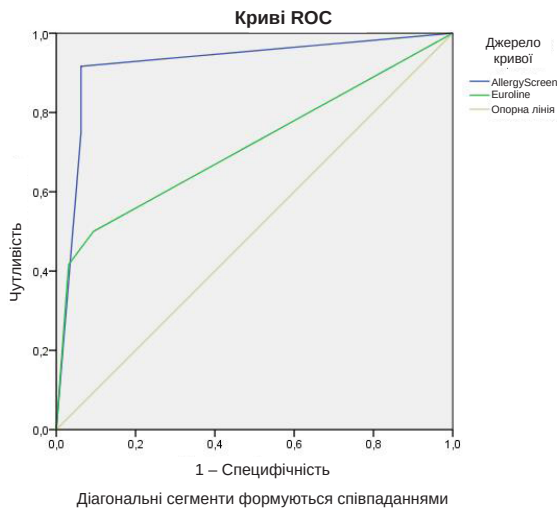


Рис. 2. ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами Allergy-Screen та Euroline для визначення сенсibiлізації до алергену вільхи.

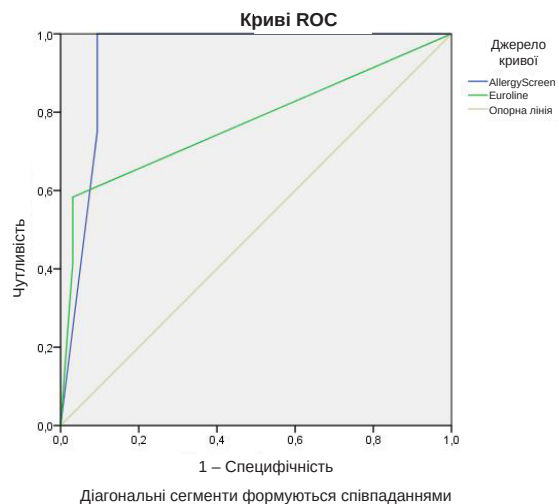


Рис. 4. ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами Allergy-Screen та Euroline для визначення сенсibiлізації до алергену ліщини.

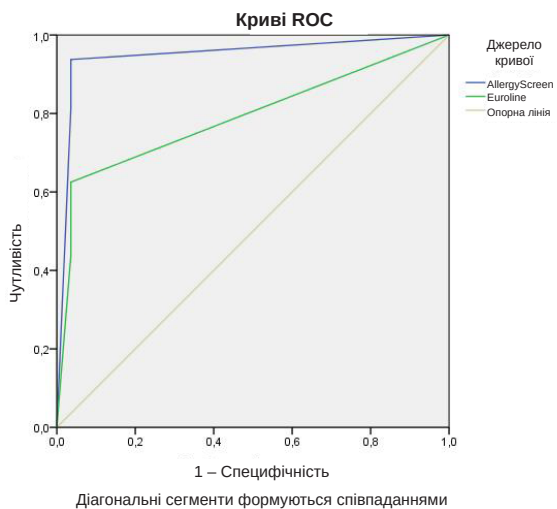


Рис. 3. ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами Allergy-Screen та Euroline для визначення сенсibiлізації до алергену берези.

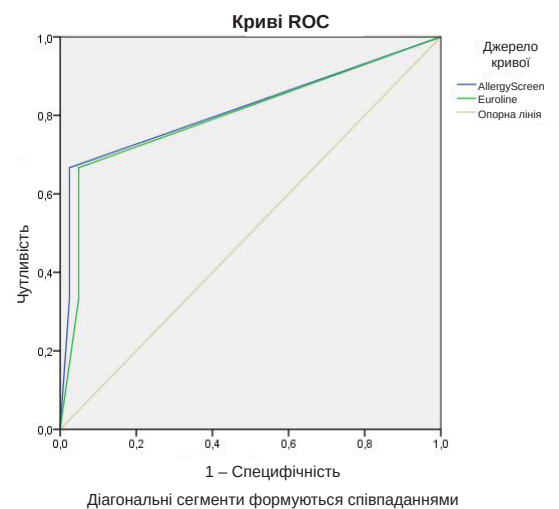


Рис. 5. ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами Allergy-Screen та Euroline для визначення сенсibiлізації до алергену дуба.

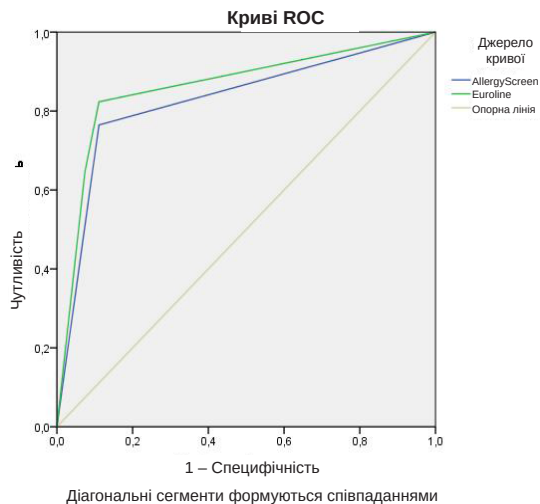


Рис. 6. ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами Allergy-Screen та Euroline для визначення сенсibilізації до алергену жита.

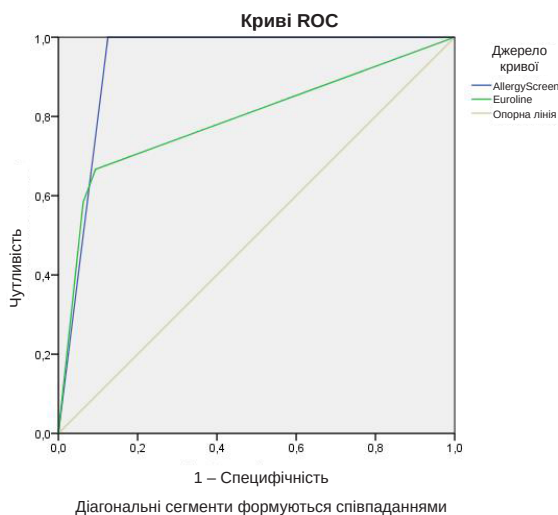


Рис. 7. ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами Allergy-Screen та Euroline для визначення сенсibilізації до алергену полину.

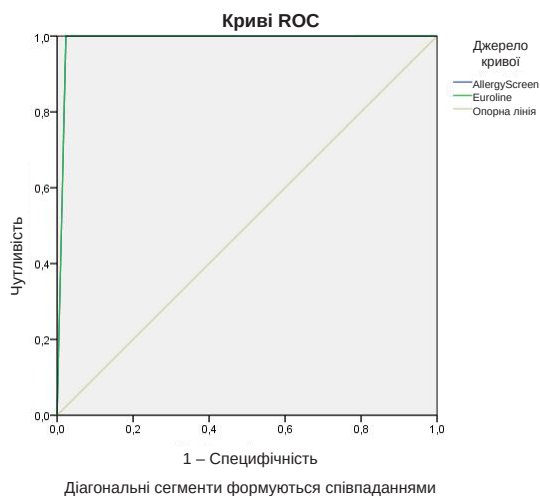


Рис. 8. ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами Allergy-Screen та Euroline для визначення сенсibilізації до алергену подорожника.

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у таблиці 1.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для визначення сенсibilізації до алергену вільхи має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,922$), виявлення специфічного IgE методом Euroline для визначення сенсibilізації до алергену вільхи – добру діагностичну значимість ($AUC=0,715$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для визначення сенсibilізації до алергену берези має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,949$), виявлення специфічного IgE методом Euroline для визначення сенсibilізації до алергену берези – добру діагностичну значимість ($AUC=0,791$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для визначення сенсibilізації до алергену ліщини має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,941$), виявлення специфічного IgE методом Euroline для визначення сенсibilізації до алергену ліщини – добру діагностичну значимість ($AUC=0,773$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для визначення сенсibilізації до алергену дуба має дуже добру діагностичну значимість ($AUC=0,817$), виявлення специфічного IgE методом Euroline для визначення сенсibilізації до алергену дуба – дуже добру діагностичну значимість ($AUC=0,801$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для визначення сенсibilізації до алергену жита має дуже добру діагностичну значимість ($AUC=0,827$), виявлення специфічного IgE методом Euroline для визначення сенсibilізації до алергену жита – дуже добру діагностичну значимість ($AUC=0,862$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

Таблиця 1. Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами AllergyScreen та Euroline для визначення сенсibilізації до алергенів пилкової групи

Тестова змінна	Площа	Стандартна похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95 % довірчий інтервал	
				нижня межа	верхня межа
Вільха					
AllergyScreen	0,922	0,038	0,000	0,848	0,996
Euroline	0,715	0,070	0,002	0,578	0,851
Береза					
AllergyScreen	0,949	0,029	0,000	0,891	1,000
Euroline	0,791	0,056	0,000	0,681	0,902
Ліщина					
AllergyScreen	0,941	0,025	0,000	0,892	0,991
Euroline	0,773	0,065	0,000	0,645	0,902
Дуб					
AllergyScreen	0,817	0,117	0,000	0,587	1,000
Euroline	0,801	0,116	0,014	0,573	1,000
Жито					
AllergyScreen	0,827	0,050	0,000	0,730	0,924
Euroline	0,862	0,045	0,000	0,773	0,950
Полин					
AllergyScreen	0,938	0,026	0,000	0,887	0,988
Euroline	0,793	0,062	0,000	0,671	0,915
Подорожник					
AllergyScreen	0,988	0,012	0,019	0,966	1,000
Euroline	0,988	0,012	0,019	0,966	1,000

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для визначення сенсibilізації до алергену полину має відмінну діагностичну значимість (AUC=0,938), виявлення специфічного IgE методом Euroline для визначення сенсibilізації до алергену полину – добру діагностичну значимість (AUC=0,793). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для ви-

значення сенсibilізації до алергену подорожника має відмінну діагностичну значимість (AUC=0,988), виявлення специфічного IgE методом Euroline для визначення сенсibilізації до алергену подорожника – відмінну діагностичну значимість (AUC=0,988). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

Узагальнені результати аналізу наведено в таблиці 2.

Таблиця 2. Результати статистичного аналізу порівняння діагностичної значимості визначення специфічного IgE до кліщових та епідермальних алергенів методами AllergyScreen та Euroline порівняно з прик-тестом

Погодження	AllergyScreen	Euroline
Відмінне	Подорожник Полин Береза Ліщина Вільха	Подорожник
Дуже добре	Жито дуб	Жито дуб
Добре		Полин Береза Ліщина Вільха

ВИСНОВКИ

1. Результати двох систем визначення специфічного IgE до алергенів пилоквої групи методами Rida AllergyScreen та Euroline не завжди дуже добре узгоджуються між собою унаслідок систематичного розходження показників.

2. Результати визначення специфічних IgE до окремих алергенів у цілому добре узгоджуються між собою та результатами шкірного тестування

методом прик-тесту, втім до пилкових алергенів полину, берези, ліщини та вільхи система Euroline не завжди узгоджується із результатами шкірного тестування методом прик-тесту, даючи хибно-негативні результати. Подальший аналіз узгодження та діагностичних параметрів методів в інших групах алергенів є необхідним для узагальнення усіх результатів дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зайков С. В. Современные подходы к лабораторной диагностике аллергических заболеваний / С. В. Зайков, А. Е. Богомолов // *Новости медицины и фармации*. – 2013. – № 14(465). – С. 45–50.

2. Season of birth, childhood asthma and allergy in a nationwide cohort-mediation through lower respiratory infections / C. Almqvist, S. Ekberg, S. Rhedin, F. Fang // *C. Clin. Exp. Allergy*. – 2019. – doi: 10.1111/cea.13542. [Epub ahead of print]

3. Tsutsumi H. Respiratory tract infection and allergy / H. Tsutsumi // *Alerugi*. – 2019. – Vol. 68 (9). – P. 1121–1125. doi: 10.15036/arerugi.68.1121.

4. The importance of real-life research in respiratory medicine: manifesto of the Respiratory Effectiveness Group: Endorsed by the International Primary Care Re-

spiratory Group and the World Allergy Organization / N. Roche, A. Anzueto, S. Bosnic Anticevich [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2019. – Vol. 54 (3). pii: 1901511. doi: 10.1183/13993003.01511-2019. Print 2019 Sep.

5. García-Solaesa V. SDS-polyacrylamide electrophoresis and western blotting applied to the study of asthma / V. García-Solaesa, S. C. Abad // *Methods Mol. Biol.* – 2016. – Vol. 1434. – P. 107–120. doi: 10.1007/978-1-4939-3652-6_8.

6. Casset A. How in vitro assays contribute to allergy diagnosis / A. Casset, N. Khayath, F. de Blay // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2016. – Vol. 16 (11). – P. 82.

7. Chauveau A. Disagreement between skin prick tests and specific IgE in early childhood / A. Chauveau // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2016. – Vol. 170 (2). – P. 69–74. doi: 10.1159/000446776. Epub 2016 Jul 26.

REFERENCES

1. Zaykov SV, Bogomolov AE. Modern approaches to laboratory diagnostics of allergic diseases. *Novosti meditsyny i farmatsii*. 2013;14(465): 45-50. Russian.

2. Almqvist C, Ekberg S, Rhedin S, Fang F, Fall T, Lundholm C. Season of birth, childhood asthma and allergy in a nationwide cohort-mediation through lower respiratory infections. *Clin Exp Allergy*. 2019. doi: 10.1111/cea.13542. [Epub ahead of print]

3. Tsutsumi H. Respiratory tract infection and allergy. *Alerugi*. 2019;68(9): 1121-5. doi: 10.15036/arerugi.68.1121.

4. Roche N, Anzueto A, Bosnic Anticevich S, Kaplan A, Miravittles M, Ryan D, et al. The importance of real-life research in respiratory medicine: manifesto of the Respi-

ratory Effectiveness Group: Endorsed by the International Primary Care Respiratory Group and the World Allergy Organization. *Eur Respir J*. 2019;54(3). pii: 1901511. doi: 10.1183/13993003.01511-2019. Print 2019 Sep.

5. García-Solaesa V, Abad SC. SDS-polyacrylamide electrophoresis and western blotting applied to the study of asthma. *Methods Mol. Biol*. 2016;1434: 107-20. doi: 10.1007/978-1-4939-3652-6_8.

6. Casset A, Khayath N, de Blay F. How in vitro assays contribute to allergy diagnosis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2016;16(11): 82.

7. Chauveau A. Disagreement between skin prick tests and specific IgE in early childhood. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;170(2): 69-74. doi: 10.1159/000446776.

Отримано 06.02.20