

Алгоритм молекулярной аллергодиагностики с использованием биочипа ALEX 2



**Мокроносова Марина Адольфовна,
д.м.н., профессор, Москва**

ФГБНУ НИИВС им И.И.Мечникова
Центр Аллергологии им А.Д.Адо

MADx MACS ARRAY DIAGNOSTICS		ALEX ALLERGY XPLOER	
Пациент:		Примечание: Внутренний контроль качества (проверка достоверности для GD) находился в пределах допустимого диапазона.	
Дата рождения:	23.10.2007	Направляющий врач:	Клинико-диагностическая лаборатория Диаг-аб
Идентификационный номер образца:	129	Дополнительная информация:	
QR-код:	02AHY129	Метод испытания:	ALEX ²
Протестировано:	19.10.2021		

Лабораторный отчет: краткое изложение информации об исследуемой сенсибилизации

Пыльца	Пыльца злаков	4	Семейства перекрестно-реагирующих аллергенов	Полынь	0
	Пыльца деревьев	4		Профилин	3
	Пыльца сорняков	4		PR-10	4
Клещи	Домашние пылевые клещи и Амбарные клещи	4	Семейство О1а е 1	Семейство О1а е 1	1
				LTPs (белки-переносчики липидов)	4
Микроорганизмы	Грибы и дрожжевые грибы	4		Запасные белки	4
	Бобовые культуры	4	Липокалин	Липокалин	6
	Злаки	4		NP2	1
Продукты растительного происхождения	Специи	3		Серпин альбумин	4
	Фрукты	3	Гарвальбулин	Гарвальбулин	4
	Овощи	3		Тропомиозин	4
Продукты животного происхождения	Орехи и семена	4		ССД (нерастворимые углеводные детерминанты)	6
	Молоко	0	Утероглобин	Утероглобин	4
	Яйца	4		Аргининаза	4
Насекомые	Рыба и морепродукты	4	Общий IgE (kU/L)	Общий IgE (kU/L)	2404
	Мясо домашних животных и насекомых	4			
	Муравей, Пчела, Оса	3			
Перхоть животных	Таракан	4	Самая высокая измеренная концентрация IgE в группе аллергенов		
	Домашние животные	4		< 0.3 kU/L	0.3 - 1 kU/L
	Домашний кот	4		1 - 5 kU/L	5 - 15 kU/L
Другие	Латекс	2		> 15 kU/L	
	Фенус и Хмель	0			
	ССС	0			
	Паразит	1			

Филимонова О.И
Медицинский директор
МФК ИНМУНОТЕХ , Москва

Катастрофическое сокращение биоразнообразия

Биоразнообразие — это множество живых существ, составляющих жизнь на Земле. Оно состоит примерно из 8 миллионов видов на планете, начиная от растений и животных, и заканчивая грибами и бактериями, и экосистем, где они обитают, — океаны, леса, горы и коралловые рифы.

Из 85 600 видов
занесено
М

**Аллергия — цена
Цивилизации!**

Многие из них исчезли в последние
столетия, и в последние десятилетия,

более 24 000 видов
оказались на грани полного
исчезновения.



Гигиеническая гипотеза (A. Strachan)



«Вестернизация стиля жизни»

Западный образ жизни

- безмикробная пища
- высокий уровень гигиены
- малодетные семьи
- домашнее воспитание
- контроль инфекционной заболеваемости

Восточный образ жизни

- многодетные семьи
- низкий уровень гигиены
- воспитание в дошкольных учреждениях
- высокая инфекционная заболеваемость

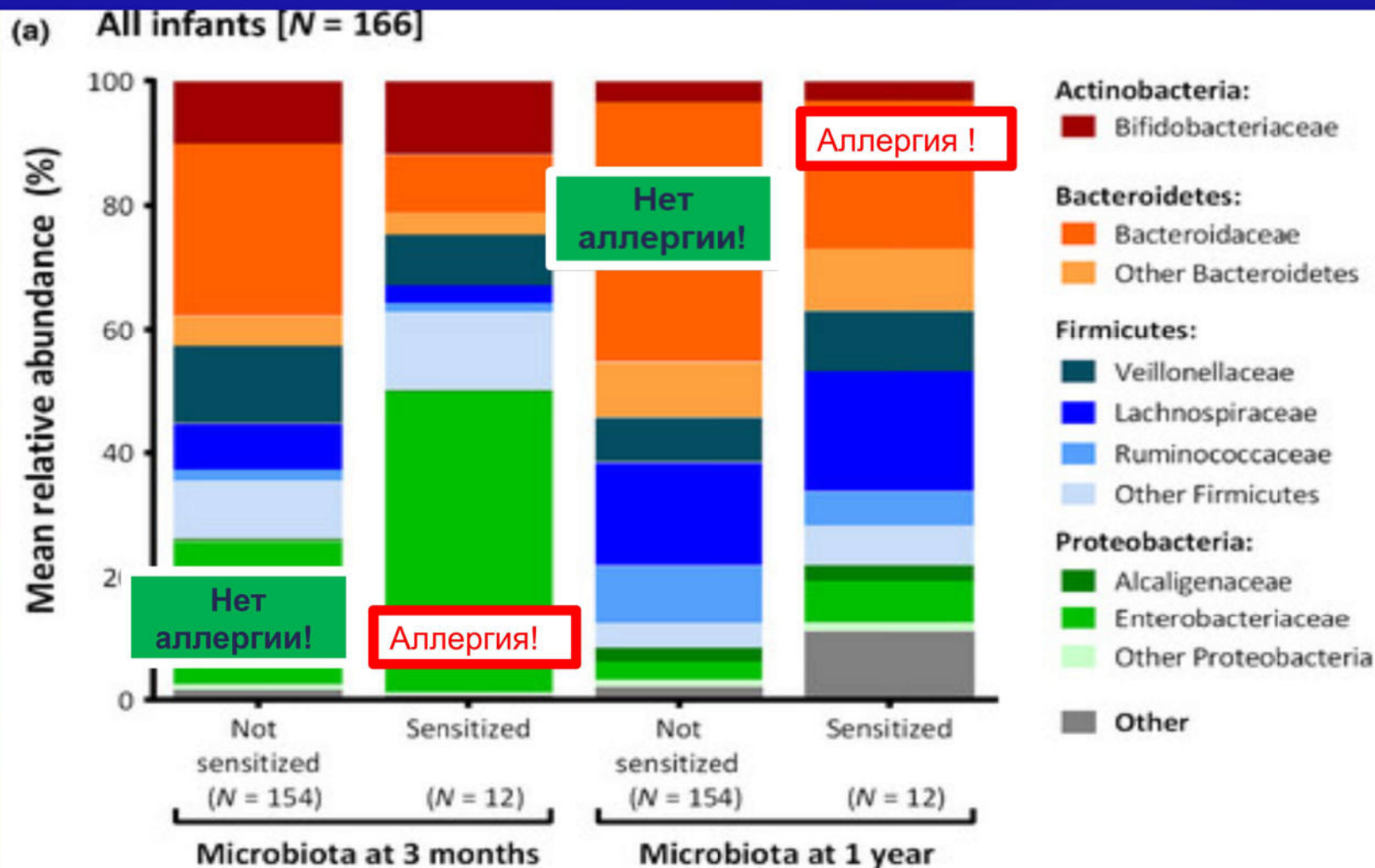


Микробиом – «космос» внутренней среды организма

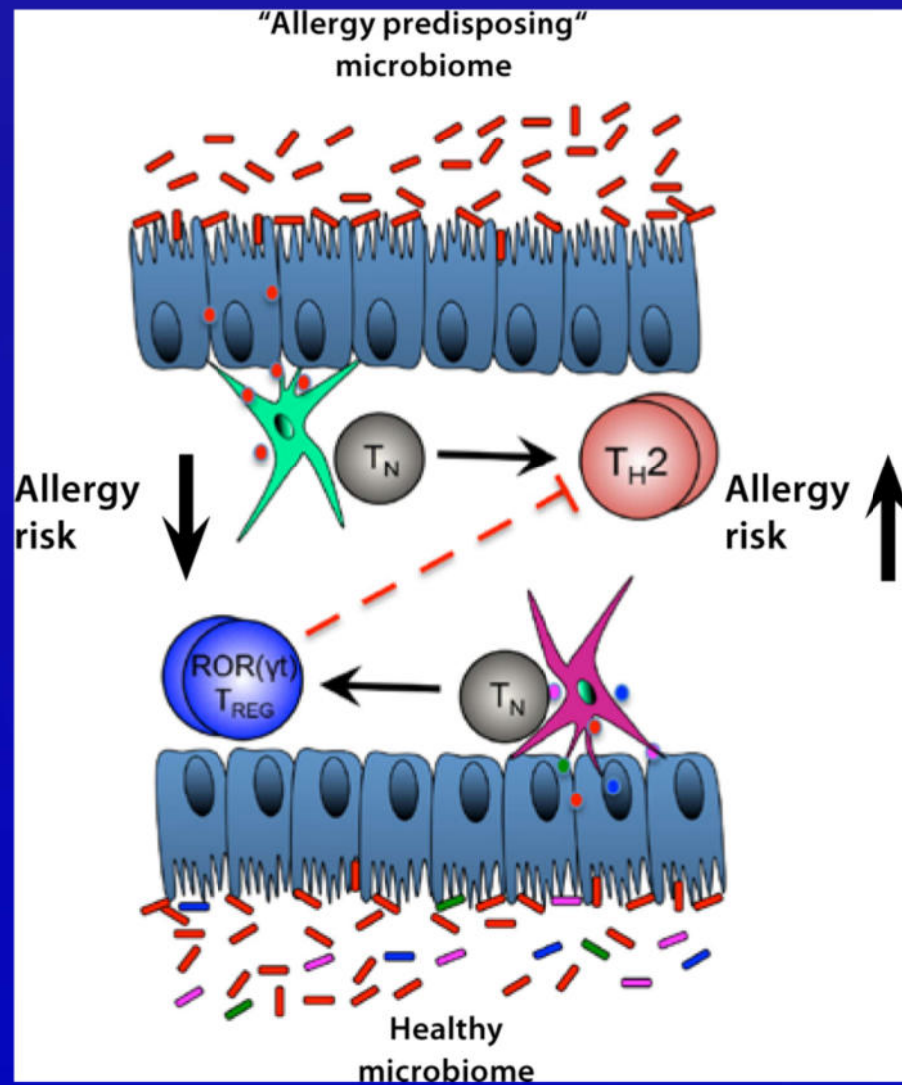


- Площадь эпителия – 300 кв м
- Площадь тела: Кожный покров - 0,5%
Слизистые оболочки – 99,5%
- Кол-во различных микроорганизмов – от 10 до 100 триллионов микробов
- Масса микроорганизмов, персистирующих на человеке – более 2 кг
- Гены микроорганизмов > 18 000 000 (Геном человека 21000)

Соотношение энтеробактерий / бактериоидов и пищевая сенсibilизация



Микробиом, предраспо-
гающий к аллергии



Здоровый микробиом

Микробиом
влияет на
соотношение
Th1/Th2

Ohnmacht C., 2016

1966-1967

Иммуноглобулин E IgE



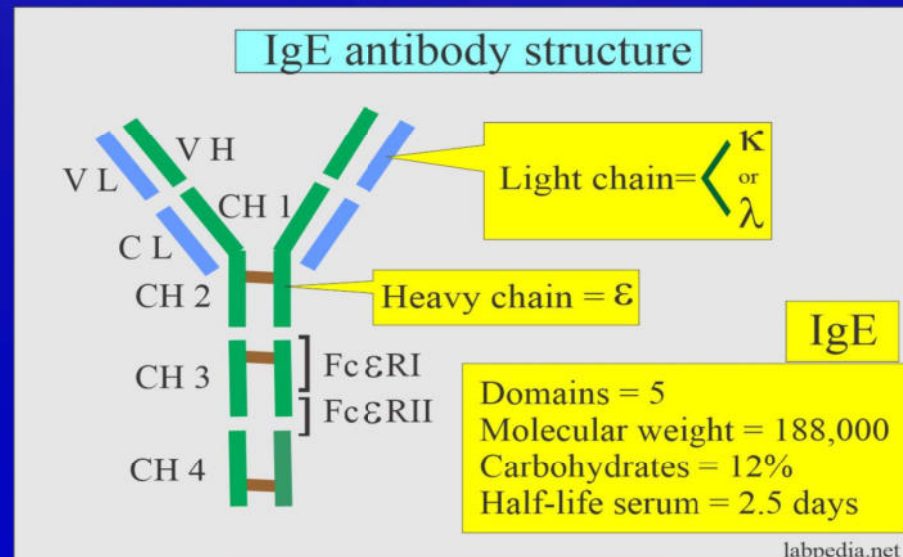
K Ishizaka, T Ishizaka, MM Hornbrook

Physico-chemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity J Immunol 1966 Jul;97(1):75-85.

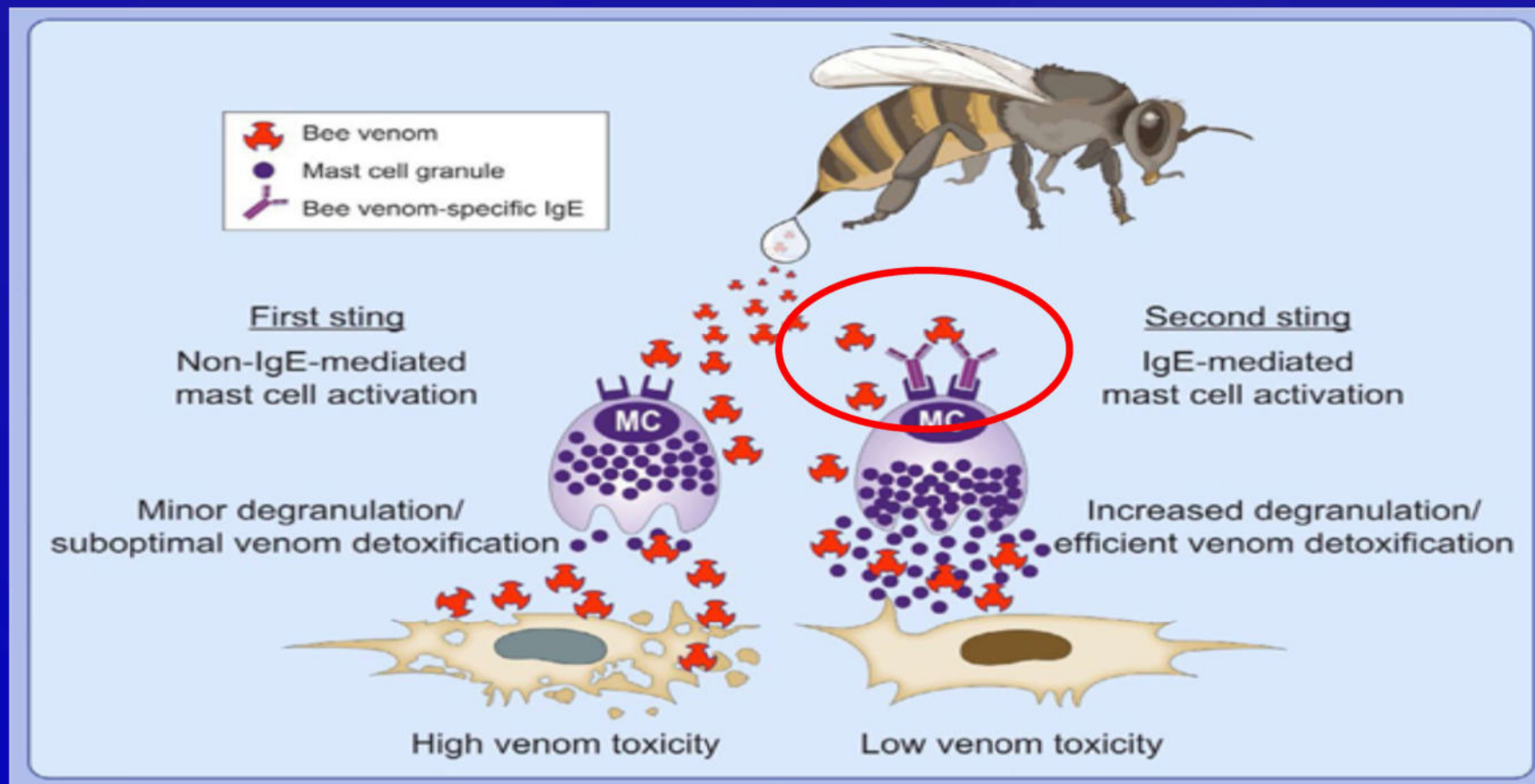


Johansson SG, Bennich H.

Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobulin. Immunology. 1967;13(4):381-394.

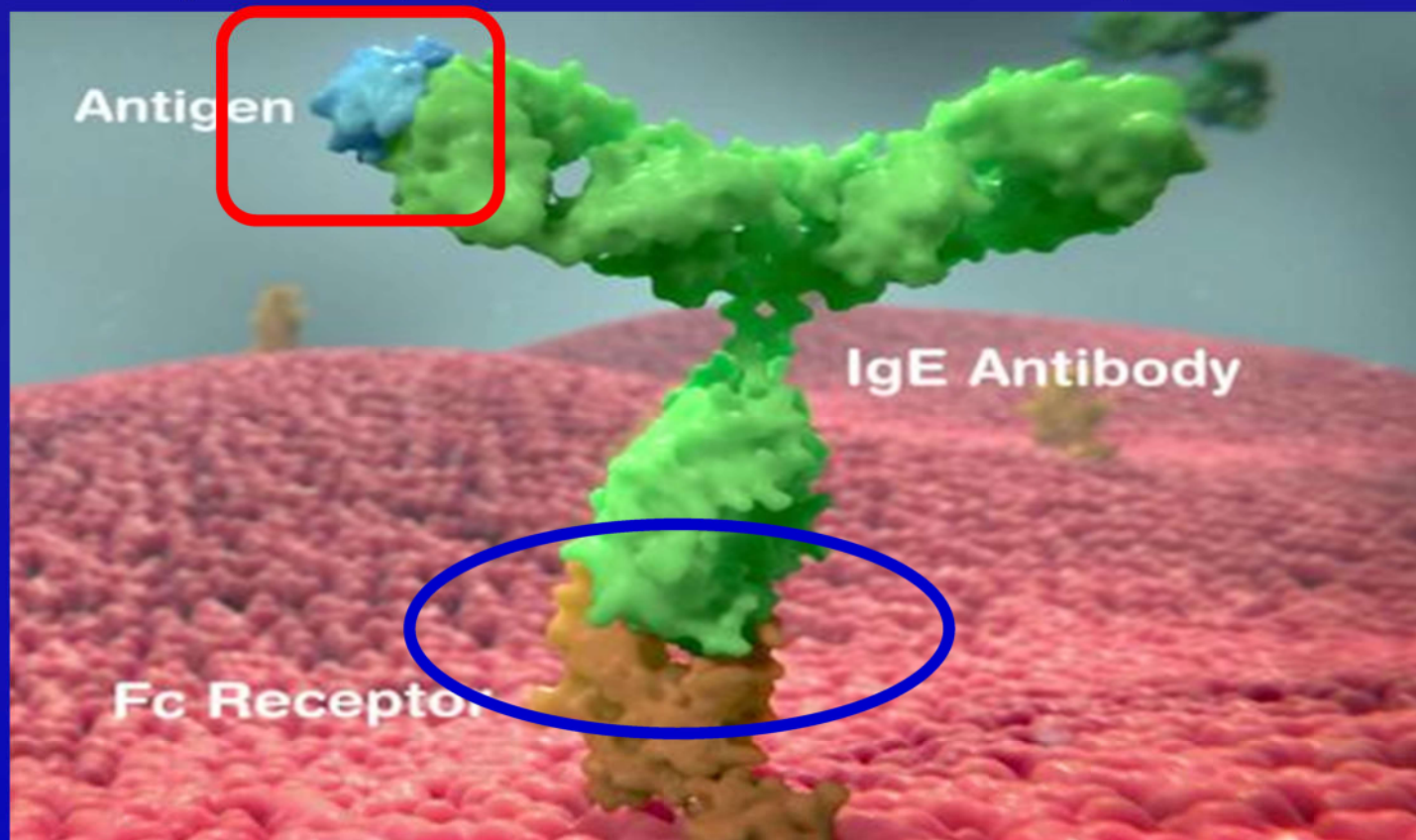


Продукция IgE – аТ, как протективный иммунный ответ против токсинов



Philipp Starkl et al. IgE antibodies increase honeybee venom responsiveness and detoxification efficiency of mast cells *Allergy*. 2022 Feb;77(2):499-512..

IgE-антитела обладают свойством фиксации к FcR поверхности тучных клеток и базофилов кожи и слизистых оболочек, сенсibiliзируя эти клетки при непосредственном контакте с аллергеном.



Не все IgE-антитела циркулируют в свободном русле, оставаясь фиксированными на поверхности клеток слизистых оболочек

1980 г.

«Трое в лодке»,

Идея создания систематической номенклатуры аллергенов
13th Symposium of the Collegium Internationale Allergologicum



David Marsh (USA),



Henning Løwenstein (Denmark)

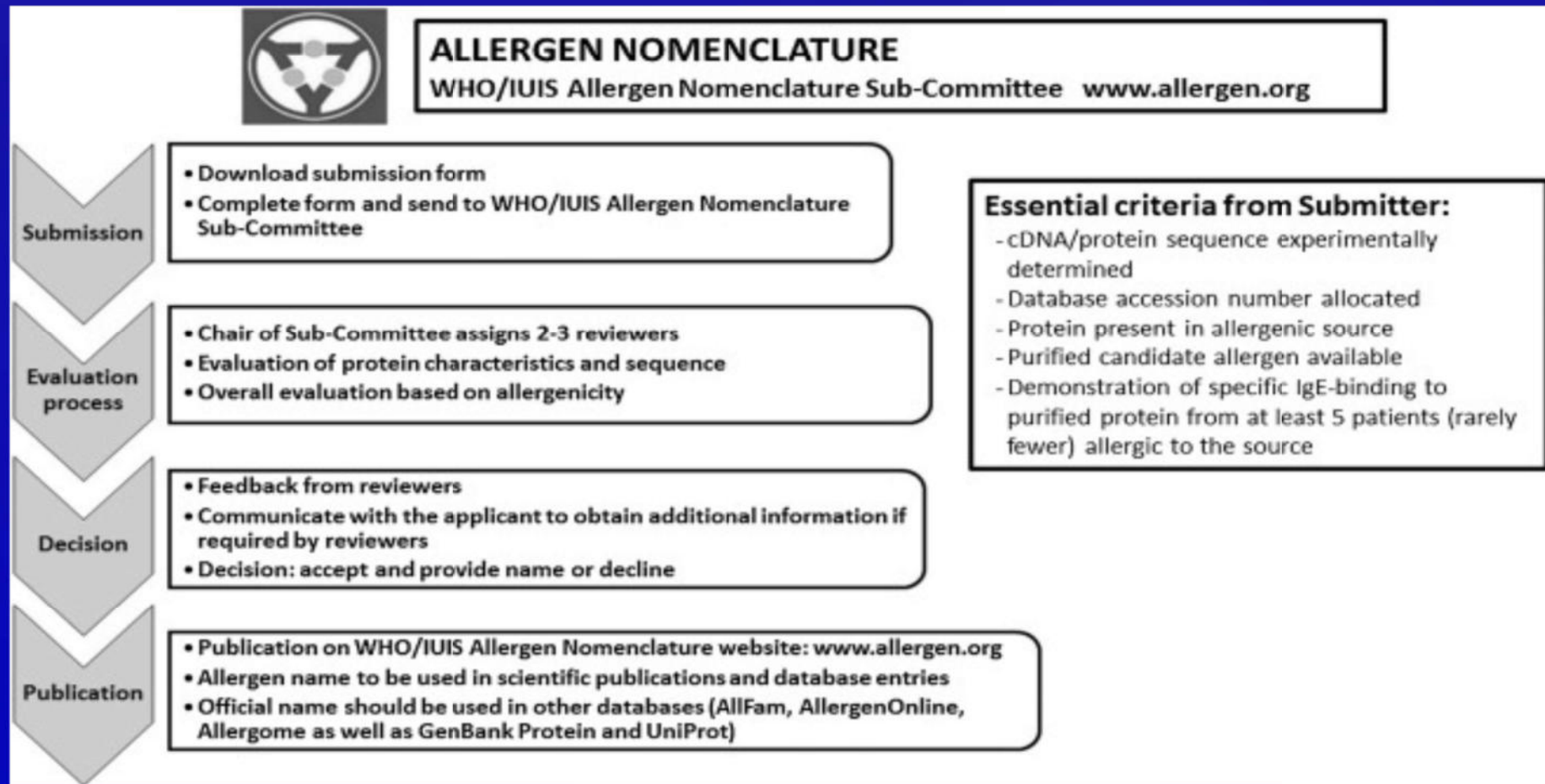


Thomas Platts-Mills (UK)

В июле 1980 г в г Констанц, Германия состоялся симпозиум Collegium Internationale Allergologicum. Трое всемирно – известных лидеров во время прогулки на лодке по Боденскому озеру обсудили концепцию создания номенклатуры аллергенов.

C 1986

www.allergen.org



Система номенклатуры была впервые описана в Бюллетене ВОЗ комитетом клиницистов в 1986г

1989



Ученый, впервые предложивший
методологию **МИКРОЧИПОВ.**

“В основе любого молекулярного
события лежит макрофеномен.”

“Клинический симптом – макрофеномен”

“Лабораторный тест –
объективный биомаркер”

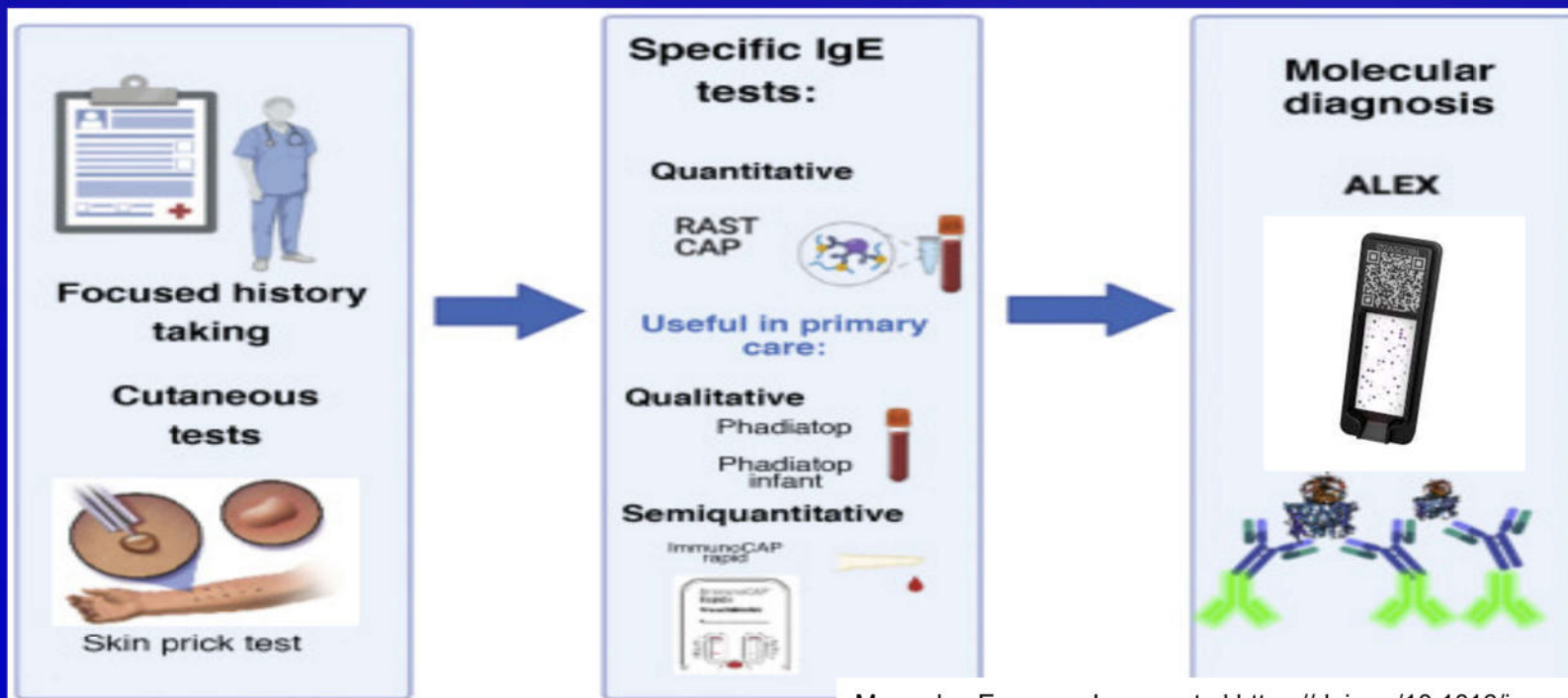
**Мирзабеков Андрей
Дарьевич (1937-2003)**

Российский биохимик, директор Института
молекулярной биологии АН СССР,
Директор центра технологии биологических
чипов Аргоннской национальной лаборатории,
академик АН СССР (РАН),
автор свыше 300 работ и изобретений.

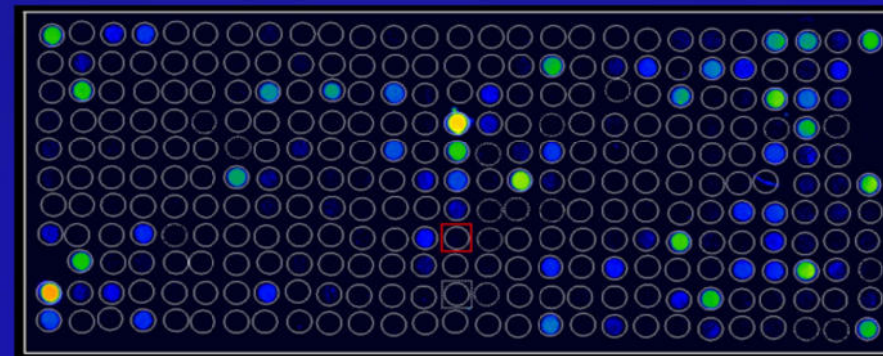
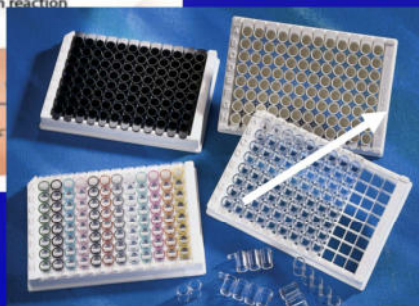
Khrapko K, Lysov Yu, Khrolyn A, Shick V,
Florentiev V, & **Mirzabekov A**
FEBS Lett 1989 V 259 N1-2; PP 118-122

Эволюция алергодиагностики

- ✓ Анамнез. Кожные пробы
- ✓ Скрининговые тесты (уровень общего IgE, IgE –aT к экстрактам аллергенов).
- ✓ **Высокоточный метод диагностики (PAMD) (ALEX –Allergy Explorer)) для оценки чувствительности к большому количеству аллергокомпонентов.**



Эволюция аллергодиагностики



**In vivo
экстракты**

**In vitro
экстракты**

**Отдельные
молекулы**

Multiplex

2017

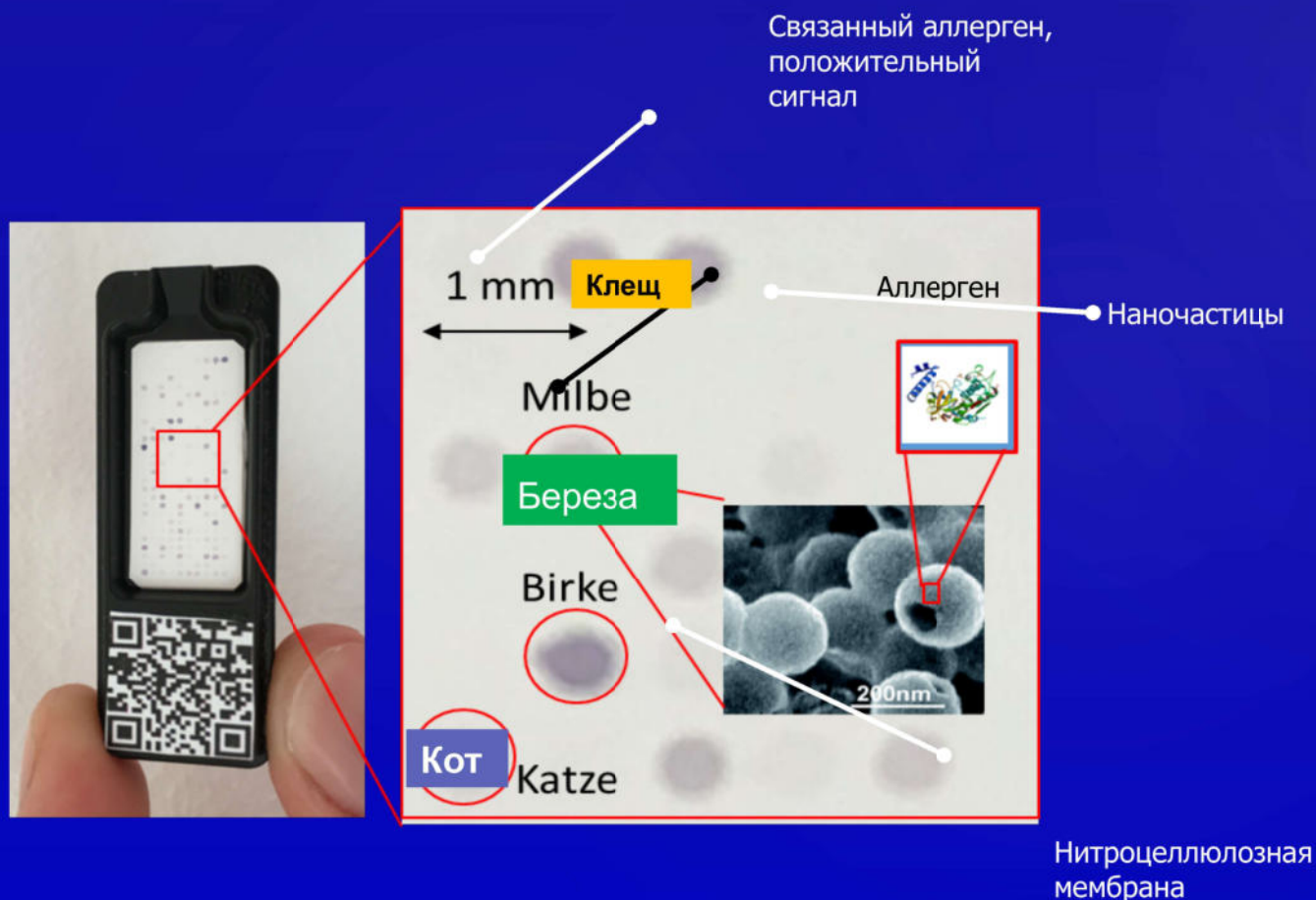
Высокоточная молекулярная диагностика аллергии
The Precision Allergy Molecular Diagnosis **PAMD**



Christian Harwanegg

- На наносферы матрицы микрочипа нанесено 300 аллергокомпонентов (120 **экстрактов** и 180 **молекул**)
- Есть зона тестирования на общий IgE (включен в микрочип)
- Для полного аллергокартирования достаточно 100 мкл сыворотки крови
- Наименования аллергенов соответствуют международной номенклатуре
- Анализатор **Imagexplorer** – компактный (тест от одного образца)
- FEATURE - блокировка IgE-аТ к углеводородным детерминантам (CCD), нет неспецифических и ложноположительных результатов!

Структура чипа ALEX 2



1. Аллергокомпоненты соединены с наночастицами
2. Наночастицы (микросферы) нанесены на нитроцеллюлозную мембрану чипа
3. IgE-аТ + аллергены=ИК
4. Добавление субстрата
5. Измерение интенсивности реакций (ELISA)
6. Интенсивность цвета, определяет уровень IgE-аТ (в **стандартных международных единицах kU/L**)



Клинический случай. Анастасия 7 лет.

Аллергия? Да или нет!



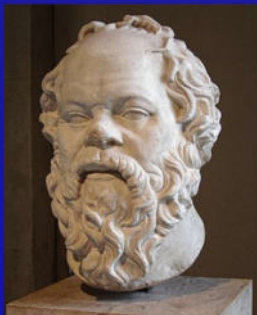
Ошибочная верификация диагноза АБКМ.
Строжайшая элиминационная диета до 8 лет.

1. Гипердиагностика аллергии к белкам молока
2. Недостаточная оценка анамнеза заболевания
3. Некачественные методы диагностики и их неправильная интерпретация без учета клинической картины заболевания
4. Запрет грудного вскармливания при отсутствии каких-либо показаний

Продукты животного происхождения

Молоко

Коровье молоко	Bos d_milk	E		≤ 0,10
Коровье молоко	Bos d 4	M	α-Lactalbumin	≤ 0,10
Коровье молоко	Bos d 5	M	β-Lactoglobulin	≤ 0,10
Коровье молоко	Bos d 8	M	Casein	≤ 0,10
Верблюжье молоко	Cam d	E		≤ 0,10
Козье молоко	Cap h_milk	E		≤ 0,10
Кобылье молоко	Equ c_milk	E		≤ 0,10
Овечье молоко	Ovi a_milk	E		≤ 0,10



«Я знаю, что ничего не знаю». Сократ.

Клинический случай. Кирилл 13 лет.

Клинические проявления АРК на пыльцу деревьев.

Данных за астму нет.

После длительной ингибиции углеводородных детерминант (CCD)

Лабораторный отчет: краткое изложение информации об исследуемой сенсibilизации					
Пыльца	Пыльца злаков	4	Семейства перекрестно-реагирующих аллергенов	Полкальцин	0
	Пыльца деревьев	4		Профилин	4
	Пыльца сорняков	4		PR-10	4
Клещи	Домашние пылевые клещи и Амбарные клещи	1		Семейство Ole e 1	4
Микроорганизмы	Плесень и дрожжевые грибы	4		LTPs (белки-переносчики липидов)	2
Продукты растительного происхождения	Бобовые культуры	3		Запасные белки	4
	Злаки	3		Липокалин	4
	Специи	4		NPC2	1
	Фрукты	4		Serum albumin	0
	Овощи	3		Парвальбумин	2
Продукты животного происхождения	Орехи и семена	4		Тропomiозин	0
	Молоко	0	CCD (перекрестно-реактивные углеводные детерминанты)	4	
	Яйцо	0	Утероглобин	0	
	Рыба и морепродукты	2	Аргининкиназа	0	
Мясо домашних животных и насекомых	Мясо домашних животных и насекомых	0	Общий IgE (kU/L)	> 2500	
	Муравей, Пчела, Оса	1			
Таракан	0				
Перхоть животных	Домашние животные	4			
	Домашний скот	0			
Другие	Латекс	4			
	Фикус и Хмель	2			
	CCD	4			
	Паразит	0			



Аллергия? Да или нет!

Острая жизнеугрожающая реакция после первого введения
коровьего молока.

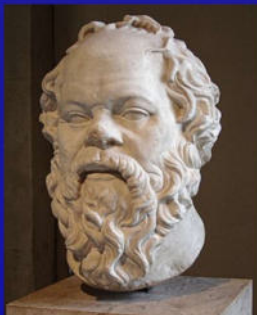
Острый ангионевротический отек. Острая крапивница. Анафилаксия.

Продукты животного происхождения

Молоко

Коровье молоко	Bos d_milk	E		26,71
Козье молоко	Cap h_milk	E		16,80
Коровье молоко	Bos d 8	M	Casein	16,01
Овечье молоко	Ovi a_milk	E		14,20
Верблюжье молоко	Cam d	E		10,44
Кобылье молоко	Equ c_milk	E		8,22
Коровье молоко	Bos d 4	M	α -Lactalbumin	7,89
Коровье молоко	Bos d 5	M	β -Lactoglobulin	3,11

Яйцо



«Я знаю, что ничего не знаю». Сократ.
Клинический случай. Елена 25 лет.

Атопический дерматит, поражение кожи головы и шеи.

Лабораторный отчет: краткое изложение информации об исследуемой сенсибилизации

Пыльца	Пыльца злаков	4	Семейства перекрестно-реагирующих аллергенов	
	Пыльца деревьев	4		Полкальцин 4
	Пыльца сорняков	4		Профилин 3
Клещи	Домашние пылевые клещи и Амбарные клещи	2		PR-10 4
Микроорганизмы	Плесень и дрожжевые грибы	4		Семейство Ole e 1 3
	Бобовые культуры	3		LTPs (белки-переносчики липидов) 3
Продукты растительного происхождения	Злаки	3		Запасные белки 1
	Специи	0		Липокалин 4
	Фрукты	3		NPC2 0
	Овощи	3		Serum albumin 2
	Орехи и семена	4		Парвальбумин 2

Плесень и дрожжевые грибы

Дрожжи

Malassezia sympodialis	→ Mala s 11	M	Mn Superoxid-Dismutase	42,03
Malassezia sympodialis	Mala s 5	M	unknown	15,27
Malassezia sympodialis	Mala s 6	M	Cyclophilin	≤ 0,10
Пекарские дрожжи	Sac c	E		≤ 0,10

Плесневые грибы

Aspergillus fumigatus	Asp f 6	M	Mn Superoxid-Dismutase	17,09
-----------------------	---------	---	------------------------	-------

0	1	2	3	4
Отрицательный или неопределенный	Низкий уровень Ig E	Умеренный уровень IgE	Высокий уровень IgE	Очень высокий уровень IgE

Варианты сенсibilизации к мажорным аллергенам клещей домашней пыли (клинические случаи)

Европейский клещ домашней пыли

Американский клещ домашней пыли	Der f 1	M	Cysteine protease	7.59
Американский клещ домашней пыли	Der f 2	M	NPC2 Family	47.45
Европейский клещ домашней пыли	Der p 1	M	Cysteine protease	25.81
Европейский клещ домашней пыли	Der p 2	M	NPC2 Family	48.51
Европейский клещ домашней пыли	Der p 5	M	unknown	19.34
Европейский клещ домашней пыли	Der p 7	M	Mites, Group 7	≤ 0.1
Европейский клещ домашней пыли	Der p 10	M	Tropomyosin	17.58
Европейский клещ домашней пыли	Der p 11	M	Миозин, тяжелая цепь	≤ 0.1
Европейский клещ домашней пыли	Der p 20	M	Arginine kinase	≤ 0.1
Европейский клещ домашней пыли	Der p 21	M	unknown	22.64
Европейский клещ домашней пыли	Der p 23	M	Peritrophin-like protein domain	9.91

Амбарный клещ

Acarus siro (амбарный или мучной клещ)	Aca s	E		1.22
Blomia tropicalis	Blo t 5	M	Mites, Group 5	6.26
Blomia tropicalis	Blo t 10	M	Tropomyosin	18.09
Blomia tropicalis	Blo t 21	M	unknown	≤ 0.1
Glycyphagus domesticus	Gly d 2	M	NPC2 Family	1.34
Lepidoglyphus destructor	Lep d 2	M	NPC2 Family	1.73
Tyrophagus putrescentiae	Tyr p	E		≤ 0.1
Tyrophagus putrescentiae	Tyr p 2	M	NPC2 Family	≤ 0.1

Варианты сенсibilизации к мажорным аллергенам клещей домашней пыли (клинические случаи)

Der f 1	M	Cysteine protease	≤ 0.1
Der f 2	M	NPC2 Family	35.91
Der p 1	M	Cysteine protease	≤ 0.1
Der p 2	M	NPC2 Family	38.39
Der p 5	M	unknown	4.33
Der p 7	M	Mites, Group 7	6.56
Der p 10	M	Tropomyosin	1.75
Der p 11	M	Myosin, heavy chain	≤ 0.1
Der p 20	M	Arginine kinase	≤ 0.1
Der p 21	M	unknown	2.66
Der p 23	M	Peritrophin-like protein domain	0.71

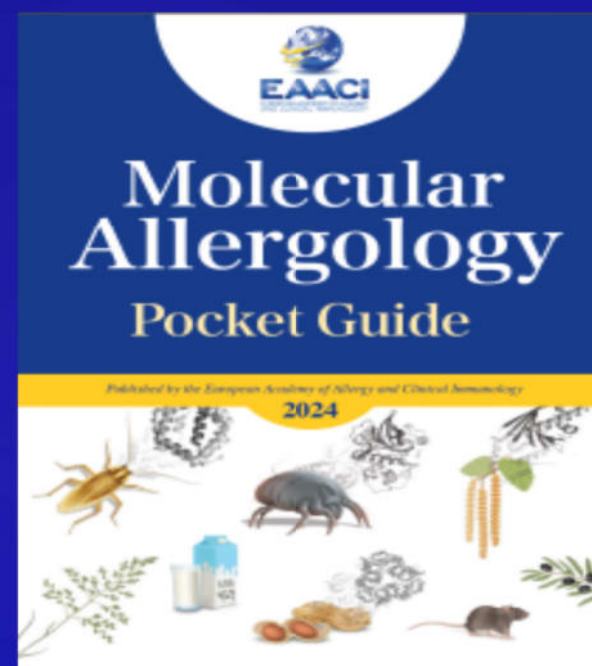
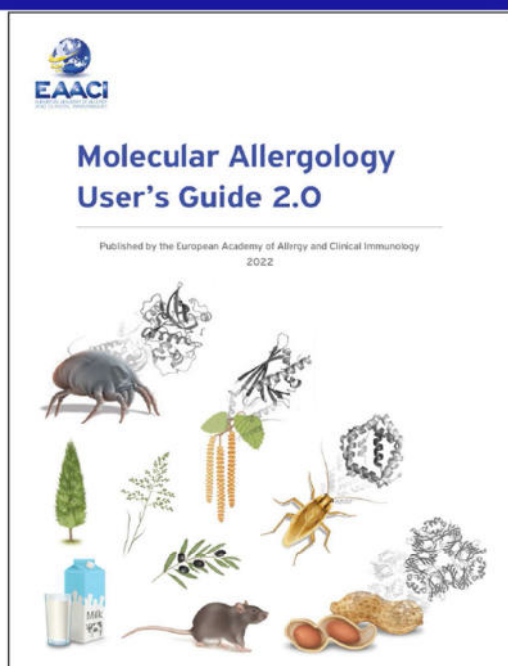
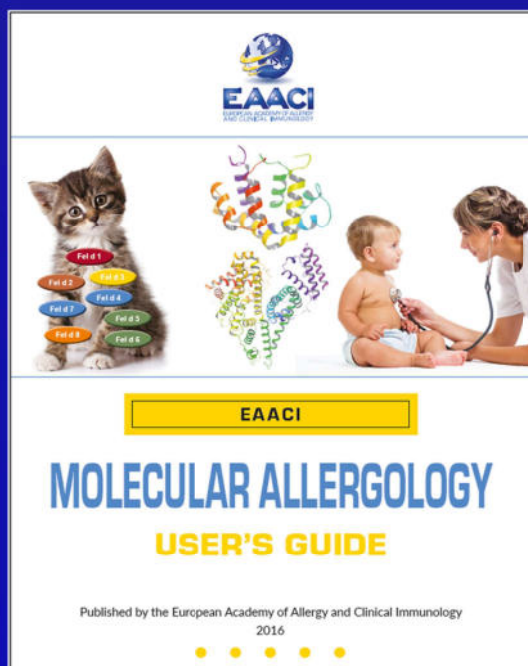
M	Cysteine protease	49.27
M	NPC2 Family	47.49
M	Cysteine protease	16.15
M	NPC2 Family	50
M	unknown	≤ 0.1
M	Mites, Group 7	≤ 0.1
M	Tropomyosin	0.16
M	Myosin, heavy chain	≤ 0.1
M	Arginine kinase	≤ 0.1
M	unknown	≤ 0.1
M	Peritrophin-like protein domain	≤ 0.1

Высокоточная молекулярная аллергодиагностика. Кому, как и зачем?!

- Характеристика структуры сенсibilизации
- Верификация клинического фенотипа аллергопатологии
- Прогноз риска жизнеугрожающих аллергических реакций.
- Назначение элиминационной диеты
- Рекомендации по соблюдению гипоаллергенного быта (животные, пироглифидные клещи , плесневые грибы)
- Определение показаний и противопоказаний к проведению аллергенной иммунотерапии (АСИТ).
- Определение компонентного состава аллергенной вакцины
- Прогноз эффективности АСИТ

Эпидемиологические исследования с использованием RAMD

- Популяционная структура сенсibilизации в различных регионах планеты.
- Различия в структуре сенсibilизации у жителей города и деревни.
- Мониторинг динамики развития новой сенсibilизации в различных возрастных группах.
- Соотношение тяжести аллергических заболеваний и профиля сенсibilизации.
- Прогнозирование тяжести развития аллергопатологии в зависимости от биомаркеров и сенсibilизации к определенным компонентам.



Мокроносова Марина
Адольфовна, д.м.н.,
профессор, г.Москва

ФГБНУ НИИВС им
И.И.Мечникова
Центр Аллергологии им
А.Д.Адо

