

**ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. М. І. ПИРОГОВА
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ФТИЗІАТРІЇ І ПУЛЬМОНОЛОГІЇ
ІМ. Ф. Г. ЯНОВСЬКОГО
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

БОГОМОЛОВ АРТЕМІЙ ЄВГЕНІЙОВИЧ

УДК 612.017.3:616-079

ДИСЕРТАЦІЯ

**ОПТИМІЗАЦІЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АЛЕРГОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ
БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ ТА АЛЕРГІЧНОГО РИНИТУ**

14.01.29 – клінічна алергологія

222 – медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



А. Є. Богомолів

Науковий консультант Зайков Сергій Вікторович, доктор медичних наук,
професор

Київ – 2020

АНОТАЦІЯ

Богомолов А. Є. Оптимізація специфічної алергологічної діагностики бронхіальної астми та алергічного риніту. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.29 – клінічна алергологія (222 – медицина) – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Державна установа «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського Національної академії медичних наук України», Київ, 2020.

Дисертаційну роботу присвячено актуальній проблемі клінічної алергології – удосконаленню специфічної алергологічної діагностики алергічного риніту та бронхіальної астми шляхом компонентного аналізу екстрактів діагностичних алергенів, визначення їх регіональних особливостей, аналізу результатів застосування екстрактів алергенів різних виробників, використання медичної термографії для підвищення об'єктивності оцінки результатів шкірних прик-тестів з алергенами, проведення порівняльного дослідження різних методів визначення сенсibiliзації до алергенів, комплексного клінічного та лабораторного аналізу діагностичної значущості екстрактів різних груп алергенів, оптимізації підходів до визначення профілю сенсibiliзації у відповідних категорій пацієнтів.

В дисертаційному дослідженні проведено компонентний аналіз екстрактів алергенів вітчизняного виробництва з визначенням мажорних, мінорних та баластних компонентів. Встановлено, що аналізи спектрограм діагностичних алергенів показують наявність мажорних та мінорних компонентів в більшості проаналізованих випадків. Для алергенів кліщової групи визначено наявність у алергенах *Dermatophagoides pteronyssinus* – Der p1 з молекулярною масою 24 kDa, *Dermatophagoides farinae* – Der f1 з молекулярною вагою 27 kDa, *Acarus siro* – Aca s13 з молекулярною масою 15 kDa), у пилкових алергенах дерев: берези – Bet v1 з молекулярною масою 17

kDa, мінорного компоненту Bet v3 (24 kDa), вільхи – Aln g1 з молекулярною масою 18 kDa, грабу – мажорного компоненту Car b1 (17 kDa).

Для пилоквих алергенів трав визначено наявність у алергенах жита – Sec c38 з молекулярною масою 13,5 kDa, мінорних компонентів Sec c5 (30 kDa) та Sec c20 (70 kDa), полину – Art v1 з молекулярною масою 28 kDa, костриці – Fes p4 з молекулярною масою 60 kDa, соняшника – Hel a1 з молекулярною масою 34 kDa, мінорних компонентів Hel a2 (14,7 kDa) та Hel a6 (42 kDa), пажитниці багаторічної – Lol p1 (27 kDa) та мінорних компонентів Lol p4 (57 kDa), Lol p11 (16 kDa), Lol p2-Lol p 3 (молекулярна маса 11 kDa), тимофіївки лугової – мажорного компоненту Phl p5 (32 kDa) та мінорних компонентів Phl p4 (55 kDa), Phl p2 (10-12 kDa), кукурудзи звичайної – мажорного компоненту Zea m1 (25-35 kDa) та мінорного компоненту Zea m12 (14 kDa), амброзії – мінорного компоненту Amb a3 (11 kDa), грястиці збірної – мажорного компоненту Dac g1 (32 kDa) та мінорних компонентів Dac g4 (60 kDa), Dac g2 та Dac g3 (11 kDa та 14 kDa).

Для епідермальних алергенів визначено, що у алергені шерсті собаки наявний мажорний компонент Can f1 (ліпокалін) з молекулярною масою 23kDa, мінорні компоненти Can f2 (19 kDa) та Can f3 (69 kDa), шерсті кішки – мажорний компонент Fel d1 з молекулярною масою 38kDa, мажорний компонент Fel d4 (22 kDa), мінорні компоненти Fel d2 (69 kDa) та Fel d3 (11 kDa).

Окрім того, ряд діагностичних алергенів – шерсть собаки, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, береза, вільха, жито, костриця, соняшник, пажитниця, кукурудза, грястиця – містять в розчинах неалергенні баластні білки.

У виконаній роботі було оцінено компонентний склад та експресію Bet v1 (мажорний алерген берези) зразків пилку берези різних регіонів України. Встановлено, що мінорні компоненти в складі пилку можуть варіювати в залежності від екології місця зростання дерева та клімато-географічних умов зростання рослин. При цьому всі зразки пилку містили мажорні білки, що дає

можливість використовувати сировину для виготовлення діагностичних екстрактів алергенів, однак стандартизації за білковими одиницями азоту може бути недостатньо. Окрім того, всі зразки містили різну експресію Bet v1 (в зразках з міст Вінниці та Харкова експресія Bet v1 становила в середньому 0,6 від калібратора (зразка стандартного екстракту алергену), з м. Львова – 0,7 від калібратора, з міст Києва та Одеси – 1,2 рівня експресії калібратора, а м. Запоріжжя – 1,3 рівня експресії калібратора) – головного мажорного білка алергену берези, що свідчить про їх різну алергенність.

В результаті виконання дисертаційної роботи встановлено, що відсутність чітких підходів до стандартизації алергенних екстрактів та, вірогідно, пов'язаний із цим різний компонентний склад екстрактів можуть мати певне діагностичне значення у верифікації сенсibilізації у пацієнтів з IgE-опосередкованими респіраторними алергічними захворюваннями. Результати порівняння шкірного тестування з аналогічними за складом мікст-екстрактами діагностичних алергенів показали систематичне розходження розмірів діаметрів папул (середня різниця між вимірами дорівнювала 1,2 мм, що свідчить про наявність систематичної розбіжності), що в певних граничних випадках може спричинити кардинально іншу інтерпретацію результатів специфічної алергодіагностики і мати значення для подальшого обстеження пацієнтів, елімінації причинних факторів та алерген-специфічної імунотерапії відповідних категорій осіб.

Встановлено, що використання медичної термографії покращує та об'єктивізує оцінку результатів шкірного тестування. При порівнянні результатів візуального та термографічного вимірювань і розміру папули виявлено високий коефіцієнт кореляції між оцінкою тестів ($r = 0,9$), однак різниця між розмірами папули становила в середньому 1,6 мм. Десять тестів були візуально інтерпретовані як негативні, а термографічно – як сумнівні. Однак, результати візуального аналізу алергологом та термографічного вимірювання співпали лише в 70 % випадків. Абсолютну відповідність

результатів клінічного та термічного зображення відзначено лише для негативних тестів.

Установлено, що визначення сенсibiliзації до алергенів за допомогою імуноблоту К - імуноблоту в порівнянні з шкірним тестуванням методом прик-тесту володіє відмінною діагностичною значимістю (площа AUC 0,900 – 0,965) для кліщових алергенів *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronissinus*, епідермальних алергенів шерсті кішки, собаки, хом'яка та лупи коня, пилоквих алергенів берези, ліщини, вільхи, подорожника, полину, дуже доброю діагностичною значимістю (площа AUC 0,8 – 0,9) для алергенів жита і дуба, незадовільною діагностичною значимістю (площа AUC менше 0,6) для алергенів шерсті морської свинки та кролика.

Визначено, що різні лабораторні методи визначення сенсibiliзації до різних алергенів при порівнянні їх результатів з даними шкірного тестування демонструють різну діагностичну значимість. Визначення сенсibiliзації до алергенів за допомогою НК- імуноблоту в порівнянні з шкірним тестуванням методом прик-тесту володіє відмінною діагностичною значимістю (площа AUC 0,900 – 0,965) для алергенів подорожника та шерсті кішки, дуже доброю діагностичною значимістю (площа AUC 0,8 – 0,9) для алергенів жита і дуба, доброю діагностичною значимістю (площа AUC 0,8 – 0,7) для кліщових алергенів *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronissinus*, епідермальних алергенів шерсті собаки та лупи коня, пилоквих алергенів берези, ліщини, вільхи, полину, незадовільною діагностичною значимістю (площа AUC менше 0,6) для алергенів шерсті морської свинки, хом'яка та кролика.

Отримано наукові дані, що аналогічним чином різні лабораторні методи визначення сенсibiliзації до різних алергенів при порівнянні їх результатів між собою демонструють різну специфічність та чутливість. При визначенні сенсibiliзації до алергену берези К- імуноблот у порівнянні з молекулярним компонентним тестуванням виявляється високоспецифічним (96,8 %) і низькочутливим (77,8 %), до алергену полину –

високоспецифічним (100 %) та високочутливим (96,7 %), до алергену вільхи – високочутливим (95,7 %) та помірно специфічним (88,2 %), а для алергену ліщини – високочутливим (92,9 %) та низькоспецифічним (75 %). При визначенні сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* К - імуноблот в порівнянні з молекулярним компонентним тестуванням виявляється високоспецифічним (100,0 %) та низькочутливим (70,6 %), до алергену *Dermatophagoides farinae* високоспецифічним (100 %) та помірно чутливим (88,9 %), до шерсті собаки – високоспецифічним (100 %) та помірно чутливим (82,4 %), до шерсті кішки – високоспецифічним (100 %) та високочутливим (93,9 %). При визначенні сенсibilізації до алергену *Alternaria alternata* К - імуноблот в порівнянні з молекулярним компонентним тестуванням виявився високоспецифічним (100 %) та високочутливим (100 %), до алергену *Aspergillus fumigatus* К - імуноблоту в порівнянні з молекулярним компонентним тестуванням виявився високоспецифічним (100 %) та низькочутливим (0 %), до алергену *Cladosporium* sp. К - імуноблот в порівнянні з молекулярним компонентним тестуванням виявився високоспецифічним (100 %) та високочутливим (20 %).

У ході дисертаційної роботи розроблено алгоритми оптимізації діагностичного пошуку при підозрі на сенсibilізацію до алергенів кліщової, епідермальної груп та пилку берези, коли замість класичної діагностичної схеми рекомендовано використовувати модифіковану схему, в якій при відсутності позитивного результату визначення сенсibilізації за допомогою прик-тестів або імуноблоту в якості первинного методу рекомендується молекулярне компонентне обстеження. З метою оптимізації діагностичного пошуку при підозрі на сенсibilізацію до алергенів грибової групи (*Alternaria alternata*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus fumigatus*) слід використовувати алгоритм «згори вниз», коли в якості первинного методу обстеження одразу обирається компонентна алергодіагностика. Для оптимізації діагностичного пошуку при підозрі на сенсibilізацію до алергену

полину пропонується класичний діагностичний пошук, який розпочинається з шкірного тестування методом прик-тесту (за наявності протипоказів – з імуноблоту), за необхідності в подальшому виконується компонентний молекулярний тест; для алергенів ліщини та вільхи – шкірне тестування у якості первинного обстеження та виконання в подальшому за необхідності компонентного молекулярного тесту.

Ключові слова. Бронхіальна астма, алергічний риніт, шкірне тестування, прик-тест, імуноблоту, мультиплексне компонентне тестування.

THESIS BRIEF

Bogomolov A.Ye. Optimization of specific allergological diagnostics of bronchial asthma and allergic rhinitis. – Manuscript.

Doctoral dissertation in the specialty 14.01.29 - Clinical Allergology – National Pirogov memorial medical university, Vinnytsya, State Organization “National Institute of Phthisiology and Pulmonology Named after F.G. Yanovsky of National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, 2020.

The thesis is dedicated to a topical problem of clinical allergology consisting in improving the specific allergological diagnostics of allergic rhinitis and bronchial asthma using the component-resolved analysis of diagnostic allergen extracts; determining regional differences; analyzing the results of administering allergen extracts from different manufacturers; using the medical thermography for better objectivity of evaluation of allergen skin prick test results; comparative evaluation of different methods of allergen sensitization; comprehensive clinical and laboratory analysis of diagnostic significance of different groups of allergen extracts; and optimization of approaches to determining the sensitization profile of certain patient categories.

In the thesis the component analysis of extracts of allergens with determination of major, minor and ballast components was done. It is established that analyzes of spectrograms of diagnostic allergens show the presence of major

and minor components in most of the analyzed cases. For mite allergens, the presence in allergens *Dermatophagoides pteronyssinus* - Der p1 with a molecular weight of 24 kDa, *Dermatophagoides farinae* - Der f1 with a molecular weight of 27 kDa, *Acarus siro* - Aca s13 with a molecular weight of 15 kDa), in pollen trees allergens: in birch allergen - Bet v1 with a molecular weight of 17 kDa, the minor component Bet v3 (24 kDa), in alder - Aln g1 with a molecular weight of 18 kDa, in hornbeam - the major component Car b1 (17 kDa) was found.

For pollen grass allergens, the presence in rye allergen - Sec c38 with a molecular weight of 13.5 kDa, minor components Sec c5 (30 kDa) and Sec c20 (70 kDa), wormwood - Art v1 with a molecular weight of 28 kDa, fireweed - Fes p4 with a molecular weight of 60 kDa, sunflower - Hel a1 with a molecular weight of 34 kDa, minor components Hel a2 (14.7 kDa) and Hel a6 (42 kDa), fenugreek - Lol p1 (27 kDa) and minor components Lol p4 kDa), Lol p11 (16 kDa), Lol p2-Lol p 3 (molecular weight 11 kDa), timothy meadow - major component Phl p5 (32 kDa) and minor components Phl p4 (55 kDa), Phl p2 (10-12 kDa), maize - major component of Zea m1 (25-35 kDa) and minor component of Zea m12 (14 kDa), ragweed - minor component of Amb a3 (11 kDa), grassland - major component of Dac g1 (32 kDa) and minor components Dac g4 (60 kDa), Dac g2 and Dac g3 (11 kDa and 14 kDa) was found.

For epidermal allergens, it has been determined that the dog hair allergen contains a major component of Can f1 (lipocalin) with a molecular weight of 23 kDa, minor components of Can f2 (19 kDa) and Can f3 (69 kDa), and of a cat hair - a major component of Fel d1 with a molecular weight of , major component Fel d4 (22 kDa), minor components Fel d2 (69 kDa) and Fel d3 (11 kDa).

In addition, a number of diagnostic allergens - dog hair, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, birch, alder, rye, fire, sunflower, fenugreek, corn, and buckthorn - contain non-allergenic ballast proteins in solutions.

The component composition and expression of Bet v1 (major birch allergen) of birch pollen samples from different regions of Ukraine were evaluated in this

work. It was found that the minor components in the composition of pollen could vary depending on the ecology of the tree and the climatic and geographical conditions of plant growth. All pollen samples contained major proteins, which makes it possible to use raw materials for the manufacture of diagnostic extracts of allergens, but standardization by protein units of nitrogen may not be enough. In addition, all samples contained different expression of Bet v1 (in samples from the cities of Vinnytsia and Kharkiv, the expression of Bet v1 averaged 0.6 from the calibrator (sample of standard allergen extract), from Lviv - 0.7 from the calibrator, from the cities of Kyiv and Odesa - 1.2 levels of calibrator expression, and Zaporizhia - 1.3 levels of calibrator expression) - the main major protein of birch allergen, which indicates their different allergenicity.

As a result of the dissertation, it was found that the lack of clear approaches to the standardization of allergen extracts and, probably, the related different component composition of extracts may have some diagnostic value in verifying sensitization in patients with IgE-mediated respiratory allergic diseases. The results of comparison of skin testing with similar mixed extracts of diagnostic allergens showed a systematic difference in the size of the diameters of the papules (the average difference between the measurements was 1.2 mm, which indicates a systematic discrepancy), which in some extreme cases can lead to a radically different interpretation of the results of specific allergy diagnostics and be important for further examination of patients, elimination of causative factors and allergen-specific immunotherapy.

The use of medical thermography has been shown to improve and objectify the evaluation of skin test results. When comparing the results of visual and thermographic measurements and the size of the papule, a high correlation coefficient was found between the test score ($r = 0.9$), but the difference between the sizes of the papule averaged 1.6 mm. Ten tests were visually interpreted as negative and thermographically as doubtful. However, the results of visual analysis by an allergist and thermographic measurement coincided only in 70% of cases.

The absolute correspondence of the results of clinical and thermal imaging was noted only for negative tests.

It was found that the determination of sensitization to allergens using immunoblot K - immunoblot in comparison with skin testing by the prick-test method has excellent diagnostic value (AUC area 0,900 - 0,965) for mite allergens *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronissinus*, but epidermis horse and dandruff, pollen allergens of birch, hazel, alder, plantain, wormwood, very good diagnostic value (AUC area 0.8 - 0.9) for rye and oak allergens, unsatisfactory diagnostic value (AUC area less than 0.6) for guinea pig and rabbit allergens.

It is determined that different laboratory methods for determining sensitization to different allergens when comparing their results with skin testing data show different diagnostic value. Determination of sensitization to allergens using NK immunoblot in comparison with skin testing by the prick-test method has excellent diagnostic value (AUC area 0,900 - 0,965) for plantain and cat hair allergens, very good diagnostic value (AUC area 0,8 - 0,9) for rye and oak allergens, good diagnostic value (AUC area 0.8 - 0.7) for tick allergens *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronissinus*, epidermal allergens of dog hair and horse dandruff, pollen allergens of birch, hazel, alder, wormwood, wormwood significance (AUC area less than 0.6) for guinea pig, hamster and rabbit fur allergens.

Scientific data have been obtained that similarly different laboratory methods for determining sensitization to different allergens when comparing their results with each other demonstrate different specificity and sensitivity. When determining sensitization to birch allergen K-immunoblot in comparison with molecular component testing is highly specific (96.8%) and low-sensitive (77.8%), to wormwood allergen - highly specific (100%) and highly sensitive (96.7%), to alder allergen - highly sensitive (95.7%) and moderately specific (88.2%), and for hazel allergen - highly sensitive (92.9%) and low-specific (75%). When determining sensitization to the allergen *Dermatophagoides pteronyssinus* K -

immunoblot in comparison with molecular component testing is highly specific (100.0%) and low-sensitive (70.6%), to the allergen *Dermatophagoides farinae* highly specific (100%) and moderately sensitive), to dog hair - highly specific (100%) and moderately sensitive (82.4%), to cat hair - highly specific (100%) and highly sensitive (93.9%). When determining the sensitization to the allergen *Alternaria alternata* K - immunoblot compared to molecular component testing was highly specific (100%) and highly sensitive (100%), to the allergen *Aspergillus fumigatus* K - immunoblot compared to molecular component testing was found to be highly specific (100%) and low- sensitive (0%), to the allergen *Cladosporium* sp. K - immunoblot in comparison with molecular component testing was highly specific (100%) and highly sensitive (20%).

In the thesis the algorithms of optimization of diagnostic search at suspicion of sensitization to allergens of mite, epidermal groups and birch pollen when instead of the classical diagnostic scheme it is recommended to use the modified scheme in which in the absence of positive result of definition of sensitization by means of pre-tests or the primary method is recommended molecular component examination. In order to optimize the diagnostic search in case of suspicion of sensitization to allergens of the fungal group (*Alternaria alternata*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus fumigatus*), a top-down algorithm should be used, when component allergodiagnosics is immediately chosen as the primary examination method. To optimize the diagnostic search for suspected sensitization to wormwood allergen, a classic diagnostic search is proposed, which begins with the skin testing by the method of prik-test (in the presence of contraindications - from immunoblot), if necessary further the component molecular test is carried out; for hazelnut and alder allergens - skin testing as an initial examination and subsequent performance of a component molecular test if necessary.

Keywords. Bronchial asthma, allergic rhinitis, skin testing, prick-test, immunoblot, multiplex component testing.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

1. Bogomolov A. E. Correlation between skin prick test and MAST-immunoblot results in patients with airway allergies. *Астма та алергія*. 2015. № 1. С. 39–44. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, WorldCat, Dimensions та OUCI - Open Ukrainian Citation Index.*
2. Bogomolov A. E. Disagreement between skin prick test and specific IgE levels in patients with respiratory allergy (literature review and our own research data) // *Астма та алергія*. 2015. № 3. С. 51–56. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, WorldCat, Dimensions та OUCI - Open Ukrainian Citation Index.*
3. Богомолов, А. Є. Узгодженість результатів шкірного тестування методом прик-тесту та імуноблоту у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 25. С. 152–158. *Журнал зареєстровано у міжнародній наукометричній системі Google Scholar.*
4. Bogomolov A. Ye. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis // *Астма та алергія*. 2018. № 4. С. 25–28. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, WorldCat, Dimensions та OUCI - Open Ukrainian Citation Index.*
5. Bogomolov A. Ye. Diagnostic value of methods for alder (*Alnus incana*) allergen sensitization determination in people with respiratory allergy // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція*. 2019. № 2. С. 72–77. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, Science Index, Ulrich's Periodicals Directory, Scientific Indexing Services, ResearchBib, ICMJE, Polska Bibliografia Naukowa, CrossRef.*
6. Bogomolov A. Ye. Diagnostic value of methods for sensitization determination in people with allergic rhinitis // *Астма та алергія*. 2019. № 1. С. 44–49.

Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, WorldCat, Dimensions та OUCI - Open Ukrainian Citation Index.

7. Bogomolov A. Ye. Different methods of *Dermatophagoides farinae* sensitization determination in patients with respiratory allergy // Астма та алергія. 2019. № 2. С. 24–28. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, WorldCat, Dimensions та OUCI - Open Ukrainian Citation Index.*
8. Bogomolov A. Ye. Skin prick test versus Western blot specificity and sensitivity for mugwort (*Artemisia*) pollen sensitization determination in patients with respiratory allergy // Астма та алергія. 2019. № 4. С. 50–54. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, WorldCat, Dimensions та OUCI - Open Ukrainian Citation Index.*
9. Богомолів, А. Є., Дубчак Л. І. Порівняння діагностичних параметрів методів визначення сенсibiliзації до алергену *D. Pteronyssinus* у хворих на респіраторні алергічні захворювання // Оториноларингологія. 2019. № 4-5 (2). С. 19–26. *Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar та World Cat.*
10. Богомолів, А. Є. Порівняльний аналіз шкірного тестування методом прик-тесту та імуноблотування різних виробників у розрізі визначення сенсibiliзації до алергену берези у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями // Оториноларингологія. 2019. № 6(2). С. 20–27. *Журнал зареєстровано у міжнародній наукометричній системі Index Copernicus, Google Scholar та World Cat.*
11. Богомолів А. Є., Клименко Т. І. Використання антигістамінних препаратів у пацієнтів зі сверблячими дерматозами в практиці дерматолога (огляд літератури та результати власних досліджень) // Український журнал

- дерматології, венерології, косметології. 2019. №4. С. 95–101. Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, Science Index, Ulrich's Periodicals Directory, Scientific Indexing Services, ResearchBib, ICMJE, Polska Bibliografia Naukowa, CrossRef.
12. Bogomolov A. Ye. The component composition of mite and epidermal diagnostic allergens // Астма та алергія. 2020. № 2. С. 50–56. Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, WorldCat, Dimensions та OUCI - Open Ukrainian Citation Index.
 13. Bogomolov A. E., Zaikov S. V. Definition of sensitization to pollen allergens wormwood and hazel in patients with respiratory allergic diseases by immunoblot and multiplex component test // Імунологія та алергологія: наука і практика. 2020. № 1. С. 39–43. Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у міжнародній наукометричній системі Google Scholar.
 14. Bogomolov A. E. The component composition of diagnostic pollen allergen extracts // Український пульмонологічний журнал. 2020. № 2. С. 45–49. Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar.
 15. Gogunskaya I. Diagnostic parameters of in vivo (skin prick) and in vitro (ELISA) tests for determination of epidermal cat and dog allergens sensitization in patients with allergic rhinitis and atopic asthma / I. Gogunskaya, S. Zaikov, A. Bogomolov // Georgian medical news. 2020. №5. С. 76– 81. Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у

міжнародних наукометричних системах MEDLINE, SCOPUS, PubMed and VINITI Russian Academy of Sciences.

16. Богомолів А. Є., Зайков С. В. Визначення сенсibiliзації до пилоквих алергенів берези та вільхи у хворих на респіраторні алергічні захворювання за допомогою імуноблоту та мультиплексного компонентного тестування // Український пульмонологічний журнал. 2020. № 1. С. 15–18. *Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar.*
17. Богомолів, А. Є. Медична термографія в оцінці результатів шкірного тестування методом прик-тесту у пацієнтів з IgE-опосередкованими алергічними захворюваннями // Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2020. № 1. С. 76–80. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, Science Index, Ulrich's Periodicals Directory, Scientific Indexing Services, ResearchBib, ICMJE, Polska Bibliografia Naukowa, CrossRef.*
18. Богомолів, А. Є., Зайков С. В. Аналіз діагностичних параметрів імуноблотінгу різних виробників для визначення сенсibiliзації до кліщових та епідермальних алергенів у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями // Art of medicine. 2020. №1. С. 36–42. *Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у міжнародній наукометричній системі Google Scholar.*
19. Богомолів, А. Є., Зайков С. В. Аналіз діагностичних параметрів імуноблотінгу різних виробників для визначення сенсibiliзації до пилоквих алергенів у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями // Інфекційні хвороби. №1. 2020. С. 32–36. *Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у*

міжнародних наукометричних системах Google Scholar, CrossRef, Index Copernicus, Ulrich's Periodicals Directory, ROAD, BASE (Bielefeld Academic Search Engine).

20. Богомолів А. Є. Визначення сенсibilізації до алергену ліщини у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями: порівняння діагностичної цінності різних методів // Клінічна та експериментальна патологія. 2020. Том 19, №1. С. 16–19. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Academy (Google Scholar), Ukrainian Research&Academy Network (URAN), Academic Resource Index Research Bib, Index Copernicus International, Scientific Indexing Services, Ulrichswebtm Global Serials Directory.*
21. Богомолів А. Є. Сенсibilізація до алергену жита у пацієнтів з алергічним ринітом та атопічною бронхіальною астмою: порівняння діагностичних параметрів // Буковинський медичний вісник. 2020. Т.24, №1 (93). С. 28–34. *Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах UlrichswebTM Global Serials Directory, Google Scholar, Index Copernicus International, Scientific Indexing Services, Infobase Index, Ukrainian research & Academy Network (URAN),*
22. Богомолів А. Є. Визначення сенсibilізації до кліщових алергенів *D. pteronyssinus* та *D. farinae* у хворих на респіраторні алергічні захворювання за допомогою імуноблоту та мультиплексного компонентного тестування / А. Є. Богомолів, С. В. Зайков, О. П. Назаренко // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ – інфекція. 2020. №1. С. 43–48. *Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, Science Index, Ulrich's Periodicals Directory, Scientific Indexing Services, ResearchBib, ICMJE, Polska Bibliografia Naukowa, CrossRef.*

23. Богомолів, А.Є. Порівняльне дослідження шкірного тестування з екстрактами кліщових алергенів різних виробників для специфічної алергодіагностики у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями / А. Є. Богомолів, С. В. Зайков, Б. А. Стремедловський // Астма та алергія. 2020. № 1. С. 14–21. *Дисертантом здійснено огляд літератури, відбір та обстеження хворих, статистична обробка матеріалу і написання статті. Журнал зареєстровано у міжнародних наукометричних системах Index Copernicus, Google Scholar, WorldCat, Dimensions та OUCI - Open Ukrainian Citation Index.*
24. Pukhlik B. Thermography imaging as an objective technique for evaluation of allergic skin tests / B. Pukhlik, A. Bogomolov, V. Rodinkova, S. Zaykov. Allergy. 2016. Vol. 71. Special issue. P. 377.
25. Bogomolov A. Changes in molecular structure of silver birch pollen allergen in different climatic areas of Ukraine / Bogomolov A., Zaikov S. Allergy. 2016. Vol. 71. Special issue. P. 465.
26. Rodinkova V. Assessment of allergen specific IgE to pollen allergens in allergic patients from Central Ukraine / V. Rodinkova, A. Bogomolov, O. Bobelo, L. DuBuske. Allergy. 2017. Vol. 72. Special issue. P. 547–548.
27. Bogomolov A. Alternative method in allergy diagnosis // Allergy. 2017. Vol. 72. Special issue. P. 345.
28. Zaikov S. Comparison of the determination of sensitization to the dust – mite allergens in patients with respiratory allergies using the multiplex microarray test and western-blot test / S. Zaikov, A. Bogomolov, A. Nazarenko // Allergy. 2020. Vol. 75. Supplement 109. P. 355.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	22
ВСТУП	23
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	35
1.1 Бронхіальна астма та алергічний риніт як найбільш розповсюджені респіраторні алергічні захворювання	35
1.2 Методи діагностики сенсibiliзації до інгаляційних алергенів у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою.	48
1.2.1 Шкірне тестування з екстрактами алергенів методом прик-тесту	50
1.2.2 Методи визначення специфічного IgE	63
1.2.3 Молекулярні компонентні методи специфічної алергодіагностики	69
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	75
2.1 Загальна характеристика пацієнтів та дизайну дослідження	76
2.2 Клініко-лабораторні методи дослідження	80
2.3 Методи статистичної обробки результатів	101
РОЗДІЛ 3. ВИЗНАЧЕННЯ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ДІАГНОСТИЧНИХ АЛЕРГЕНІВ ВІТЧИЗНЯНОГО ВИРОБНИЦТВА ТА РЕГІОНАЛЬНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ АЛЕРГЕННОЇ СИРОВИНИ	105
3.1 Аналіз компонентного складу кліщових діагностичних алергенів	107
3.2 Аналіз компонентного складу пилкових діагностичних алергенів	109
3.3 Аналіз компонентного складу епідермальних діагностичних алергенів	118
3.4 Визначення регіональних особливостей сировини для виготовлення розчинів екстрактів діагностичних алергенів	121

РОЗДІЛ 4. ШКІРНЕ ТЕСТУВАННЯ З ЕКСТРАКТАМИ КЛІЩОВИХ АЛЕРГЕНІВ РІЗНИХ ВИРОБНИКІВ ДЛЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АЛЕРГОДІАГНОСТИКИ У ПАЦІЄНТІВ З БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ ТА АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ	127
РОЗДІЛ 5. ПОРІВНЯННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ РІЗНИХ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ДО АЛЕРГЕНІВ У ПАЦІЄНТІВ З БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ ТА АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ	137
5.1 Частота сенсibilізації та порівняння результатів шкірного тестування методом прик-тесту й визначення специфічних IgE до алергенів кліщової групи	138
5.2 Частота сенсibilізації та порівняння результатів шкірного тестування методом прик-тесту і визначення специфічних IgE до пилкових алергенів	148
5.3 Частота сенсibilізації та порівняння результатів шкірного тестування методом прик-тесту і визначення специфічних IgE до епідермальних алергенів	184
РОЗДІЛ 6. ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ДІАГНОСТИЧНОЇ ЗНАЧИМОСТІ РІЗНИХ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ ДО АЛЕРГЕНІВ У ПАЦІЄНТІВ З АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ ТА БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ	221
6.1 Результати показників діагностичної значимості лабораторного обстеження методом НК - імуноблоту	222
6.2 Результати показників діагностичної значимості лабораторного обстеження методом К - імуноблоту	224
6.3 Оцінка діагностичної значимості методів виявлення специфічного IgE	227
6.3.1 Діагностична значимість виявлення специфічного IgE методами К – та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергенів кліщової групи	228

6.3.2 Діагностична значимість виявлення специфічного IgE методами К- та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергенів пилкової групи	231
6.3.3 Діагностична значимість виявлення специфічного IgE методами К- та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергенів епідермальної групи	241
РОЗДІЛ 7. ПОРІВНЯННЯ ДІАГНОСТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ІМУНОБЛОТИНГУ ТА КОМПОНЕНТНОГО МУЛЬТИПЛЕКСНОГО ТЕСТУВАННЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СЕНСIBILІЗАЦІЇ ДО АЛЕРГЕНІВ У ПАЦІЄНТІВ З АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ ТА БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ	250
7.1 Порівняння діагностичних параметрів імуноблотингу та компонентного тестування для визначення сенсibilізації до алергенів пилкової групи у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою	252
7.2 Порівняння діагностичних параметрів імуноблотингу та компонентного тестування для визначення сенсibilізації до алергенів кліщової групи у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою	258
7.3 Порівняння діагностичних параметрів імуноблотингу та компонентного тестування для визначення сенсibilізації до алергенів епідермальної групи у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою	261
7.4 Порівняння діагностичних параметрів імуноблотингу та компонентного тестування для визначення сенсibilізації до алергенів грибової групи у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою	266
РОЗДІЛ 8. ШЛЯХИ ОПТИМІЗАЦІЇ СПЕЦИФІЧНОЇ АЛЕРГОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ АЛЕРГІЧНОГО РИНИТУ ТА	273

БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

8.1 Шляхи оптимізації визначення сенсibilізації до алергенів кліщової групи	277
8.2 Шляхи оптимізації визначення сенсibilізації до алергенів епідермальної групи	279
8.3 Шляхи оптимізації визначення сенсibilізації до алергенів грибкової групи	282
8.4 Шляхи оптимізації визначення сенсibilізації до алергенів пилкової групи	284
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	291
ВИСНОВКИ	300
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	303
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	305
Додаток А СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	342
Додаток Б КОПІЇ АКТІВ ВПРОВАДЖЕННЯ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ДОСЛІДЖЕННЯ	348

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

A3	- алергічні захворювання
AP	- алергічний риніт
ACIT	- алерген – специфічна імунотерапія
AT	- антитіла
АЛ	- алерген
БА	- бронхіальна астма
ВОЗ	- всесвітня організація охорони здоров'я
ІФА	- імуноферментний аналіз
К - імуоблот	- калібрований імуоблот
МСІТ	- міжнародний союз імунологічних товариств
НК - імуоблот	- некалібрований імуоблот
CAP	- сезонний алергічний риніт
ШПТ	- шкірний прик - тест
ARIA	- Allergic rhinitis and its impact on asthma
AUC	- area under ROC curve, площа під ROC-кривою
CREATE	- сертифіковані еталони (референс) алергенів для оцінки якості продукції
EAACI	- European academy of allergy and clinical immunology
ECRHS	- Європейське співтовариство згляду здоров'я органів дихання
ISAAC	- Міжнародне дослідження астми та алергії в дитячому віці
ISU	- ISAC Standardized Units
PNU	- protein nitrogenic units
ROC	- receiver operating characteristic
sIgE	- специфічні IgE
WAO	- World Allergy Organization

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Поширеність алергічних захворювань (АЗ) стрімко зростає в усьому світі та є однією з основних причин занепокоєння спеціалістів охорони здоров'я світу, а також предметом вивчення в різноманітних регіональних та міжнародних епідеміологічних, імунологічних та клінічних дослідженнях. Все більше громадських та офіційних організацій спрямовують увагу урядів країн на ситуацію з алергопатологією, вказуючи на проблеми з діагностикою та лікуванням осіб з АЗ та прогнозуючи орієнтовну кількість таких людей на рівні одного мільярда [ВОЗ, ЕААСІ, WAO, 2018]. Згідно зі статистичними даними багатьох країн світу (Німеччини, Великобританії, Франції та ін.), на АЗ страждає від 10 до 30 % сільського та міського населення, що проживає у регіонах з високорозвиненим економічним потенціалом. Слід зауважити, що показники захворюваності на АЗ в останні 30 років протягом кожного десятиріччя подвоюються та на даний момент за динамікою зростання займають третє місце після серцево-судинної та онкологічної патології.

У нашій країні, як уже неодноразово зазначалося в різних публікаціях [23, 36], дані офіційної статистики щодо АЗ досить серйозно відрізняються від прогнозованих показників захворюваності. За приблизними підрахунками, в Україні на АЗ на даний момент страждає близько 10 мільйонів мешканців.

На тлі збільшення кількості АЗ в спеціалізованій літературі все частіше піднімаються питання відносно специфічності діагностичних алергенів, зокрема, вітчизняного та іноземного виробництва, та стандартизації екстрактів препаратів алергенів [68, 134, 156]. Необхідність стандартизації алергенних екстрактів не викликає сумнівів. Мінливість складу і концентрації алергену в екстрактах становить основну проблему як при алергологічній діагностиці, так і для проведення алерген-специфічної

імунотерапії (АСІТ). Без стандартизації екстрактів неможливо ефективно здійснювати і контроль за проведенням АСІТ.

При цьому в світі, згідно з загальноприйнятою номенклатурою алергенів, виділяють мажорні та мінорні складові алергенів, які разом формують саме той «коктейль», який і зумовлює алергічні реакції. Однак, виробництво алергенів з сировини іноземного походження може спричинити зміну цілісної мажорно-мінорної структури алергену внаслідок інших клімато-географічних та екологічних умов, а отже, при застосуванні з діагностичною ціллю в Україні, давати некоректні результати, що покладається в основу так званої гіпотези «регіональності діагностичних алергенів». Саме тому подальші дослідження в цьому напрямку є вкрай актуальними.

Визначення специфічної активності алергенних екстрактів є основною, а також найбільш складною складовою їх стандартизації. Існують і по різному вирішуються проблеми, пов'язані з різними способами отримання сировинного матеріалу, методами його хімічної і фізичної модифікації, використанням різного роду розчинників, нормативами заповнення тари (флаконів і ампул), способами зберігання і транспортування і т.д. [16, 44, 84]. У процесі виготовлення алергенних екстрактів часто доводиться стикатися з проблемами, які пов'язані з неможливістю виділення з ряду препаратів хімічно чистих алергенних компонентів, нестабільністю фізико-хімічних властивостей сировинного матеріалу, неповною кореляцією між біологічною активністю окремих алергенних компонентів і їх кількісним співвідношенням.

За фінансової підтримки Європейського Союзу був сформований проект «CREATE» або «Сертифіковані еталони (референс) алергенів для оцінки якості продукції» («Certified References used for Allergen and Test Evaluation»). Мета проекту – стандартизація алергенів на рівні фармакопейних препаратів і внесення до відповідних фармакопейних статей уніфікованих методик і характеристик, незалежно від конкретної компанії-виробника. В

основі даного проекту були закладені ідеї широкого введення уніфікованих стандартизованих методів оцінки кількісного вмісту головних (мажорних) алергенних компонент з використанням стандартних протоколів. До клінічно значущих, мажорних алергенів відносяться ті алергени, які здатні викликати імунологічну відповідь більш ніж у половини пацієнтів і пов'язувати більше половини IgE-антитіл (АТ) у сенсibilізованих до цього алергену пацієнтів [11, 88]. Незважаючи на всю амбітність проекту, його спіткав ряд невдач, пов'язаних насамперед з труднощами при їх вирішенні. Внаслідок складної копiткої роботи учасників проекту всього лише дві молекули алергенних білків – алерген пилку берези (Bet v1) і алерген пилку тимофіївки (Phl p5b) – змогли пройти перевірку в лабораторіях, яка дозволила їх включити до відповідних статей Європейської фармакопеї [European pharmacopoeia, 2010]. При цьому стандартизація препаратів за мiнорними алергенами не проводилася.

В Україні донедавна використовувались лише діагностичні алергени, що виготовлялись одним виробником – ТОВ «Імунолог» (Вінниця). На даний момент зареєстровано алергени виробництва Чехії, Іспанії та діагностичні набори для лабораторних досліджень виробництва інших європейських країн (зокрема, Німеччини). Проте, порівняльні дослідження специфічності та чутливості використання як лікувальних форм алергенів, так і лабораторних наборів для алергодіагностики, з різних видів сировини не проводилися.

Лабораторні методи специфічної алергологічної діагностики при всіх своїх перевагах також мають ряд недоліків. Так, різна точність процедур приготування стріпів для імуноблотів, калібрування, оцінки результату на етапі завершення тесту призводять до невідповідності з результатами шкірних прик-тестів (ШПТ) та між собою [1, 2].

Поряд з тим, специфічна алергодіагностика є невід'ємною складовою сучасної алергології [2–10]. Так, визначення профілю сенсibilізації пацієнта дозволяє не лише включати елімінаційні заходи в лікування, досягаючи його

комплексності, а й проводити єдине доступне патогенетичне лікування IgE-опосередкованої алергії – алерген-специфічну імунотерапію (АСІТ).

Таким чином, проблеми оптимізації стандартизації алергенних екстрактів, застосування різних методів специфічної алергологічної діагностики в умовах відсутності єдиного референс – методу є невирішеними та актуальними завданнями сучасної клінічної алергології.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами

Робота виконана в рамках науково-дослідної роботи кафедри фтизіатрії з курсом клінічної імунології та алергології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова «Удосконалити, апробувати нові форми алергенів для місцевої специфічної імунотерапії алергічних захворювань (пероральні, назальні) і запровадити їх у практику» (номер державної реєстрації 0100U0004687).

Мета роботи – удосконалити специфічну алергологічну діагностику алергічного риніту та бронхіальної астми шляхом компонентного аналізу екстрактів діагностичних алергенів, визначення їх регіональних особливостей, аналізу результатів застосування екстрактів алергенів різних виробників, використання медичної термографії для підвищення об'єктивності оцінки результатів шкірних прик-тестів з алергенами, проведення порівняльного дослідження різних методів визначення сенсibiliзації до алергенів, комплексного клінічного та лабораторного аналізу діагностичної значущості екстрактів різних груп алергенів, оптимізації підходів до визначення профілю сенсibiliзації у відповідних категорій пацієнтів.

Для вирішення поставленої мети сформульовано такі **завдання**:

1. Провести компонентний аналіз екстрактів діагностичних алергенів для визначення вмісту основних мажорних та міnorних білкових компонентів.
2. Провести компонентний аналіз та визначення експресії Betv1 у пилку берези з різних регіонів України для визначення вмісту основних мажорних та міnorних білкових компонентів.

3. Провести аналіз існуючих підходів до стандартизації алергенних екстрактів та надати рекомендації для можливого удосконалення стандартизації алергенів в Україні.
4. Дослідити можливість використання медичної термографії для оцінки результатів ШПТ з екстрактами алергенів.
5. Провести порівняльне дослідження результатів ШПТ з екстрактами алергенів різних виробників у пацієнтів з АР та БА.
6. Провести порівняльне дослідження визначення сенсibilізації до алергенів різних груп у пацієнтів з АР та БА за допомогою ШПТ з екстрактами алергенів та визначенням кількості специфічних IgE каліброваним (К) імуноблотом.
7. Провести порівняльне дослідження визначення сенсibilізації до алергенів різних груп у пацієнтів з АР та БА за допомогою ШПТ з екстрактами алергенів та визначенням кількості специфічних IgE некаліброваним (НК) імуноблотом.
8. Провести порівняльне дослідження визначення сенсibilізації до алергенів різних груп у пацієнтів з АР та БА за допомогою імуноблоту та мультиплексного компонентного тестування (МКТ).
9. З метою оптимізації специфічної алергодіагностики розробити алгоритми дій лікаря при підозрі у пацієнта наявності сенсibilізації до алергенів різних груп.

Об'єкт дослідження – бронхіальна астма та алергічний риніт.

Предмет дослідження – специфічність та діагностична цінність екстрактів алергенів різних виробників, компонентний склад екстрактів алергенів вітчизняного виробництва, регіональні особливості компонентного складу пилку берези, порівняльний аналіз алергологічних методів обстеження *in vitro* (імуноблоту та МКТ) та *in vivo* (ШПТ) у пацієнтів з АР та БА, оптимізація специфічної алергодіагностики БА та АР.

Методи дослідження:

1. Збирання скарг, анамнезу, в т.ч. алергологічного та спадкового анамнезу у хворих.

Збір алергологічного анамнезу проводився за загальноприйнятою схемою і передбачав визначення анамнезу щодо наявності БА, АР, atopічного дерматиту та інших можливих клінічних проявів алергічної патології, деталізацію скарг для попереднього визначення причинно-значимого алергену з установленням попереднього діагнозу для подальшого лабораторного та функціонального обстеження. Проводилися також збір та деталізація спадкового алергічного анамнезу у хворих.

2. Фізикальне обстеження хворих проводилося за загальноприйнятою методикою.

3. Визначення специфічної шкірної гіперчутливості методом прик-тесту до алергенів у хворих за візуальним вимірюванням його результатів.

В якості розчинів діагностичних алергенів застосовувались оригінальні вітчизняні алергени виробництва Вінницького МП „Імунолог” та “Sevapharma” (Чеська республіка). Вибране дозування та методика використання препаратів відповідали інструкції щодо їх медичного застосування.

4. Термографічна оцінка специфічної шкірної гіперчутливості методом прик-тесту до алергенів у хворих.

Для термографічної оцінки шкірного тестування використано медичний інфрачервоний тепловізор UlirVision TI-120, сертифікований до використання у медичній практиці в Україні за діапазоном вимірювання температур.

5. Визначення рівня алерген-специфічного IgE до алергенів у хворих методом імуноблотингу. Кількісне визначення специфічних IgE в сироватці крові проводили за допомогою методу «Euroimmun» (Milenia Biotec GmbH, Німеччина) та «Rida AllergyScreen» (R-Biopharm AG, Німеччина).

В роботі було застосовано респіраторну панель обох виробників, за допомогою якої проводиться визначення специфічних IgE до наступних алергенів: домашній пил (кліщ *Derm. pteronyssinus*, *Derm. farinae*), вільха, береза, ліщина, дуб, суміш трав, жито, полин, подорожник, епідермальні алергени кішки, коня, собаки, морської свинки, хом'яка, кролика, грибкові алергени *Alternaria alternata*, *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*.

6. Дослідження компонентного складу препаратів діагностичних алергенів за допомогою електрофорезу в поліакріламідному гелі з наступною побудовою спектрограм.

Електрофорез діагностичних розчинів алергенів виконувався за методикою SDS-PAGE у колонках, рекомендованою Rockland Immunochemicals, Inc. (<https://rockland-inc.com/sds-page.aspx>).

7. Визначення рівня алерген-специфічних IgE до компонентів алергенів за допомогою мультиплексного компонентного дослідження ISAC Immunosar. Дослідження було виконане у відповідності до протоколу виконання Thermo Fisher Scientific [165].

8. Методи статистичної обробки результатів. Дані результатів обстеження та лікування хворих зберігались, оброблювалися та обчислювалися за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входять в пакет Microsoft Office Professional 2013 (номер ліцензії 00218 – 04150 – 37156 – AA798). Для статистичної обробки результатів було використано статистичні пакети IBM SPSS Statistics 21 (номер ліцензії 2NXL7T9GB8ASSG5P4IYI9O9HJNI) та Statistica 5.0 (номер ліцензії 9GB8FDSG5).

Для статистичної обробки використано різні непараметричні та параметричні методи - критерій Колмогорова-Смирнова (K – test, KS – test) з побудовою гістограм та кривих нормальності розподілу, графіки вірогідності результатів (probability plot) для графічного зображення порівняння набору емпіричних даних з вірогідним нормальним розподілом, ранговий коефіцієнт

кореляції Спірмена з наступною побудовою кореляційної матриці, аналіз методом Бленда-Альтмана з розрахунком середньої різниці значень, стандартного відхилення різниць та визначенням залежності відхилення від значень вимірювань, розрахунок коефіцієнту Каппа Коена з розрахунком асимптотичної помилки Каппи та нижньої і верхньої межі довірчого інтервалу, метод ROC – аналізу (ROC = receiver operating characteristic, який ще називають «кривою помилок»).

Для порівняння двох незв'язаних між собою виборок з номінальними значеннями було обрано критерій Хі-квадрат та точний двосторонній критерій Фішера, які розраховувались для кожного порівняння окремо.

Наукова новизна отриманих результатів

У дисертації вперше одержаний ряд нових наукових результатів. Так, отримано нові дані щодо компонентного складу екстрактів діагностичних алергенів, отримано їх електрофореграми та побудовано спектрограми складу. Показано, що у алергенах *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Acarus siro*, берези, вільхи, грабу, полину, костриці, соняшника, пажитниці багаторічної, тимофіївки лугової, кукурудзи звичайної, амброзії, грястиці збірної, шерсті собаки та шерсті кішки присутні основні мажорні компоненти. Окрім того, ряд діагностичних алергенів – шерсть собаки, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, береза, вільха, жито, костриця, соняшник, пажитниця, кукурудза, грястиця – містять в розчинах неалергенні баластні білки.

Встановлено, що компонентний склад пилку берези з різних регіонів України має різний склад, відокремлено мажорні та мінорні білкові компоненти, визначено експресію Bet v1 для кожного з зразків.

Дійшло подальшого розвитку питання удосконалення діагностики результатів шкірного тестування у хворих на БА та АР шляхом використання медичного тепловізору UlirVisionTI – 120, застосування якого сприяло об'єктивізації вимірювання діаметру папули при оцінці результатів ШПТ з екстрактами алергенів (виявлено високий коефіцієнт кореляції між

візуальною та термографічною оцінкою тестів ($r = 0,9$), але різниця між розмірами папули становила в середньому 1,6 мм).

Вперше проведений порівняльний аналіз результатів ШПТ пацієнтів з АР та БА мікст-алергенами кліщової групи різного виробництва, що дозволило встановити наявність систематичної розбіжності між результатами тестування (середня різниця між вимірами склала 1,2 мм).

Отримало подальший розвиток питання невідповідності результатів ШПТ та імуноблотів для визначення сенсibilізації до алергенів різних груп. Так, встановлено, що різні лабораторні методи (К- і НК- імуноблоту) визначення сенсibilізації до алергенів різних груп при порівнянні їх результатів з даними ШПТ демонструють різну діагностичну значимість від задовільної до відмінної.

Одержані нові дані щодо параметрів діагностичної цінності імуноблоту та МКТ, які у пацієнтів з БА та АР відрізняються в залежності від групи алергенів.

Представлено наукове обґрунтування та розроблені інноваційні алгоритми дій лікаря за підозри у пацієнта з АР та БА сенсibilізації до різних груп алергенів.

Практичне значення отриманих результатів

Отримані дані поширюють існуючі знання про БА та АР, націлюють лікарів на даний контингент хворих, окреслюють проведення спеціалізованої поглибленої алергодіагностики, що в подальшому вплине на вибір методів їх лікування.

На основі компонентного дослідження складу екстрактів алергенів рекомендовано включення в процедуру стандартизації аналізу компонентного складу кожного з алергенів та кількісне визначення основних мажорних білкових компонентів, що може дозволити при умові розробки внутрішніх стандартів виробництва значно покращити діагностичні параметри екстрактів, призначених як для діагностики, так і для проведення АСІТ.

Визначено, що внаслідок відсутності єдиних системних підходів до стандартизації екстрактів діагностичних алергенів і, відповідно, можливого різного компонентного складу екстрактів різних виробників, доцільним є лише якісне порівняння результатів ШПТ такими алергенами у пацієнтів з БА та АР, що має істотне значення для пацієнтів, первинне і повторне обстеження яких було здійснене екстрактами різних виробників. Для оцінювання результатів ШПТ рекомендоване використання медичної термографії, що, в порівнянні з класичною візуальною оцінкою, має більшу точність та підвищує об'єктивність оцінки даних.

Розроблено алгоритми для оптимізації діагностичного пошуку у пацієнтів з БА та АР за підозрі на сенсibilізацію до алергенів різних груп. Це дозволить оптимізувати маршрут пацієнта з підозрою на БА та АР, що призведе до більш ранньої діагностики АЗ, призначення специфічного лікування (елімінаційні заходи та АСІТ).

Особистий внесок здобувача. Формулювання ідеї, планування етапів дослідження, обговорення результатів, що були отримані, здійснено разом із науковим консультантом.

Дисертація є особистою роботою автора. На підставі аналізу даних літератури встановлена актуальність і доцільність проведення дослідження, сформульовані мета й задачі. Здобувачем самостійно розроблений алгоритм виконання роботи, що включав: аналіз літературних джерел і патентної інформації за темою дисертації, відбір тематичних хворих, їх розподіл на групи, клініко-функціональне обстеження та лікування хворих, аналіз отриманих результатів, статистична обробка даних, оформлення матеріалів дисертації проведені автором особисто. Наукові праці до друку підготовлені самостійно. Дисертантом особисто проведені аналіз медичної документації, анкетування, клініко-анамнестичне та інструментальне обстеження, а також лікування хворих під час проспективного дослідження. Самостійно створені бази даних, проведений статистичний аналіз результатів. Автором особисто узагальнені результати досліджень, написані всі розділи дисертації,

сформульовані висновки та практичні рекомендації, що знайшли відображення у наукових публікаціях та доповідях на фахових з'їздах і конференціях. Забезпечено впровадження результатів дослідження у вітчизняні заклади охорони здоров'я та навчальний процес медичних вищих навчальних закладів.

Апробація роботи.

Основні положення роботи доповідались на традиційній науково-практичній конференції алергологів України „Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань” (м. Вінниця, 2014), міжрегіональній науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасна діагностика, лікування та профілактика імунозалежних та алергологічних захворювань» (м. Київ, 2014), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Бронхіальна астма, алергія, імунологія – сучасні досягнення та перспективи розвитку» (м. Київ, 2015), Щорічному конгресі Європейської академії алергії та клінічної імунології (Амстердам, Нідерланди, 2015), Щорічному конгресі Європейської академії алергії та клінічної імунології (Лондон, Велика Британія, 2016), III Національному конгресі з імунології, алергології та імунореабілітації, присвяченому 50-річчю створення алергічної служби у Дніпропетровській області (м. Дніпро, 2018), традиційній науково-практичній конференції алергологів України «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» (м. Вінниця, 2018), науково-практичній конференції «Практичні аспекти та актуальні питання алергології» (м. Вінниця, 2019), науковій конференції «Кейс-орієнтована алергошкола Doctor Thinking: Allergy Case Medicine» (м. Вінниця, 2019), науково-практичній конференції «Актуальні питання респіраторної патології» (м. Луцьк, 2019), IV З'їзді лікарів – алергологів України (м. Вінниця, 2019), науково-практичній конференції «Сучасні питання алергології» (м. Дніпро, 2019), Щорічному конгресі Європейської академії алергії та клінічної імунології (Лісабон, Португалія, 2019),

Щорічному конгресі Європейської академії алергії та клінічної імунології (Лондон, Велика Британія, 2020).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 28 наукових праць, з них 23 – у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (серед них 15 – одноосібних, 13 – у співавторстві, 1 – в наукометричних базах Scopus, WoS, 6 – в закордонних виданнях), 5 тез в збірниках матеріалів з'їздів, конгресів, симпозіумів та науково-практичних конференцій.

Обсяг і структура дисертаційної роботи. Матеріали дисертаційної роботи викладено на 353 сторінках друкованого тексту, ілюстровано 107 таблицями та 79 рисунками. Робота складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження», 6 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, додатків. Список літератури налічує 278 найменувань (22 з них вітчизняні та 256 – іноземні).

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ДАНИХ ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Бронхіальна астма та алергічний риніт як найбільш розповсюджені респіраторні алергічні захворювання

Розповсюдженість АЗ в світі продовжує зростати і поступово набуває характер епідемії [4, 8, 11–15]. За прогнозом Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) протягом XXI століття АЗ займуть друге місце, поступаючись за поширеністю в світі лише психічним захворюванням [16]. До того ж відзначається обтяження перебігу алергії, розвиток полісенсibiliзації, приєднання різних інфекційних ускладнень на тлі імунологічних розладів.

Одними із найбільш розповсюджених є респіраторні алергічні хвороби, серед яких чільне місце належить бронхіальній астмі (БА) та алергічному риніту [8, 16–20].

Алергічний риніт (АР) являє собою IgE-залежне запалення слизової оболонки порожнини носа, яке розвивається після контакту з алергеном [2, 4, 6–9, 15, 17, 19, 21–27]. АР – це одне з найбільш поширених в усьому світі захворювань, що, як правило, залишається протягом усього життя [7, 19, 24, 25, 28, 29]. Він створює собою значне навантаження як на окремих пацієнтів, так і на суспільство [19, 29–31]. Дані розповсюдженості АР значно варіюють в різних дослідженнях, складаючи від 1,4 % до 39,7 % у дітей та від 9,5 % до 40,9 % у дорослих [32–35]. Так, дослідження Eli O.Meltzer [5] показало, що тільки в одних США на АР хворіє до 60 млн осіб щорічно, при цьому опитування виявило 10 – 30 % дорослого населення та до 40 % дитячого населення з симптомами риніту. Об'ємне популяційне дослідження розповсюдженості АР серед населення КНР показало ріст з 11,5 до 17,6 % з 2005 до 2011 року [36]. У масштабному дослідженні ISAAC було визначено

поширеність алергічного рино-кон'юнктивіту на основі відповідей на опитувальник (чхання, нежить або закладений ніс без явищ застуди або грипу, що супроводжуються свербіжем, слезотечею). Відсоток поширеності серед дітей мав розбіжність у 30 разів у віці 13–14 років між різними місцями з 56 країн (з 1,4% до 39,7 %) [32]. Дані свідчать про середню поширеність АР серед дорослих приблизно у 21%, в діапазоні від 9,5 % (95 % ДІ 8,5–10,6 %) в Алжирі до 40,9 % (95 % ДІ 39,2–42,7 %) в Австралії. Країни з високим рівнем поширеності АР включали Нідерланди, Бельгію, Францію, Швейцарію, Великобританію, Нову Зеландію, Австралію та США [16].

В Україні АЗ взагалі та АР, зокрема, продовжують залишатись значною соціально-економічною проблемою через високу захворюваність, яка продовжує зростати, невідповідність офіційних статистичних даних реальній картині розповсюдженості, а також часто несвоєчасну діагностику даних захворювань і неадекватне лікування відповідних категорій хворих [37–41]. Дані офіційної статистики, які розраховуються на підставі звернення населення за медичною допомогою, не відображають істинну картину поширеності алергічних захворювань. Так, поширеність цілорічного та сезонного АР серед населення м. Дніпро за результатами алергологічного скринінгу в 6,6 рази вища (9,37 % проти 1,42 %), ніж за даними офіційної статистики [42]. Результатом проведених епідеміологічних досліджень за даними анкетування у Вінницькій області стали дані розповсюдженості АР серед дітей та молоді у 19,31 % та серед дорослих у 14,23 % [43].

Багаточисельними науковими дослідженнями доведено, що АЗ різко знижують якість життя не тільки пацієнтів, а й членів їх родин. Особи з даною патологією знаходяться у вкрай несприятливих умовах: захворювання впливає на особистісний розвиток, кар'єру та спосіб життя.

Втім, найбільший вплив АЗ на якість життя все ж відзначається у таких категорій осіб, як діти та молоді дорослі люди. Так, у нещодавно опублікованому Silva та співавторами мета-аналізі даних 15 кількісних досліджень якості життя дітей з бронхіальною астмою, що були проведені у

1994-2013 роках, вказано, що такі діти мають не тільки достовірно нижчу загальну якість життя, а й знижені показники фізичної, психічної та соціальної активності порівняно зі здоровими однолітками. Крім того, бронхіальна астма у дітей також викликає і знижену фізичну спроможність у батьків таких дітей.

АР також знижує і якість життя пацієнтів. Так, Settiperane у своєму дослідженні вказує, що симптоми АР, який погано контролюється, можуть сприяти зниженню якості життя, в тому числі за рахунок втрати сну, вторинної денної втоми, порушень навчання, зниження когнітивних функцій та довгострокової продуктивності. При цьому сонливість та перепади настрою у дітей часто призводять до усамітнення, поганої успішності у навчанні та, подекуди, агресії з боку однолітків.

Дорослі пацієнти також стикаються з проблемами на роботі у зв'язку з великою кількістю днів втрати працездатності та зниженням продуктивності праці. Велика кількість пацієнтів, що страждають на алергічні захворювання, повідомляють про проблеми у особистих стосунках. Ряд досліджень також продемонстрували більш високий ризик розвитку депресії у пацієнтів з АЗ.

АЗ щодня забирають все більшу частину часу пацієнта. Пов'язане з цим зниження продуктивності праці та збільшення кількості днів непрацездатності являють собою одну з головних національних проблем економіки, а також економіки охорони здоров'я в світі.

В таблиці 1.1 наведений аналіз прямих (витрати на лікування та реабілітацію пацієнтів) та непрямих (втрати внаслідок пропущених робочих днів, зниження заробітної плати, зниження працездатності та ін.) витрат внаслідок АЗ у різних країнах світу, проведений Rawankar R. та співавторами [44].

Поширеність алергії і зростання частоти АЗ згубно впливають на європейську економіку як за рахунок безпосередніх витрат (наприклад, фармацевтичні витрати тільки на лікування астми складають 3,6 млрд євро на рік, вартість медичних послуг – 4,3 млрд євро на рік), так і, можливо, навіть

більшою мірою, за рахунок непрямих витрат. Загалом, 15% населення Європи, які отримують тривале лікування, страждають на алергію та астму, що робить ці захворювання найбільш поширеними серед осіб молодого віку. Безпосередні медичні витрати – це, в першу чергу, діагностичні тести, консультації та медикаменти, в той час як найбільш витратною є госпіталізація, яка, як правило, пов'язана із загостреннями БА або розвитком тяжких анафілактичних реакцій.

Таблиця 1.1

Економічні втрати різних країн, пов'язані з АЗ

Країна	Рік підрахунку	Населення (2010)	Захворювання	Прямі витрати *	Непрямі витрати**	Приблизні загальні витрати
Австралія	2007	23 млн	Усі АЗ	A\$ 1.1 млрд	A\$ 8.3 млрд	A\$ 9.4 млрд
Фінляндія	2005	5.3 млн	Усі АЗ	€468 млн	€51.7 млрд	€519.7 млн
Південна Корея	2005	50 млн	Астма	-	-	US\$1.78 млрд
			Алергічний риніт	-	-	US\$266 млн
Ізраїль		7.5 млн	Астма	-	-	US\$250 млн
Мексика	2007	103 млн	Астма	-	-	US\$35 млн
США	2007	310.2 млн	Астма	US\$14.7 млрд	US\$5 млрд	US\$19.7 млрд
	2005		Алергічний риніт	US\$11.2 млрд	більше US\$ 9.7 млрд	більше \$20.9 млрд

Більше того, погіршення показників продуктивності праці і збільшення кількості днів непрацездатності тісно пов'язані з алергією і значно впливають на макроекономіку. Згідно з останніми оцінками, астма та риніт в Європі

щорічно призводять до більше 100 млн пропущених робочих та навчальних днів (враховуючи той факт, що батьки таких дітей також відсутні на роботі).

Останнім часом стало очевидним, що на додаток до днів непрацездатності сотні мільйонів євро губляться внаслідок неповноцінного виконання працівниками, страждаючими на АЗ, своїх обов'язків. Сумарні витрати складають більше 25 млрд євро на рік. Витрати, пов'язані з лікуванням риніту, ймовірно, вище, однак, на жаль, їх точний підрахунок неможливий у зв'язку з відсутністю в Європі масштабних соціально-економічних досліджень.

Наведені дані корелюють з даними американських дослідників. Так, наприклад, цільова група Американської академії алергії, астми та імунології з оцінки алергічних захворювань опублікувала результати, згідно з якими АР спричиняє 3500000 втрачених робочих днів і 2000000 пропущених шкільних днів щорічно. Остання цифра означає, що 10000 дітей в США відсутня на заняттях у школі в будь-який день з причини АР. У залежності від віку дитини, відсутність її у школі, як зазначалося вище, може також вплинути на продуктивність роботи батьків або взагалі спричинити відсутність їх на роботі. У випадку ж включення у розрахунок інших чинників, які можна пов'язати з дефіцитом продуктивності, загальна цифра для дорослих і дітей зростає до приблизно 28 мільйонів робочих днів обмеженої активності або зниження продуктивності з причини АР в Сполучених Штатах Америки щороку.

Отже, кількість АЗ, в тому числі і АЗ дихальних шляхів, зростає, і пропорційно зростають витрати, пов'язані з ними. В умовах такої ситуації реально зменшити економічний та соціальний тягар АЗ можна лише за допомогою оптимізації профілактики, діагностики та лікування такої патології. На жаль, лікарі не в змозі зменшити кількість тригерів алергії (урбанізація, екологічна ситуація, зростання антигенного навантаження на організм та ін.) і, таким чином, нам лишаються питання оптимізації діагностичних алгоритмів та лікувальних тактик пацієнтам з АЗ. Оптимізація

виявлення найбільш розповсюджених форм респіраторної алергії може дозволити діагностувати захворювання на більш ранніх стадіях, що, в свою чергу, знижує вартість лікування пацієнта. Другим важливим елементом зниження затрат на лікування є оптимізація лікувальних алгоритмів, яка обов'язково має включати не лише фармакотерапію АЗ, а й використання алерген-специфічної імунотерапії (АСІТ).

Як підкреслює прийнята у 2011 році Декларація ЕААСІ (Європейської Академії алергології і клінічної імунології, «знаковою сферою лікування алергії сьогодні є АСІТ, на даний момент – єдиний метод медичного втручання, що може потенційно впливати на природний перебіг алергічного захворювання. Роки клінічних випробувань, досліджень і мета-аналізу переконливо продемонстрували, що імунотерапія може досягти обнадійливих результатів для пацієнтів і суспільства, поліпшуючи якість життя хворих на АЗ, знижуючи довгострокові витрати і тягар алергії, а також змінюючи хід захворювання. АСІТ не тільки ефективно полегшує симптоми алергії, а й надає тривалий вплив після завершення лікування і може запобігти прогресуванню АЗ».

АСІТ суттєво дешевша за базову фармакотерапію АР та атопічної БА, оскільки інтенсивність (а отже, і вартість) АСІТ із роками зменшується, а фармакотерапії – в кращому разі залишається незмінною. За нашими розрахунками (бралися до уваги ціни докризового в Україні періоду, зараз вартість фармакотерапії є очевидно вищою), при цілорічному алергічному риніті у перший рік лікування фармакотерапія була дорожчою за АСІТ на 20–200 % (залежно від виду препарату), у наступні 3–5 років, коли проводилася підтримуюча АСІТ, фармакотерапія подорожчала на 50–400 %. Для атопічної БА в перший рік фармакотерапія є дорожчою за АСІТ на 50–200–1000 %, у наступні 3–5 років — на 100–400–1000 % (залежно від препарату або благодійних програм, що проводяться певними фірмами). Не дивлячись на очевидні переваги, АСІТ в Україні (за даними декількох аналізів) отримує

щорічно до 10% тих пацієнтів, яким цей метод лікування показаний до застосування.

Значущість проблеми АР пов'язана не лише з його зростаючою поширеністю, а й з негативним впливом на якість життя пацієнта і значними економічними витратами. АР викликає ряд симптомів – порушення носового дихання, ринорею, свербіж, чхання, головний біль, що зрештою порушує сон, призводить до підвищеної втомлюваності, зниження працездатності дорослих і успішності в навчанні у дітей. На додаток до ефекту симптомів на якість життя пацієнтів, АР також пов'язаний зі значним економічним навантаженням [31]. Дані Американського фонду боротьби з астмою та алергією вказують на те, що в 2010 році витрати, пов'язані з охороною здоров'я, склали приблизно 17,5 млрд. доларів США, причому пацієнти здійснили 16 мільйонів відвідувань лікарів через АР [45]. Недавній аналіз показав, що загальні річні витрати АР становлять 1,3 млрд. євро щорічно в Швеції, а після екстраполяції даних до інших європейських країн – від 9,4 до 9,9 млрд. євро в Німеччині, Франції та Великобританії [30]. Більша частина економічного навантаження через АР пов'язана з непрямими витратами в результаті високих показників пропусків роботи та школи [31, 46].

Все це зумовлює актуальність проблеми АР для практичної охорони здоров'я і привертає увагу фахівців різних спеціальностей.

БА – одне з найпоширеніших основних неінфекційних захворювань, яке значно впливає на якість життя. В усьому світі астма займає 16-е місце серед провідних причин років, прожитих з інвалідністю, і 28-е місце серед провідних причин тягара хвороб, що призводять до інвалідності. Близько 300 мільйонів людей страждають на БА по всьому світу, і цілком ймовірно, що до 2025 року можуть постраждати ще 100 мільйонів [28, 32, 35, 40, 47–53]. Існує велика географічна різниця в поширеності БА, ступені важкості та смертності. Хоча поширеність БА в країнах з високим рівнем доходу більша, найбільша смертність від неї спостерігається в країнах з низьким і середнім рівнем доходу [50]. Незважаючи на прогрес у лікуванні БА в останні

десятиліття, ще потрібно досягти успіхів у частині вдосконалення освіти пацієнтів, використання нових діагностичних підходів та впровадженні персоналізованого управління випадками.

Протягом другої половини XX століття, особливо з 60-х років, у ряді розвинених країн спостерігалось різке зростання поширеності БА. Це спостереження було результатом неодноразових перехресних обстежень щодо поширеності астми, головним чином у дітей, але й у дорослих. В результаті цього спостереження у 90-х роках у всьому світі було створено серію епідеміологічних досліджень для оцінки поширеності та захворюваності на світову астму та виявлення факторів ризику, пов'язаних із цими результатами. До них відносяться великі багатонаціональні дослідження у дітей (такі, як Міжнародне дослідження астми та алергії в дитячому віці (ISAAC; <http://isaac.auckland.ac.nz/>) [33]) та у дорослих (наприклад, Європейське співтовариство Огляду здоров'я органів дихання (ECRHS; <http://www.ecrhs.org/>) [54]). Огляд здоров'я дихальних шляхів Європейського співтовариства (ECRHS) є багатоцентровим дослідженням що призначене для оцінки географічних коливань поширеності, лікування та детермінант астми та алергії серед 140000 дорослих у віці від 22 до 44 років з 22 країн, використовуючи стандартизовані інструменти та визначення. У цьому дослідженні використовували перевірену анкету для оцінки поширеності астми та алергічних захворювань та для збору інформації про можливі фактори ризику. Дослідження ECRHS повідомило про шестикратну різницю в поширеності БА у різних країнах. Поширеність БА, зареєстрованої за самостійними повідомленнями пацієнтів, була істотно різною; наприклад, з 4,1% (95% ДІ 3,1–5,2 %) в Індії до 32,0% (95% ДІ 30,1–33,9 %) в Дубліні. Поширеність респіраторних симптомів та астми мали тенденцію бути низькими у Західній Європі (Бельгія, Франція, Німеччина, Швейцарія, Австрія та Росія), у середземноморських країнах (Греція, Італія, Іспанія, Португалія та Алжир) і в Індії. В Австралії, Новій Зеландії, Ірландії, Великобританії та єдиному центрі, відібраному в США, рівень поширеності

симптомів астми був високим. Подальші неодноразові дослідження підтвердили широку географічну варіабельність поширеності БА [11, 18, 20, 28, 29, 31–33, 35, 48, 51–60].

Ці дослідження підтвердили, що астма – одне з найпоширеніших хронічних захворювань по всьому світу у всіх вікових групах, і поширеність астми у всьому світі є істотною. Зараз визнано, що поширеність як дитячої, так і дорослої астми, можливо, досягла свого піку в деяких районах, переважно в країнах з високим рівнем доходу, тоді як зростання може тривати в країнах з низьким і середнім рівнем доходу [58–60]. Важливо зазначити, що зменшення поширеності поточної астми визначається покращеним контролем астми та / або зменшеною частотою астми на популяційному рівні. Таким чином, зменшення поширеності сучасної астми може добре відображати покращений контроль астми завдяки збільшенню вживання ліків від більш поширених звичок пропису та кращого дотримання. Документування зменшення захворюваності на астму є складним, оскільки паралельні когортні дослідження з конкретними віковими вікнами необхідні для встановлення моделей із групою порівняння в ідеалі з того ж географічного регіону. Ці виклики частково можуть пояснити, чому дослідження з Австралії та Великобританії не демонструють послідовного зменшення поширеності астми та чому часові тенденції в європейських та азіатських країнах між 1970-ми та серединою 2000-х років були конфліктними.

Форми захворюваності та поширеність астми відрізняються між дітьми та дорослими. Загальновідомо, що астма часто починається в дитячому віці, але може виникати в будь-який час протягом життя, при цьому іноді астма розвивається вперше в дорослому віці. У той час як рівень захворюваності та поширеність астми у дітей вищий, рівень використання медичної допомоги та смертність у дорослих вище. Цікаво, що частота захворюваності та поширеність астми відрізняються за статтю протягом усього життя. Хлопчики до пубертатного періоду мають більш високий рівень

захворюваності на астму, поширеність та госпіталізацію, ніж дівчата того ж віку, але ця тенденція змінюється в підлітковому віці [61, 62]. Жінки продовжують мати більш високий тягар астми, ніж чоловіки, які перебувають у 5-му десятилітті життя. Однак розрив у жінок та чоловіків у ступені важкості БА скорочується приблизно на 5-му десятилітті життя. Деякі навіть припускають, що різниця за статтю захворюваності на БА може знову змінитись після різкого збільшення захворюваності на астму у чоловіків близько 4-го десятиліття життя [59–62].

Статистичні дані, які ми маємо стосовно України, не узгоджуються із світовими показниками і є значно заниженими — 0,5 % [39]. Смертність від БА в Україні зменшується, що відповідає і світовим тенденціям (мабуть, це пов'язано з поліпшенням організації і якості лікування в важких екстремальних ситуаціях) [39]. Однак при високих цифрах поширеності і захворюваності на тлі відсутності даних про частку в загальній структурі астми її важких форм справжня причина смертності в зв'язку з БА може бути замаскована ускладненнями астми з боку різних систем, розладів дихання уві сні та інших, а також від супутніх захворювань, які загострились при важкій БА [39, 63–65].

Як і АР, БА має значний соціально-економічний вплив. Епідеміологічні дослідження Центру контролю захворювань (CDC) повідомляють про поширеність БА у США в 1970 р. 3,0 %, у 1996 р. – 5,5 %, а в 2006–2008 рр. – 7,8 % , призводить до величезного економічного тягаря, адже непрямі та прямі витрати на БА оцінюються приблизно у 56 мільярдів доларів США в 2007 році, що на 6% більше, ніж 53 мільярди доларів, витрачених у 2002 році [11].

У сучасній літературі верхні та нижні дихальні шляхи класифікуються як об'єднані морфологічні та функціональні одиниці. Ніс, розташований на вході у верхні дихальні шляхи, відіграє фундаментальну роль захисту легень, затримуючи різноманітні частинки, що містяться у повітрі. Нагрівання, фільтрація та зволоження повітря сприяє його очищенню на вході в легені. В

процесі дихання більшість частинок з аеродинамічним діаметром більше 15 мкм осідають у верхніх дихальних шляхах. Частинки з аеродинамічним діаметром більше 2,5 мкм осідають головним чином у трахеї та бронхах, тоді як з нижчим – проникають в область газообміну легень. У цьому контексті на даний момент введене поняття комбінований синдром алергічного риніту та астми (CARAS), який на сьогоднішній день характеризується як єдине захворювання, пов'язане з запаленням верхніх і нижніх дихальних шляхів. Відомо, що АР та БА показують тісні взаємозв'язки у своєму генезі, концепції співіснування та подібності, так як вони спровоковані одними і тими ж етіологічними агентами, мають подібний за механізмом та структурою запальний клітинний профіль, взаємно впливають на інші частини дихальної системи та частково піддаються схожому лікуванню.

Численні сучасні дослідження, що керуються концепцією «один дихальний шлях – одна хвороба », виявили, що коморбідність між ринітом та астмою – це загальний процес, що призводить до єдиної картини захворювання в дихальних шляхах. Нелікований або неправильно лікований АРт збільшує майже в три рази ризик астматичного загострення. Відомим є і факт, що бронхіальна гіперреактивність є доволі частою у пацієнтів з алергічним ринітом [9, 15, 27, 29, 49, 66]. Дійсно, часто спостерігається запальний стан носа у астматичних пацієнтів без симптомів риніту та запалення бронхів у осіб з ринітом без симптомів астми, а також запалення бронхів внаслідок провокації носа алергенами та запалення носа внаслідок бронхіальної провокації [27, 49, 66, 67].

Зв'язок між АР та астмою широко висвітлений в ряді досліджень [11, 21, 31–33, 49, 55]. Так, у дослідженні Wright та співавт. [68], діти, яким було діагностовано АР у віці до 1 року мали більшу частоту виставлення діагнозу астми до 6 років, а також більш важкі респіраторні симптоми та більшу кількість лікарських засобів, що мали бути використані для досягнення контролю астми. Крім того, коефіцієнти ризику розвитку БА були розраховані та після коригування для деяких факторів ризику було

встановлено, що діагностування АР було пов'язане із подвоєними шансами на розвиток астми до досягнення віку 11 років.

Дослідження, проведене Д.О. Гацькою серед мешканців Вінницької області, не тільки показало реальні дані розповсюдженості АЗ в Україні на сучасному етапі, а й показало взаємозв'язок БА та АР [43, 69, 70]. Так, проведене вивчення поширеності цілорічного АР серед дітей та підлітків показало їх часту коморбідність з БА, яка мала місце у 99 (27,01 % випадків) пацієнтів; у 33 осіб (8,99 % спостережень) цілорічний АР поєднувався з atopічним дерматитом (АД); у 27 хворих (7,36 % випадків) – з АД та БА одночасно. Сезонний АР найчастіше поєднувався з алергічним кон'юнктивітом (79 пацієнтів, або 50,33 % спостережень). Дещо рідше серед обстежених зустрічався ізольований сезонний АР (48 осіб, або 30,57 % випадків). При цьому сезонний АР, обумовлений виключно гіперчутливістю до пилоквих АГ, становив 23,67 % (37 хворих) спостережень, а в 11 осіб (7,0 %) пилова сенсibiliзація поєднувалася з сенсibiliзацією до побутових алергенів. Ще рідше (23 пацієнта, або 14,64 % випадків) діагностувалося поєднання сезонного АР з БА та алергічним кон'юнктивітом. Найрідше зустрічались поєднання сезонного АР з БА (7 осіб, або 4,46 % спостережень) [70].

Взаємозв'язок БА та АР узгоджується і з теорією так званого «атопічного маршу». Атопічний марш прослідковує природню історію розвитку алергічних захворювань у дитинстві та юності. Термін „атопія” тісно пов'язаний з молекулою імуноглобуліну (Ig) Е після його ідентифікації як носія гіперчутливості та означає схильність до імунологічної реакції на різноманітні антигени / алергени, що призводить до диференціації CD4 + Th2 та перевиробництва імуноглобуліну Е (IgE) [71]. Клінічним наслідком цього є схильність до розвитку реакцій гіперчутливості до алергенів. Однак у контексті atopічного маршу важливо відзначити, що IgE є патофізіологічним посередником деяких, але не всіх, "атопічних" захворювань. Таким чином, краще розглядати atopічний марш як прогресування алергічних станів, що

мають загальні генетичні та екологічні фактори, поділяють імунологічну особливість одного або декількох специфічних для алергенів хелперів типу 2 (T_H2) відповіді і характеризуються ефекторною фазою типу 2, яка може включати генерацію специфічного IgE, активацію гранулоцитів та інші вроджені особливості, такі як вироблення слизової та набряк. Важливо, що наявність одного алергічного захворювання збільшує ризик розвитку інших, що призводить до адитивної особливості atopічного маршу [72].

Класично, atopічний марш починається з atopічного дерматиту і прогресує до IgE-опосередкованої харчової алергії, астми та АР. Кожне з цих станів має складну патофізіологію, що включає різні аспекти імунної системи. Наприклад, atopічний дерматит колись вважався проявом самої atopії, але зараз вважається, що це результат поєднання первинних дефектів шкіри та основної генетичної або екологічної схильності до розвитку запалення 2 типу. Проспективне когортне дослідження (3124 дітей у віці 1–2 років) повідомило, що у порівнянні з дітьми, які не страждали на atopічний дерматит, діти з atopічним дерматитом в анамнезі (особливо середньотяжким перебігом, ранньою маніфестацією клінічних проявів та рефрактерністю до лікування), були більш схильні до розвитку БА та АР [73].

Втім, дослідження з Італії виявило докази "зворотного" atopічного маршу. У дослідження було включено 745 дітей у віці 6–9 років, які мали лише БА, без харчової алергії та atopічного дерматиту в анамнезі. Після 9-річного спостереження було виявлено, що у 20% дітей розвинувся atopічний дерматит [74]. Крім того, поширеність atopічного маршу відрізнялася в різних країнах. Колумбійські вчені проаналізували 326 пар матері та дитини в когортному дослідженні, і виявили, що БА була найпоширенішим проявом алергії у віці до 24 місяців. Поширеність БА становила 7,1 % до 12 місяців віку і досягала 14,2 % до 24-місячного віку. Однак, алергічних симптомів, викликаних молоком, яйцем та іншими харчовими алергенами, було лише 1,8%, а atopічний дерматит не спостерігався в жодному з випадків [75]. Не дивлячись на те, що сама концепція atopічного маршу останнім часом

переглядається різними авторами, взаємозв'язок АР та БА є аксіомою.

Таким чином, БА та АР є найбільш розповсюдженими респіраторними АЗ, які мають значний соціальний і економічний вплив та є взаємопов'язаними.

1.2 Методи діагностики сенсibiliзації до інгаляційних алергенів у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою.

Традиційно діагностика алергічних захворювань (АЗ) заснована на послідовному (етапному) застосуванні ряду методів дослідження, до яких відносять: 1) клініко-анамнестичний (збір скарг та анамнезу); 2) фізикальний; 3) шкірні тести з алергенами; 4) провокаційні (бронхіальні, назальні, кон'юнктивальні, сублінгвальні, гастроінтестинальні та ін.) тести з алергенами; 5) лабораторно-інструментальний (загальнолабораторні методи і специфічні лабораторні тести з алергенами); 6) функціональний та інструментальний (рінопневмометрія, спірографія, пікфлоуметрія, ендоскопія порожнини носа і трахеобронхіального дерева, рентгенографія і томографія придаткових пазух носа і органів грудної клітини); 7) консультування пацієнтів у інших фахівців [5, 13, 17, 18, 36, 51, 55, 58, 61, 65, 76–80].

В основі сучасної лабораторної діагностики АЗ повинні лежати сучасні стандартизовані і добре апробовані методи, що мають доказову базу. Це особливо важливо в таких ситуаціях:

- коли неможливо скасувати протиалергічні препарати в періоді тестування;
- є виражена гіперчутливість і анафілактичні реакції в анамнезі;
- обстеження пацієнта проводиться в періоді загострення АЗ;
- необхідно встановити діагноз АЗ в ранньому дитячому віці;
- є множинна гіперчутливість до алергена, а терміни обстеження пацієнта обмежені;
- змінена реактивність шкіри, що призводить до псевдонегативних і

хибнопозитивних результатів шкірного тестування;

- необхідно одночасне обстеження пацієнта з використанням великої кількості лікарських препаратів та інших хімічних речовин;
- має місце складний диференційно-діагностичний випадок;
- обстеження необхідно в період проведення алерген - специфічної імунотерапії (АСІТ);
- виникає необхідність в дистанційному обстеженні пацієнта.

Основними завданнями лабораторної діагностики АЗ при цьому є:

- визначення типів алергічної реакції (АР), встановлення гіперчутливості до алергену (специфічна алергодіагностика);
- виявлення характеру і ступеня імунних порушень (імунодіагностика);
- характеристика патогенетичних ланок, типових для конкретного АЗ (клінічна лабораторна діагностика).

Перш ніж вибрати той чи інший лабораторний метод специфічної алергологічної діагностики для конкретного пацієнта, лікар-алерголог аналізує анамнез, клінічні прояви захворювання в минулому і сьогоденні з метою визначення кола передбачуваних алергенів і типу АР. Слід враховувати, що існуючі лабораторні методи виявляють тільки стан сенсibiliзації до певних алергенів, тому результати лабораторної діагностики не можуть служити єдиним доказом того, що саме даний Ал є етіологічним фактором АЗ. Тому в тандемі клініцист - лаборант саме клініцист повинен визначати стратегію і тактику діагностики АЗ [81–83].

При плануванні лабораторної діагностики та необхідності застосування специфічних методів дослідження слід враховувати існуючі відмінності в імунологічних механізмах різних типів АР, так як більшість лабораторних методів дає інформацію лише щодо конкретних учасників імунного реагування (наприклад, виявляти специфічні антитіла класів IgE при АР анафілактичного типу, IgG або IgM при АР цитотоксичного або імунокомплексного типу, сенсibiliзовані лімфоцити при АР уповільненого типу). Таким чином, саме припущення клініциста про провідних

патогенетичних механізмах АЗ у конкретного пацієнта обумовлює вибір адекватних методів його подальшого лабораторного обстеження.

За сучасними керівництвами ведення пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою [2, 9, 18, 19, 23–25, 27, 53, 57, 66, 76, 84–88], послідовність використання методів специфічної алергодіагностики виглядає так:

- 1) шкірне тестування з екстрактами алергенів методом прик-тесту;
- 2) лабораторне визначення специфічних IgE;
- 3) провокаційні проби;
- 4) молекулярні компонентні методи обстеження.

Нижче ми спробуємо навести огляд кожного з перерахованих методів специфічної алергодіагностики та визначити основні переваги та недоліки кожного з них.

1.2.1. Шкірне тестування з екстрактами алергенів методом прик-тесту

Шкірне тестування методом прик-тесту (ШПТ) – це простий та надійний метод специфічної діагностики у пацієнтів з алергічним ринокон'юнктивітом, астмою, кропив'янкою, анафілаксією, atopічною екземою (дерматитом) та підозрою на харчову та лікарську алергію, які опосередковані IgE [8, 21, 79, 81, 88–96]. Воно надає докази сенсibilізації та може допомогти підтвердити діагноз підозри на алергію I типу. Тест є малоінвазивним, недорогим, результати одразу доступні, і, коли їх проводять навчені медичні працівники, добре відтворюються [8, 79, 81, 96]. Починаючи з першої публікації про ШПТ Гельмтрауда Ебстера у 1959 році [97], який широко дослідив цей діагностичний тест, він був використаний як основний діагностичний інструмент для виявлення реакцій гіперчутливості I типу [92, 93, 97–102].

В Україні ШПТ проводиться у відповідності до Наказу МОЗ України № 127/18 від 02.04.2002 «Про організаційні заходи по впровадженню сучасних технологій діагностики та лікування алергічних захворювань» [103], при цьому сама методика виглядає наступним чином.

Для постановки проби шкіра долонної поверхні передпліччя обробляється 70 % етиловим спиртом, на неї на відстані 2,0-2,5 см наносяться краплі алергенів та негативного і позитивного контролів у вигляді тест-контрольної рідини та 0,01% розчину гістаміну хлориду. Після цього проводиться прокол попередньо натягнутої шкіри за допомогою спису ланцету до упору обмежувача. Оцінка результатів відбувається через 15-20 хвилин за допомогою вимірювання діаметру папули в міліметрах і градації результату у відповідності із встановленими критеріями.

У відповідності до Європейських стандартів виконання ШПТ [104] пацієнтів слід належним чином пройти обстеження на БА і, якщо це можливо, припинити прийом препаратів, які перешкоджають результатам тестів, підсилюють системні алергічні реакції або роблять пацієнтів менш чутливими до введення адреналіну. До таких препаратів відносять антигістамінні, системні глюкокортикостероїди, омалізумаб, антагоністи лейкотрієнових рецепторів, циклоспорин, теофілін, антидепресанти, бета-2-агоністи короткої дії. Пацієнтам із серйозними системними алергічними реакціями на їжу або ліки в анамнезі може бути рекомендована катетеризація вени для негайного доступу до кровообігу. Піковий швидкість видиху у першу секунду менше 70% у пацієнтів з астмою є відносним протипоказанням до тестування. Астму у пацієнтів має бути принаймні частково контрольованою або тестування відкласти до досягнення контролю. Під час тестування пацієнтів з тяжкими системними алергічними реакціями в анамнезі рекомендується титрування шкірного тесту, спочатку із застосуванням розведених екстрактів. ШПТ в ідеалі слід проводити принаймні через 4–6 тижнів після системної алергічної реакції, зокрема, при гіперчутливості до отрут перетинчатокрилих [105, 106].

Місце кожного алергену можна позначити ручкою або за допомогою тестової сітки на передпліччі для правильного визначення результатів тесту. Тести слід проводити на передпліччі, принаймні на 2 - 3 см від зап'ястя та передньокубітальних ямок [107]. Спину також можна використовувати для

ШПТ, особливо у немовлят, при цьому слід пам'ятати, що шкіра на спині є більш чутливою, ніж на передпліччі і теоретично це може призвести до збільшення діаметру папул і, отже, до більшої кількості позитивних результатів тесту [108]. Відстань між двома шкірними тестами (≥ 2 см) є критично важливою для уникнення хибнопозитивних реакцій через пряму взаємодію алергенів, що знаходяться поруч. Краплю кожного досліджуваного розчину слід наносити на шкіру в однаковому порядку для кожного випробуваного і негайно проколювати шкіру.

Одноголковий металевий ланцет демонструє чудову відтворюваність з невеликою кількістю помилково негативних результатів і, отже, є найкращим інструментом для тестування ШПТ. Його вдавлюють через краплю екстракту алергену і притримують у шкірі принаймні 1 секунду з однаковим тиском для кожної проби. Голка має проколоти епітеліальний шар шкіри без кровотечі, яка може призвести до хибнопозитивних результатів. Для кожного алергену слід використовувати новий ланцет, оскільки протирання раніше використаного ланцету між тестами може призвести до перехресного зараження попереднім тестованим алергеном [109]. Витирання ланцетів також представляє потенційний фактор ризику для медичного працівника, який проводить тест. Надлишок розчину від крапель на шкірі можна промокнути за допомогою чистої тканини. Важливо переконатись, що між краплями різних екстрактів алергенів немає перехресного забруднення, тобто, що краплі не збігаються. Слід використовувати таймер із сигналізацією, щоб усі тести, включаючи результати тесту на гістамін та негативний контроль, зчитувались через 15–20 хвилин після застосування. Такі терміни для результатів тестів рекомендуються, навіть якщо контрольна проба з гістаміном може досягти піку раніше, приблизно через 8–10 хвилин [109].

Хоча принцип ШПТ все ще значною мірою нагадує описані понад 60 років тому оригінальні методи, широкий спектр інтерпретацій та модифікацій тестування в світі призвів до зменшення порівнянності

результатів тесту між собою [92, 98, 99, 110–117]. Крім того, різні види екстрактів, що застосовуються в різних країнах, ускладнюють порівняння даних [114, 116, 118–124].

Основна перевага ШПТ порівняно з вимірюванням *in vitro* специфічних антитіл до IgE полягає в тому, що тест можна інтерпретувати протягом 15-20 хвилин після нанесення реагенту на шкіру [101, 111, 112, 116, 124–126]. Крім того, тест дає візуальну вказівку на чутливість, яку можна використовувати для впливу на поведінку пацієнта. ШПТ також може бути використаний для тестування менш поширених алергенів, таких як певні ліки, та свіжих фруктів і овочів, де немає специфічних вимірювань антитіл до IgE [89].

Втім, візуальна оцінка ШПТ має і свої недоліки, основним з яких є її суб'єктивність [10, 127–132]. Загалом використовуються два основні параметри: середній діаметр папули та площа реакції, яка показує меншу мінливість. Ці результати повинні бути інтерпретовані алергологом, що може внести додатковий фактор суб'єктивності. Було показано, що експерти, що досліджують однакові реакції, можуть прийти до різних висновків [133–135]. Так, у дослідженні J. Oppenheimer та H. Nelson [134] в результаті проведеного опитування алергологів було визначено, що для оцінки результатів ШПТ 53,8% використовували шкалу від 0 до 4+ і лише 28,3% вимірювали ортогональні діаметри. З тих, хто використовував шкалу від 0 до 4+, дві третини пов'язували результати з розміром контрольної проби з гістаміном.

Зчитування результатів ШПТ за допомогою автоматизованих пристроїв потенційно може зменшити похибки, спричинені процесом зчитування, мінімізуючи мінливість результатів. Як зазначає ряд авторів [133, 136], двома основними джерелами невизначеностей під час процесу зчитування є контури папули та визначення площі папули. Варіативність цих факторів можна значно зменшити, застосовуючи нові автоматизовані технології. Навіть інші джерела помилок, які зазвичай не беруться до уваги, такі як неправильне виконання тесту або неправильне призначення алергену,

можуть бути усунені за допомогою належного методу зчитування.

До автоматизованих методів зчитування результатів ШПТ відносять 2D-сканування, визначення імпедансу шкіри, термографію, фотографічні техніки та 3D-сканування.

З появою персональних комп'ютерів скануючі пристрої стали більш поширеними. Так, у 1982 році D. Ownby [137] був першим автором, який використав персональний комп'ютер для автоматизації процесу визначення площі папули при ШПТ. У ході дослідження він представив метод сканування тестового аркуша та обчислення площі папули за допомогою комп'ютера. Метод зміг значно скоротити час, необхідний для визначення площі папули але він не був настільки ефективним щодо інших параметрів, таких як максимальний та мінімальний діаметри. Розбіжність, отримана комп'ютером, становила менше 6 % для площ понад 20 мм², і більше 16 % для менших площ. Пізніше ряд авторів намагались використати 2D-сканування для автоматизації процесу зчитування результатів ШПТ [138–140]. Prinz та співавт. [139] запропонували, на основі попередніх досліджень, розробити паралельне сканування папули, щоб пришвидшити процес. Метод базувався на розпізнаванні кількох маркерів, які виправляли помилки положення при скануванні тестового аркуша, щоб при використанні шаблону за замовчуванням програма завжди знала, який алерген відповідає кожному контуру. Точність обчислюваної площі була знижена заради надійності та швидкості, оскільки система не вимагала повністю закритого контуру для визначення межі області. Це було досягнуто шляхом застосування серії фільтрів, які розмивали контур, доки він не замикався, отримуючи центральну лінію та зливаючи її з початковим зображенням, щоб отримати апроксимацію пшениці. В результаті варіабельність зросла до 7 %, але система змогла розрахувати площу до 20 папул за 20 хв. Наступного року та ж команда переглянула алгоритми виявлення країв, покращивши точність вимірювання площі пшениці до 99 %, давши варіабельність, яка була менше 2 %, і зменшивши час обробки до 15 хвилин [140].

Біологічна тканина має електричні характеристики, які можна охарактеризувати як імпеданс (опір). Nyren та співавтори [141] на основі цієї опірності провели ряд тестів для оцінки результатів ШПТ. Цей метод вже застосовувався для вивчення екземи та шкірних реакцій, але його застосування у оцінці ШПТ ще не проводилось. Тести проводились на 10 добровольцях-алергіках шляхом введення 40 мкл алергену, до якого вони були чутливими, та гістаміну в середині передпліччя з протилежних сторін. Результати вимірювали трьома способами: візуальним оглядом (з оцінкою 1–4 в порівнянні з гістаміном), лазер-доплерівською анемометрією та оцінкою імпедансом шкіри. Втім, застосування цього методу в практиці є обмеженим, в першу чергу через низький рівень варіативності тесту.

Одним із методів підвищення об'єктивності тестування може бути використання медичної термографії [142–145]. В основі застосування лежить використання патогенетичного ланцюга виникнення типової реакції на введення алергену, яка проявляється гіперемією та локальним збільшенням температури шкіри [143, 144]. Такий підхід дозволяє точно виміряти діаметр папули при позитивній реакції на гістамін та екстракти алергенів, уникаючи помилок в інтерпретації результатів [146]. Було продемонстровано, що термографічні вимірювання розподілу температури передпліччя під час ШПТ, підтримані математичною моделлю, дають нову кількісну оцінку алергенних шкірних реакцій [143, 147]. Просторово-часовий аналіз термографічних зображень дозволяє більш точно описати алергічну реакцію негайного типу. На відміну від візуальної оцінки ШПТ, яка розглядає лише кінцевий ефект алергічної відповіді, запропонований метод чітко розмежовує процеси транспортування медіатора та зміни його концентрації. Такі переваги, як висока чутливість та просторово-часовий моніторинг алергічної реакції, роблять цей метод цінним доповненням до вже існуючих методик [143, 144, 146].

Одним із методів автоматизації результатів ШПТ є також і фотографічна обробка результатів. Система складається із цифрової фотокамери високої

роздільної здатності, тримача та програмного забезпечення. В останнє десятиліття метод було модифіковано у відповідності до нових технологій. Так, Bulan та співавтори [148] розробили метод зчитування результатів ШПТ за допомогою камери смартфона. Метод має в основі порівняння першої локалізації тестової області із захоплених зображень шляхом виявлення калібрувальних міток, раніше намальованих на шкірі. Потім виконується перетворення кольору за допомогою спеціального програмного забезпечення, що дає можливість отримати зображення з підвищеною контрастністю, де можна виявити папулу. Втім, відсутні дослідження, в яких були б виконані порівняння цього методу з іншими методами автоматизації, а окремим недоліком є обмежена можливість застосування техніки у пацієнтів з чорним кольором шкіри.

3D-сканування – це абсолютно нова технологія в алергології. Її перевагою є те, що на додаток до обчислення площі та максимального, мінімального та середнього діаметрів папул при ШПТ, датчики тривимірних зображень також надають дані для визначення як висоти, так і об'єму папули. Поверхня об'єкта може бути оцифрована за допомогою декількох технологій та пристроїв, але найважливіші з них можна згрупувати на дві: 3D-сканери на основі тріангуляції та на основі проектування структурованого світла. Перша техніка направляє промінь світла (як правило, лазер) на об'єкт і використовує датчик камери для вловлювання його відбиття. Камера розташована на відомій відстані та куті щодо променю світла. Таким чином, тріангуляція може бути застосована для точного визначення параметрів об'єкта. Другий метод проектує відбиток світла на поверхню об'єкта, і камера розглядає його деформацію та форму, щоб обчислити відносне положення кожної точки в полі зору.

Окрім того, значним недоліком застосування ШПТ у рутинній клінічній практиці залишається питання якості та стандартизації екстрактів діагностичних алергенів, з якими, власне, це тестування здійснюється [78, 87, 98–102, 111, 119, 121, 126, 149–151]. Той факт, що точна стандартизація

екстрактів має велике значення для їх якості, призвело виробників до впровадження власних протоколів стандартизації [152–157]. Кожна компанія використовує власний референс-стандарт та унікальні методи для визначення якості екстракту. Вищевказані підходи призводять до різного компонентного складу екстрактів алергенів різних виробників та неможливості порівняти різні продукти та результати випробувань. Однак, оскільки більшість мажорних компонентів відповідних алергенів були виявлені протягом останніх кількох десятиліть, впроваджена на даний момент концепція полягає у кількісному визначенні мажорних компонентів у кожному з окремих екстрактів. Така кількісна оцінка дозволить порівняти продукцію різних виробників. У 2001 р. було запроваджено проект CREATE, який був профінансований ЄС, для заохочення стандартизації екстрактів алергенів на основі вмісту головного алергену [158]. За задумкою масові одиниці основних алергенів мали бути використані для кількісної оцінки активних інгредієнтів алергену, дозволяючи порівняння між виробниками.

Цілями проекту CREATE було оцінити потенціал очищених рекомбінантних алергенів як сертифікованих еталонних матеріалів та оцінити доступні імуноферментні аналізи для вимірювання основних алергенів, використовуючи сертифіковані еталонні матеріали як стандарт. Було обрано вісім основних алергенів, що походять з чотирьох найважливіших джерел інгаляційних алергенів: Bet v 1 з пилку берези, Phl p 1 і Phl p 5 з пилку трав, Ole e 1 з пилку оливков і Der p 1 і 2 та Der f 1 і Der f 2 з кліщів домашнього пилу. Було встановлено, що три з них придатні в якості біологічних еталонних матеріалів; решта, крім rPhl p 1a, вказують на потенціал для оптимізації за умови модифікації аспектів процесів їх експресії білка. В результаті цього дослідження рекомбінантні Bet v 1 та Phl p 5 були виготовлені в рамках "Належної практики виготовлення" та оцінені Європейським директором з якості ліків як біологічні референтні препарати, які будуть включені до Європейської фармакопеї як міжнародні стандарти. Отже, теоретично стандартизація цих продуктів-алергенів стане

загальносвітовою, що дозволить проводити порівняння між різними виробничими джерелами Ole e 1 із пилку оливи та Der p 1 та 2 та Der f 1 та Der f 2 кліщів домашнього пилу.

Проект BSP090, спонсорований Програмою біологічної стандартизації EDQM (Європейський директорат з якості лікарських засобів та охорони здоров'я), був продовженням проекту CREATE і мав на меті створити біологічні референтні препарати для Bet v 1 та Phl p 5, а також перевірити еталонні методи імуноферментного аналізу для їх кількісного визначення. За результатами роботи, було отримано рекомбінантний Bet v 1, призначений для використання в якості стандарту для калібрування вторинних стандартів та / або в внутрішніх еталонних препаратах для визначення вмісту Bet v 1 в екстрактах алергенів з берези (*Betula verrucosa*) і рекомбінантних препаратах Bet v 1 методом ІФА. Референтний метод ІФА для його кількісного визначення також був обраний після перевірки в багатоцентрових дослідженнях [154, 159, 160]. Згідно фізико-хімічних властивостей, рекомбінантний Phl p 5.0109 виробляється як високостійкий, мономерний та імунологічно еквівалентний своєму природному аналогу, а також наразі є доступним як еталонний стандарт Європейської фармакопеї щодо алергенів пилкової групи.

Ще одна спроба стандартизації екстрактів передбачала розробку екстрактів рекомбінантних алергенів. Незважаючи на те, що деякі з цих рекомбінантних алергенів демонструють порівнянність з екстрактами алергенів, отриманими з вихідного матеріалу [152, 154, 156, 157, 161, 162], вони охоплюють лише обмежену кількість алергенів і досі перебувають у стадії дослідження.

Протягом тривалого часу висновку експертів було достатньо для розміщення продуктів алергену для діагностики та терапії *in vivo* на ринку, а клінічні дослідження, що відповідають стандартам належної клінічної практики (GCP), ніколи не проводились [156]. У багатьох країнах, особливо в Європейському Союзі, правова ситуація різко змінилася за останні 2

десятиліття [152]. Зараз потрібно продемонструвати безпеку та ефективність для терапевтичних алергенних продуктів (для алерген – специфічної імунотерапії), а також для алергенних продуктів, що використовуються для застосування *in vivo*, таких як діагностичні екстракти алергенів для провокаційного тестування, включаючи шкірне тестування, бронхіальне, носове, кон'юнктивальне та харчове провокаційне тестування [152, 163]. Хоча існують розбіжності щодо регулювання на різних континентах та в різних країнах [152, 161–164], загальною метою є те, що відповідно до «Міжнародної ради з гармонізації технічних вимог до фармацевтичних препаратів для людського використання» (<http://www.ich.org/home.html>), лікарські засоби, що включають також алергенні продукти для діагностики *in vivo* та лікування повинно оцінюватися в клінічних випробуваннях та проходити ретельну оцінку, щоб зареєструватися для використання у пацієнтів. Головною передумовою клінічних випробувань та подальшого використання на людях є те, що лікарський засіб виробляється відповідно до належної виробничої практики (GMP) і, як показано, має однакові характеристики та якість. Ця вимога вже є основною перешкодою для екстрактів алергенів, які виробляються з природних джерел алергену.

Стандартизація для конкретного алергенного продукту є основною передумовою узгодженості в різних параметрах (складі, алергенній активності *in vivo* та *in vitro*) між партіями продукту-алергену. Використання перевірених референс – стандартів забезпечує застосування аналітичних методів контролю параметрів якості різних партій, вироблених в різний час, що призводить до незмінної якості, безпеки та ефективності. Це потрібно, але дуже складно завдяки складній будові екстрактів алергенів у поєднанні з великою мінливістю відповідних природних речовин у сировині. За останні роки рівень стандартизації алергенних продуктів, а отже, і знання щодо їх компонентного складу значно підвищився. Не тільки нормативні вимоги, але і тиск, який чинить суспільство, наукові кола та клініцисти просувають цей розвиток вперед. Це також відображено в позиції експертної панелі щодо

АСІТ, яка наголошує, що тільки стандартизовані екстракти слід застосовувати в клінічній практиці, оскільки ефективність та безпека цього методу терапії наряду залежить від якості екстракту [162].

Перша велика проблема полягає в джерелі алергену, який використовується для виробництва екстрактів алергенів. Повідомляється, що вміст, концентрації та співвідношення окремих алергенів сильно варіюються залежно від великої кількості факторів. Так, у дослідженні Focke та співавторів при оцінці екстрактів алергену берези було знайдено різницю у більше ніж у 10 разів загального вмісту білка (23,1 - 314 мкг/мл), і кількості мажорного алергену пилку берези Bet v 1 (1,62 - 19,6 мкг/мл). Високо перехресно реагуючий алерген Bet v 4 був відсутній у трьох із п'яти випробуваних екстрактів. Крім того, різні результати шкірних тестів були отримані у пацієнтів з алергією на пилок берези з екстрактами алергену [165]. У іншому дослідженні вміст мажорного алергену шерсті собаки Can f 1 та Can f 2 значно варіювався між екстрактами. В одному з екстрактів ні Can f 1, ні Can f 2 не було можливим виявити за допомогою імуноблотингу. Вміст мінорного алергену Can f 3, альбуміну, також продемонстрував велику мінливість [166]. Аналогічна ситуація була показана і з екстрактами алергенів кліщів домашнього пилу - у всіх екстрактах були виявлені лише Der p 1 і Der p 2, але їх концентрації та співвідношення показали високу мінливість (Der p 1: 6,0 - 40,8 мкг/мл; Der p 2: 1,7 - 45,0 мкг/мл). Принаймні 1 з 4 алергенів (тобто Der p 5, 7, 10 і 21) не виявлено у 8 з досліджуваних екстрактів. Особи, які мають сенсibilізацію до алергенів кліщів, демонстрували різні профілі реактивності IgE щодо окремих алергенів кліщів, екстракти виявляли різну алергенну активність у шкірних тестах та хибнонегативні результати [167].

У цьому контексті слід згадати лише кілька прикладів: наприклад, вміст алергенів у пилку варіюється залежно від факторів навколишнього середовища, таких як вплив озону, забруднення, і декілька видів рослин [168, 169]. Вміст алергенів від кліщів домашнього пилу та їх співвідношення

залежать від умов росту кліщів, способу їх годівлі та вирощування та того, який матеріал кліща (кал, частини тіла) використовується як сировина для виробництва екстрактів [170]. Що стосується тваринних алергенів, тип і вміст алергенів можуть відрізнятися залежно від статі [171, 172]. Крім того, було показано, що алергени зустрічаються в пилку як різні ізоформи з різною алергенною активністю та імунологічними властивостями у різних кількостях, що означає, що жодного однорідного природного препарату-алергену не можна отримати з природного джерела алергену [156, 173, 174]. Отже, лише рекомбінантна експресія визначеної ізоформи на основі відповідного гена може подолати цю проблему.

Екстракти не повинні містити консервантів, які можуть викликати помилкові позитивні реакції, наприклад, мертіюлат натрію. Вони також не повинні змішуватися з іншими алергенами, наприклад, кліщі домашнього пилу з екстрактом лупи собаки. Під час тестування на некомерційні алергени існує реальна потреба у використанні контрольних тестів у осіб, які не мають алергії, для порівняння результатів із суб'єктами, які страждають на алергію. Для певних рослинних алергенів, особливо для свіжих продуктів і овочів, метод уколу є більш надійним, ніж використання виготовлених екстрактів [175].

Не дивно, що в процесі стандартизації основна увага зосереджується на якісних параметрах, що є складовими цього продукту. З погляду стандартизації алергенних екстрактів, можна розрізнити стандартизовані підходи, зосереджені на загальній алергенній активності, з одного боку, та підходи, засновані на вмісті алергенних молекул з іншого боку. Втім, переважна більшість дозволених до використання алергенних продуктів в ЄС стандартизовані за загальною алергенною активністю шляхом вимірювання потенції зв'язування IgE [120, 123, 176]. Відповідно до чинних нормативних вимог в ЄС, цей параметр виражається у специфічних одиницях, що визначаються у специфічних для кожного виробника аналізах *in vitro* щодо референтного препарату для конкретного продукту. Подібним чином

контроль окремих білкових молекул алергену в продуктах для АСІТ має виконуватися за протокольними процедурами, проте виконується у специфічних для виробника імуноаналізах або іншими методами.

Другий крок стандартизації – це ступінь порівнянності між алергенними продуктами, що має на увазі порівнянність продуктів з одного і того ж алергенного джерела різних виробників. Хоча як загальна алергенна активність, так і вміст окремих молекул алергену можуть забезпечити основу порівнянності між екстрактами алергенів різних виробників, поточний стан специфікації екстрактів не дозволяє виконати цей наступний рівень стандартизації екстракту алергену. Причиною є те, що передумовою для порівнянності є всебічне використання стандартизованого аналітичного методу щодо стандартного еталонного препарату.

У Сполучених Штатах Америки стандартизація алергенів базується на внутрішньошкірному тестуванні хворих на алергію, а потенція послідовних партій визначається за допомогою відповідних сурогатних аналізів *in vitro*, які засновані на інгібуванні зв'язування IgE з комплексом алергічних сироваток із твердими фазовими екстрактами алергену, або вимірюванні специфічного вмісту алергену в екстрактах алергенів. Екстракти в США є більш однорідними щодо загальної алергенної активності, ніж екстракти, вироблені в Європі, головним чином тому, що FDA забезпечує однаковий стандартизований реагент для внутрішнього використання усіма виробничими компаніями. Однак ці стандарти обмежуються лише 19 джерелами, включаючи найбільш клінічно значущі в країні (отрути перетинчастокрилих, шерсть і шкіра котів, кліщі домашнього пилу, пилок 8 видів трав і амброзія). Ці препарати ліцензовані Центром оцінки біологічних досліджень та досліджень, і їх кількість не збільшується більше 10 років [176–178].

У випадку з нестандартизованими екстрактами, обчислення доз екстракту для АСІТ є складнішим, оскільки вимірювання об'ємної маси або одиниць білкового азоту (PNU) може не корелювати з біологічною

ефективністю [179]. В офіційному комюніке FDA експертна панель встановила, що, хоча більшість доступних продуктів алергенних екстрактів є безпечними для клінічного використання, близько половини з них не мала жодних доказів щодо їх ефективності. Відповідно, експерти очікували різке зменшення кількості доступних до використання нестандартизованих алергенних екстрактів.

Жорстке регулювання шкірних випробувань екстрактів зробило їх виробництво та реєстрацію проблематичним та дорогим для фармацевтичної галузі. Це призвело до прогалин у реєстрації конкретних алергенів у певних європейських країнах, в тому числі і в Україні (наприклад, грибкових алергенів) [119, 156, 161, 163, 164, 180].

1.2.2. Методи визначення специфічного IgE

У зв'язку з вищесказаним значно більшу діагностичну цінність в алергології набуває визначення у пацієнта рівня специфічних IgE [1, 10, 83, 92, 99, 132, 181, 182]. Основні показання та протидії показання для цього методу вказані нижче.

Показання та протипоказання до визначення специфічного IgE:

- Покази до дослідження:

 1. Диференційна діагностика між IgE-залежним і не-IgE-залежним механізмами алергічної реакції.
 2. Протипоказання до постановки шкірних тестів.
 3. Неможливість виявлення алергенів за допомогою анамнезу, харчового щоденника та ін.
 4. Протиріччя між результатами прик-тестів і даними анамнезу.
 5. Недостатній ефект АСИТ, призначеної за результатами шкірних проб.
 6. Дермографізм і поширений дерматит.
 7. Ранній дитячий і літній вік.
 8. Гіпо- або гіперреактивність шкіри.

9. Неможливість скасування протиалергійної терапії препаратами, що впливають на результати шкірних проб.
10. Негативне ставлення хворого до шкірних проб.
11. Наявність в анамнезі системних алергічних реакцій при проведенні шкірних проб з алергенами.
12. Невідповідність результатів шкірних проб даними анамнезу та клінічної картини АЗ.
13. IgE-залежна харчова алергія.
14. Необхідність кількісної оцінки чутливості і специфічності алергену.
15. Рівень загального IgE сироватки крові більше 100 кО / л.

Недоцільність дослідження:

1. АЗ з задовільними результатами АСІТ за даними шкірних проб.
2. Не-IgE-залежний механізм алергічної реакції.

До переваг методів визначення специфічних IgE (sIgE) для діагностики АЗ відносяться: безпека, відсутність впливу на стан шкіри фармакопрепаратів, незалежність від кооперації з пацієнтом (особливо з дітьми), хороша відтворюваність, виняток хибнопозитивних і помилково негативні результати шкірних тестів, одноразова інвазивність при заборі крові, можливість дистанційного обстеження пацієнта [183–189]. Однак ці методи мають і недоліки: велика вартість обстеження і менша чутливість в порівнянні з шкірними тестами, відсутність в ряді лабораторій умов для їх проведення, досить тривалий час для отримання результатів, можливість фіксації тільки циркулюючого IgE, наявність перехресних реакцій між інгаляційними і харчовими алергенами, неможливість розпізнавання небілкових алергенів [92, 95, 98–100, 183, 186]. Крім того, визначення рівня специфічних IgE зазвичай менш чутливо, ніж проведення шкірних прик-тестів з алергенами, титр специфічних IgE далеко не завжди пов'язаний з тяжкістю симптомів АЗ, оцінка значущості підвищення концентрації сироваткового IgE залежить від методу дослідження, виду алергену, віку пацієнта та характеру захворювання. У ряді випадків у пацієнтів

реєструються хибнопозитивні (внаслідок підвищеного рівня загального IgE, формування імунних комплексів IgG-IgE і генерації помилкового зв'язування IgE) або помилково негативні (внаслідок вироблення специфічних анти-IgE-антитіл класу IgG, можливості зв'язування частини загального рівня IgE перехресними алергенами, зв'язування специфічних IgE з опасистими клітинами до їх виявлення в сироватці) [27, 36, 155, 190, 191]. У зв'язку з усім цим даний вид лабораторного тестування не рекомендується проводити ізольовано без збору анамнезу та шкірних проб з алергенами.

В даний час існує не просто кілька методів, а кілька принципово різних підходів до визначення специфічних IgE, раціональний вибір яких визначається як клінічної завданням і декларованими перевагами того чи іншого методу, так і деякими специфічними обмеженнями, які існують для більшості з них. Так, методи визначення специфічних IgE в першу чергу діляться на виконувані *in vivo* і *in vitro*. Тести *in vivo* використовуються для визначення гіперчутливості до індивідуальних алергенів, але, на жаль, мають цілий ряд не тільки аналітичних, а й серйозних клінічних обмежень. Тести для визначення специфічних IgE *in vitro* розробляються з 1960-х років, а підхід до *in vitro* діагностики sIgE кілька разів піддавався ключовим змінам, що відбилося в понятті «нове покоління» *in vitro* тестів для специфічних IgE. Всі без винятку методи *in vitro* визначення абсолютно безпечні для пацієнта, оскільки не вимагають внесення в організм хворого додаткових кількостей алергену [77, 132, 182, 184–186, 188, 189, 192–196]. Крім того, при визначенні алерген-специфічних антитіл *in vitro* можливе визначення не тільки окремих алергенів, але і їх «панелей» – груп з кількох споріднених алергенів, іммобілізованих на твердофазному носії. Подібний підхід дуже зручний при обстеженні хворих з множинною сенсibilізацією до різних алергенів. Він значною мірою дозволяє знизити кількість кроків на шляху від первинного напрямку на аналіз до отримання його результатів. З одного боку, це економічно вигідно, оскільки означає зниження загальної вартості дослідження та його тривалості. З іншого боку, «панельне» дослідження дає

можливість прогнозувати ризик розвитку АР при контакті з новими алергенами, гомологічними до вже наявних в списку пацієнта.

Однак істотним обмеженням застосування *in vitro* методів до останнього часу служив той факт, що вони спрямовані на реєстрацію алерген-специфічних IgE-антитіл, що циркулюють в крові. Оскільки тривалість життя вільних IgE не перевищує декількох днів, то найбільша вірогідність результатів *in vitro* досліджень досягається при аналізі проб, відібраних в гострій фазі АЗ [187, 197, 198]. В даний час існують методи, спрямовані на реєстрацію алерген-специфічних IgG, G4, A-антитіл, що істотно підвищує шанс виявлення причинно-значущих алергенів незалежно від часу загострення АЗ [194, 199–205].

Імуноферментний аналіз (ІФА, enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), за допомогою якого проводиться кількісне визначення алерген-специфічних IgE в крові хворого, ґрунтується на тому, що на першому етапі дослідження випробуваний алерген ковалентно зв'язується з твердою фазою (паперовий диск, активований полімер і ін.) [110, 206–218]. При додаванні сироватки хворого відбувається зв'язування алергену, фіксованого на твердій фазі, з антитілом, якщо в сироватці присутні відповідні даному алергену антитіла. Після відмивання незв'язаних IgE додаються антитіла проти IgE, мічені флуорохромом (пероксидазою, бета-галактозидазою і ін.). Надалі відбувається утворення комплексу: алерген на твердій фазі + специфічний IgE + антитіла анти-IgE (антитіла проти IgE). Незв'язані антитіла видаляються. Рівні специфічного IgE-зв'язування визначаються за інтенсивністю світіння (реакція оцінюється в інтервалі 1-4-го класу). Чим вище показник світіння по відношенню до негативного контролю (сироватка, в якій відсутні специфічні IgE-антитіла), тим більше специфічних IgE в сироватці пацієнта. Специфічний характер реакції враховується на основі позитивного контролю (IgE-зв'язування інтенсивністю 4-го класу). Цінність цього методу полягає в тому, що для його проведення відразу з великою

кількістю алергену потрібна невелика кількість сироватки крові [155, 157, 206, 211].

Імуноблотинг (імуноблот) є високоспецифічним і високочутливим референтним методом для пацієнтів з позитивними або невизначеними результатами аналізів, отриманих в тому числі за допомогою реакції пасивної гемаглютинації або ІФА [219–227]. Цей метод виявлення антитіл до окремих алергенів заснований на постановці ІФА на нітроцелюлозних мембранах, на які у вигляді окремих смуг нанесено специфічні білки, розділені гелелектрофорезом. У тому випадку, якщо є антитіла проти певних антигенів, з'являється видима темна лінія у відповідному локусі стрипу. Унікальність імуноблоту полягає в його високій інформативності і достовірності отриманих результатів. При проведенні дослідження використовують набори двох типів – вестерн-блот і лайн-блот [219, 225–227].

Набори вестерн-блот містять тестові стрип-мембрани з електрофоретичної розділеними нативними антигенами відповідних Ал в порядку їх молекулярної маси. На мембрани можуть бути також нанесені 1-2 додаткові лінії з клінічно значущими антигенами (вестерн-, лайн-блот). Це надійний підтверджує метод, що виключає хибнопозитивні відповіді і перехресні реакції. У наборах лайн-блот на тестові стрип-мембрани нанесені тільки клінічно значущі антигени (нативні, синтетичні або рекомбінантні) в певному порядку. Такий підхід використовується при диференціальній діагностиці декількох алергенів на одному стрипі [222, 228].

Вестерн-блот є загальним методом, який використовується для виявлення білків, а також посттрансляційних модифікацій білків, і може надати напівкількісні або кількісні дані про цільовий білок у простих або складних біологічних зразках [229, 230]. На сучасному етапі розвитку лабораторної діагностики вестерн-блот є дуже широко застосовуваною методикою аналізу білка [231, 232]. Це багатоступенева процедура, що, як правило, включає: а) підготовку зразків (вилучення білка та вимірювання концентрації білка) з клітин або тканинних лізатів, б) поділ білків за

розміром на поліакриламідному гелі додецилсульфату натрію (SDS) за допомогою електрофорезу, в) іммобілізація відокремлених білків у мембрана нітроцелюлози або полівініліденфториду (PVDF), г) блокування неспецифічних білків на мембрані, д) зондування білків-мішеней специфічними первинними антитілами, д) інкубація з вторинними антитілами, кон'югованими з міченою хемілюмінесцентною або флуоресцентною молекулою, ф) виявлення сигналу що відображає зв'язування антиген / антитіло, г) денситометричний аналіз смуг білка за допомогою програмного забезпечення [231, 233]. Варіації на будь-якому етапі процесу можуть вплинути на результат. Таким чином, слід подбати про стандартизацію кожного етапу вестерн-блот-процесу щодо відтворюваності та високої чутливості. Втім, різна точність процедур приготування стріпів, калібрування, оцінки результату на етапі завершення тесту призводять до невідповідності результатів з ШПТ та між собою [1, 10, 83, 92, 99, 110, 117, 151, 181–183, 187, 194, 195, 198, 202, 234].

Імунохроматографічний аналіз (ІХА) заснований на поділі часток методом парної зв'язки і реакції між антигеном / алергеном і відповідним йому антитілом в біологічних матеріалах (цільна кров, сироватка або плазма крові та ін.). Даний вид аналізу проводиться за допомогою спеціальних експрес-тестів, тест-смужок або тест-касет. Взаємодія (і пофарбована смуга) в контрольній зоні повинні виявлятися завжди, якщо аналіз проведено правильно, незалежно. В експрес-тестах використовуються три типи антитіл: 1) рухливі моноклональні антитіла до досліджуваного антигену або антитіла, кон'юговані (зшиті) з колоїдним золотом – барвником, який можна легко ідентифікувати навіть у найменших концентраціях. Ці антитіла нанесені поблизу ділянки занурення тест-смужки в фізіологічну рідину; 2) поліклональні антитіла до досліджуваного антигену або антитіла, жорстко іммобілізовані в тест-зоні смужки; 3) вторинні антитіла до моноклональних антитіл, жорстко іммобілізовані у контрольній зоні тест-смужки [235, 236].

В даний час сформульовані особливості інтерпретації досліджень рівня специфічних IgE, до яких традиційно відносять: 1) доступність визначення специфічних IgE не повинна перебільшувати його діагностичну роль в обстеженні хворих на АЗ; 2) виявлення алергенспецифічних IgE (до якого-небудь алергену або антигену) не доводить, що саме цей алерген відповідальний за клінічну симптоматику АЗ, в зв'язку з чим остаточний висновок і інтерпретація лабораторних даних повинні бути зроблені тільки після їх зіставлення з клінічною картиною та даними анамнезу; 3) відсутність специфічних IgE в сироватці крові не виключає можливості участі IgE-залежного механізму, так як місцевий синтез IgE і сенсibilізація опасистих клітин може відбуватися і під час відсутності специфічних IgE в кровотоці (наприклад, АР); 4) антитіла інших класів, специфічні для даного алергену, особливо класу IgG (IgG4), можуть бути причиною хибно-негативних результатів; 5) виключно високі концентрації загального IgE можуть за рахунок неспецифічного зв'язування з алергену давати хибнопозитивні результати; 6) ідентичні результати для різних алергенів не означають їх однакового клінічного значення, так як здатність до зв'язування з IgE у різних алергенів може бути різною.

1.2.3. Молекулярні компонентні методи специфічної алергодіагностики

В кінці 1960-х років відкриття IgE дало специфічний біомаркер, який міг би бути використаний для ідентифікації алергічних захворювань, спровокованих алергенами навколишнього середовища (як правило, білками). Традиційні тести на антитіла до IgE, такі як ШПТ та *in vitro* специфічні тести на IgE (специфічні IgE), засновані на екстрактах, що складаються з алергенних та неалергенних молекул, отриманих з алергенного джерела. З застосуванням ДНК-технології в кінці 1980-х рр. характеристики основних алергенних молекул були описані для вирішення детермінант різних алергічних захворювань [237–246]. Останнє десятиріччя

ознаменувалось розвитком нового напрямку специфічної алергодіагностики, що отримав назву молекулярного, або компонентного тестування. Основою методу є визначення специфічних IgE не до цільного білка, яким є алерген в природі, а до окремих його компонентів.

Серед таких компонентів виділяють основні, або мажорні, та додаткові, або мінорні. Мажорні компоненти є власне алергенними детермінантами даного білка та відповідають за сенсibilізацію до алергену у більшості хворих – до 90-95% [242, 243, 245, 246]. Мінорні компоненти не є частою причиною сенсibilізації, проте такі випадки є описаними [166, 176, 247–254]. Найчастіше ці компоненти зумовлюють так звані «перехресні» реакції у пацієнтів – виникнення симптомів при контакті з різними алергенами, які мають спільні компоненти. У літературі також зустрічається розподіл молекул алергенів на мажорні, мінорні, первинні та перехресно реагуючі алергенні молекули. Як правило, мажорна алергенна молекула може зв'язуватися з IgE у більшості пацієнтів, а мінорна алергенна молекула може викликати алергічну реакцію у <50% клінічно алергічних пацієнтів з алергією на субстанцію. Первинна алергенна молекула – це молекула, яка викликає специфічну сенсibilізацію до відповідного джерела алергену. Первинна алергенна молекула є рушієм, тобто є вихідною молекулою синтезу у конкретного пацієнта. Мажорні алергенні молекули можна більш точно визначити як первинні або справжні алергенні молекули. На додаток до цих термінів, важливо розуміти явище перехресної реактивності, яке передбачає здатність IgE зв'язуватися з алергенними молекулами (гомологами), крім цільових алергенних молекул, присутніх у різних видів, а потім індукувати імунну відповідь. Отже, завдяки спільним, подібним або ідентичним епітопам, перехресно реагуючі молекули (гомологи) можуть реагувати з IgE так само, як цільові алергени. Перехресна реакція відбуватиметься, якщо подібність первинної структури з цільовою молекулою алергена перевищує 50-70 % [183, 241, 255–259]. Для кожного пацієнта важливо виявити сенсibilізацію до справжніх алергенних молекул

та виявити перехресно реактивні молекули. Ко-сенсibilізація передбачає одночасну гіперчутливість до алергенних молекул з різних алергенних джерел (наприклад, бур'янів та берези) - ця сенсibilізація не призводить до перехресної реактивності.

Одним із нових та перспективних методів специфічної алергологічної діагностики є молекулярне компонентне тестування. Екстракти алергенів складаються із суміші різних алергенних білків, отриманих з одного джерела, включаючи невидові специфічні, тобто перехресно реактивні молекули. Однак молекулярне компонентне тестування використовує окремі алергенні компоненти / білки, отже, визначає точну молекулу, проти якої виробляються специфічні IgE. Для цього доступні очищені природні та рекомбінантні компоненти алергену. Молекулярне компонентне тестування широко застосовується у випадках АР та БА та для діагностики більшості інших опосередкованих IgE АЗ (наприклад, у пацієнтів з алергією на арахіс, яйце, молоко, пшеницю, латекс, отруту комах тощо) [51, 56, 112]. На сьогоднішній день добре відомим і часто використовуваним методом вимірювання сенсibilізації IgE до компонентів знову є аналіз ImmunoCAP, який є одноплексним імунологічним аналізом. Аналіз ImmunoCAP заснований на зв'язуванні алерген-специфічних антитіл IgE у сироватці крові або інших рідинах організму з алергеном (екстрактом або молекулою алергену), розміщеним зверху твердої фази. Зв'язаний IgE згодом виявляється за допомогою міченого ферментом анти-IgE, де інтенсивність флуоресценції пропорційна кількості алерген-специфічного IgE. Основною перевагою симплексного ImmunoCAP є отриманий кількісно визначений алергенспецифічний рівень антитіл IgE (кілоодиниць антитіл на літр [$\text{kU}_\text{A}/\text{л}$]) на основі загальної калібрувальної системи IgE, що калібрується еталонним препаратом BOOЗ. Крім того, надлишок алергену, іммобілізованого на значній за площею поверхні целюлози одноплексного ImmunoCAP, забезпечує повне зв'язування антитіл IgE, що призводить до високої чутливості та широкого діапазону лінійного аналізу. Аналіз має

хорошу точність і відтворюваність і дає показники до $0,1 \text{ кО}_A / \text{л}$ (діапазон, $0,1-100 \text{ кО}_A / \text{л}$). Сироватки з дуже високим рівнем антитіл IgE (тобто більше $100 \text{ кО}_A / \text{л}$) можуть бути точно визначені кількісно, використовуючи розведення та подальше множення результатів. Крім того, немає залежності від рівня алерген-специфічних антитіл IgG [126].

Інша можливість – мультиплекс ImmunoCAP ISAC Аналіз ® 112 (Thermo Fisher Scientific), мікрочип, який наразі включає 112 алергенних молекул з 51 джерела алергенів, забезпечуючи таким чином широкий профіль сенсibiliзації для кожного пацієнта із зразком сироватки або плазми всього 30 мкл. Нещодавно з'явилася система мікротестів для алергії (Microtest Diagnostics), ще одна автоматизована платформа мікрочипів для діагностики алергії. За допомогою 100 мкл зразка сироватки або плазми можна ідентифікувати специфічні IgE проти 19 екстрактів та 16 компонентів 22 загальних джерел алергену [151, 206]. Також комерційно доступний мультиплекс ELISA ALEX ® (Macro Array Diagnostics), який пропонує вимірювання до 282 екстрактів та компонентів алергену та загального IgE за допомогою 100 мкл сироватки або плазми. Найважливішими його перевагами є конструкція панелі на замовлення та індивідуально оптимізовані екстракти алергенів, які можна використовувати. Додатковою перевагою більшості підходів до мікрочипів є статистична потужність паралельного аналізу реплік [186].

Технологія ImmunoCAP для визначення алерген-специфічних IgE, в основі якої лежить повністю автоматизоване імуноферментне визначення алергенспецифічних IgE з хемілюмінесцентним способом реєстрації результатів. Ідея даної технології полягає в можливості виявлення наднизьких концентрацій IgE-антитіл та інших показників в надмалих кількості крові пацієнта, що технічно реалізується шляхом використання спеціального спіненого матеріалу, похідного бромціан-активованої целюлози. Завдяки своїй пористій структурі матеріал має велику поверхню взаємодії і забезпечує високу зв'язує здатність з нанесеним на нього

антигеном або антитілом. Поверхня взаємодії такого матеріалу в 150 разів більше внутрішньої поверхні звичайної пробірки. Для використання в автоматичних установках, зберігання і маркування цей матеріал поміщають в мініатюрний відкритий спеціальний пластмасовий ковпачок – CAP, спеціальна система промивання якого дозволяє всього за кілька секунд отримати повне відділення незв'язаної речовини від пористого матеріалу. Все це забезпечує високу точність досліджень, їх відтворюваність і швидкість виконання [13, 14, 82, 87–89, 97, 103, 114, 133, 139, 152, 21, 172, 178, 204, 206, 213, 218, 31, 47, 70, 71, 78, 79, 81]. Мультиплексний ImmunoCAP ISAC є найбільш повною в даний час доступною платформою для одночасного вимірювання рівнів IgE для більш ніж 100 молекул алергенів. Принцип аналізу схожий на звичайний ImmunoCAP, але тут різні молекули алергенів виявляються в невеликих кількостях у трійках на скляному полімерному покритті замість одного алергену, тобто є іміобілізованими у велику целюлозну матрицю. Алерген-зв'язані антитіла до IgE виявляються за допомогою міченого анти-IgE, а флуоресценція вимірюється лазерним сканером. Одне з останніх досліджень залучило 23 лабораторії з різних куточків світу та показало, що варіативність методу, в незалежності від оператора, умов виконання, місця виконання склала 25,5 % [78].

Окрім того, кількість сироватки, необхідна для ISAC, становить всього 40 мкл, що також є великою перевагою. Метод дозволяє не лише детально вивчити карту сенсibilізації пацієнта, а й прогнозувати ефективність АСІТ в залежності від сенсibilізації до окремих мажорних компонентів алергенів [23, 124, 163, 174, 176–178, 241, 255–257, 259–275]. Недоліками ISAC є його напівкількісні вимірювання (значення надаються в ISU), його нижній лінійний діапазон (0,3 ISU) та вартість.

Таким чином, існуюче різноманіття методів специфічної алергологічної діагностики АЗ та постійне їх вдосконалення (кроки до стандартизації екстрактів діагностичних алергенів, поява калібрувальних кривих імуноблотів, розширення використання і подальший розвиток молекулярного

компонентного тестування) зумовлюють зміни класичних підходів до визначення сенсibilізації у пацієнтів з IgE-опосередкованими АЗ. Втім, відсутність чітких єдиних підходів до стандартизації методів специфічної алергодіагностики та розробка внутрішніх стандартів кожного виробника, з іншого боку, несе в собі можливість різної діагностичної цінності таких методів в клінічній практиці, що, безумовно, потребує поглибленого дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Поставлені в роботі завдання вимагали проведення досліджень серед контингенту хворих на IgE-залежні алергічні захворювання (АЗ), основними представниками яких є алергічний риніт (АР) та алергічна бронхіальна астма (БА), адже необхідно було визначити показники чутливості, специфічності та точності різних методів лабораторного визначення специфічних імуноглобулінів класу Е, які є провідним медіатором реакцій гіперчутливості негайного типу.

Дизайн дослідження

Дослідження було відкритим, проспективним, порівняльним. В першу чергу у дослідження набирались полісенсibilізовані пацієнти, що мали сенсibilізацію до алергенів принаймні двох груп. Всі пацієнти, що ввійшли в групу спостереження, пройшли співбесіду та підписали лист поінформованої згоди на участь у дослідженні. Всі жінки були опитані на предмет можливої вагітності.

Критерії відбору досліджуваних:

- 1) стать – і чоловіча, і жіноча, вік – від 18 до 60 років;
- 2) контрольована БА інтермітуючого та легкого персистуючого перебігу згідно з критеріями GINA 2014 та протоколу діагностики й лікування БА, затвердженого Наказом № 868 МОЗ України від 08.10.2013 р.
- 3) БА алергічного генезу (за наявності обтяженого алергологічного анамнезу та підвищеного показника загального IgE в крові хворого);
- 4) інтермітуючий та персистуючий АР згідно з критеріями ARIA (2014);

5) клінічно значима моно- або полісенсibilізація до досліджуваних алергенів за результатами шкірного тестування методом прик-тесту з цими алергенами;

6) наявність письмової поінформованої згоди на обстеження та лікування.

Критерії виключення досліджуваних:

1) наявність важкої супутньої алергічної патології та важких алергічних реакцій в анамнезі (синдром Стивенса-Джонса, синдром Лайєла, анафілаксія та ін.)

2) наявність важкої супутньої гострої та хронічної соматичної патології (декомпенсований цукровий діабет, автоімунні захворювання, туберкульоз та ін.);

3) наявність психічної патології;

4) алкогольна та/або наркотична залежність;

5) нездатність виконувати лікарські призначення.

6) вагітність, лактація.

7) одночасна участь в іншому клінічному дослідженні.

Критерії вибування пацієнтів з дослідження:

1) відмова від участі в дослідженні.

Детально принципи групування хворих представлені у відповідних розділах.

Матеріали цієї наукової роботи ґрунтуються на результатах відбору й обстеження пацієнтів на базі консультативного відділення МКЛ №1 (м. Вінниця), ТОВ «Алерго-імунологічний центр КПП» (м. Вінниця), ТОВ «Клініка імунології та алергології «Форпост» (м. Київ).

2.1. Загальна характеристика пацієнтів та дизайну дослідження

Для виконання поставлених в роботі завдань нами було обстежено три групи пацієнтів.

З метою вивчення конкордантності результатів шкірного тестування методом прик-тесту комерційними екстрактами мікст-алергенів кліщової групи двох різних виробників – МП «Імунолог» (Україна, Вінниця) та «Sevapharma, a.s.» (Чеська республіка, Прага) було проведене специфічне алергологічне та термографічне обстеження групи 20 пацієнтів з АР та БА з сенсibilізацією до алергенів кліщової групи (*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*). Чоловіків було 14 (70,0 %), жінок – 6 (30,0 %) у віці від 20 до 48 років, середній вік яких склав $(33,2 \pm 4,6)$ років. Серед них 12 пацієнтів (60,0 %) мали діагноз АР (12 осіб (100,0 %) персистуючий АР), 6 (30,0 %) – персистуючої БА, 2 (10,0 %) пацієнти – АР та БА. Загальна характеристика обстежених за віком та статтю наведена у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Статеву – вікова характеристика обстежених пацієнтів групи порівняння результатів шкірного тестування методом прик – тесту

Вік (років)	Кількість хворих		Стать	
	абс.	%	Ч	Ж
20–39	15	75	11	4
40–59	5	25	3	2

Діагноз бронхіальної астми було виставлено у відповідності до критеріїв GINA 2014 та протоколу діагностики й лікування БА, затвердженого Наказом № 868 МОЗ України від 08.10.2013 р. Діагноз алергічного риніту було виставлено у відповідності до критеріїв ARIA. Діагноз у вищевказаних осіб був верифікований ще до початку їх поглибленого алергологічного обстеження. Розподіл сенсibilізації за окремими алергенами наведено на рис. 2.1.

Як видно з рисунку, більшість пацієнтів – 17 (85,0 %) були сенсibilізованими до *Dermatophagoides farinae*, сенсibilізація до *Dermatophagoides pteronyssinus* була у 14 пацієнтів (70,0 %), при цьому 11 пацієнтів (55,0 %) мали сенсibilізацію до обох кліщових алергенів, що

дозволило нам в подальшому проводити тестування з мікст-алергенами кліщової групи різних виробників та порівнювати їх між собою.

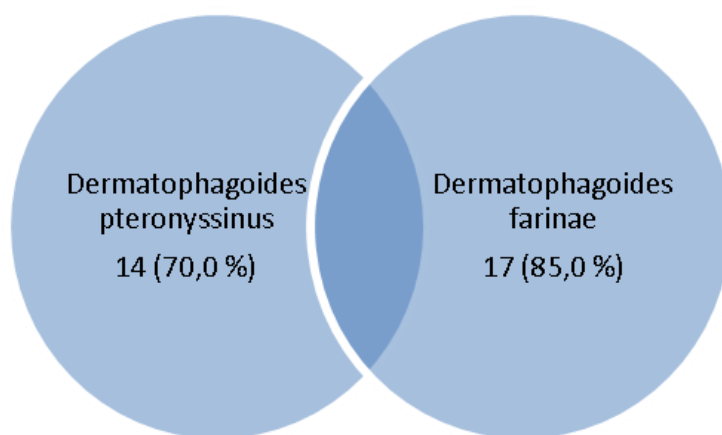


Рис. 2.1. Сенсibilізація пацієнтів групи порівняння результатів ШПТ

З метою визначення основних параметрів діагностичної цінності різних методів специфічної алергологічної діагностики проведено порівняння результатів визначення сенсibilізації 88 пацієнтів з АР та БА за допомогою шкірного тестування методом прик-тесту з комерційними екстрактами алергенів (МП «Імунолог», Україна) та визначення рівнів специфічного IgE до алергенів інгаляційними панелями імуноблоту двох різних виробників («R-Biopharm AG» та «Euroline», Федеративна Республіка Німеччина). Чоловіків було 43 (48,8 %), жінок – 45 (43,4 %) у віці від 18 до 50 років, середній вік яких склав $(31,3 \pm 3,1)$ років. Серед них 60 пацієнтів (68,1 %) мали діагноз АР (38 осіб (63,3 %) інтермітуючий АР, 22 (36,7 %) особи – персистуючий АР), 20 осіб (22,7 %) – БА (18 осіб (90,0 %) інтермітуючої БА, 2 (10,0 %) особи – персистуючої БА), 8 (9,0 %) пацієнтів – АР та БА.

Розподіл пацієнтів групи за нозологіями представлено на рис. 2.2.

Серед пацієнтів групи 43 особи (48,9 %) отримували АСІТ алергенами у підтримуючій фазі, 16 осіб (18,2 %) – у фазі насичення та 29 осіб (32,9 %) – не отримували взагалі.

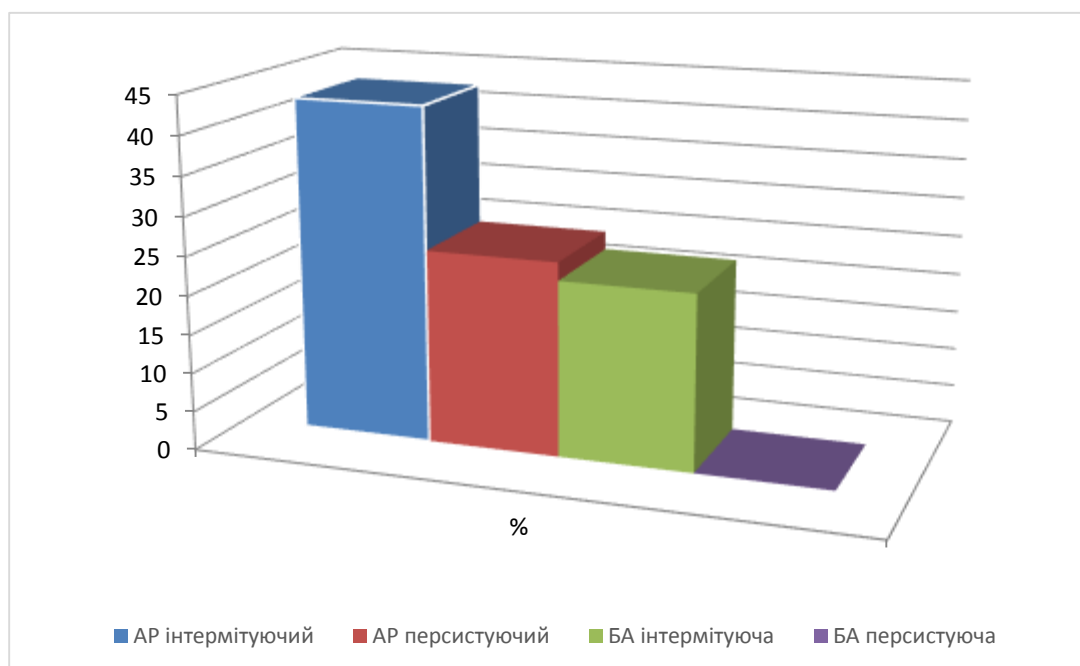


Рис. 2.2. Розподіл пацієнтів групи визначення різних методів специфічної алергологічної діагностики

Загальна характеристика обстежених за віком та статтю наведена у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Статтєво-вікова характеристика обстежених пацієнтів групи порівняння результатів ШПТ та імуноблотів

Вік (років)	Кількість хворих		Стать	
	абс.	%	Ч	Ж
20–39	68	77,3	32	36
40–59	20	22,7	11	9

З метою вивчення конкордантності результатів визначення сенсibilізації у пацієнтів з АР та БА методами імуноблоту та молекулярного компонентного тестування було обстежено 40 пацієнтів з АР та БА. Чоловіків було 23 (57,5 %), жінок –17 (42,5 %) у віці від 18 до 50 років, середній вік яких склав $(29,6 \pm 3,1)$ років. Серед них 30 пацієнтів (75,0 %) мали діагноз АР (20 осіб (66,7 %) інтермітуючий АР, 10 (33,3 %) особи – персистуючий АР), 10 осіб (25,0 %) – БА (8 осіб (80,0 %) інтермітуючої БА, 2

(20,0 %) особи – персистуючої БА). Загальна характеристика обстежених за віком та статтю наведена у таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

**Статтєво-вікова характеристика обстежених пацієнтів групи
порівняння результатів К-імуноблоту та МКТ**

Вік (років)	Кількість хворих		Стать	
	абс.	%	Ч	Ж
20–39	18	45,0	3	14
40–59	22	55,0	20	3

Групування пацієнтів серед усіх обстежених у залежності від віку представлено в таблиці 2.1.

В цілому обстежено 148 хворих на АР та / або АБА. Чоловіків було 80 (54,0 %), жінок – 68 (46,0 %) у віці від 20 до 60 років, середній вік яких склав $(37,1 \pm 6,9)$ року.

Таблиця 2.1

Розподіл хворих в залежності від віку (n = 148)

Вік (років)	Кількість хворих	
	абс.	%
20–39	101	68,2
40–59	47	31,8

Як видно з даних таблиці, серед обстежених хворих переважали особи у віці від 20 до 39 років, що в цілому узгоджується з віковою структурою дорослих пацієнтів з АР в Україні [41].

2.2. Клініко – лабораторні методи дослідження

Для досягнення мети та завдань дослідження використовувалися такі методи дослідження:

1. Збирання скарг, анамнезу, в т.ч. алергологічного та спадкового анамнезу у хворих.
2. Фізикальне обстеження хворих.
3. Визначення специфічної шкірної гіперчутливості методом прик-тесту до алергенів у хворих за візуальним вимірюванням його результатів.
4. Термографічна оцінка специфічної шкірної гіперчутливості методом прик-тесту до алергенів у хворих.
5. Визначення рівня алерген-специфічного IgE до алергенів у хворих методом імуноблотінгу.
6. Дослідження компонентного складу препаратів діагностичних алергенів за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі з наступною побудовою спектрограм.
7. Визначення рівня алерген-специфічних IgE до компонентів алергенів за допомогою мультиплексного компонентного дослідження.

Збирання скарг, анамнезу, фізикальне обстеження пацієнтів, загальноклінічні дослідження проводились у кабінеті алерголога ТОВ «Алерго-імунологічний центр КПП», кабінеті алерголога консультативного відділення МКЛ №1 м. Вінниці, кабінеті алерголога ТОВ «Клініка імунології та алергології «Форпост». Визначення специфічної шкірної гіперчутливості методом прик-тесту до алергенів у хворих за візуальним вимірюванням та термографічна оцінка специфічної шкірної гіперчутливості методом прик-тесту до алергенів проводились у ТОВ «Алерго-імунологічний центр КПП». Лабораторне обстеження пацієнтів здійснювалося у приватній лабораторії ТОВ «Сінево Україна», лабораторії ТОВ «Алерго-імунологічний центр КПП» та лабораторії ТОВ «Клініка імунології та алергології «Форпост». Дослідження компонентного складу препаратів діагностичних алергенів за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі проводилось у лабораторії компанії «R-Biopharm AG».

Збір алергологічного анамнезу проводився за загальноприйнятою схемою і передбачав визначення анамнезу щодо наявності БА, АР,

атопічного дерматиту та інших можливих клінічних проявів алергічної патології, деталізацію скарг для попереднього визначення причинно-значимого алергену з установленням попереднього діагнозу для подальшого лабораторного та функціонального обстеження. Проводилися також збір та деталізація спадкового алергічного анамнезу у хворих.

Загальноклінічне дослідження передбачало збір скарг із деталізацією анамнезу хвороби та життя, фізикальне обстеження пацієнта, проведення лабораторно-інструментальних методів дослідження за потреби – розгорнутий аналіз крові, загальний аналіз сечі, біохімічне дослідження крові, рентгенографія органів грудної клітки (за потреби), консультація отоларинголога та дерматолога. Вказані дослідження проводилися за загальноприйнятими методами.

В якості розчинів діагностичних алергенів в нашому дослідженні застосовувались оригінальні вітчизняні алергени *виробництва Вінницького МП „Імунолог”*, а саме – *Dermatophagoides pteronissynus* (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), *Dermatophagoides farinae* (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), вільха (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), береза (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), ліщина (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), дуб (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), жито (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), полин (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), подорожник (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), шерсть кішки (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), шерсть собаки (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), шерсть хомяка (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), лупа коня (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), шерсть кролика (реєстраційне посвідчення № 590/06 – 300200000 від 04.07.06), що є

водно-сольовими розчинами білково-полісахаридних комплексів, виділених із відповідної сировини шляхом екстракції рідиною Еванса-Коха.

Форма випуску алергенів була у рідкому вигляді по 2 мл алергену (мікст-алергену) у флаконах із коричневого скла, при цьому 1мл розчину містить 10 000 PNU алергену. 1 PNU (Protein Nitrogen Unit) — міжнародна одиниця, що прийнята для визначення концентрації білкового азоту в алергенах, яка дорівнює 0,00001 мг білкового азоту.

Вибране дозування та методика використання препаратів відповідали інструкції щодо їх медичного застосування.

Для порівняння шкірної реакції на діагностичні алергени різних виробників нами було використано мікст-алергени виробництва МП „Імунолог” (м. Вінниця, Україна) – мікст-алерген побутовий №5 та ТОВ «Sevapharma» (м. Прага, Чеська республіка) – Д-АЛ прик-тест діагностичний «Суміш кліщів». Мікст-алерген побутовий №5 – розчин, 1мл якого містить 10 000 PNU мікст-алергену побутового № 5 (із домашнього пилу, збагаченого *Dermatophagoides pteronyssinus*; домашнього пилу, збагаченого *Dermatophagoides farinae*; домашнього пилу, збагаченого *Acarus siro*; пір'я подушок); допоміжні речовини: натрію хлорид, динатрію фосфат додекагідрат (натрій фосфорнокислий двозаміщений), калію дигідрофосфат (калій фосфорнокислий однозаміщений), фенол, вода для ін'єкцій. 1 флакон такого розчину містить 5 мл алергену (10 000 PNU/мл).

Препарат Д-АЛ прик-тест діагностичний «Суміш кліщів» представляє собою водно-сольовий екстракт з суміші кліщів (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Acarus siro*) для проведення прик-тесту. Є прозорою рідиною жовтого кольору, що містить 1000 PNU /мл алергену.

Шкірне тестування проводили стандартизованим методом прик-тесту за допомогою ланцетів вітчизняними алергенами виробництва Вінницького МП «Імунолог». Шкірні тести пацієнтам виконували в період ремісії основного захворювання та за відсутності інших протипоказань до тестування «in vivo»

з алергенами. Техніку постановки шкірних тестів та оцінювання результатів (табл. 2.1) проводили відповідно до наказу МОЗ й АМН України № 127/18 від 02.04.2002 р. «Про організаційні заходи по впровадженню сучасних технологій діагностики та лікування алергічних захворювань» [26].

Для постановки проби шкіра долонної поверхні передпліччя оброблялась 70 % етиловим спиртом, на неї на відстані 2,0-2,5 см наносились краплі алергенів та негативного і позитивного контролів у вигляді тест-контрольної рідини та 0,01% розчину гістаміну хлориду. Після цього проводився прокол попередньо натягнутої шкіри за допомогою спису ланцету до упору обмежувача [26].

Результати прик-тесту оцінювались через 15-20 хвилин після виконання (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Оцінювання результатів шкірного тестування

Прик-тест	Результат, мм
Негативний	0
Сумнівний	1–2
Позитивний	3–7
Виражено позитивний	8–12
Гіперергічний	13 і більше

Для термографічної оцінки шкірного тестування нами було використано медичний інфрачервоний тепловізор Ulir Vision TI-120, сертифікований до використання у медичній практиці в Україні за діапазоном вимірювання температур.

Тепловізор оснащений високочутливою матрицею нового покоління на 160x120 пікселів і яскравим кольоровим дисплеєм з діагоналлю 3,5 дюйма. Тепловізори подібного типу застосовуються прикордонними службами в аеропортах, на залізничних станціях і в інших місцях, де необхідний регулярний медичний контроль. Тепловізор TI-120 володіє наступними

особливостями: температурний діапазон від 20 С до 50 С, визначення температури з точністю $\pm (0,5 - 0,6)$ С.

Підготовку хворих до обстеження виконували відповідно до правил в кабінеті з мікрокліматом. У відповідності з ними, ряд вимог був виконаний щодо приміщення для термографії. Так, сама кімната мала належні розміри для підтримки однорідної температури, було достатньо місця для розміщення обладнання та свободи пересування як для техніки, так і для пацієнта. Також вона була достатньо великою, щоб дати можливість пацієнтам будь-якого розміру розташовуватись відповідно до кожного анатомічного зображення. Оптимальний розмір кімнати для задоволення таких вимог – 3 X 5 метрів. Більші приміщення також можуть бути використані, проте в них має бути можливість підтримання належної температури. Під час обстеження пацієнт розташовувався на відносно однаковій відстані та адекватно віддалятися від кожної стінки. Кімната мала килимове покриття.

До проведення процедур термографії повноцінне інфрачервоне обстеження приміщення проводилось для перевірки наявності будь-яких джерел інфрачервоного випромінювання та витоків (тобто вікон, опалювальних каналів, освітлювальних приладів, труб гарячої води). Усі суттєві зауваження були виправлені. Під час виконання обстежень всі вікна були зачинені та екрановані, щоб у приміщення не потрапляло інфрачервоне випромінювання. Для цього були застосовані жалюзі, регульовані вручну залежно від кількості прямого інфрачервоного випромінювання. У кімнаті не було протягів, вікна та двері були належним чином герметизовано, щоб запобігти потоку повітря в районі, де знаходиться пацієнт. Джерела тепла та кондиціонера були мінімізовані в приміщенні та трималися подалі від пацієнта. Під час обстеження не використовували освітлення лампами розжарювання через наявність інфрачервоного випромінювання. Стандартне люмінесцентне освітлення було використане.

Окрім того, ряд вимог було виконано щодо температурного режиму приміщення. Так, температура в кімнаті була такою, щоб фізіологія пацієнта

не змінювалася аж до тремтіння та поту. Діапазон температур підтримувався від 18 до 23 градусів Цельсія. Зміни кімнатної температури під час обстеження мали бути поступовими, щоб підтримувати стабільний фізіологічний стан і всі частини тіла могли рівномірно нагріватись. Температура приміщення не повинна була змінюватися більше, ніж на один градус Цельсія під час дослідження. Вологість приміщення також контролювалась таким чином, щоб на шкірі не накопичувалася вологість повітря, потовиділення або пари, які можуть взаємодіяти з променевою інфрачервоною енергією. У приміщенні для обстеження мав бути термометр температури навколишнього середовища для точного контролю температури приміщення.

Правильне ведення пацієнта як до, так і під час обстеження зменшує ймовірність термічних артефактів і підвищує точність зображень. Тому наступні рекомендації у паперовому виді було надано кожному пацієнту мінімум за тиждень до виконання процедури:

- a. За 5 днів до іспиту заборонено робити сонячні ванни.
- b. Не використовуйте лосьйони, креми, присипки або макіяж на ділянці тіла, які підлягають термографії, в день дослідження.
- c. При термографічному обстеженні верхньої частини тіла, дезодоранти та антиперспіранти не використовуються в день обстеження.
- d. Якщо якісь ділянки тіла, включені в термографічне зображення, потрібно голити, це слід робити ввечері перед дослідженням або принаймні за 4 години до обстеження.
- e. За 24 години до іспиту заборонено проводити фізичну терапію, лікування ультразвуком, голковколювання, мануальну терапію, фізичну стимуляцію, гарячі або холодні обертання.
- f. Ніяких вправ за 4 години до обстеження.
- g. Якщо ви приймаєте душ, це повинно бути не пізніше, ніж за 1 годину до обстеження.

h. Якщо це не протипоказано лікарем пацієнта, уникайте використання знеболюючих препаратів та вазоактивних препаратів у день обстеження. Пацієнт повинен проконсультуватися зі своїм лікарем перед тим, як змінити використання будь-яких ліків.

Перед візуалізацією пацієнту давали достатньо часу, щоб акліматизуватись з умовами навколишнього середовища лабораторії, для досягнення приблизного стійкого фізіологічного стану термодинамічної рівноваги. Ми дотримувалися мінімального періоду рівноваги 15 хвилин; подальша акліматизація призводить до мінімальних змін температури поверхні. Протягом періоду акліматизації та подальшого огляду ділянка обстеження залишалась повністю непокритою одягом чи ювелірними виробами.

Для підвищення точності та об'єктивності дослідження тепловізор було закріплено на штативі та вимірювання з наступною фіксацією результатів відбувалось з відстані 30 см від поверхні шкіри, при цьому класична візуальна оцінка шкірного тестування методом прик-тесту, описана в табл. 2.1, проводилась одночасно.

Кількісне визначення специфічних IgE в сироватці крові проводили за допомогою методу імуноблоту «Euroline» (Milenia Biotec GmbH, Німеччина) на базі приватної медичної лабораторії ТОВ «Сінево Україна» медичного холдингу «Медикавер» (Бельгія) та імуноблоту «Rada® AllergyScreen» (R-Biopharm AG, Німеччина) на базі приватної лабораторії ТОВ «Алерго-імунологічний центр КПП».

Норми концентрації специфічних IgE коливалися від 0,35 до 100 Ku/l.

Тести «Rida AllergyScreen» та «Euroline» засновані на принципі імуноблотингу. Специфічні алергени, відповідні за складом панелі, нанесені на поверхню нітроцелюлозних мембран (стріпів). IgE-антитіла, специфічні до цих алергенів, присутні у зразках крові пацієнтів, реагують з антигенами, забезпечуючи тим самим на другій стадії інкубації прикріплення антитіл до IgE людини, кон'югованих з біотином (що проявляють антитіла), до смуг

алергенів на стріпах. Під час третьої стадії інкубації до біотину прикріплюється стрептавідин, кон'югований з лужною фосфатазою (кон'югат). Фермент перетворює безбарвний субстрат (BCIP / NBT) в кінцевий продукт реакції синьо-бузкового кольору. Інтенсивність синього забарвлення прямо пропорційна кількості алерген-специфічних антитіл в сироватці. Оцінка результату проводилась на приладі Rida® Xscreen.

В роботі було застосовано респіраторну панель обох виробників, за допомогою якої проводиться визначення специфічних IgE до наступних алергенів: домашній пил (кліщ *Derm. pteronyssinus*, *Derm. farinae*), вільха, береза, ліщина, дуб, суміш трав, жито, полин, подорожник, епідермальні алергени кішки, коня, собаки, морської свинки, хом'яка, кролика, грибкові алергени *Alternaria alternata*, *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*.

Для проведення дослідження у пацієнтів було відібрано зразки крові, з яких було приготовано сироватку. У відповідності до інструкції перед використанням всі реагенти, сироватки пацієнтів і касети з тестовими стріпами було прогріто до кімнатної температури (20-25 ° C), після чого їх було ретельно перемішано. Касети стрипів брали тільки за спеціальну ручку, не торкаючись руками до реакційної поверхні стріпа. Дані про пацієнта (номер, присвоєний йому в лабораторії) наносили на ручку касети незмивним маркером.

Наступним етапом було приготування розчину для промивання буфера, для чого готувалось робоче розведення з одного флакону концентрату Wash, довівши обсяг дистильованою водою в мірному циліндрі до 500 мл, перемішано і перелито приготований розчин в лабораторну бутель для промивного буфера. Якщо в концентраті Wash були присутні кристали солей, їх розчиняли, попередньо прогрівши концентрат на водяній бані при температурі 37 ° C.

Далі у відповідності до інструкції було виконано послідовно чотири інкубації. Під час першої інкубації стріпи було промито окремо протягом 5

секунд під струменем з бутля з розведеним мийним буфером. Після цього було повністю видалено залишки рідини за допомогою постукування стрипами по листу з вологопоглинаючого матеріалу (фільтрувального паперу). Потім вносили в кожен стрип Membrane 250 мкл досліджуваної сироватки пацієнта і інкубували при кімнатній температурі (20-25 ° C) на шейкері рокерного типу протягом 45 хвилин. Після першої інкубації виконували промивку миючим розчином у відповідності до описаної вище методики.

Під час другої інкубації в кожен тестовий стрип Membrane було додано 5 крапель (близько 250 мкл) проявляючих антитіл (Antibody). Інкубацію проводили при кімнатній температурі (20-25 ° C) на шейкері рокерного типу протягом 45 хвилин. Після другої інкубації виконували промивку миючим розчином у відповідності до описаної вище методики.

Під час третьої інкубації в кожен тестовий стрип Membrane було додано 5 крапель (близько 250 мкл) кон'югату (Conjugate). Інкубацію проводили при кімнатній температурі (20-25 ° C) на шейкері рокерного типу протягом 20 хвилин. Після третьої інкубації виконували промивку миючим розчином у відповідності до описаної вище методики.

Під час четвертої інкубації в кожен тестовий стрип Membrane було додано 5 крапель (близько 250 мкл) субстрату (Substrate). Інкубацію проводили при кімнатній температурі (20-25 ° C) на шейкері рокерного типу протягом 20 хвилин в темряві. Після закінчення інкубації розвиток кольорової реакції зупиняли інтенсивним промиванням стрипів Membrane проточною водопровідною водою. Потім стрипи було висушено на повітрі або, використовуючи для прискорення процесу сушіння, звичайний фен для волосся. В результаті висушування синьо-бузкове забарвлення фону зникало.

Оцінка вимірювання проводилась за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення та приладу RIDA® Xscreen.

Інтерпретація отриманих результатів проводилась за допомогою віднесення кількості отриманих IgE у відповідності до класів RAST, а саме:

- RAST-Class 0 - менше 0,35 MO / мл - негативний результат;
- RAST-Class I - 0,35 - 0,7 MO / мл - низька концентрація антитіл;
- RAST-Class II - 0.7 - 3.5 MO / мл - середня концентрація антитіл;
- RAST-Class III - 3,5 - 17,5 MO / мл - висока концентрація антитіл;
- RAST-Class IV -17.5 - 50 MO / мл - дуже висока концентрація антитіл;
- RAST-Class V - 50 - 100 MO / мл - інтенсивно висока концентрація антитіл;
- RAST-Class VI - понад 100 MO / мл - вкрай висока концентрація антитіл.

Загальний принцип електрофорезу полягає у тому, що під дією електричного поля заряджені частинки, розчинені або дисперговані в розчині електроліту, пересуваються в напрямку електрода протилежної полярності. При електрофорезі в гелі рух частинок сповільнюється взаємодією з навколишнім гелем-матрицею, діючим як молекулярне сито. Протилежні взаємодії електричного струму і молекулярного сита призводять до відмінностей в швидкості міграції частинок в залежності від їх розмірів, форм і зарядів.

Електрофорез діагностичних розчинів алергенів виконувався за методикою SDS-PAGE у колонках, рекомендованою Rockland Immunochemicals, Inc. (<https://rockland-inc.com/sds-page.aspx>). За протоколом наступні кроки було виконано для кожного з досліджуваних білків:

1. Визначитесь, який відсоток гелю вам потрібно розділити білки
 - Напр. 1: Використовуйте 4–8% гелів для розділення білків розміром 100–500 кДа.
 - Напр. 2: Використовуйте 4–20% гелів для розділення білків розміром 10–200 кДа.
2. Помістіть свій гель у чисту пластикову камеру для електрофорезу та відповідний тримач гелю.

3. Приготуйте 1X SDS-PAGE біговий буфер таким чином: для 500 мл 1X SDS-PAGE бігового буфера, додавши 50 мл 10X SDS-PAGE бігового буфера (MB-017) до 450 мл dH_2O (MB-009-1000) .
4. Наповніть внутрішню частину між гелем (гелями) та тримачем гелю відповідним 1X біговим буфером. Налийте залишковий 1X робочий буфер у зовнішню камеру.
5. Підготовка зразка:
 - Якщо використовується заздалегідь підготовлений лізат (уже в буфері для зразків), розморозьте лізат і перенесіть 25 мкл лізату в чисту заздалегідь позначену пробірку для мікроцентрифуги. Додайте β -меркаптоетанол (BME) до кінцевої концентрації 0,55M, тобто додайте 1 мкл основного BME на 25 мкл лізату. Добре перемішайте за допомогою піпетки. Позначте пробірки мікроцентрифуг з описом зразків, об'ємом та концентрацією лізату.
 - Будь-які інші зразки білка: перенесіть у чисті попередньо мічені пробірки для мікроцентрифугування та змішайте з рівним об'ємом 2X буфера проб (MB-018) з 0,55M BME. Концентрація білка у зразку повинна бути досить високою; напр.: кінцеві концентрації білка від 1 мкг до 500 мкг залежно від типу білка та методу виявлення.
 - Підготуйте норми MB (MB-201-0200) для електрофорезу. Для SDS-PAGE використовують або незабарвлені стандарти MBт, або попередньо забарвлений маркер MB. Для SDS-PAGE з подальшим вестерн-блотінгом використовуйте попередньо пофарбовані маркери MB.
 - Запишіть номер смуги руху, опис зразка, концентрацію проби, об'єм завантаження, кількість завантаження та додавання відновника для всіх зразків.

6. Помістіть усі пробірки для мікроцентрифуг, що містять зразки для SDS-PAGE, у нагрівальний блок (встановлений на 95 ° C) або водяну баню. Нагрійте зразки протягом 5 хвилин.
7. Після нагрівання центрифугують зразки протягом 3 хвилин, використовуючи мікроцентрифугу, щоб осадити сміття.
8. Завантажте всі зразки на гелеві смуги, починаючи зі стандартів MB. Обсяги завантаження зразків повинні становити від 5 мкл до 35 мкл на доріжку (залежно від гелю). Якщо концентрація білка становить від 100 мкг / мл до 500 мкг / мл, тоді кількість зразків коливатиметься від 0,5 мкг до 17,5 мкг на смугу. Примітка: Як правило, 1,0 мкг достатньо для візуалізації очищених білків і 10 мкг достатньо для візуалізації білків у лізатах на забарвленому гелем кумасі.
9. Накрийте камеру і міцно з'єднайте як анод, так і катод. Встановіть напругу на електрофорезі постійною напругою 150 В. Увімкніть джерело живлення. Не торкайтеся блоку електрофорезу, коли живлення увімкнено. Якщо буфер витікає з пристрою, перед контактом з буфером вимкніть живлення. Будьте обережні завжди.
10. Залиште гель на електрофорез протягом 45–90 хвилин. Вимкніть живлення відразу після того, як фронт барвника мігрує з нижньої частини гелю.
11. Від'єднайте електроди та зніміть кришку. Зніміть тримач гелю з камери електрофорезу. Обережно зніміть гель з тримача. Вийміть гель з його пластин і виконайте необхідний спосіб виявлення.

Отримані результати було відскановано та оброблено за допомогою Image Studio Lite Ver. 5.2 з наступною побудовою та аналізом спектрограм за допомогою програмного забезпечення Gel Analyzer 1.0. Для ідентифікації алергенних компонентів було використано базу даних веб-сайту www.allergen.org, що є офіційним сайтом для систематичної номенклатури алергенів, який затверджений Всесвітньою організацією охорони здоров'я та Міжнародним союзом імунологічних товариств (BOOЗ / MCIT).

Заснований на ультрасучасній технології біочіпів "Алергочіп ImmunoCAP ISAC (112 алергокомпонентів)" – це мініатюрна платформа для імунологічного аналізу, призначена для комплексного вимірювання специфічних IgE-антитіл більш ніж до сотні алергокомпонентів одночасно, для чого потрібно лише 30 мкл сироватки крові. Алерген-асоційовані IgE-антитіла розпізнаються через зв'язування з вторинними флюоресцентно міченими анти-IgE-антитілами. Результат тесту визначаються напівкількісно в стандартизованих одиницях ISAC Standardized Units (ISU) за допомогою сканера біочіпів і оцінюються за допомогою спеціального програмного забезпечення.

Дослідження було виконане у відповідності до протоколу виконання Thermo Fisher Scientific. У таблиці 2.3 представлені основні алергокомпоненти харчових алергенів, що входять до складу алергочіпа.

Таблиця 2.3

Алергокомпоненти, що входять до складу дослідження

Джерело	Назва компоненту	Міжнародна назва	Поріг визначення
1	2	3	4
Білок яйця	nGal d 1	овомукоїд яйця	<0.3 ISU-E
	nGal d 2	овальбумін яйця	<0.3 ISU-E
	nGal d 3	кональбумін яйця	<0.3 ISU-E
Жовток яйця / м'ясо курки	nGal d 5	ліветін / сироват. альбумін	<0.3 ISU-E
Коров'яче молоко	nBosd 4	альфа-лактальбумін	<0.3 ISU-E
	nBosd 5	бета-лактоглобулін	<0.3 ISU-E
	nBosd 8	казеїн	<0.3 ISU-E
	nBosd	трансферрин	<0.3 ISU-E
Тріска	rGadc 1	парвальбумін	<0.3 ISU-E
Креветка	nPenm 2	аргінінкіназа	<0.3 ISU-E
	nPenm 4	саркоплазматичний кальцій-зв'язуючий білок	<0.3 ISU-E
Кешью	rAnao 2	запасний білок, 11S глобулін	<0.3 ISU-E
Бразильський горіх	rBere 1	запасний білок, 2S альбумін	<0.3 ISU-E

Продовження таблиці 2.3

1	2	3	4
Фундук	nCora 9	запасний білок, 11S глобулін	<0.3 ISU-E
Волоський горіх	rJugr 1	запасний білок, 2S альбумін	<0.3 ISU-E
	nJugr 2	запасний білок, 7S глобулін	<0.3 ISU-E
Кунжут	nSesi 1	запасний білок, 2S альбумін	<0.3 ISU-E
Арахіс	rArah 1	запасний білок, 7S глобулін	<0.3 ISU-E
	rArah 2	запасний білок, конглютін	<0.3 ISU-E
	rArah 3	запасний білок, 11S глобулін	<0.3 ISU-E
	nArah 6	запасний білок, 2S альбумін	<0.3 ISU-E
Боби сої	nGlym 5	запасний білок, бета- конгліцінін	<0.3 ISU-E
	nGlym 6	запасний білок, глицинин	<0.3 ISU-E
Гречана мука	nFage 2	запасний білок, 2S	<0.3 ISU-E
Гречка, гречана мука	nFage 2	запасний білок, 2S альбумін	<0.3 ISU-E
Пшениця, пшеничне борошно	rTria 19	омега-5 гліадин	<0.3 ISU-E
	nTriaaA_T1	альфа-амілаза / інгібітор трипсину	<0.3 ISU-E
Ківі	nActd 1	цістеїнпротеаза	<0.3 ISU-E
	nActd 5	ківеллін	<0.3 ISU-E

Як видно з таблиці 2.3, у молекулярному компонентному дослідженні визначаються специфічні IgE до найбільш поширених харчових алергенів раціону людини.

У таблиці 2.4 представлені основні алергокомпоненти інгаляційних алергенів – пилок трав, дерев, епідермальних та грибкових алергенів, що входять до складу алергочіпа.

Таблиця 2.4

Головні специфічні компоненти інгаляційних алергенів (аероалергенів)

Джерело	Назва компоненту	Міжнародна назва	Поріг визначення
1	2	3	4
Свинорий	nCynd 1	група трав 1	<0.3 ISU-E
Тимофіївка	rPhlp 1	група трав 1	<0.3 ISU-E
	rPhlp 2	група трав 2	<0.3 ISU-E
	rPhlp 4	берберин бридж-ензим	<0.3 ISU-E
	rPhlp 5	група трав 5	<0.3 ISU-E
	rPhlp 6	група трав 6	<0.3 ISU-E
	rPhlp 11	інгібітор трипсину	<0.3 ISU-E
Бере́за	rBetv 1	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Японський кедр	nCryj 1	пектатліаза	<0.3 ISU-E
Кипарис	nCupa 1	пектатліаза	<0.3 ISU-E
Олива	rOlee 1	інгібітор трипсину	<0.3 ISU-E
	rOlee 9	глюканаза	<0.3 ISU-E
Платан	rPlaa 1	інгібітор інвертази	<0.3 ISU-E
	nPlaa 2	Полігалактуро-нази	<0.3 ISU-E
Амбро́зія	nAmba 1	пектатліаза	<0.3 ISU-E
Полин	nArtv 1	дефенсин	<0.3 ISU-E
Марь	rChea 1	інгібітор трипсину	<0.3 ISU-E
<i>Parietaria officinalis</i>	rParj 2	білки переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Подорожник	rPlal 1	інгібітор трипсину	<0.3 ISU-E
Миша	nMusm 1	ліпокалін	<0.3 ISU-E
Кінь	rEquc 1	ліпокалін	<0.3 ISU-E
Собака	rCanf 1	ліпокалін	<0.3 ISU-E
	rCanf 2	ліпокалін	<0.3 ISU-E
	rCanf 5	аргінінестераза	<0.3 ISU-E

Продовження таблиці 2.4

1	2	3	4
Кішка	rFeld 1	утероглобін	<0.3 ISU-E
	rFeld 4	ліпокалін	<0.3 ISU-E
Собака	rCanf 1	ліпокалін	<0.3 ISU-E
	rCanf 2	ліпокалін	<0.3 ISU-E
	rCanf 5	аргінінестераза	<0.3 ISU-E
Кінь	rEquc 1	ліпокалін	<0.3 ISU-E
Кішка	rFeld 1	утероглобін	<0.3 ISU-E
	rFeld 4	ліпокалін	<0.3 ISU-E
Миша	nMusm 1	ліпокалін	<0.3 ISU-E
Alternaria	rAlta 1	кислий глікопротеїн	<0.3 ISU-E
	rAlt a 6	енолаза	<0.3 ISU-E
Aspergillus	rAsp f 1	сімейство мітогіллінів	<0.3 ISU-E
	rAspf 3	пероксисомаль- ний білок	<0.3 ISU-E
	rAspf 6	Mn супероксид- дисмутаза	<0.3 ISU-E
Cladosporium	rClah 8	маннітол- дегідрогеназа	<0.3 ISU-E
B. tropicalis (HDM)	rBlot 5	кліщовий алерген групи 5	<0.3 ISU-E
D. farinae (HDM)	nDerf 1	цістеїнпротеаза	<0.3 ISU-E
	rDerf 2	сімейство NPC2	<0.3 ISU-E
D. pteronyssinus (HDM)	nDerp 1	цістеїнпротеаза	<0.3 ISU-E
	rDerp 2	сімейство NPC2	<0.3 ISU-E
L. destructor (кліщ сховищ)	rLepd 2	сімейство NPC2	<0.3 ISU-E
Тарган рудий	rBlag 1	алергени тарганів 1 групи	<0.3 ISU-E
	rBlag 2	Аспартат- протеаза	<0.3 ISU-E
	rBlag 5	глутатіон-S- трансфераза	<0.3 ISU-E

Окрім головних компонентів найбільш розповсюджених інгаляційних та харчових алергенів, тестування містить головні компоненти інших алергенів, які наведені у таблиці 2.5.

Таблиця 2.5

Головні специфічні компоненти інших алергенів

Джерело	Назва компоненту	Міжнародна назва	Поріг визначення
Медоносних бджіл	rApm 1	A2	<0.3 ISU-E
	nApm 4	мелітгін	<0.3 ISU-E
Паперова оса	rPold 5	антиген 5	<0.3 ISU-E
Оса звичайна	rVesv 5	антиген 5	<0.3 ISU-E
Anisakis	rAnis 1	інгібітор серинових протеаз	<0.3 ISU-E
Латекс	rHevb 1	фактор елонгації гуми	<0.3 ISU-E
	rHevb 3	білок малих частинок гуми	<0.3 ISU-E
	rHevb 5	кислий білок	<0.3 ISU-E
	rHevb 6.01	погевеїн	<0.3 ISU-E

Основні перехресно – реагуючі алергенні білки, присутні у молекулярному компонентному дослідженні, наведені у таблиці 2.6.

Таблиця 2.6

Перехресно – реагуючі алергенні білки

Джерело	Назва компоненту	Міжнародна назва	Поріг визначення
1	2	3	4
Коров'яче молоко і м'ясо	nBosd 6	сироватковий альбумін	<0.3 ISU-E
Собака	nCanf 3	сироватковий альбумін	<0.3 ISU-E
Кінь	nEqus 3	сироватковий альбумін	<0.3 ISU-E
Кішка	nFeld 2	сироватковий альбумін	<0.3 ISU-E
Anisakis	rAnis 3	тропоміозин	<0.3 ISU-E
Тарган	nBlag 7	тропоміозин	<0.3 ISU-E
<i>D. pteronyssinus</i>	rDerp 10	тропоміозин	<0.3 ISU-E
Креветка	nPenm 1	тропоміозин	<0.3 ISU-E
Арахіс	rArah 9	білки-переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E

Продовження таблиці 2.6

1	2	3	4
Фундук	rCora 8	білки-переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Волоський горіх	nJugr 3	білки-переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Персик	rPru p 3	білки-переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Пшениця	rTria 14	білки-переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Полин	nArtv 3	білки-переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Олива	nOlee 7	білки-переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Платан	rPlaa 3	білки-переносники ліпідів (nsLTP)	<0.3 ISU-E

У таблиці 2.7 наведено інші білкові компоненти, до яких визначаються специфічні IgE за допомогою молекулярного компонентного обстеження.

Таблиця 2.7

Інші алергенні компоненти молекулярного обстеження

Джерело	Назва компоненту	Міжнародна назва	Поріг визначення
1	2	3	4
Береза	rBetv 1	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Вільха	rAlng 1	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Пилок ліщини	rCora 1.0101	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Фундук	rCor a 1.0401	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Яблуко	rMal d 1	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Персик	rPru p 1	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Соєві боби	rGly m 4	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Арахіс	rAra h 8	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E

Продовження таблиці 2.7

1	2	3	4
Ківі	rAct d 8	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Селера	rApi g 1	PR-10 протеїн	<0.3 ISU-E
Ківі	nActd 2	тауматин- подібний білок	<0.3 ISU-E
Береза	rBetv 2	профілін	<0.3 ISU-E
Латекс	rHevb 8	профілін	<0.3 ISU-E
Пролісник	rMera 1	профілін	<0.3 ISU-E
Тимофіївка	rPhlp 12	профілін	<0.3 ISU-E
CCD	nMUXF3	CCD	<0.3 ISU-E
Береза	rBetv 4	полкальцін	<0.3 ISU-E
Тимофіївка	rPhlp 7	полкальцін	<0.3 ISU-E

Процедура тестування була виконана у відповідності до рекомендованої виробником і складалась із наступних етапів:

1. Поміщали підготовлений ImmunoCAP ISAC IgE у камеру місцями реакції зверху.
2. Відкапували 20 мкл кожного зразка на одне місце реакції (на кожен чіп доступно 4 місця реакції). Закривали камеру вологості обережно, не змішуючи зразки. Рекомендується використовувати одну контрольну сироватку IgE для кожного IgE набору для аналізу ImmunoCAP ISAC. Аналіз контрольної сироватки IgE є обов'язковим, якщо вносяться зміни в процедуру аналізу або сканування. Уникали прямого контакту наконечника піпетки з поверхнею ImmunoCAP ISAC IgE під час дозування зразка.
3. Інкубували при кімнатній температурі протягом 120 хвилин.
4. Обережно виймали ImmunoCAP ISAC IgE з камери, не змішуючи зразки. Виймали зразки, постукуючи чіпом довгою стороною по свіжому паперовому рушнику. Будьте обережні, струшуйте зразки під прямим кутом краєм скла, щоб уникнути пробігу зразків над сусідніми місцями реакції.

5. Промивали ImmunoCAP ISAC IgE приблизно 220 мл розчину А протягом 10 хвилин (використовуючи мийний посуд та магнітну мішалку, як описано раніше).
6. Переміщували скляну підставку, що містить ImmunoCAP ISAC IgE, у посуд для миття, що містить приблизно 220 мл очищеної води. Промивали 5 хвилин.
7. Давали вимитому продукту ImmunoCAP ISAC IgE висохнути на повітрі до повного висихання.
8. ImmunoCAP ISAC IgE тепер готовий до інкубації з розчином антитіл для виявлення IgE. Поміщували сухий ImmunoCAP ISAC IgE у камеру, місцями реакції догори.
9. Зливали всі використані мийчі розчини.
10. Накапували піпеткою 20 мкл розчину антитіл для виявлення IgE на кожен реакційну ділянку ImmunoCAP ISAC. Переконались, що ImmunoCAP ISAC IgE правильно розміщений у камері вологості та закривали кришку.
11. Інкубували при кімнатній температурі протягом 60 хвилин, з захистом від світла.
12. Обережно виймали ImmunoCAP ISAC IgE з камери. Видаляли розчин антитіл для виявлення IgE, постукавши довгою стороною по чистому паперовому рушнику або обережно промивали під дистильованою водою.
13. Промивали ImmunoCAP ISAC IgE приблизно 220 мл розчину А протягом 10 хвилин (використовуючи мийний посуд та магнітну мішалку, як описано раніше).
14. Переміщували скляну підставку, що містить ImmunoCAP ISAC IgE, у мийну ємність, що містить приблизно 220 мл очищеної води. Промивали 5 хвилин.
15. Зливали всі використані мийчі розчини.

16. Давали вимитому продукту ImmunoCAP ISAC IgE висохнути на повітрі до повного висихання.

17. ImmunoCAP ISAC IgE тепер готовий до читання. Використовували його безпосередньо для збору даних у відповідному сканері мікрочипів та в подальшому зберігали в сухому та захищеному від світла місці для подальшого зчитування.

Для аналізу ImmunoCAP ISAC IgE було використано сканер мікрочипів CapitalBio LuxScan™ 10K.

Оцінювання результатів відбувалось у відповідності до наступних критеріїв:

- $<0,3$ ISU-E – негативний результат;
- $0,3 - 0,9$ ISU-E – низький рівень;
- $1 - 14,9$ ISU-E – помірний/високий рівень;
- ≥ 15 ISU-E – дуже високий рівень.

2.3. Методи статистичної обробки отриманих результатів

Дані результатів обстеження та лікування хворих зберігались, оброблювалися та обчислювалися за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входять в пакет Microsoft Office Professional 2013 (номер ліцензії 00218 – 04150 – 37156 – AA798). Для статистичної обробки результатів було використано статистичні пакети IBM SPSS Statistics 21 (номер ліцензії 2NXL7T9GB8ASSG5P4IYI9O9HJNI) та Statistica 5.0 (номер ліцензії 9GB8FD5G5).

Для статистичної обробки нами було використано різні непараметричні та параметричні методи. Вибір методу на пряму залежав від виду масиву даних отриманого нами при конкретному дослідженні, мети аналізу та нормальності розподілу даних всередині масивів даних. Для перевірки нормальності розподілу було застосовано критерій Колмогорова-Смирнова (K – test, KS – test), який передбачає перевірку гіпотези нормальності розподілу значень відносно очікуваних. Він заснований на максимумі різниці

між кумулятивним розподілом вибірки та очікуваним кумулятивним розподілом. При цьому, якщо D статистика Колмогорова – Смирнова є значимою, гіпотеза про те, що відповідний розподіл є нормальним, має бути відкинута. В результаті аналізу для кожної вибірки нами було побудовано гістограму з побудовою кривої нормальності розподілу; при невідповідності розподілу нормальному застосовувались непараметричні методи статистики для обробки даних.

Для підтвердження розподілу законам нормальності додатково будувались графіки вірогідності результатів (probability plot) для графічного зображення порівняння набору емпіричних даних з вірогідним нормальним розподілом.

Для вибірок з ненормальним розподілом ознаки, згідно з критерієм Шапіро-Уілкі, вказували медіану, нижній і верхній кuartилі для довірчого інтервалу 95%.

Для порівняння двох незалежних вибірок нами було застосовано ранговий коефіцієнт кореляції Спірмена з наступною побудовою кореляційної матриці, який показує, як відрізняється отримана при спостереженні сума квадратів різниць між рангами від випадку відсутності зв'язку і може бути розрахований по формулі:

$$r = 1 - 6 \frac{\sum d^2}{n^3 - n}$$

Для оцінки ступеня розходження результатів шкірного тестування з алергенами різних виробників та результатів імуноблотингу між собою було застосовано побудову графіків аналізу методом Бленда – Альтмана з розрахунком середньої різниці значень, стандартного відхилення різниць та визначенням залежності відхилення від значень вимірювань.

Для порівняння даних вибірок з якісними даними (або ж кількісними після переведу в номінальні шкали) нами було застосовано розрахунок коефіцієнту Каппа Коена з розрахунком асимптотичної помилки Каппи та

нижньої і верхньої межі довірчого інтервалу. Коефіцієнт Каппа Коена визначається і задається наступною функцією:

$$k = \frac{p_0 - p_e}{1 - p_e} = 1 - \frac{1 - p_0}{1 - p_e}$$

Де:

p_0 = відносна спостережувана згода між оцінювачами;

p_e = гіпотетична ймовірність випадкової згоди.

Для якісної оцінки діагностичної значимості серологічних методів визначення специфічних IgE та показників чутливості, специфічності та точності ми у статистичному аналізі використали метод ROC – аналізу (ROC = receiver operating characteristic, який ще називають «кривою помилок»), що базується на співставленні показників вказаних методів з показниками шкірного тестування методом прик-тесту в якості стандарту. В подальшому після побудови ROC – кривих було розраховано площу AUC (англ. area under ROC curve, площа під ROC-кривою), стандартну похибку, асимптотичну значимість нульової гіпотези та асимптотичний довірчий інтервал 95%. Площа AUC - площа, обмежена ROC-кривою і віссю частки помилкових позитивних класифікацій. Чим вище показник AUC, тим якісніше класифікатор, при цьому значення 0,5 демонструє непридатність обраного методу класифікації (відповідає випадковому ворожінню). Значення менше 0,5 каже, що класифікатор діє з точністю до навпаки: якщо позитивні назвати негативними і навпаки, класифікатор буде працювати краще.

Проведення однієї з фаз нашого дослідження передбачало порівняння двох серологічних методів діагностики сенсibilізації у пацієнтів – імуноблотингу К – імуноблоту (Німеччина) та мультиплексного компонентного аналізу Immunosar ISAC (Швеція). За технологією виконання імуноблотинг є напівкількісним методом (адже на кінцевому етапі методом фотометрії оцінюється інтенсивність забарвлення полоски стрипу нітроцелюлозної мембрани з наступним комп'ютерним розрахунком за допомогою програмного забезпечення виробника кількості специфічних імуноглобулінів класу Е до певних білків – алергенів). Immunosar ISAC є

кількісним методом, за допомогою якого кількісно аналізатором визначається кількість специфічних імуноглобулінів класу Е до різних білкових компонентів алергенів.

Оскільки перший метод напівкількісно визначає специфічні IgE до екстрактів алергенів, а другий – кількісно до окремих компонентів (мажорних, мінорних, перехресно-реагуючих) екстрактів, пряме співставлення результатів тестувань не є можливим. Втім, в реальній клінічній практиці часто лікарю є важливими не стільки конкретні рівні специфічних IgE (які, до речі, далеко не завжди корелюють з вираженістю клінічних симптомів, про що є ряд публікацій в літературі), скільки сам факт наявності сенсibilізації до певного алергену. Враховуючи ці факти, результати досліджень було конвертовано у номінальні шкали («сенсibilізацію визначено», «сенсibilізацію не визначено») у відповідності до клінічно значимих рівнів кількості специфічних IgE. Враховуючи вищезначене, для порівняння двох незв'язаних між собою вибірок з номінальними значеннями було обрано критерій Хі-квадрат та точний двосторонній критерій Фішера, які розраховувались для кожного порівняння окремо.

Критерій хі-квадрат використовується для статистичної перевірки гіпотези, в якій вибіркове розподіл критерію має розподіл хі-квадрат за умови вірності нульової гіпотези. Точний критерій Фішера - це критерій, який використовується для порівняння двох і більше відносних показників, що характеризують частоту певної ознаки, що має два значення. Перевагою критерія є можливість його використання для малих вибірок, коли критерій хі-квадрат Пірсона дає дуже велику похибку.

Вищевказані програми використовувались додатково з літературними методичними рекомендаціями, посібниками та іншими інформаційними матеріалами, які вказані в списку використаних джерел та дозволили розробити формули для досягнення поставлених задач.

РОЗДІЛ 3

ВИЗНАЧЕННЯ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ДІАГНОСТИЧНИХ АЛЕРГЕНІВ ВІТЧИЗНЯНОГО ВИРОБНИЦТВА ТА РЕГІОНАЛЬНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ АЛЕРГЕННОЇ СИРОВИНИ

Одним із поставлених завдань роботи було визначення компонентного складу алергенів вітчизняного виробництва, призначених для діагностики сенсibilізації у пацієнтів з алергічними захворюваннями, які перебігають за IgE – опосередкованим механізмом. Для цього згідно з методами роботи за допомогою електрофорезу в поліакріламідному гелі було отримано електрофореграми наступних алергенів: кліщі *Acarus siro*, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, пилок дерев – вільха європейська (*Alnus glutinosa*), береза повисла (*Betula pendula*), граб звичайний (*Carpinus betulus*), пилок трав – амброзія полинолиста (*Ambrosia artemisiifolia*), полин гіркий (*Artemisia absinthium*), грястиця збірна (*Dactylis glomerata*), костриця лучна (*Festuca pratensis*), соняшник звичайний (*Helianthus annuus*), пажитниця багаторічна (*Lolium perenne*), тимофіївка лугова (*Phleum pratense*), тонконіг лучний (*Poa pratensis*), жито посівне (*Secale cereale*), кукурудза звичайна (*Zea mays*), епідермальні алергени тварин – шерсть кішки (*Lana felis*), собаки (*Lana canis*), вівці (*Lana ovis*), алерген пір'я подушок (*Pluma pulvini*).

Електрофореграми та контрольні молекулярні маси наведені на рис. 3.1 та рис. 3.2.

За допомогою фотометричного аналізу було сформовано спектрограму білкового складу контрольних мас білкових фракцій, з якою відбувалось подальше порівняння спектрограм окремих алергенів для визначення їх компонентного складу (рис. 3.3).

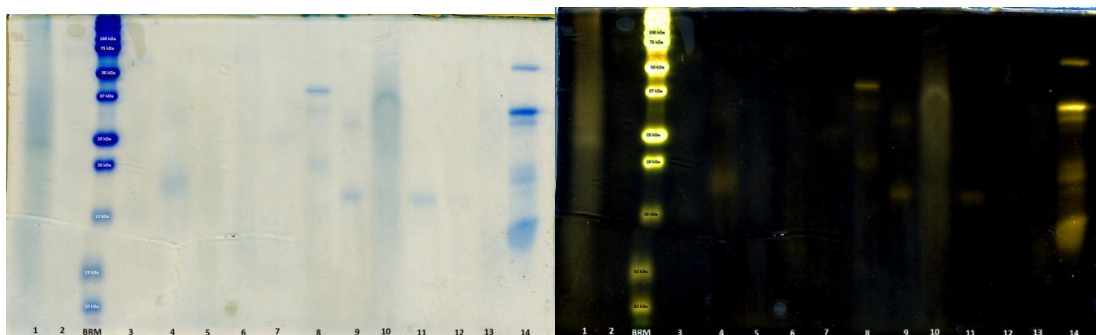


Рис. 3.1 – Електрофореграми препаратів діагностичних алергенів та контрольні маси білкових фракцій до (зліва) та після (справа) комп'ютерної обробки для аналізу (частина 1)

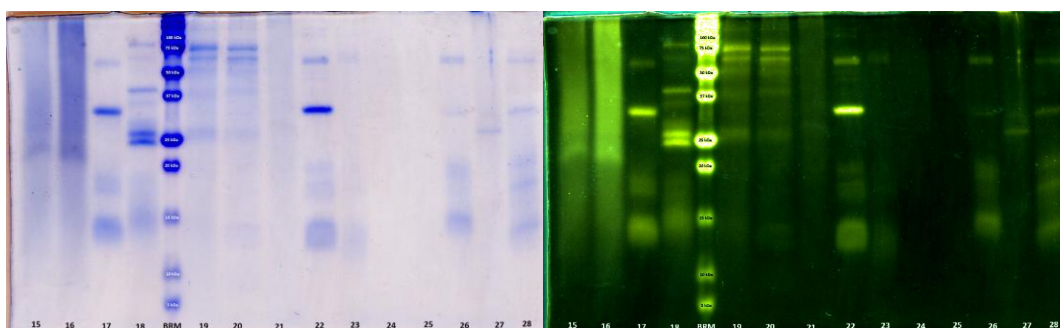


Рис. 3.2 – Електрофореграми препаратів діагностичних алергенів та контрольні маси білкових фракцій до (зліва) та після (справа) комп'ютерної обробки для аналізу (частина 2)

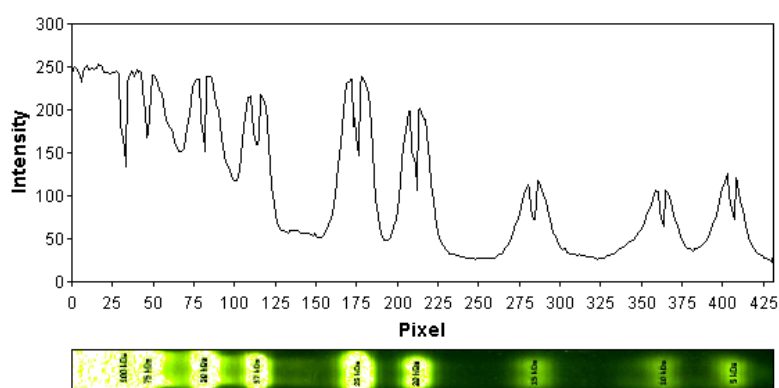


Рис. 3.3 – Спектрограма білкового складу контрольних мас білкових фракцій

3.1. Аналіз компонентного складу кліщових діагностичних алергенів

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену кліща *Dermatophagoides farinae* наведена на рис. 3.4.

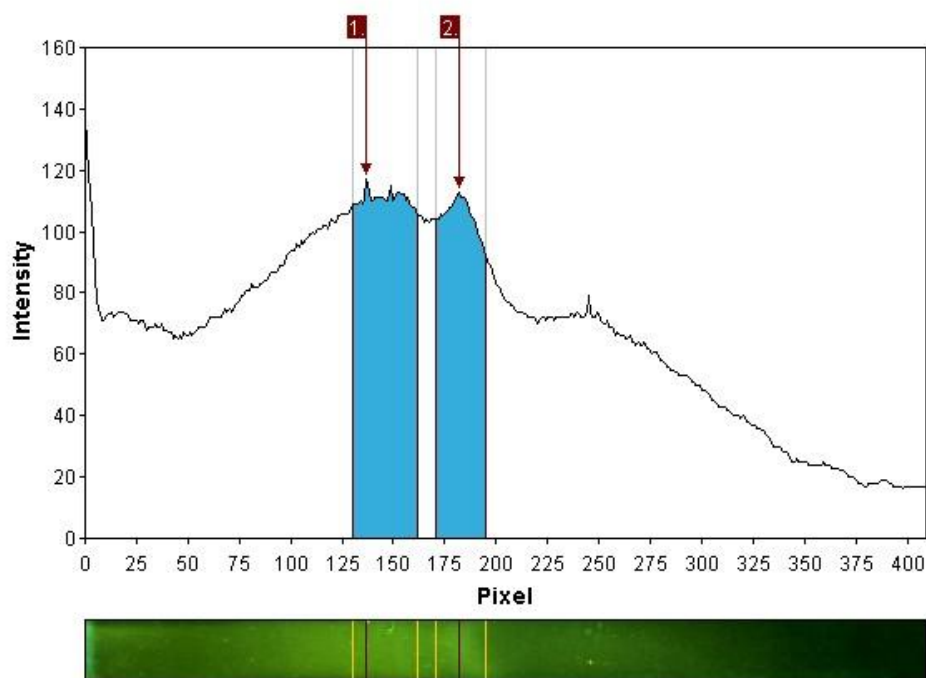


Рис. 3.4 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену кліща *Dermatophagoides farinae*

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутній мажорний компонент Der f1 з молекулярною масою 27 kDa – протеаза цистеїну (позначка 2). Поряд із тим, на спектрограмі немає чітко відокремленої молекулярної маси 15 kDa, яка відповідає другому важливому мажорному компоненту кліща *Dermatophagoides farinae* – Der f2 та присутні неалергенні баластні білкові компоненти молекулярною масою 29-33 kDa (позначка 1).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* наведена на рис. 3.5.

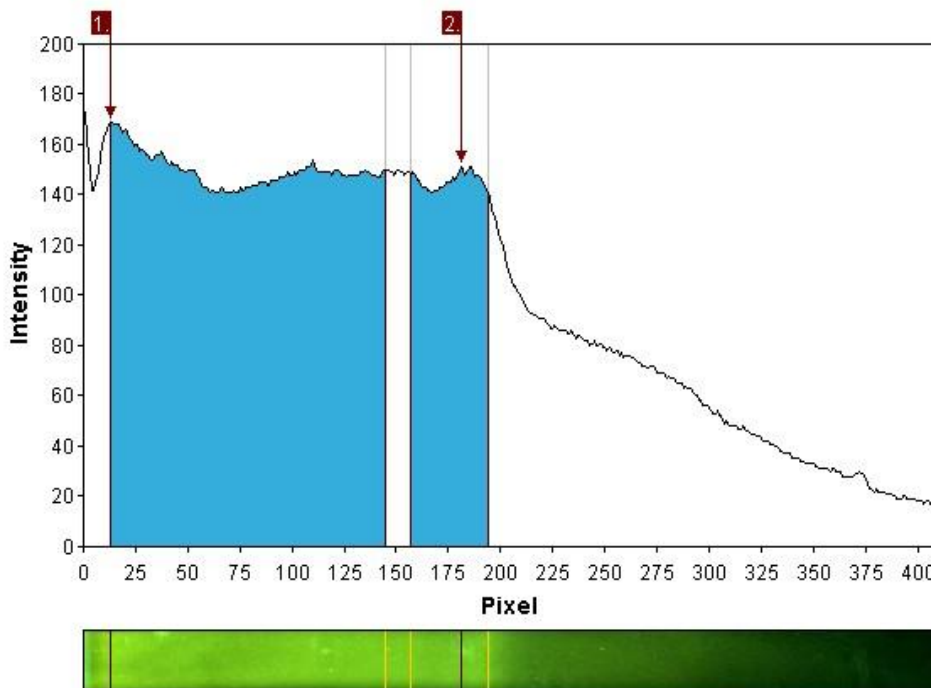


Рис. 3.5 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену кліща *Dermatophagoides pteronyssinus*

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутній мажорний компонент Der p1 з молекулярною масою 24 kDa – протеаза цистеїну (позначка 2). Поряд із тим, на спектрограмі немає чітко відокремленої молекулярної маси 15 kDa, яка відповідає другому важливому мажорному компоненту кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* – Der p2 та присутні неалергенні баластні білкові компоненти молекулярною масою 30-100 kDa (позначка 1).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену кліща *Ascaris siro* наведена на рис. 3.6.

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутній мажорний компонент Аса s13 з молекулярною масою 15 kDa – позначка 2. Поряд із тим, на спектрограмі присутні неалергенні баластні білкові компоненти молекулярною масою 20-40 (позначка 1) та 8-12 kDa (позначка 3).

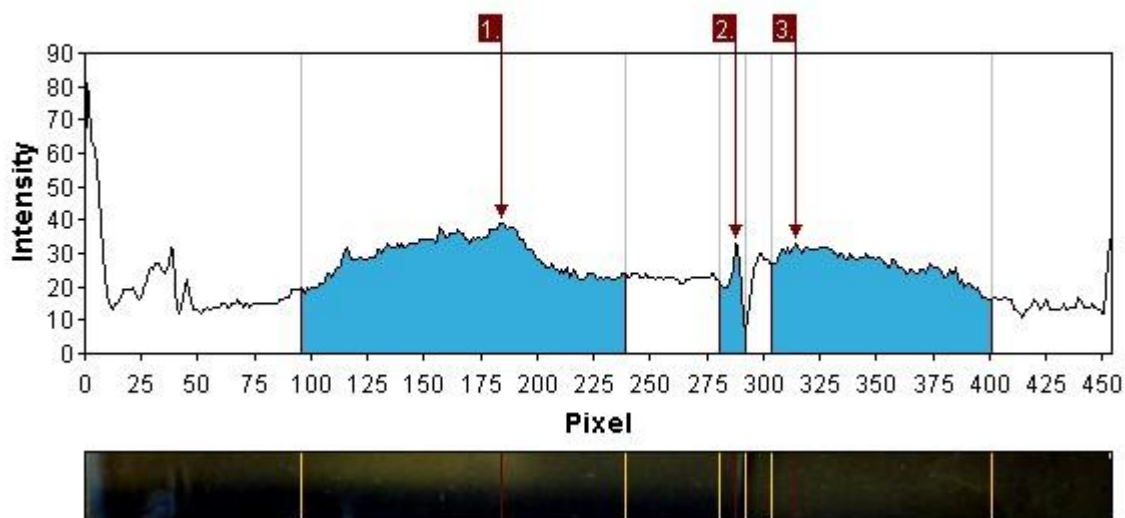


Рис. 3.5 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену кліща *Acarus siro*.

3.2. Аналіз компонентного складу пилкових діагностичних алергенів

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену берези наведена на рис. 3.7.

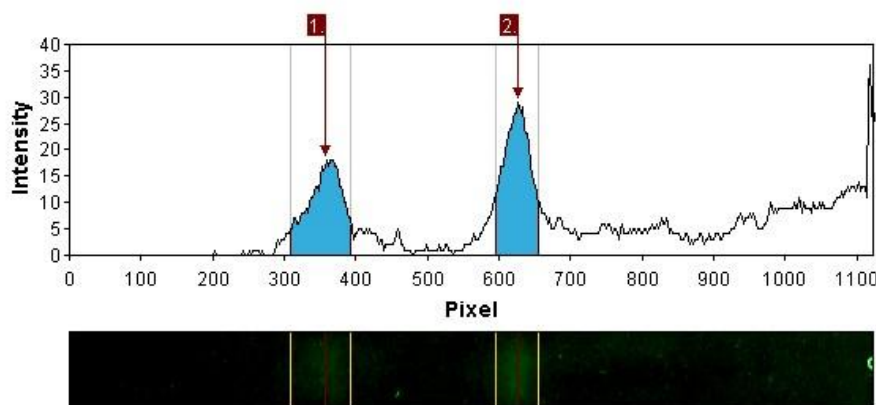


Рис. 3.7 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену берези

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутні мажорний компонент Bet v1 з молекулярною масою 17 kDa (позначка 2), мінорний компонент Bet v3 (24 kDa, позначка 1).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену вільхи наведена на рис. 3.8.

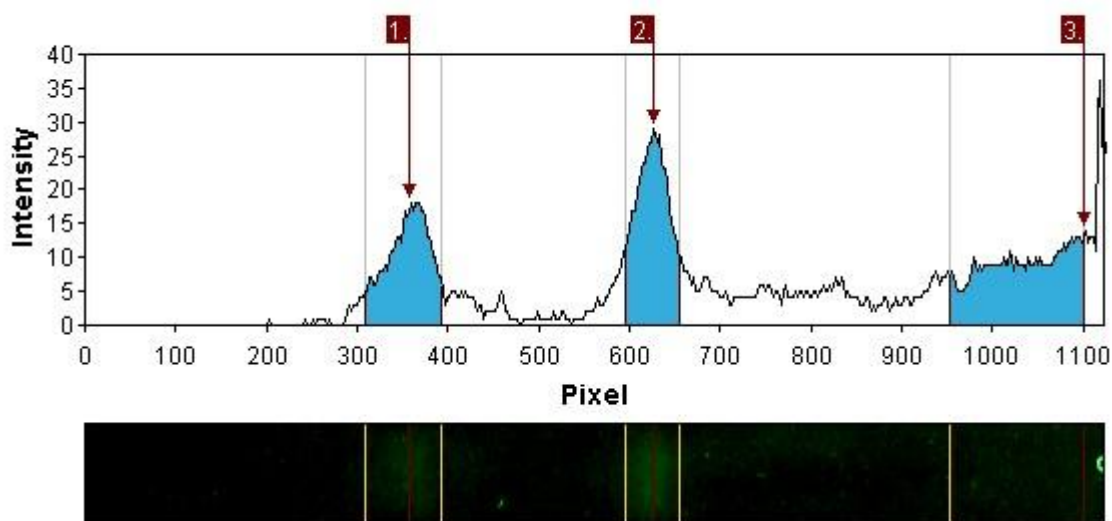


Рис. 3.8 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену вільхи

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутній мажорний компонент *Aln g1* з молекулярною масою 18 kDa (позначка 2). Поряд із тим, на спектрограмі присутні неалергенні баластні білкові компоненти молекулярною масою 27-35 kDa (позначка 1) та 8-12 kDa (позначка 3), причому у вказаному спектрі може бути і мінорний компонент *Aln g4* з молекулярною масою 7 kDa.

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену жита наведена на рис. 3.9.

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутні мажорний компонент *Sec c38* з молекулярною масою 13,5 kDa (позначка 4), мінорні компоненти *Sec c5* (30 kDa, позначка 2) та *Sec c20* (70 kDa, позначка 1). Окрім того, присутніми є неалергенні баластні білкові компоненти масою близько 18-20 kDa (позначка 3).

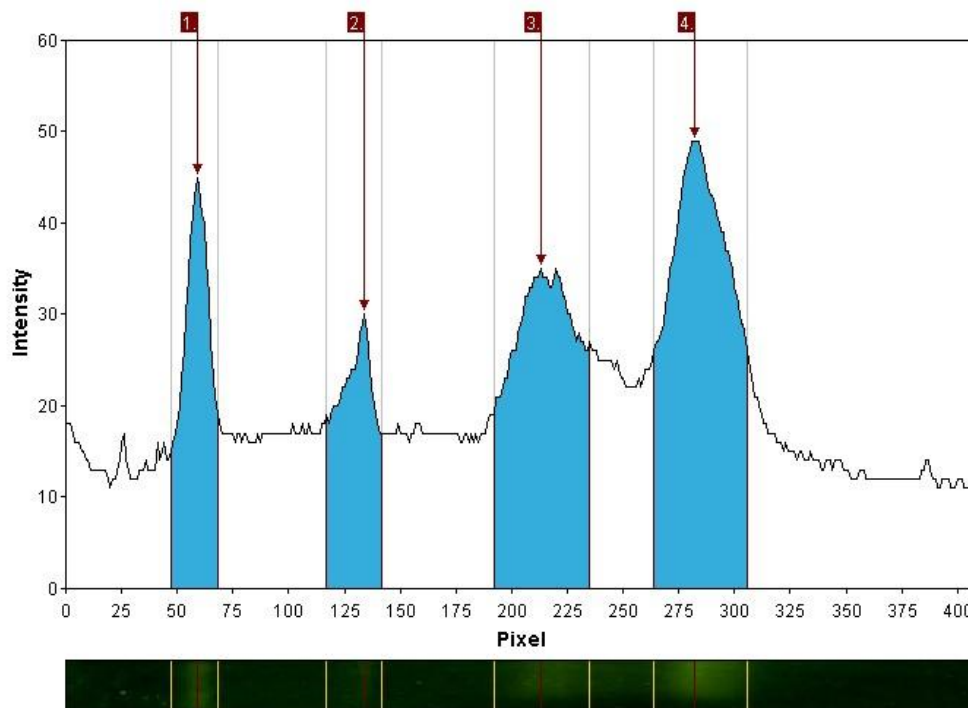


Рис. 3.9 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену жита

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену полину наведена на рис. 3.10.

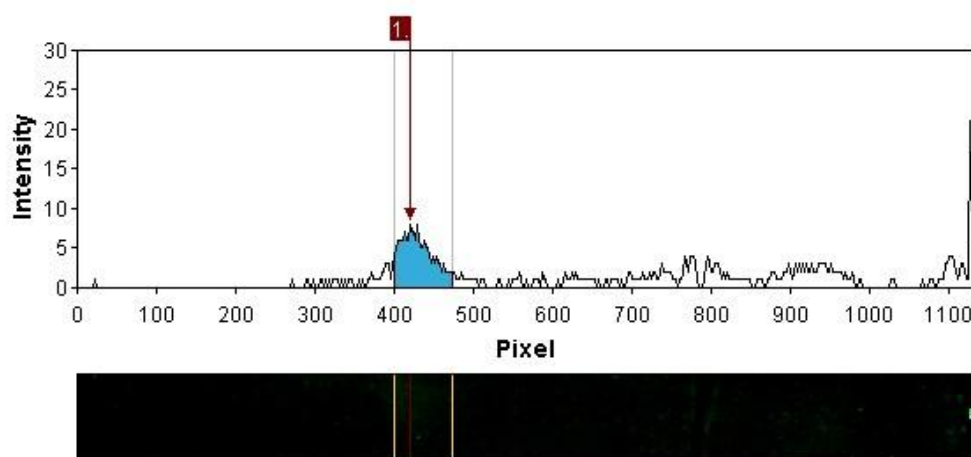


Рис. 3.10 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену полину

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутній мажорний компонент Art v1 з молекулярною масою 28 kDa.

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену костриці лучної наведена на рис. 3.11.

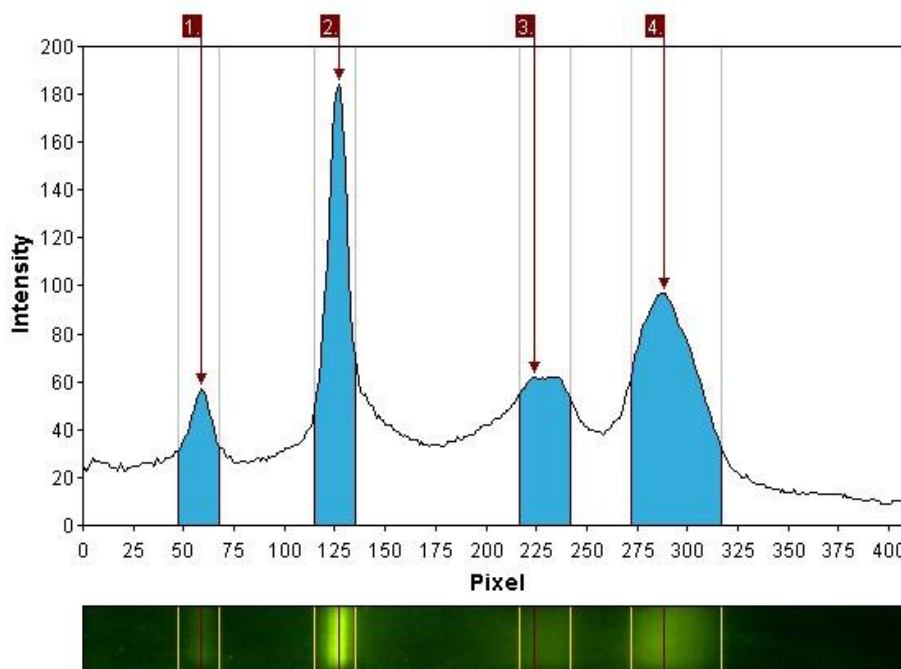


Рис. 3.11 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену костриці лучної

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутній мажорний компонент Fes p4 з молекулярною масою 60 kDa (позначка 1). Окрім того, присутніми є неалергенні баластні білкові компоненти масою близько 35 kDa (позначка 2), 22-23 kDa (позначка 3) та 12-15 kDa (позначка 4).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену соняшника наведена на рис. 3.12.

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену соняшника присутні мажорний компонент Hel a1 з молекулярною масою 34 kDa (позначка 3), міnorні компоненти Hel a2 (14,7 kDa) (позначка 4) та Hel a6 (42 kDa) (позначка 2). Окрім того, на спектрограмі присутній неалергенний баластний білок молекулярною масою близько 80-90 kDa (позначка 1).

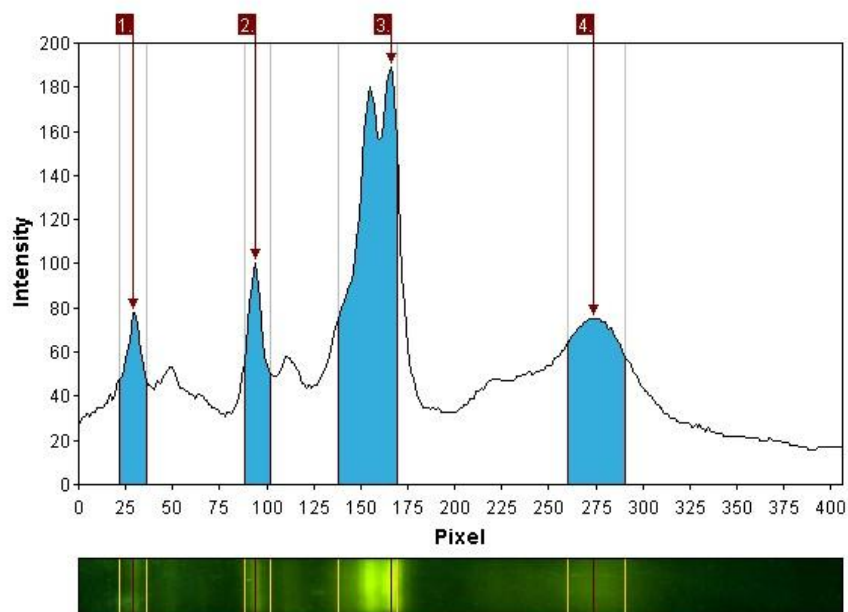


Рис. 3.12 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену соняшника

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену пажитниці багаторічної наведена на рис. 3.13.

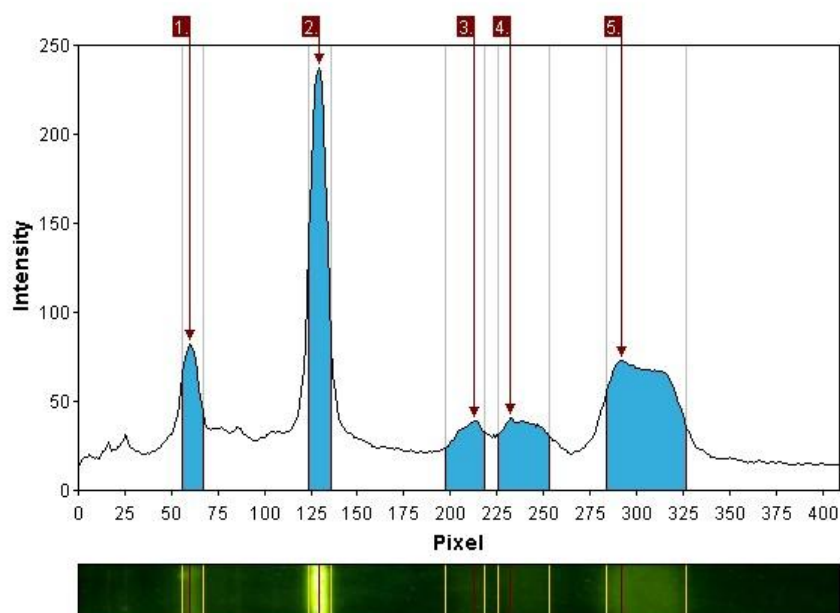


Рис. 3.13 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену пажитниці багаторічної

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену пажитниці багаторічної присутні мажорний компонент Lol p1 (27 kDa, позначка 2) та міnorні компоненти Lol p4 (57 kDa) (позначка 1), Lol p11 (16 kDa, позначка 4), Lol p2-Lol p3 (молекулярна вага 11 kDa, позначка 5). Втім, на спектрограмі присутній пік не алергенного білка масою близько 19-20 kDa (позначка 3).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену тимофіївки лугової наведена на рис. 3.14.

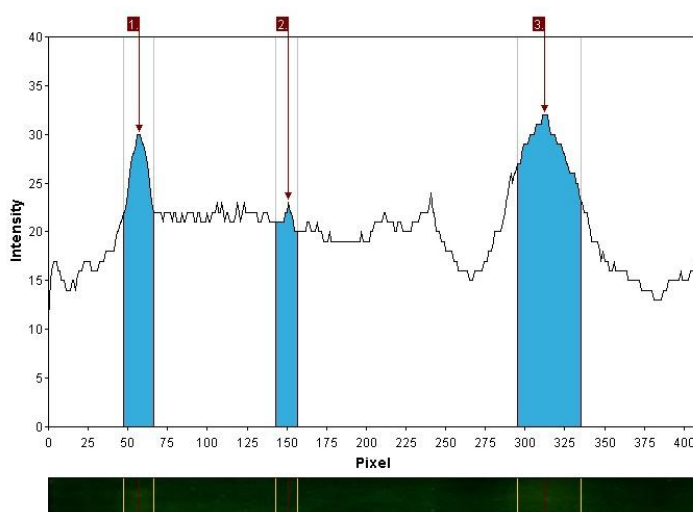


Рис. 3.14 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену тимофіївки лугової

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену тимофіївки лугової присутні мажорний компонент Phl p5 (32 kDa, позначка 2) та міnorні компоненти Phl p4 (55 kDa, позначка 1), Phl p2 (10-12 kDa, позначка 3).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену тонконого лучного наведена на рис. 3.15. Аналіз спектрограми показує, що діагностичний алерген тонконого лучного є набором білкових молекул різною молекулярною масою від 25 kDa до 90 kDa (позначки 1-5) з відсутністю чітких піків, а, отже, оцінити компонентний склад не є можливим.

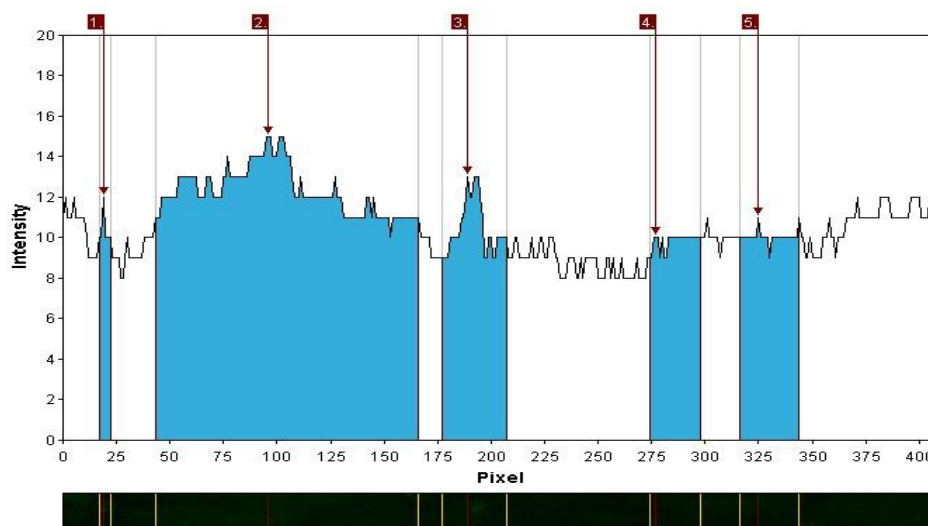


Рис. 3.15 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену тонконого лучного

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену кукурудзи звичайної наведена на рис. 3.16.

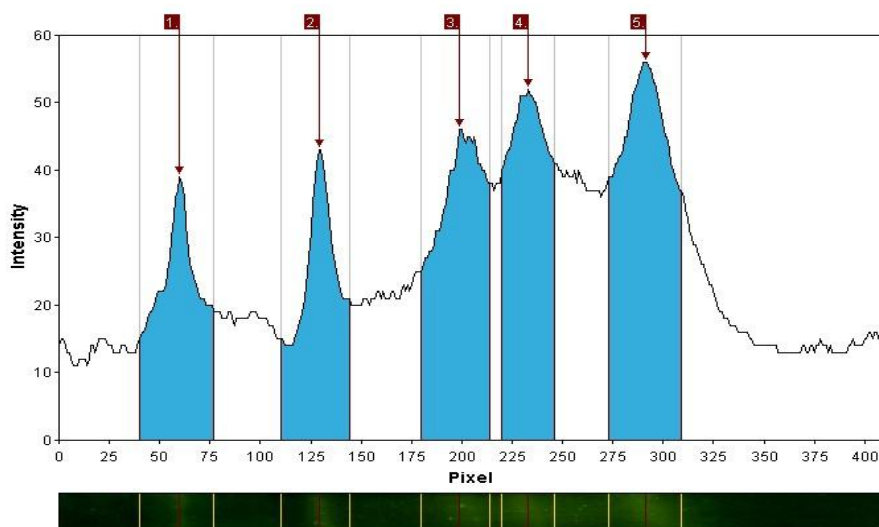


Рис. 3.16 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену кукурудзи

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену кукурудзи звичайної присутні мажорний компонент Zea m1 (25-35 kDa, позначка 2) та мінорний компонент Zea m12 (14 kDa, позначка 5). Окрім того,

на спектрограмі присутній неалергенний баластний білок молекулярною масою близько 60 kDa (позначка 1), 20 kDa (позначка 3), 18 kDa (позначка 4).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену амброзії наведена на рис. 3.17.

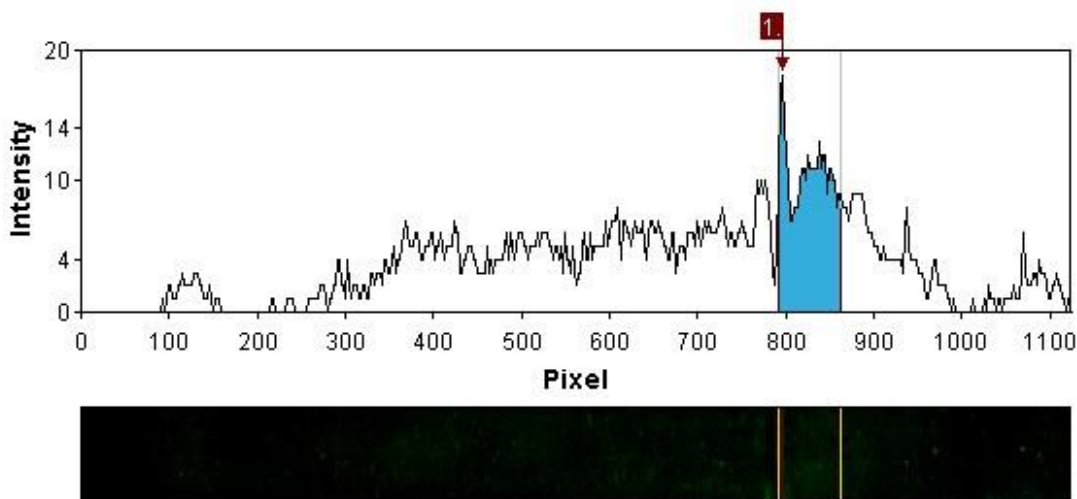


Рис. 3.17 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену амброзії

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену амброзії присутній мінорний компонент Amb a3 (11 kDa, позначка 1), проте немає чітко відокремленого мажорного головного білка Amb a1 (38 kDa).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену грабу наведена на рис. 3.18.

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену грабу присутній мажорний компонент Car b1 (17 kDa, позначка 1).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену грятиці збірної наведена на рис. 3.19. Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену грятиці збірної присутні мажорний компонент Das g1 (32 kDa, позначка 2) та мінорні компоненти Dasg4 (60 kDa, позначка 1), Das g2 та Das g3 (11 kDa та 14 kDa, позначка 4). Окрім того, на спектрограмі присутній

неалергенний баластний білок молекулярною масою близько 19 kDa (позначка 3).

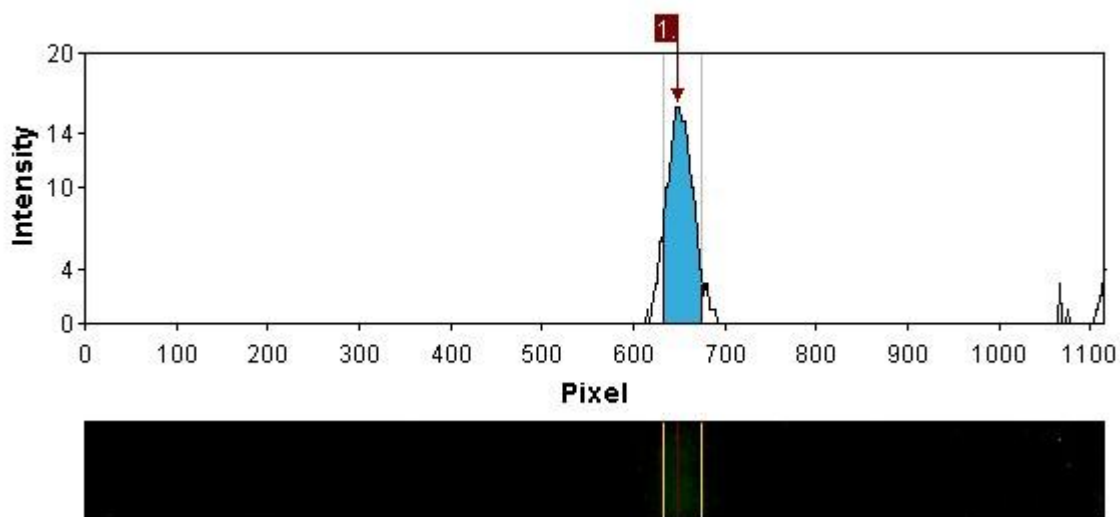


Рис. 3.18 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену грабу

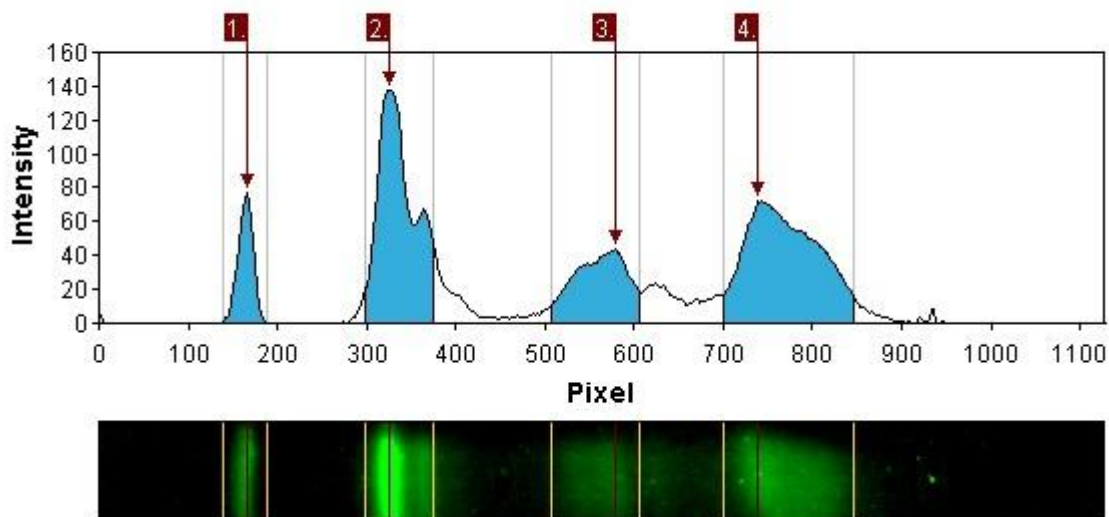


Рис. 3.19 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену грястиці збірної

3.3. Аналіз компонентного складу епідермальних діагностичних алергенів

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену шерсті собаки наведена на рис. 3.20.

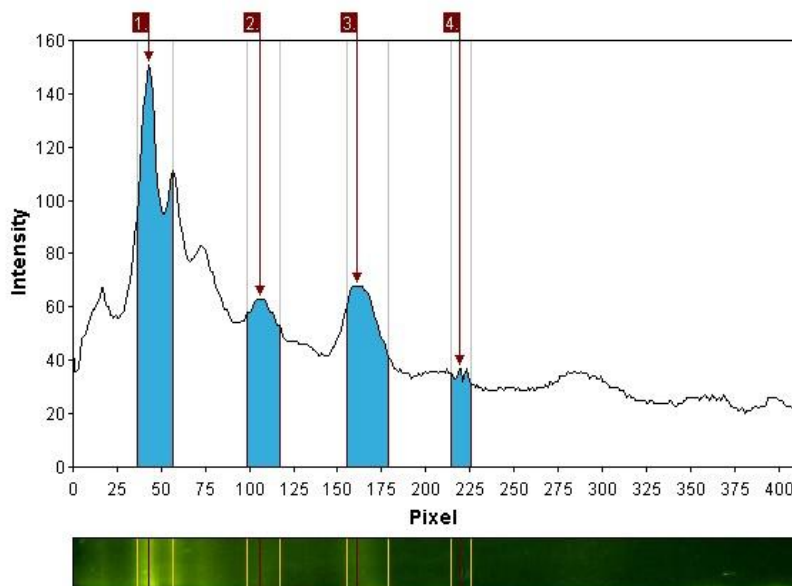


Рис. 3.20 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену шерсті собаки

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутні мажорний компонент Can f1 (ліпокалін) з молекулярною масою 23 kDa (позначка 3), міnorні компоненти Can f2 (19 kDa) (позначка 4) та Can f3 (69 kDa) (позначка 1). Окрім того, на спектрограмі присутній неалергенний баластний білок молекулярною масою близько 34-36 kDa (позначка 2).

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену шерсті кішки наведена на рис. 3.21.

Аналіз спектрограми показав, що в білковому складі алергену присутні мажорний компонент Fel d1 з молекулярною масою 38 kDa (позначка 2), мажорний компонент Fel d4 (22 kDa) (позначка 3), міnorні компоненти Fe ld2 (69 kDa) (позначка 1) та Fel d3 (11 kDa) (позначка 4).

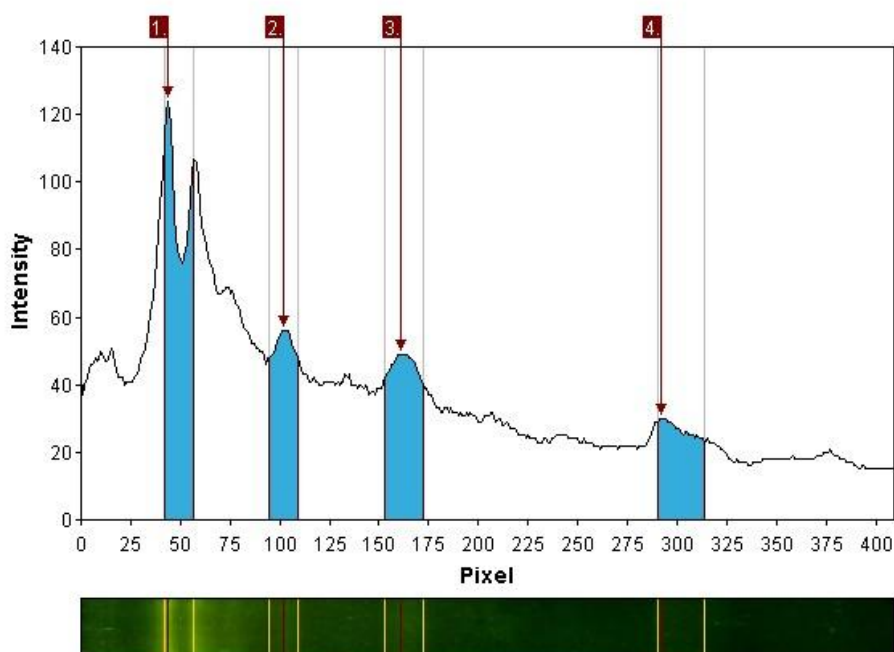


Рис. 3.21 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену шерсті кішки

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену шерсті вівці наведена на рис. 3.22.

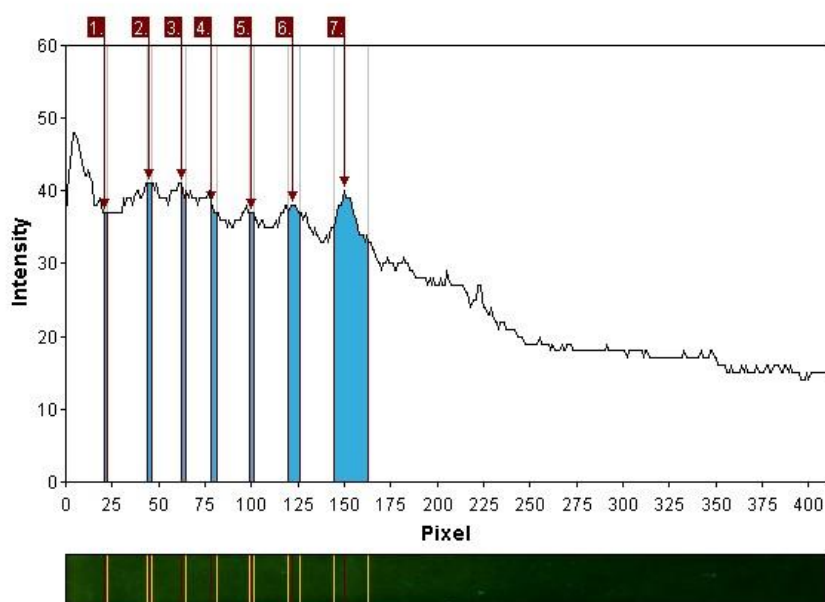


Рис. 3.22 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену шерсті вівці

Аналіз спектрограми показує, що діагностичний алерген шерсті вівці є набором білкових молекул різною молекулярною масою від 25 kDa до 90 kDa (позначки 1-7) з відсутністю чітких піків, а, отже, оцінити компонентний склад не є можливим.

Спектрограма білкового складу діагностичного алергену пір'я подушки наведена на рис. 3.23.

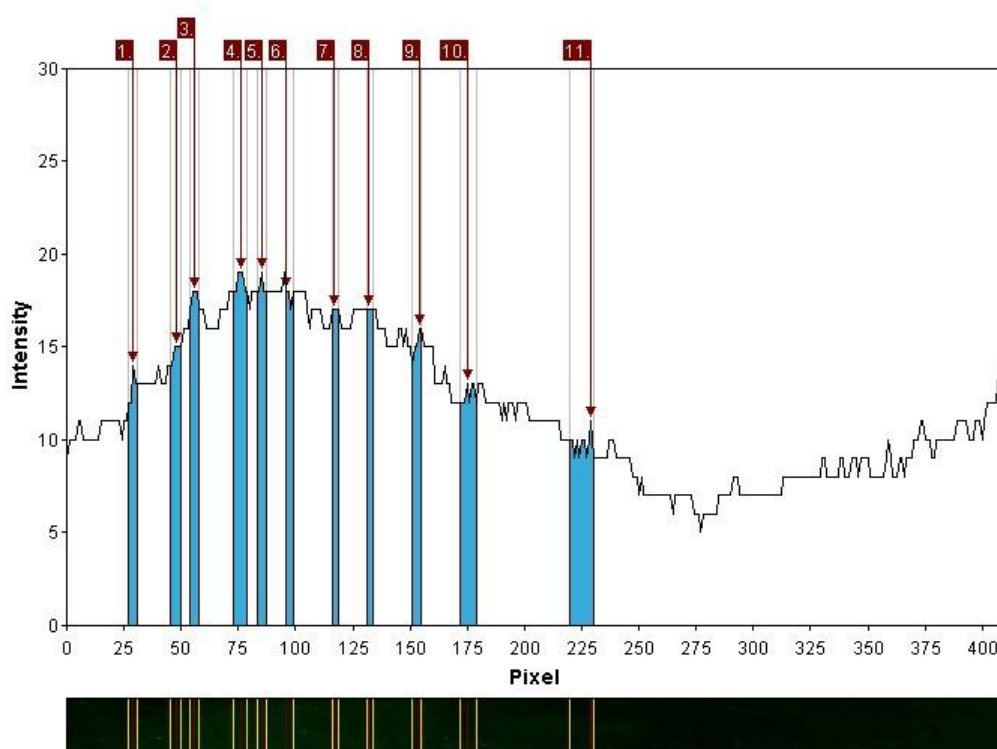


Рис. 3.23 – Спектрограма білкового складу діагностичного алергену пір'я подушки

Аналіз спектрограми показує, що діагностичний алерген пір'я подушки є набором білкових молекул з різною молекулярною масою від 25 kDa до 90 kDa (позначки 1-11) з відсутністю чітких піків, а, отже, оцінити компонентний склад не є можливим.

3.3. Визначення регіональних особливостей сировини для виготовлення розчинів екстрактів діагностичних алергенів

У відповідності до поставлених в роботі завдань нами було оцінено компонентний склад та експресію Bet v1 (мажорний алерген берези) зразків пилку берези різних регіонів України. Для цього під час палінації берези було зібрано її пилок в 6 різних клімато-географічних регіонах України, які у вигляді точок вказані на рис. 3.24.

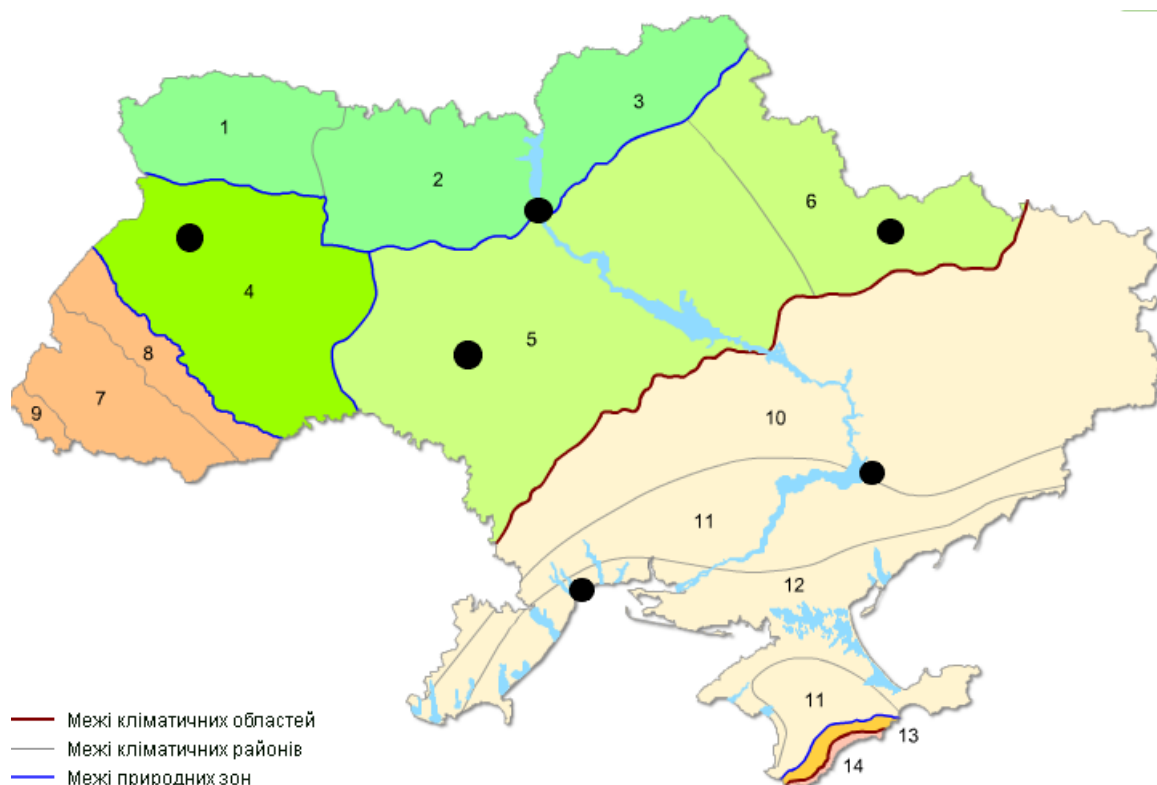


Рис. 3.24. Точки збору пилку берези (1 – Львів, 2 – Вінниця, 3 – Київ, 4 – Одеса, 5 – Харків, 6 – Запоріжжя).

Після збору пилку його було упаковано в герметичні пакети та надіслано до лабораторії фірми «R-BiopharmAG» (Дармштадт, Федеративна республіка Німеччина), де в лабораторних умовах було проведено екстракцію алергенів, їх компонентний аналіз за допомогою електрофорезу в поліакріламідному гелі та визначення експресії Bet v1 в порівнянні із стандартом. Електрофореграми у відповідності до методів дослідження було проаналізовано за спектром, побудовано спектрограми та оцінено

компонентний склад білкових складових алергену берези з різних точок України. Приклад типової спектрограми алергену берези наведено на рис. 3.25.

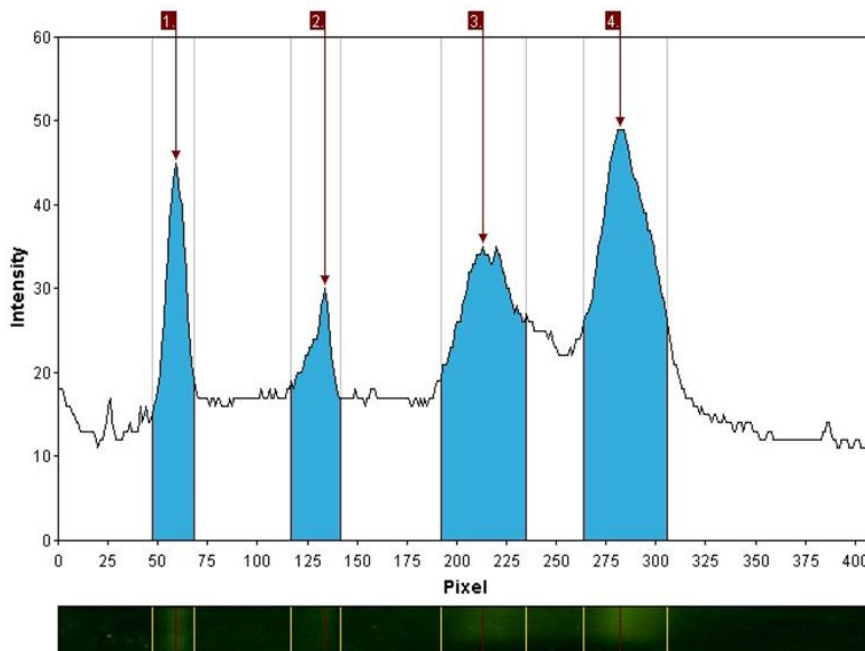


Рис. 3.25. Спектрограма білкових компонентів алергену берези.

В результаті аналізу визначено, що пилок берези, зібраний в різних точках України, містить різні мажорні і мінорні компоненти, а саме:

- зразок з м. Львова - Bet v1 (17 kDa), Bet v2 (15 kDa), Bet v3 (24 kDa), Bet v6 (35 kDa);
- зразок з м. Одеси - Bet v1 (17 kDa) , Bet v2 (15 kDa), Bet v3 (24 kDa), Bet v6 (35 kDa);
- зразок з м. Києва - Bet v1 (17 kDa) , Bet v2 (15 kDa), Bet v6 (35 kDa);
- зразок з м. Вінниці - Bet v1 (17 kDa), Bet v2 (15 kDa), Bet v3 (24 kDa), Bet v6 (35 kDa);
- зразок з м. Харкова - Bet v1 (17 kDa), Bet v3 (24 kDa), Bet v4 (8 kDa), Bet v6 (35 kDa);
- зразок з м. Запоріжжя - Bet v1 (17 kDa), Bet v2 (15 kDa), Bet v3 (24 kDa), Bet v6 (35 kDa).

При аналізі отриманих результатів виявлено, що в зразках присутні мажорні компоненти, проте мінорні білки в пилку берези різних регіонів присутні в різних комбінаціях. Оскільки абсолютна більшість сенсibilізованих до пилку берези пацієнтів реагує на Bet v1 (за даними деяких авторів – до 95 % обстежених [джерело]), то вироблені з таких зразків екстракти алергенів будуть, безумовно, володіти здатністю викликати шкірну реакцію, а, отже, будуть придатними для застосування при шкірному тестуванні. Однак, баластні неалергенні білки та мінорні компоненти, не маючи суттєвого значення в діагностиці, здатні підвищувати загальний вміст білка в екстракті, підвищуючи таким чином і значення PNU. Це має суттєве значення при стандартизації, і подальші кроки для стандартизації екстрактів алергенів за вмістом саме мажорних компонентів є безумовно необхідними.

Окрім компонентного складу, було оцінено і рівень експресії гену Bet v1, що, на відміну від електрофореграм, є кількісною мірою вмісту Bet v1 в зразку пилка. Для цього за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції в реальному часі (RT – PCR) з використанням праймерів Tub-Bet-R, Transcr-Bet-R визначено експресію Bet v1 в порівнянні із стандартним екстрактом берези Всесвітньої організації охорони здоров'я.

За результатами полімеразно-ланцюгової реакції визначено, що в зразках з міст Вінниці та Харкова експресія Bet v1 становила в середньому 0,6 від калібратора (зразка стандартного екстракту алергену), з м. Львова – 0,7 від калібратора, з міст Києва та Одеси – 1,2 рівня експресії калібратора, а м. Запоріжжя – 1,3 рівня експресії калібратора.

Таким чином, аналізи спектрограм діагностичних препаратів алергенів показують наявність мажорних та мінорних компонентів в більшості проаналізованих випадків. Так, для алергенів кліщової групи визначено наявність у алергенах *Dermatophagoides pteronyssinus* – Der p1 з молекулярною масою 24 kDa, *Dermatophagoides farinae* – Der f1 з молекулярною вагою 27 kDa, *Acarus siro* – Aca s13 з молекулярною масою 15 kDa), у пилових алергенах дерев: берези – Bet v1 з молекулярною масою 17

kDa, мінорного компоненту Bet v3 (24 kDa), вільхи – Aln g1 з молекулярною масою 18 kDa, грабу – мажорного компоненту Car b1 (17 kDa).

Для пилових алергенів трав визначено наявність у алергенах жита – Sec c38 з молекулярною масою 13,5 kDa, мінорних компонентів Sec c5 (30 kDa) та Sec c20 (70 kDa), полину – Art v1 з молекулярною масою 28 kDa, костриці – Fes p4 з молекулярною масою 60 kDa, соняшника – Hel a1 з молекулярною масою 34 kDa, мінорних компонентів Hel a2 (14,7 kDa) та Hel a6 (42 kDa), пажитниці багаторічної – Lol p1 (27 kDa) та мінорних компонентів Lol p4 (57 kDa), Lol p11 (16 kDa), Lol p2-Lolp 3 (молекулярна маса 11 kDa), тимофіївки лугової – мажорного компоненту Phl p5 (32 kDa) та мінорних компонентів Phl p4 (55 kDa), Phl p2 (10-12 kDa), кукурудзи звичайної – мажорного компоненту Zea m1 (25-35 kDa) та мінорного компоненту Zea m12 (14 kDa), амброзії – мінорного компоненту Amb a3 (11 kDa), грястиці збірної – мажорного компоненту Dac g1 (32 kDa) та мінорних компонентів Dac g4 (60 kDa), Dac g2 та Dac g3 (11 kDa та 14 kDa).

Для епідермальних алергенів визначено, що у алергені шерсті собаки наявний мажорний компонент Can f1 (ліпокалін) з молекулярною масою 23 kDa, мінорні компоненти Can f2 (19 kDa) та Can f3 (69 kDa), шерсті кішки – мажорний компонент Fel d1 з молекулярною масою 38 kDa, мажорний компонент Fel d4 (22 kDa), мінорні компоненти Fel d2 (69 kDa) та Fel d3 (11 kDa).

Для окремих алергенів – шерсть вівці, пір'я подушки, тонконіг луговий – за допомогою побудови спектрограми після електрофорезу розчинів в поліакріламідному гелі компонентний склад оцінити не є можливим, оскільки вони представляють собою суміш білків з близькими молекулярними масами. Окрім того, ряд діагностичних алергенів – шерсть собаки, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, береза, вільха, жито, костриця, соняшник, пажитниця, кукурудза, грястиця – містять в розчинах неалергенні баластні білки.

Вказані результати вперше визначають молекулярний компонентний склад вітчизняних діагностичних алергенів, що має декілька аспектів. По-перше, для повноцінного застосування у діагностиці IgE-залежних алергічних захворювань діагностичні алергени мають бути стандартизовані. Як вказувалося раніше, єдиної процедури стандартизації в світі наразі не існує, що зумовлює різні підходи до стандартизації алергенних екстрактів виробниками. В Україні стандартизація алергенних екстрактів відбувається за вмістом PNU – білкових одиниць азоту, що є характеристикою вмісту білка в 1 мл розчину алергену. Втім, баластні неалергенні компоненти можуть значно впливати на загальний вміст білка, при цьому не маючи діагностичного та тим більше лікувального значення.

По-друге, відсутність деяких мажорних білкових компонентів може знижувати діагностичні можливості екстрактів, даючи хибнонегативні результати при їх застосуванні у конкретних пацієнтів, сенсibilізованих до таких компонентів. Все це зумовлює необхідність порівняння результатів тестування різними методами у пацієнтів з IgE-залежними алергічними захворюваннями та удосконалення процедури стандартизації алергенних екстрактів.

Результати визначення компонентного складу пилку берези з різних регіонів України показують, що мінорні компоненти в складі пилку можуть варіювати в залежності від екології місця зростання дерева та клімато-географічних умов зростання рослин. При цьому всі зразки пилку містили мажорні білки, що дає можливість використовувати сировину для виготовлення діагностичних екстрактів алергенів, однак стандартизації за білковими одиницями азоту може бути недостатньо. Окрім того, всі зразки містили різну експресію Bet v1 – головного мажорного білка алергену берези, що може свідчити про їх різну алергенність. Різна кількість мажорного білка в екстракті алергену може бути причиною як хибнонегативних результатів тестування з таким екстрактом, так і, що найголовніше, невдачі застосування такого екстракту з лікувальною метою для алерген-специфічної імунотерапії.

Матеріали даного розділу дослідження відображені в наступних публікаціях:

1. Bogomolov A. E. The component composition of diagnostic pollen allergen extracts / A. E. Bogomolov // Український пульмонологічний журнал. – 2020. – № 2. – С. 45–49.
2. Bogomolov A. Ye. The component composition of mite and epidermal diagnostic allergens / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2020. - № 2. - С. 50–56.
3. Богомолів, А.Є. Порівняльне дослідження шкірного тестування з екстрактами кліщових алергенів різних виробників для специфічної алергодіагностики у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями / А.Є. Богомолів, С. В. Зайков, Б.А. Стремедловський // Астма та алергія. - 2020. - № 1. - С. 14–21.
4. Bogomolov, A. Changes in molecular structure of silver birch pollen allergen in different climatic areas of Ukraine / A. Bogomolov, S. Zaikov // Allergy. – 2016. - № 71 (Suppl. 102). – P. 465.

РОЗДІЛ 4

ШКІРНЕ ТЕСТУВАННЯ З ЕКСТРАКТАМИ КЛІЩОВИХ АЛЕРГЕНІВ РІЗНИХ ВИРОБНИКІВ ДЛЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АЛЕРГОДІАГНОСТИКИ У ПАЦІЄНТІВ З БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ ТА АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ

Специфічна алергодіагностика є невід’ємним компонентом маршруту пацієнта з підозрою на АЗ в сучасних умовах [85]. У структурі алергопатології понад 85 % займають IgE- єдині вимоги до цього процесу, що зумовлює різні підходи до стандартизації з боку виробників діагностичних алергенів. Спроби привести цей процес до єдиних вимог та створити еталонні екстракти алергенів з боку Європейського Союзу та ВООЗ не принесли очікуваних результатів [6, 7]. Таким чином, в сучасних умовах комерційні діагностичні екстракти алергенів різних виробників містять різну кількість мажорних та міnorних компонентів алергенів, що, теоретично, може зумовлювати різну реакцію шкіри на їх введення.

Результатом стала пряма рекомендація в настанові Європейського стандарту з проведення прик-тестів порівнювати лише результати тестування комерційними екстрактами одного виробника [8]. Однак, на практиці нерідко лікарі стикаються із ситуацією, коли в наявності є екстракти одного виробника, а тестування було виконане за допомогою екстрактів іншого.

Метою даного фрагменту дослідження стала перевірка конкордантності результатів шкірного тестування методом прик-тесту комерційними екстрактами мікст-алергенів кліщової групи двох різних виробників – МП «Імунолог» (Україна) та «Sevapharma, a.s.» (Чеська республіка).

Для вирішення цього завдання було відібрано 40 осіб віком 19-42 роки, середній вік групи склав 31,6 роки (95% ДІ: 26,6; 41,6), гендерний розподіл – 60,0 % чоловіків та 40,0 % жінок. Шкірні тести особам дослідної групи

виконували в період ремісії основного захворювання та за відсутності інших протипоказань до тестування *in vivo* з алергенами. Проведення шкірних тестів та оцінювання результатів шкірного тестування здійснювали відповідно до наказу МОЗ і АМН України № 127/18 від 02.04.2002 р. «Про організаційні заходи по впровадженню сучасних технологій діагностики та лікування алергійних захворювань» [14]. Для постановки проби шкіру долонної поверхні передпліччя обробляли 70 % етиловим спиртом, на неї на відстані 2-2,5 см наносили краплі алергенів та негативного і позитивного контролю у вигляді тест-контрольної рідини, а також 0,01 % розчину гістаміну. Після цього робили прокол попередньо натягнутої шкіри за допомогою списа ланцета до упору обмежувача. Оцінку здійснювали візуально за допомогою лінійки через 20 хв після тестування, розмір папули визначали в міліметрах.

Одразу після візуальної оцінки проводили інструментальне оцінювання за допомогою термографа з фіксацією зображення в пам'яті пристрою для подальшої обробки. Для термографічної оцінки пацієнт мав перебувати в приміщенні протягом 30 хв до початку тесту з метою стабілізації температури шкіри. Для термографії використовували камеру ULIRVision TI-120 (Zhejiang ULIRvision Technology Co., Ханчжоу, Китай), сертифіковану за діапазоном температур та чутливістю для медичного використання в Україні.

Приклад візуальної (ліворуч) та термографічної (праворуч) оцінки результатів тестування наведено на рис. 4.1.

При аналізі результатів виявлено, що середній розмір папули через 20 хвилин після тестування мікст-алергенами вітчизняного виробництва склав 7,20 (95% ДІ: 6,73; 7,67) мм (мінімальний – 5,0 мм, максимальний – 11,0 мм), після тестування мікст-алергенами чеського виробництва – 6,00 (95% ДІ: 5,54; 6,54) мм (мінімальний – 4,0 мм, максимальний – 10,0 мм), що показано на рис. 4.2.

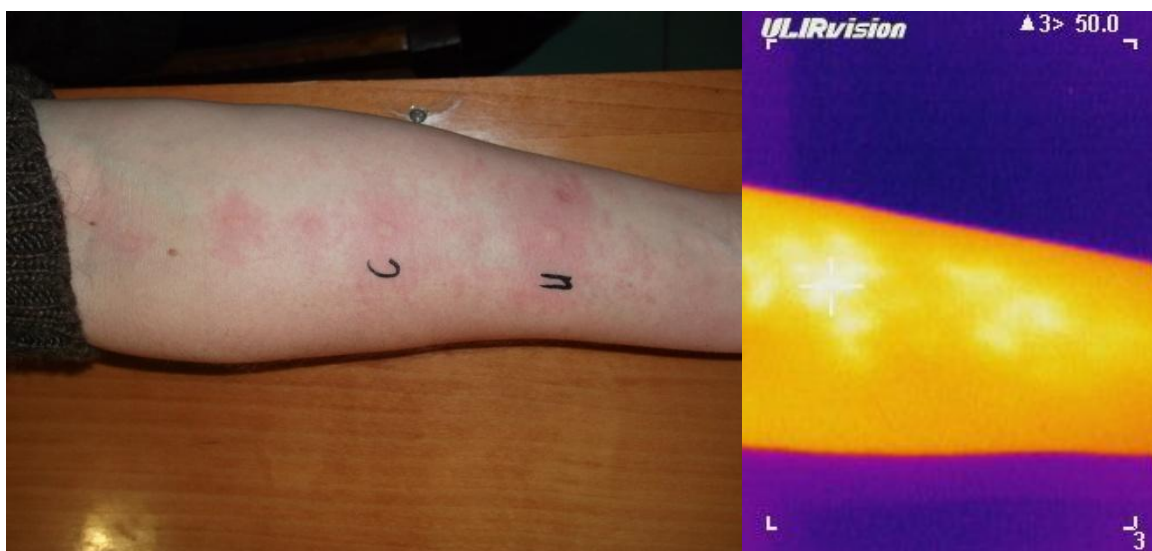


Рис. 4.1 – Візуальне та термографічне зображення результатів тестувань з кліщовими мікст-алергенами різних виробників

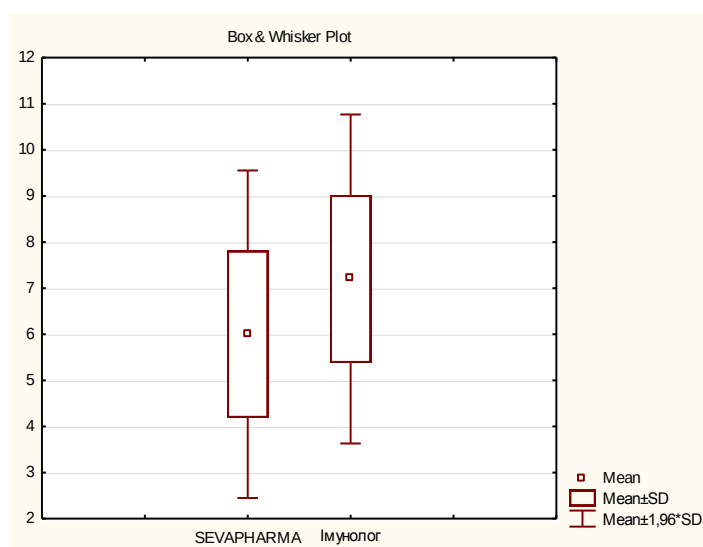


Рис. 4.2 – Середній розмір папули позитивного результату тестування з мікст-алергенами кліщової групи (мм)

При порівнянні результатів візуального та термографічного вимірювань і розміру папули виявлено високий коефіцієнт кореляції між оцінкою тестів ($r = 0,9$), однак різниця між розмірами папули становила в середньому 1,6 мм. Десять тестів були візуально інтерпретовані як негативні, а термографічно – як сумнівні. Однак, результати візуального аналізу

алергологом та термографічного вимірювання співпали лише в 70 % випадків. Абсолютну відповідність результатів клінічного та термічного зображення відзначено лише для негативних тестів.

Результати статистичної обробки представлено на рис. 4.3 та.4.4.

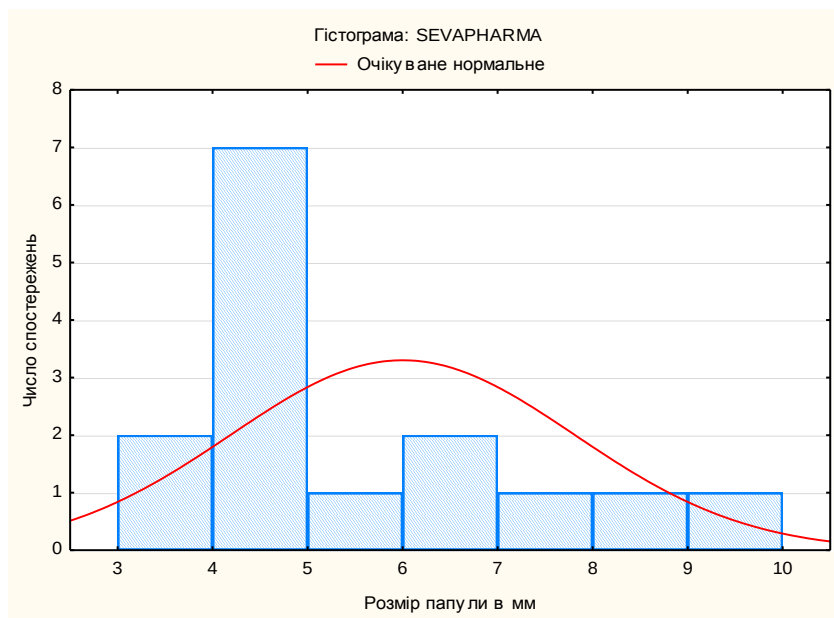


Рис. 4.3 – Гістограма розподілу результатів тестування з кліщовими мікст-алергенами виробництва «Sevapharma»

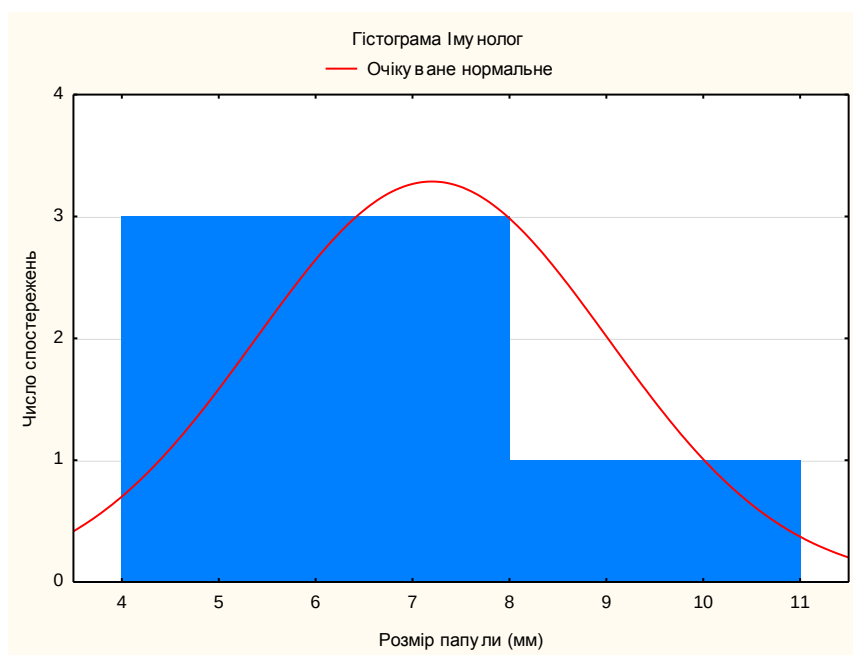


Рис. 4.4 – Гістограма розподілу результатів тестування з кліщовими мікст-алергенами виробництва «Імунолог»

За результатами статистичної обробки чітко видно, що розподіл результатів тестувань при тестуванні з алергенами вітчизняного виробництва є близьким до нормального, чеськими – не є таким. Графіки вірогідності результатів (probability plot) наведені на рис. 4.5 та 4.6, відповідно.

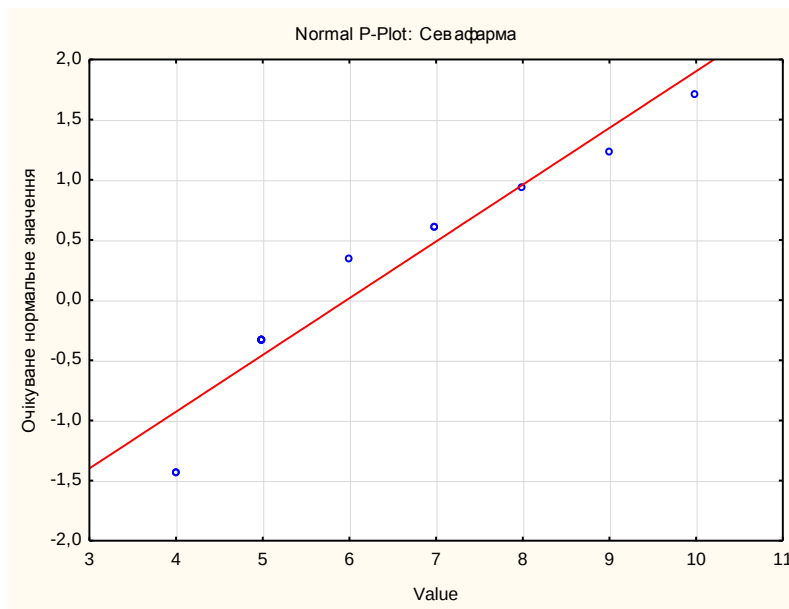


Рис. 4.5 – Розподіл вірогідності результатів тестування з кліщовими мікст-алергенами виробництва «Sevapharma»

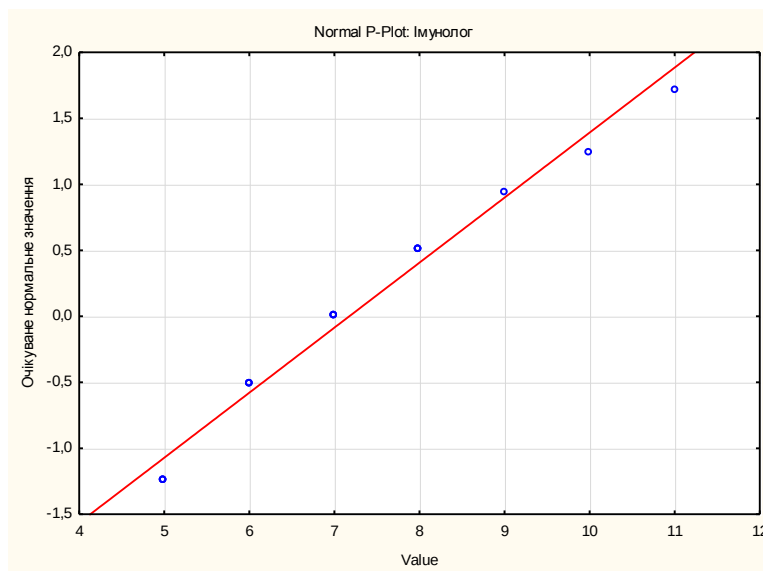


Рис. 4.6 – Розподіл вірогідності результатів тестування з кліщовими мікст-алергенами виробництва «Імунолог»

В результаті оцінки взаємозв'язку між результатами тестування за допомогою кореляційного аналізу Спірмена визначено, що значення

коефіцієнта кореляції Спірмена становить 0,88 ($p=0.000015$), що свідчить про прямо пропорційний кореляційний зв'язок сильного ступеня. Результат побудови кореляційної матриці наведено на рис. 4.7.

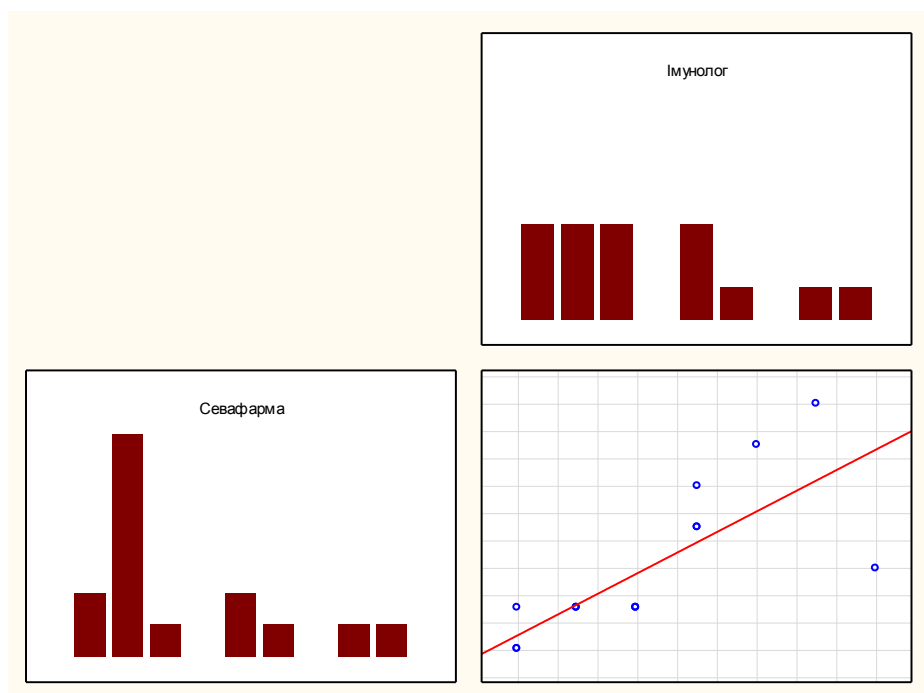


Рис. 4.7 – Кореляційна матриця проведення кореляційного аналізу Спірмена для порівняння результатів тестувань

З кореляційної матриці чітко видно, що лінія регресії розташована під значним кутом до осі абсцис, що показує прямо пропорційний зв'язок між результатами тестувань. Для оцінки ступеня розходження результатів було застосовано побудову графіків за методом Бленда-Альтмана (рис. 4.8).

По-перше, середня різниця між вимірами дорівнює 1,2 мм, що свідчить про наявність систематичної розбіжності. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 1,26 мм, що суттєво в порівнянні з самими значеннями. По-третє, відсутня залежність різниці вимірів від величини папули. Таким чином, вимірювання, отримані обома способами, узгоджуються один з одним, однак є систематична розбіжність результатів.

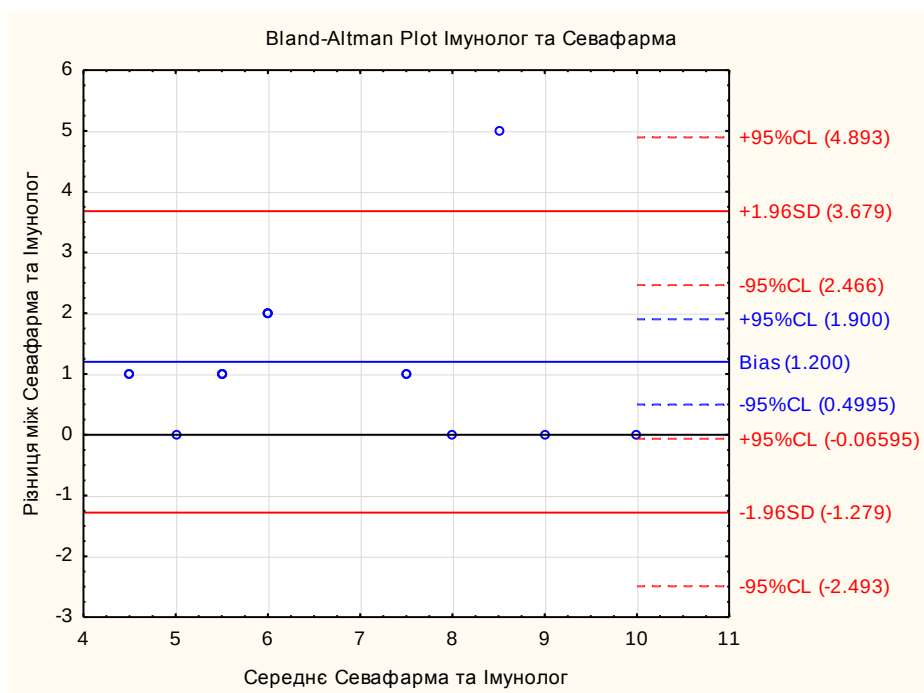


Рис. 4.8 – Графік Бленда-Альтмана для тестувань з кліщовими мікст-алергенами «Sevapharma» та «Імунолог»

Відомо, що шкірне тестування методом прик-тесту використовується для визначення сенсibilізації пацієнта до того чи іншого специфічного алергену. Для лікаря важливою є оцінка результатів, однак категорійна оцінка «сенсibilізація є чи немає» повсякчас є важливішою, аніж конкретний діаметр папули тестування. Дослідження показало повне співпадіння результатів тестувань двох комерційних екстрактів мікст-алергенів кліщової групи, що на практиці часто означає і співпадіння категорійної оцінки результатів.

Втім, систематичне розходження діаметрів папул після тестів може призводити до зсувів оцінки у випадках результатів слабого ступеня вираженості з позитивного до сумнівного. Це ще один раз доводить, що результати тестувань з комерційними екстрактами алергенів різних виробників недоцільно порівнювати будь-яким чином, окрім категорійної оцінки, адже єдині вимоги до стандартизації таких екстрактів відсутні не

лише в Україні, а й в усьому світі, про що чітко вказують міжнародні експерти та відповідні гайдлайни [65].

Отже, стандартизація алергенних екстрактів як для діагностики, так і для проведення АСІТ є невід'ємною складовою прогресу сучасної алергології та процес розробки єдиних підходів до неї необхідно активно розвивати.

Таким чином, результати порівняння шкірного тестування з аналогічними по складу мікст-екстрактами діагностичних алергенів доводять, що відсутність чітких підходів до стандартизації алергенних екстрактів та, вірогідно, пов'язаний із цим різний компонентний склад екстрактів можуть мати певне діагностичне значення у верифікації сенсibiliзації у пацієнтів з IgE-опосередкованими респіраторними алергічними захворюваннями. Систематичне розходження розмірів діаметрів папул в певних граничних випадках може спричинити кардинально іншу інтерпретацію результатів специфічної алергодіагностики, що може мати значення для подальшого обстеження пацієнтів, елімінації причинних факторів та алерген-специфічної імунотерапії відповідних категорій осіб. Використання медичної термографії покращує та об'єктивізує оцінку результатів шкірного тестування.

Отримані в цьому розділі результати дозволяють зробити наступні висновки:

1. Медична термографія може бути використана в рутинній практиці алерголога для об'єктивізації результатів оцінки шкірного тестування методом прик-тесту, що сприятиме покращенню якості діагностики сенсibiliзації у пацієнтів з алергічними захворюваннями.

2. Два екстракти мікст-алергенів кліщової групи (виробництва «Sevapharma» та «Імунолог») є відтвореними і добре корелюють між собою (прямо пропорційна кореляція сильного ступеня зв'язку, значення коефіцієнта кореляції Спірмена 0,88). Обидва екстракти можна

використовувати для діагностики сенсibiliзації пацієнтів до кліщових алергенів.

3. Між результатами тестування алергенами «Sevapharma» і «Імунолог» існує систематичне середнє розходження 1,2 мм на користь збільшення діаметра прик-тесту з алергеном вітчизняного виробництва. Це необхідно враховувати при оцінці проб у пацієнтів з сумнівними результатами тестування кліщовими мікст-алергенами «Sevapharma» (Д = 1-2 мм).

4. Результати тестувань з комерційними екстрактами алергенів різних виробників недоцільно порівнювати будь-яким чином, окрім категорійної оцінки.

Матеріали даного розділу дослідження відображені в наступних публікаціях:

1. Богомолів, А. Є. Медична термографія в оцінці результатів шкірного тестування методом прик-тесту у пацієнтів з IgE-опосередкованими алергічними захворюваннями / А. Є. Богомолів // Український журнал дерматології, венерології, косметології. – 2020. – № 1. – С. 76–80.

2. Богомолів, А.Є. Порівняльне дослідження шкірного тестування з екстрактами кліщових алергенів різних виробників для специфічної алергодіагностики у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями / А.Є. Богомолів, С. В. Зайков, Б.А. Стремедловський // Астма та алергія. - 2020. - № 1. - С. 14–21.

3. Bogomolov, A. Alternative method in allergy diagnosis by thermographic imaging / A. Bogomolov // Allergy. – 2017. – Vol.72, supplement 103. – P. 345.

4. Pukhlik, B. Thermography imaging as an objective technique for evaluation of allergic skin tests / B. Pukhlik, A. Bogomolov, V. Rodinkova, S. Zaikov // Allergy. – 2016. – Vol. 71, supplement 102. – P. 377.

5. Bogomolov, A. Ye. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2018. - № 4. - С. 25–28.

РОЗДІЛ 5

ПОРІВНЯННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ РІЗНИХ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ДО АЛЕРГЕНІВ У ПАЦІЄНТІВ З БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ ТА АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ

З метою вирішення цього завдання проведено порівняння результатів визначення сенсibilізації відповідних категорій пацієнтів за допомогою шкірного тестування методом прик-тесту з екстрактами алергенів (МП «Імунолог», Україна) та визначення рівнів специфічного IgE до алергенів інгаляційними панелями двох різних виробників («R-BiopharmAG» та «Euroimmun», Федеративна Республіка Німеччина).

Забір крові для дослідження методом «AllergyScreen» (калібрований імуноблот, К – імуноблоту) та «Euroimmun» (некалібрований імуноблот, НК – імуноблот) здійснювався одночасно.

Для зручності аналізу 15 алергенів, з якими було виконано обстеження пацієнтів методами шкірного тестування та імуноблоту, було розподілено наступним чином:

- алергени кліщової групи (*Dermatophagoides pteronissynus* та *Dermatophagoides farinae*);
- пилкові алергени (вільха, береза, ліщина, дуб, жито, полин, подорожник);
- епідермальні алергени (шерсть кішки, собаки, хомяка, кролика, морської свинки, лупа коня).

5.1. Частота сенсibilізації та порівняння результатів шкірного тестування методом прик-тесту й визначення специфічних IgE до алергенів кліщової групи

У процесі дослідження трьома різними методами специфічної алергологічної діагностики (*in vivo* та *in vitro*) було обстежено 88 пацієнтів,

хворих на БА та АР. Серед обстежених, частота сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* склала 36,4 % (32 особи) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 34,1 % (30 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 38,6 % (34 особи) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.1 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про досить тісний збіг результатів двох різних методів (валідність співпадіння результатів склала 86,4 % або 76 випадків).

Таблиця 5.1

**Сенсibilізація до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* за результатами
шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К -
імуноблоту**

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	48	2	4	54
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	6	28	34
Усього	48	8	32	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* досить тісно збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення

специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.2) показали, що коефіцієнт вказує на наявність доброї погодженості ($r = 0,740$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,618–0,863) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа розміщена в діапазоні доброї погодженості, а верхня – у ділянці відмінної погодженості.

Таблиця 5.2

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуоблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus*

Коефіцієнт каппа	0,740
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,063
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,615
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,851

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,072 та гіпотеза відкидається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість за обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами

Dermatophagoides pteronyssinus та виявленням специфічного IgE методом К – імуноблоту існує добрий ступінь погодженості між результатами.

У табл. 5.3 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* відзначено помірне домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про середнього ступеня збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 61,4 % - 54 випадків).

Таблиця 5.3

**Сенсibilізація до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* за результатами
шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК -
імуноблоту**

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	36	8	10	54
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	8	8	18	34
Усього	44	16	28	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.4) показали, що коефіцієнт вказує на наявність задовільної погодженості ($r = 0,322$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,168–0,461) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа розміщена в діапазоні поганої погодженості, а верхня – у ділянці помірної погодженості.

Таблиця 5.4

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus*

Коефіцієнт каппа	0,322
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,077
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,168
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,461

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до кліща *Dermatophagoides pteronyssinus* визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,152 та гіпотеза відхиляється і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує узгодженість тестів між собою. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільного ступеня погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides pteronyssinus* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.1.

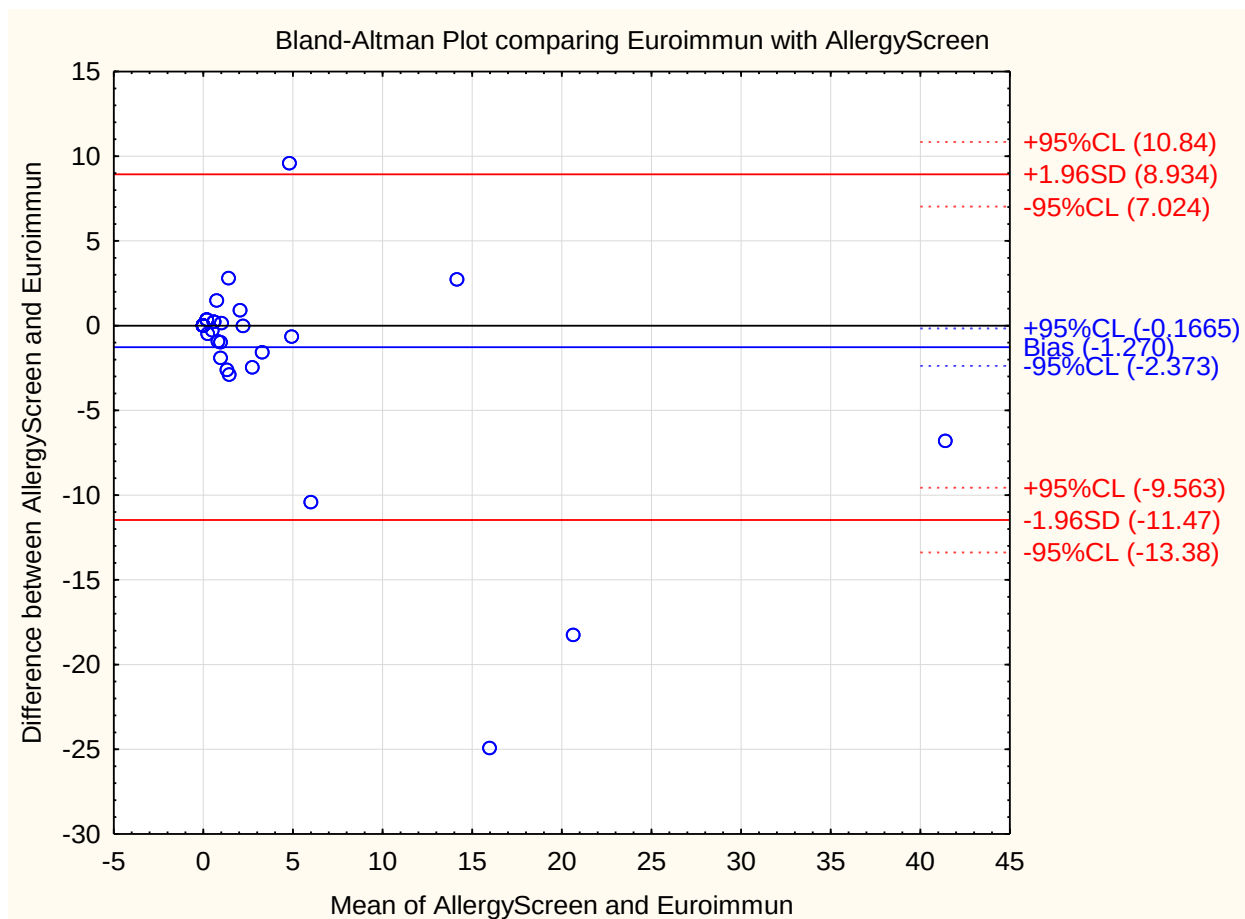


Рис. 5.1 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides pteronyssinus* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює -1,27 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 5,2, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, існує певна залежність різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові, так як зі збільшенням

числових значень ознак кількість неспівпадінь зростає. Крім того, частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides pteronyssinus* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту мають систематичне розходження показників (-1,27 kU/l).

Між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами, між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

В той же час, серед обстежених сенсibiliзація до алергену *Dermatophagoides farinae* склала 34,1 % (30 пацієнтів) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 34,1 % (30 пацієнтів) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 34,1 % (30 пацієнтів) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.5 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до кліща *Dermatophagoides farinae* з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установаження корелятивних зв'язків сенсibiliзації до кліща *Dermatophagoides farinae* відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про досить тісний збіг результатів двох різних методів (валідність співпадіння результатів склала 90,9 % або 80 випадків).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibiliзації до алергену *Dermatophagoides farinae* досить тісно збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Таблиця 5.5

Сенсибілізація до кліща *Dermatophagoides farinae* за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	54	0	4	58
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	2	2	26	30
Усього	56	2	30	88

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до кліща *Dermatophagoides farinae* через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.6) показали, що коефіцієнт вказує на наявність доброї погодженості ($r = 0,804$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,657–0,926) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа розміщена в діапазоні доброї погодженості, а верхня – у ділянці відмінної погодженості.

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до кліща *Dermatophagoides farinae* асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,072, тому гіпотеза відкидається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість за обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та

виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами.

Таблиця 5.6

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae*

Коефіцієнт каппа	0,804
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{var}$	0,064
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,657
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,926

У табл. 5.7 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до кліща *Dermatophagoides farinae* методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до кліща *Dermatophagoides farinae* відзначено відсутність домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про середнього ступеня збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 68,2 % або 60 випадків).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae* частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань.

Таблиця 5.7

**Сенсибілізація до кліща *Dermatophagoides farinae* за результатами
шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК -
імуноблоту**

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	40	8	10	58
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	10	0	20	30
Усього	50	8	30	88

Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до кліща *Dermatophagoides farinae* через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.8) показали, що коефіцієнт вказує на наявність задовільної погодженості ($r = 0,375$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,195–0,559) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа розміщена в діапазоні поганої погодженості, а верхня – у ділянці помірної погодженості.

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до кліща *Dermatophagoides farinae* асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,675, тому гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірність узгодженості тестів між собою. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням

специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Таблиця 5.8

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae*

Коефіцієнт каппа	0,375
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,091
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,195
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,559

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides farinae* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда- Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.2.

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює -0,71 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 3,33, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, існує певна залежність різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові, так як зі збільшенням числових значень ознак кількість неспівпадінь зростає. Крім того, частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides farinae* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте існує систематичне розходження показників (-0,71 kU/l).

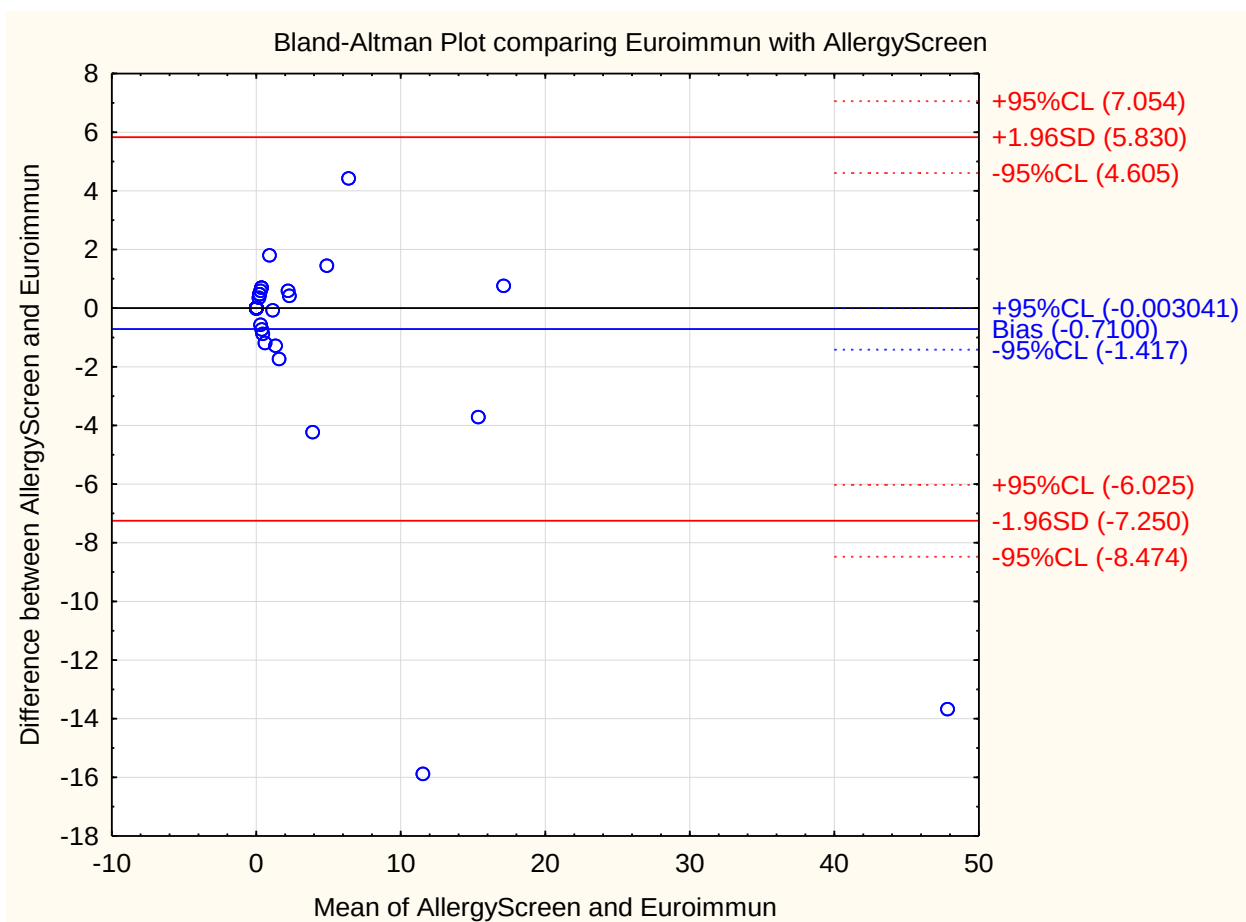


Рис.5.2 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides farinae* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

Між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами, між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

5.2. Частота сенсibilізації та порівняння результатів шкірного тестування методом прик-тесту і визначення специфічних IgE до пилкових алергенів

Як було наведено вище, до алергенів пилкової групи було віднесено алергени пилку вільхи, берези, ліщини, дуба, жита, полину, подорожника.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену вільхи склала 25,0 % (22 особи) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 13,6 % (12 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 27,3 % (24 особи) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У таблиці 5.9 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену вільхи з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену вільхи відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 88,6 % – 78 випадків).

Таблиця 5.9

Сенсibilізація до алергену вільхи за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	60	0	4	64
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	2	4	18	24
Усього	62	4	22	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену вільхи частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування

методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену вільхи через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.10) показали, що коефіцієнт вказує на наявність доброї погодженості ($r = 0,729$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,564–0,869) включають 0, що вказує на недостовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі помірної, верхня – відмінної погодженості результатів.

Таблиця 5.10

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену вільхи

Коефіцієнт каппа	0,729
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,074
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,564
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,869

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену вільхи асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,734 та гіпотеза відкидається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість за обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з

алергенами вільхи та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.11 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену вільхи методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену вільхи відзначено відсутність домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про середній ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність результатів склала 77,3 % - 68 випадків).

Таблиця 5.11

Сенсibilізація до алергену вільхи за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	58	4	2	64
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	12	2	10	24
Усього	70	6	12	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену вільхи частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену вільхи через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.12) показали, що коефіцієнт вказує на задовільну погодженість ($r = 0,409$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,218–0,587) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі задовільної, верхня – помірної погодженості результатів.

Таблиця 5.12

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену вільхи

Коефіцієнт каппа	0,409
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,098
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,218
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,587

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену вільхи асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,113 та гіпотеза не приймається і за одnobічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірність узгодженості тестів між собою. Тобто, між даними шкірного тестування з алергену вільхи та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену вільхи методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.3.

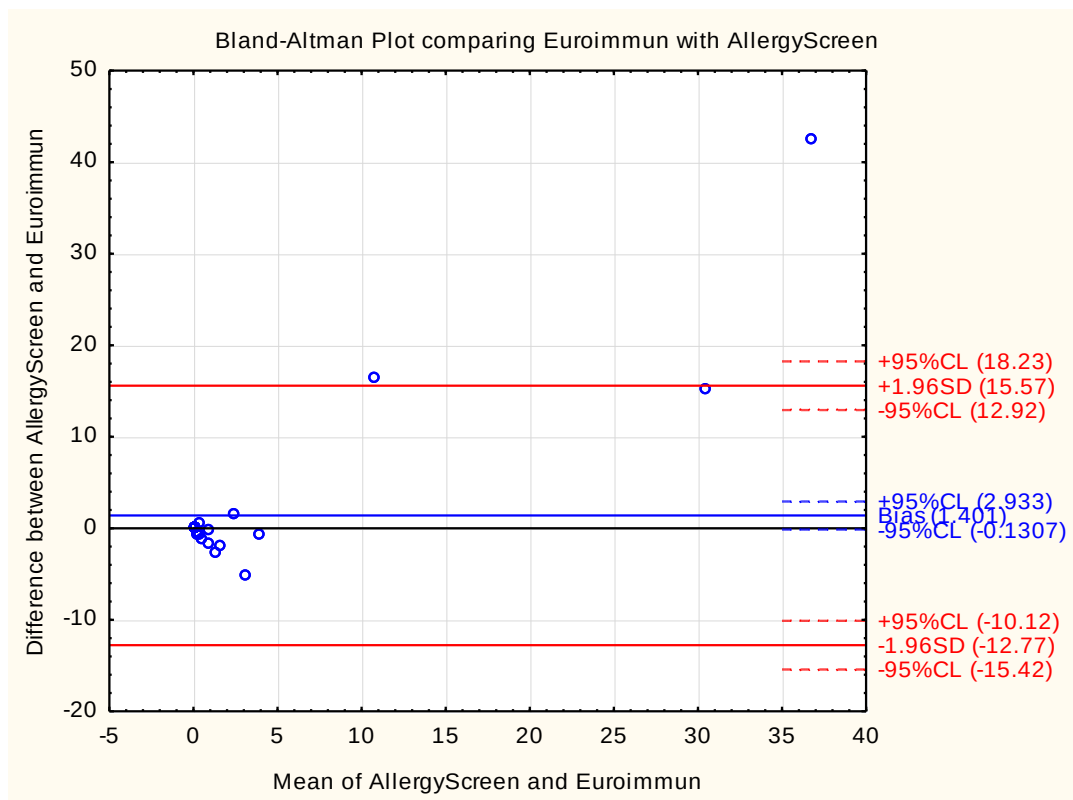


Рис. 5.3 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену вільхи методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 1,4 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 7,23, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, існує певна залежність різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові, так як зі збільшенням числових значень ознак кількість неспівпадінь зростає. Крім того, частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену вільхи методами К - імуноблотута НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження показників.

Між даними шкірного тестування з алергенами вільхи та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном вільхи та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену берези склала 31,8 % (28 осіб) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 18,2 % (16 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 36,4 % (32 особи) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.13 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену берези з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.13

Сенсibilізація до алергену берези за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	54	0	2	56
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	2	4	26	32
Усього	56	4	28	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену берези відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 90,9 % або 80 випадків).

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену вільхи через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.14) показали, що коефіцієнт вказує на наявність відмінного ступеня погодженості ($r = 0,810$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,685–0,926) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі доброї, верхня – відмінної погодженості результатів.

Таблиця 5.14

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену берези

Коефіцієнт каппа	0,810
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,060
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,685
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,926

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену берези асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,072 та гіпотеза не приймається

і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірність узгодженості за обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами берези та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує відмінна погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.15 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену берези методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену берези відзначено неповне домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про середній ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність результатів склала 77,3 % - 68 випадків).

Таблиця 5.15

Сенсibilізація до алергену вільхи за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	54	0	2	56
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	12	6	14	32
Усього	66	6	16	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену алергену берези частково

збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену берези через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.16) показали, що коефіцієнт вказує на помірну погодженість ($r = 0,502$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,336–0,647) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі задовільної, верхня – доброї погодженості результатів.

Таблиця 5.16

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену берези

Коефіцієнт каппа	0,502
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,081
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,336
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,647

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену берези визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнювала 0,123 і гіпотеза відхиляється і за одnobічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірність узгодженості тестів між собою. Тобто, між даними шкірного

тестування з алергену берези та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену берези методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.4.

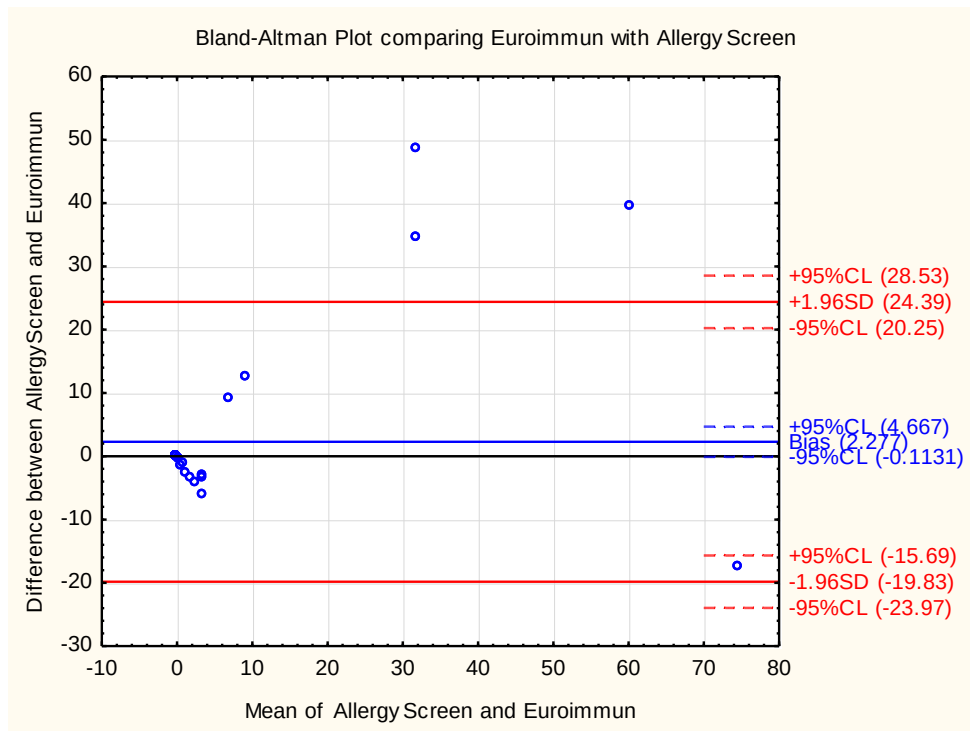


Рис. 5.4 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену берези методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 2,27 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 11,28, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, існує певна залежність різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові, так як зі збільшенням числових значень ознак кількість неспівпадінь зростає. Крім того, частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену берези методами К - імуноблотута НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження показників.

Між даними шкірного тестування з алергенами берези та виявленням специфічного IgE методом К – імуноблоту існує відмінна погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергену берези та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену ліщини склала 27,3 % (24 особи) за наявності специфічних IgE методом AllergyScreen, 13,6 % (12 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 27,3 % (24 особи) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.17 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену ліщини з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.17

Сенсibilізація до алергену ліщини за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	58	0	6	64
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	6	18	24
Усього	58	6	24	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену ліщини відзначено неповне домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про середній ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність результатів склала 86,4 % - 76 випадків).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену ліщини частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену ліщини через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.18) показали, що коефіцієнт вказує на добру погодженість ($r = 0,694$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,556–0,832) не включають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі помірної, верхня – відмінної погодженості результатів.

Таблиця 5.18

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену ліщини

Коефіцієнт каппа	0,694
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,062
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,556
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,832

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену ліщини визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,072 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами ліщини та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.19 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену ліщини методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену ліщини відзначено неповне домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про середній ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадіння результатів склала 81,8 % або 72 випадки).

Таблиця 5.19

Сенсibilізація до алергену ліщини за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	62	0	2	64
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	10	4	10	24
Усього	72	4	12	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену ліщини частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену ліщини через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.20) показали, що коефіцієнт вказує на помірний ступінь погодженості ($r = 0,506$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,327–0,679) включають 0, що вказує на недостовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі задовільної, верхня – доброї погодженості результатів.

Таблиця 5.20

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену ліщини

Коефіцієнт каппа	0,506
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,092
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,327
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,679

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену ліщини визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,0925 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну

узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном ліщини та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує помірного ступеня погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену ліщини методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.5.

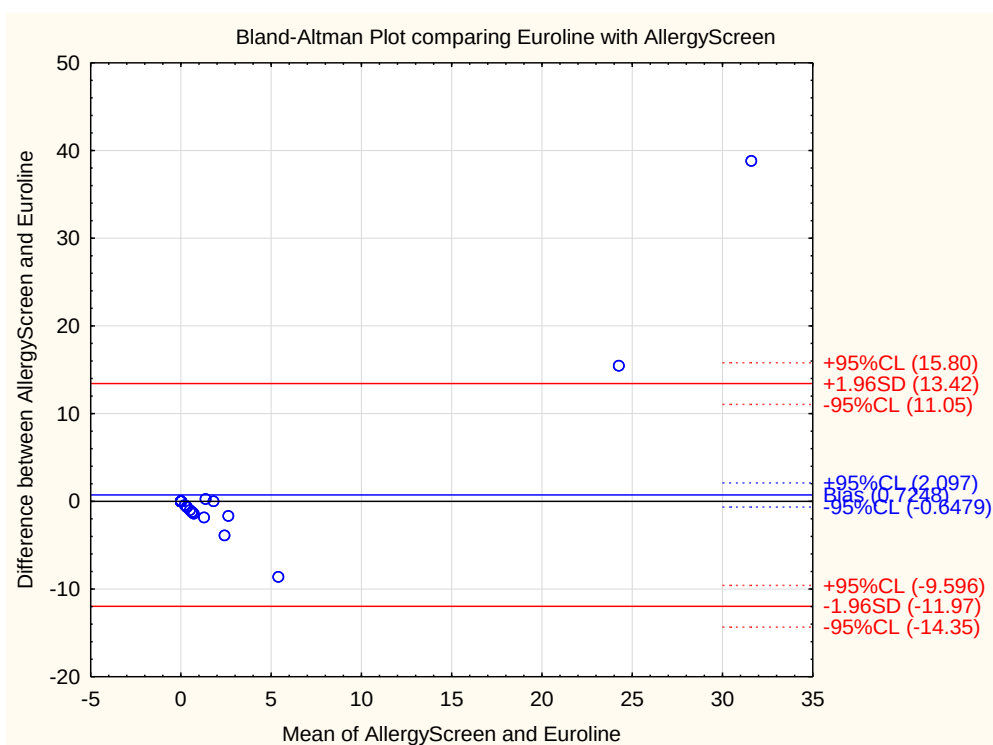


Рис. 5.5 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену ліщини методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 0,72 ku/l, що свідчить про присутність невеликого систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 6,47, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Крім того, частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену ліщини методами К - імуноблотута НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте існує систематичне розходження показників.

Між даними шкірного тестування з алергенами ліщини та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном ліщини та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену дуба склала 4,5 % (4 особи) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 6,8 % (6 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 6,8 % (6 осіб) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.21 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену дуба з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.21

Сенсibilізація до алергену дуба за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	80	0	2	82
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	2	2	2	6
Усього	82	2	4	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену дуба відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 93,2 % або 82 випадки).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену дуба частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену дуба через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.22) показали, що коефіцієнт вказує на помірну погодженість ($r = 0,470$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,114–0,790) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі поганої, верхня – доброї погодженості результатів.

Таблиця 5.22

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену дуба

Коефіцієнт каппа	0,470
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,150
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,114
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,790

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену дуба визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 1,0 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами дуба та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.23 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену дуба методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену дуба відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність співпадиння результатів склала 90,9 % або 80 випадків).

Таблиця 5.23

Сенсibilізація до алергену дуба за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	78	0	4	82
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	2	2	2	6
Усього	80	2	6	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену дуба частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену дуба через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.24) показали, що коефіцієнт вказує на задовільну погодженість ($r = 0,387$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,070–0,671) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі поганої, верхня – доброї погодженості результатів.

Таблиця 5.24

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену дуба

Коефіцієнт Каппа	0,387
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,144
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,070
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,671

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену дуба визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,955 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між

даними шкірного тестування з алергеном дуба та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену дуба методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.6.

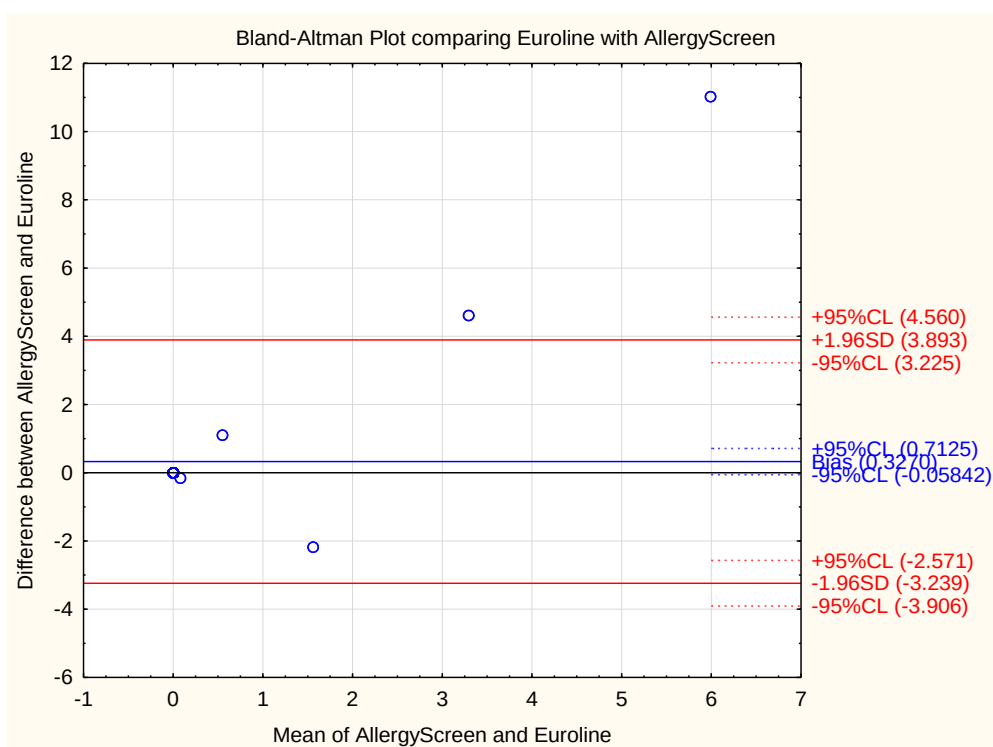


Рис. 5.6 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену дуба методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 0,32 ku/l, що свідчить про присутність невеликого систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 1,81, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Крім того, частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену дуба методами К - імуноблотута НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте існує систематичне розходження показників.

Між даними шкірного тестування з алергенами дуба та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном дуба та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibiliзація до алергену жита склала 36,4 % (32 осіб) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 29,5 % (26 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 38,6 % (34 осіб) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.25 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену жита з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.25

Сенсибілізація до алергену жита за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	48	0	6	54
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	8	0	26	34
Усього	56	0	32	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену жита відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 84,1 % або 74 випадки).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену жита частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену жита через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.26) показали, що коефіцієнт вказує на присутність доброї погодженості ($r = 0,661$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,494–0,806) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі помірної, верхня – доброї погодженості результатів.

Таблиця 5.26

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену жита

Коефіцієнт каппа	0,661
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,083
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,494
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,806

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену жита визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 1,0 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами жита та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є помірна погодженість між результатами досліджень.

У таблиці 5.27 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену жита методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.27

Сенсibilізація до алергену жита за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	48	2	4	54
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	6	6	22	34
Усього	54	8	26	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену жита відзначено відсутність повного домінування елементів

головної діагоналі, що свідчить про середній ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадіння результатів склала 79,5 % або 70 випадків). Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену жита частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену жита через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.28) показали, що коефіцієнт вказує на помірний ступінь погодженості ($r = 0,598$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,449–0,740) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі помірної, верхня – доброї погодженості результатів.

Таблиця 5.28

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену жита

Коефіцієнт каппа	0,598
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,075
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,449
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,740

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену жита визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,388 та гіпотеза

не приймається і за одnobічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном жита та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірна погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену жита методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.7.

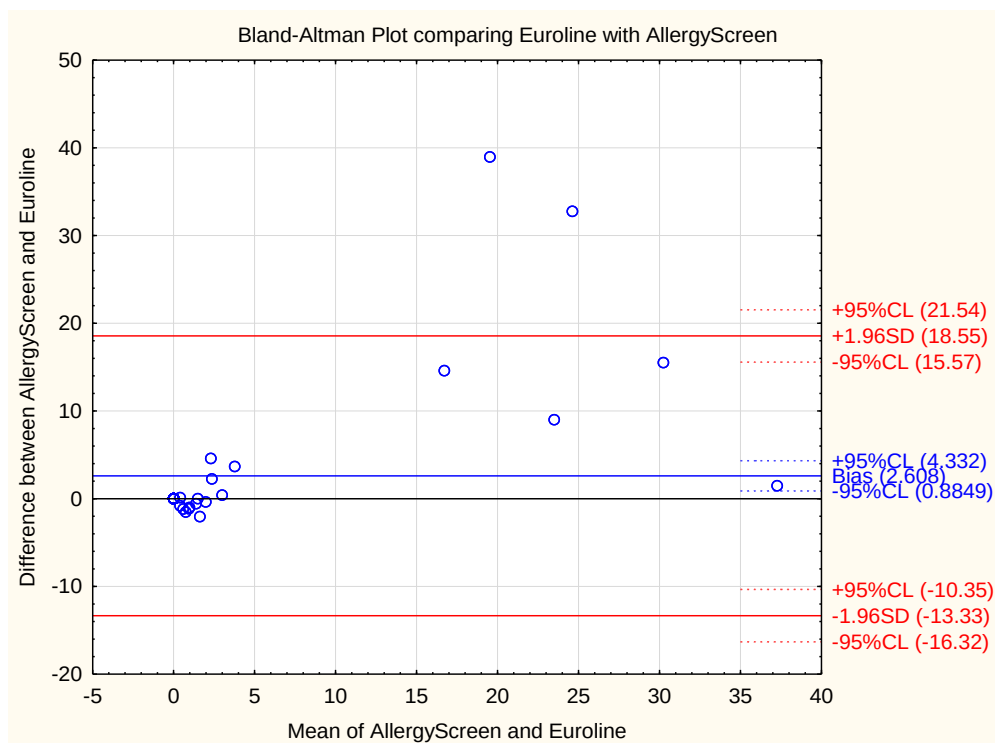


Рис. 5.7 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену жита методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 2,6 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 8,1, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Крім того, частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену жита методами К - імуноблотута НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою внаслідок значного систематичного розходження показників.

Між даними шкірного тестування з алергенами жита та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблотує помірна погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном жита та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірна погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену полину склала 36,3 % (32 особи) за наявності специфічних IgE методом AllergyScreen, 20,4 % (18 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 27,3 % (24 особи) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.29 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену полину з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену полину відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про досить тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 90,9 % або 80 випадків). Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену полину частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Таблиця 5.29

**Сенсибілізація до алергену полину за результатами шкірного тестування
та виявленням специфічного IgE методом К - імуоблоту**

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	56	0	8	64
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	0	0	24	24
Усього	56	0	32	88

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену полину через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.30) показали, що коефіцієнт вказує на присутність доброї погодженості ($r = 0,792$) висновків двох різних тестів.

Таблиця 5.30

**Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за
результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE
методом К - імуоблоту для визначення сенсибілізації до алергену
полину**

Коефіцієнт каппа	0,792
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,068
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,656
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,919

Межі 95 % довірчого інтервалу (0,656–0,919) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі доброї, верхня – відмінної погодженості результатів.

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену полину визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,940 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами полину та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблотує добра погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.31 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену полину методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.31

Сенсibilізація до алергену полину за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	58	2	4	64
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	8	2	14	24
Усього	64	4	18	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену полину відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про помірний ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадиння результатів склала 81,8 % або 72 випадки).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену полину частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену полину через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.32) показали, що коефіцієнт вказує на помірний ступінь погодженості ($r = 0,544$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,369–0,719) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі задовільної, верхня – доброї погодженості результатів.

Таблиця 5.32

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену полину

Коефіцієнт каппа	0,544
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,094
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,369
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,719

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену полину визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,972 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном полину та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірного ступеня погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену полину методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.8.

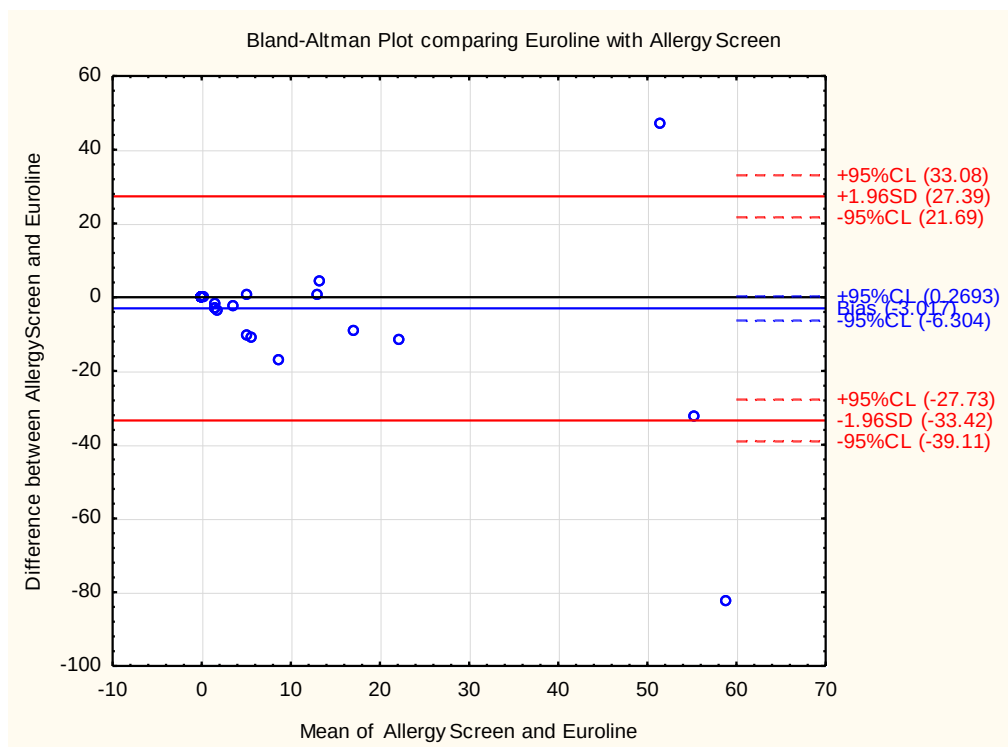


Рис. 5.8. – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену полину методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює -3,01 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження. При цьому

графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 15,5, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Крім того, частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену полину методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження показників.

Між даними шкірного тестування з алергенами полину та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном полину та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірна погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену подорожнику склала 4,5 % (4 особи) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 4,5 % (4 особи) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 2,3 % (2 особи) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.33 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену подорожнику з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену подорожнику відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 95,5 % або 84 випадки).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Таблиця 5.33

Сенсибілізація до алергену подорожнику за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	82	2	2	86
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	0	0	2	2
Усього	82	2	4	88

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену подорожнику через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.34) показали, що коефіцієнт вказує на присутність погодженості помірної сили ($r = 0,485$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,051–0,851) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі поганої, верхня – відмінної результатів, що свідчить про значне розсіювання результатів.

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену подорожнику визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,518 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що

засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами подорожника та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є помірна погодженість між результатами досліджень.

Таблиця 5.34

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику

Коефіцієнт каппа	0,485
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,216
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,051
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,851

У табл. 5.35 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену подорожнику методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.35

Сенсibilізація до алергену подорожнику за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	82	2	2	86
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	0	0	2	2
Усього	82	2	4	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену подорожнику відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про помірний ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадиння результатів склала 95,5 % або 84 випадки).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.36) показали, що коефіцієнт вказує на присутність погодженості помірної сили ($r = 0,485$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,051–0,851) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі поганої, верхня – відмінної результатів, що свідчить про значне розсіювання результатів.

Таблиця 5.36

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику

Коефіцієнт каппа	0,485
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,216
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,051
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,851

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibiliзації до алергену подорожнику визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,518 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном подорожнику та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту є помірної сили погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену подорожнику методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.9.

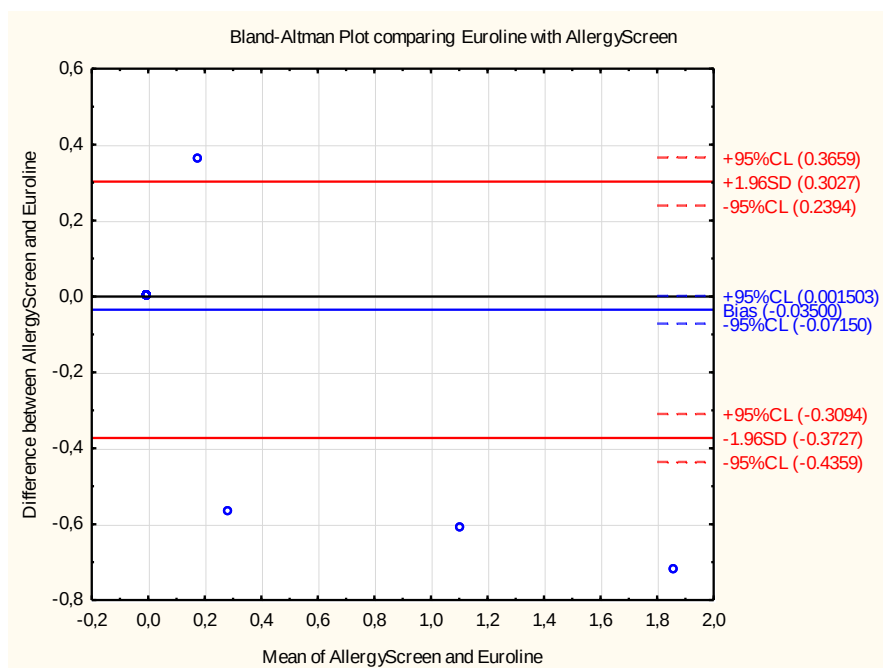


Рис. 5.9. – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену подорожнику методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює -0,03 ku/l, що свідчить про відсутність систематичного розходження. При цьому

графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 0,17, що не суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, є залежність різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Не всі значення вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену подорожнику методами К - імуноблотута НК - імуноблоту добре узгоджуються між собою, проте не всі значення вкладаються у межі довірчого інтервалу, а отже не є достовірними.

Між даними шкірного тестування з алергенами подорожнику та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є помірної сили погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном подорожнику та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту є помірної сили погодженість між результатами досліджень.

5.3. Частота сенсibilізації та порівняння результатів шкірного тестування методом прик-тесту і визначення специфічних IgE до епідермальних алергенів

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену шерсті кішки склала 13,6 % (12 осіб) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 13,6 % (12 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 13,6 % (12 осіб) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.37 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену шерсті кішки з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.37

Сенсибілізація до алергену шерсті кішки за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	76	0	0	76
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	0	12	12
Усього	76	0	12	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсибілізації до алергену шерсті кішки відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 100,0 % або 88 випадків). Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті кішки повністю збігаються.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної симетрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті кішки через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.38) показали, що коефіцієнт вказує на присутність відмінного ступеню погодженості ($r = 1,00$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (1,0–1,0) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності.

Таблиця 5.38

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки

Коефіцієнт каппа	1,0
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	1,0
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	1,0

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,0 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблотує відмінна погодженість між результатами досліджень.

У таблиці 5.39 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену шерсті кішки методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті кішки відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про високий ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадиння результатів склала 97,7 % або 80 випадків).

Таблиця 5.39

Сенсибілізація до алергену шерсті кішки за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	74	2	0	76
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	0	0	12	12
Усього	74	2	12	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті кішки частково збігаються, але відзначено певну асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті кішки через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.40) показали, що коефіцієнт вказує на присутність відмінної погодженості ($r = 0,911$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,755–1,0) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності.

Таблиця 5.40

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки

Коефіцієнт каппа	0,911
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,061
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,755
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	1,0

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,022 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту є відмінна погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті кішки методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.10.

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 0,1 ku/l, що свідчить про присутність невеликого систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 4,43, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Не всі значення вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

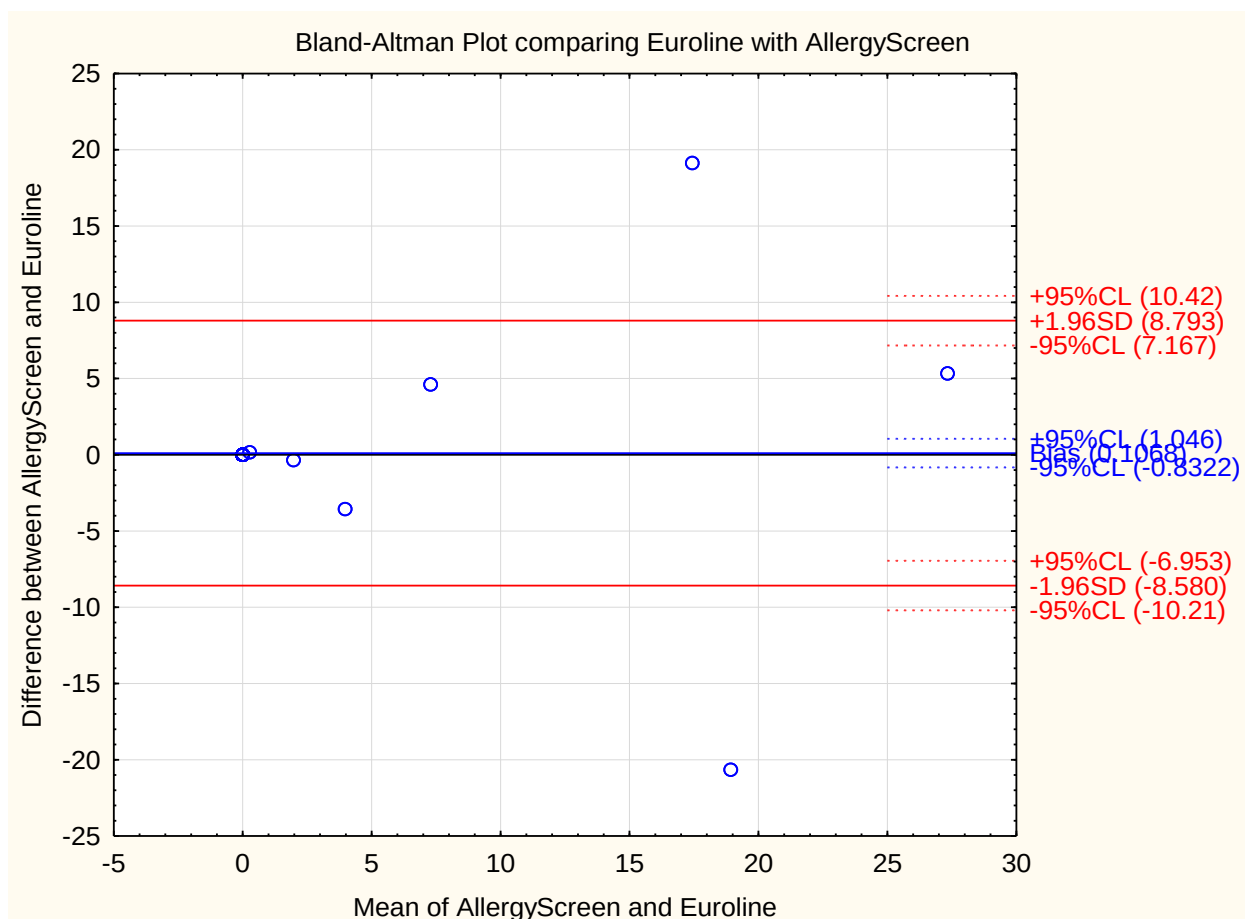


Рис. 5.10 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену шерсті кішки методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

Отже, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті кішки методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте існує систематичне відхилення результатів та не всі значення вкладаються в довірчий інтервал.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є відмінна погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту є відмінна погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену із лупи коня склала 2,7 % (2 особи) за наявності специфічних IgE методом AllergyScreen, 0 % (0 осіб) за

наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 4,5 % (4 особи) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном. У таблиці 5.41 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену із лупи коня з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену із лупи коня відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 97,7 % або 86 випадків).

Таблиця 5.41

Сенсibilізація до алергену із лупи коня за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	84	0	0	84
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	2	2	4
Усього	84	2	2	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену із лупи коня практично повністю збігаються.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної симетрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для

визначення сенсibilізації до алергену із лупи коня через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.42) показали, що коефіцієнт вказує на присутність доброї погодженості ($r = 0,741$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу ($0,491 - 1,0$) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі помірної, верхня – відмінної погодженості результатів.

Таблиця 5.42

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену із лупи коня

Коефіцієнт каппа	0,741
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,128
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,491
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	1,0

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену лупи коня визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,029 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами із лупи коня та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблотує добра погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.43 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену із лупи коня методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену із лупи коня відзначено відсутність

домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про слабкий ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадиння результатів склала 90,9 % або 80 випадків).

Таблиця 5.43

Сенсибілізація до алергену із лупи коня за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	80	4	0	84
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	2	2	0	4
Усього	82	6	0	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену із лупи коня частково збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену із лупи коня через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.44) показали, що коефіцієнт вказує на погану погодженість ($r = 0,178$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу ($-0,020 - 0,60$) включають 0, що вказує на недостовірність відповідності.

Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі поганої, верхня – помірної погодженості результатів, що свідчить про значне розсіювання результатів.

Таблиця 5.44

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену із лупи коня

Коефіцієнт каппа	0,178
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,098
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	-0,020
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,60

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену лупи коня визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,343 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном із лупи коня та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену із лупи коня методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.11.

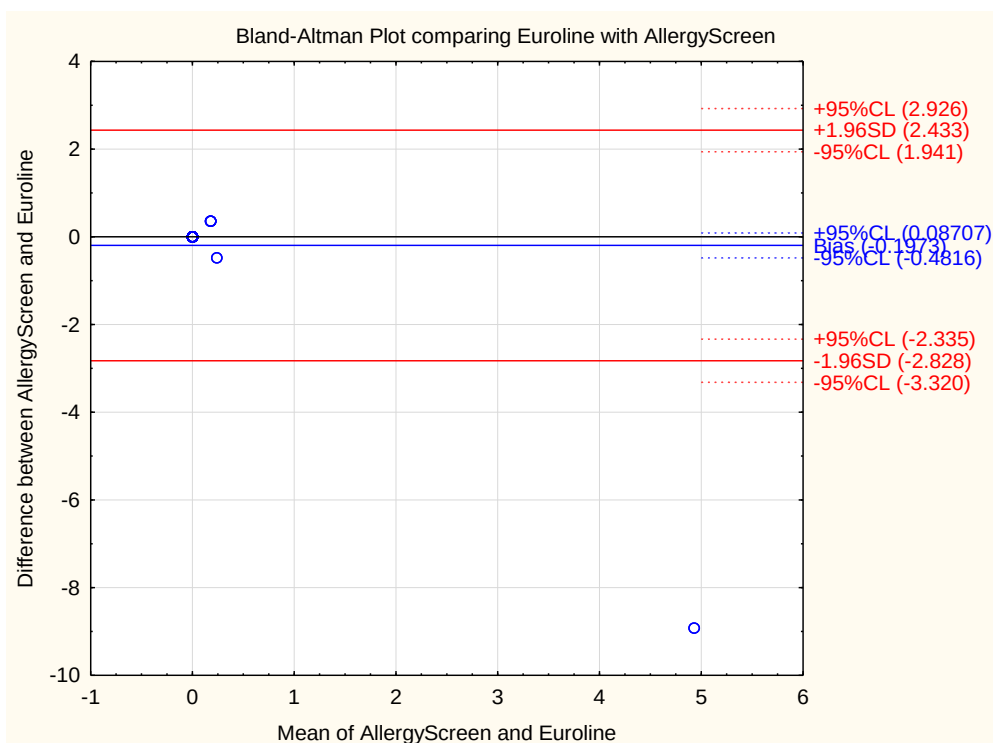


Рис. 5.11 – Графік Бленд-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену із лупи коня методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює -0,19 ku/l, що свідчить про присутність невеликого систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 1,34, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Не всі значення вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену із лупи коня методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не досить добре узгоджуються між собою.

Між даними шкірного тестування з алергенами із лупи коня та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном

із лупи коня та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену шерсті собаки склала 11,3 % (10 осіб) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 4,5 % (4 особи) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 9,0 % (8 осіб) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.45 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену шерсті собаки з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.45

Сенсibilізація до алергену шерсті собаки за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	76	2	2	80
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	0	8	8
Усього	76	2	10	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом встановлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті собаки відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 95,5 % або 84 випадки).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки частково не

збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної симетрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.46) показали, що коефіцієнт вказує на присутність доброї погодженості сили ($r = 0,778$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,486 – 0,959) виключають 0, що вказує на достовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі помірної, верхня – відмінної погодженості результатів.

Таблиця 5.46

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки

Коефіцієнт каппа	0,778
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,105
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,486
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,959

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,001 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами шерсті собаки та виявленням

специфічного IgE методом К - імуоблотує добра погодженість між результатами досліджень.

У таблиці 5.47 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену шерсті собаки методом НК - імуоблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту. При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установаження корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті собаки відзначено відсутність домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про слабкий ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадіння результатів склала 86,4 % або 76 випадків).

Таблиця 5.47

Сенсibilізація до алергену шерсті собаки за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуоблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	72	8	0	80
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	4	0	4	8
Усього	76	8	4	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки не збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.48) показали, що коефіцієнт вказує на задовільний ступінь погодженості ($r = 0,353$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0,058–0,617) включають 0, що вказує на недостовірність відповідності. Нижня межа довірчого інтервалу знаходиться в районі поганої, верхня – доброї погодженості результатів, що свідчить про значне розсіювання результатів.

Таблиця 5.48

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки

Коефіцієнт каппа	0,353
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,140
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0,058
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,617

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,571 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті собаки методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.12.

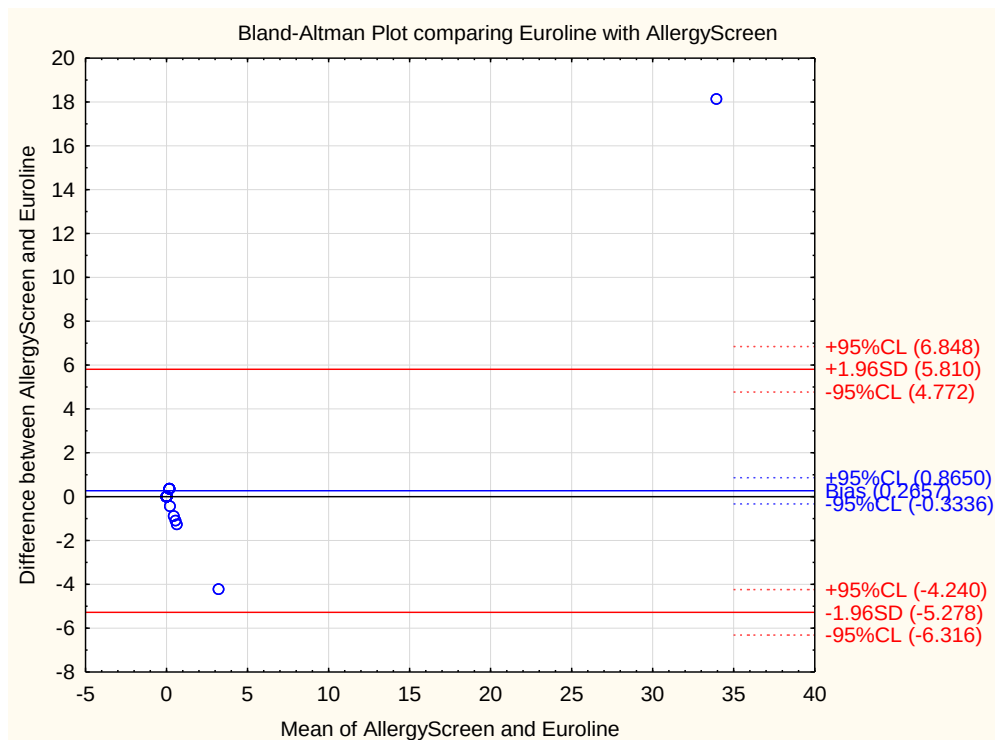


Рис. 5.12 – ГрафікБленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену шерсті собаки методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 0,26 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 2,82, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Частина значень не вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті собаки методами К – імуноблоту та НК - імуноблоту не досить добре узгоджуються між собою.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену шерсті морської свинки склала 2,3 % (2 особи) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 4,5 % (4 особи) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 0 % (0 осіб) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У таблиці 5.49 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену шерсті морської свинки з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.49

**Сенсibilізація до алергену шерсті морської свинки за результатами
шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К -
імуноблоту**

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	84	2	2	88
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	0	0	0
Усього	84	2	2	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом встановлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 95,5 % або 84 випадки). Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки частково не збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної симетрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.50) показали, що коефіцієнт вказує на відсутність погодженості ($r = 0$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу ($0 - 0$) включають 0, що також вказує на недостовірність відповідності.

Таблиця 5.50

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки

Коефіцієнт каппа	0,0
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,549 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами шерсті морської свинки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.51 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену шерсті морської свинки методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.51

**Сенсibilізація до алергену шерсті морської свинки за результатами
шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК -
імуноблоту**

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	78	6	4	88
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	0	0	0
Усього	78	6	4	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки відзначено відсутність домінування

елементів головної діагоналі, що свідчить про слабкий ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадіння результатів склала 88,6 % або 78 випадків).

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки не збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.52) показали, що коефіцієнт вказує на відсутність погодженості ($r = 0$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0–0) включають 0, що також вказує на недостовірність відповідності.

Таблиця 5.52

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті морської свинки

Коефіцієнт каппа	0
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,0

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті

морської свинки визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,088 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті морської свинки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту немає погодженості між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті морської свинки методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.13.

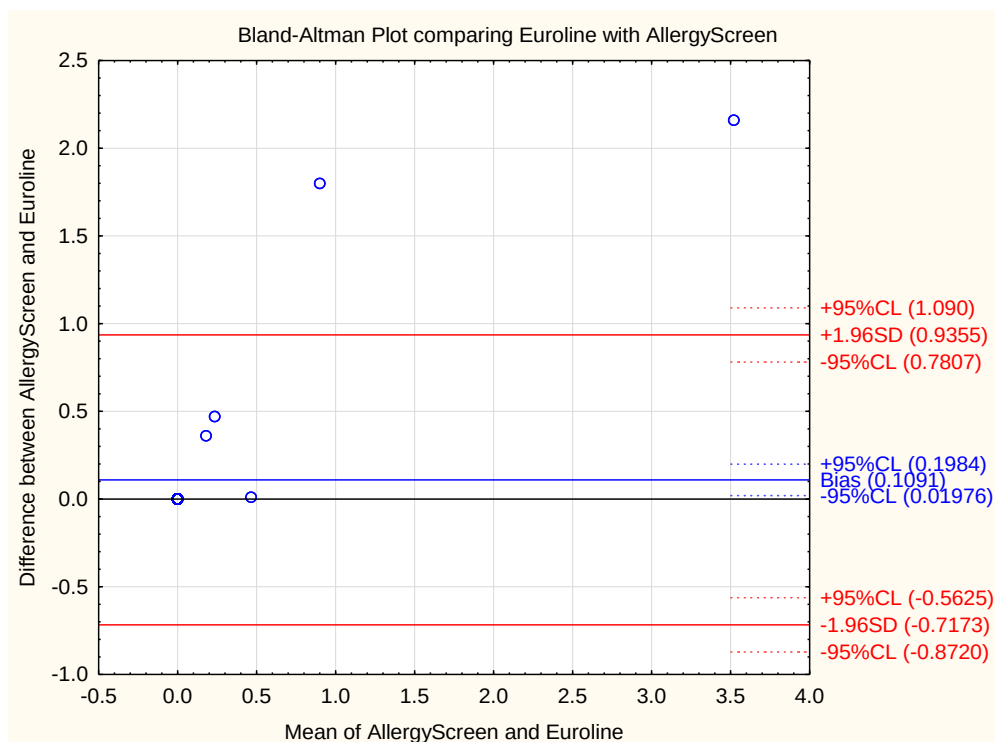


Рис. 5.13 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену шерсті морської свинки методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 0,1 ku/l, що свідчить про присутність невеликого систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 0,42, що несуттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає

залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Втім, не всі значення вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті морської свинки методами К - імуноблотута НК - імуноблоту добре узгоджуються між собою, проте не всі значення вкладаються у межі довірчого інтервалу.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті морської свинки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті морської свинки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту немає погодженості між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену шерсті хом'яка склала 20,5 % (8 осіб) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 2,3 % (18 осіб) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 6,8 % (2 особи) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У таблиці 5.53 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту до алергену шерсті хом'яка з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом встановлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про досить тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 93,2 % або 82 випадки). Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка частково не збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Таблиця 5.53

Сенсибілізація до алергену шерсті хом'яка за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	80	0	6	86
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула ≥ 3 мм (позитивний результат)	0	0	2	2
Усього	80	0	8	88

Для отримання висновків щодо достовірності подібної симетрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті хом'яка через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.54) показали, що коефіцієнт вказує на задовільний ступінь погодженості ($r = 0,377$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу ($0 - 0,752$) включають 0, що вказує на недостовірність відповідності.

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті хом'яка визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,549 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами.

Таблиця 5.54

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка

Коефіцієнт каппа	0,377
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,192
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,752

Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами шерсті хом'яка та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.55 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену шерсті хом'яка методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

Таблиця 5.55

Сенсibilізація до алергену шерсті хом'яка за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	62	6	18	86
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	2	0	0	2
Усього	64	6	18	88

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка відзначено помірне домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про слабкий ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадіння результатів склала 70,5 % або 62 випадки). Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка частково збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.56) показали, що коефіцієнт вказує на відсутність погодженості ($r = -0,038$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу $(-0,091-0)$ включають 0, що вказує на недостовірність відповідності.

Таблиця 5.56

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка

Коефіцієнт каппа	-0,038
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0,026
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	-0,091
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0,0

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,088 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті хом'яка та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті хом'яка методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.14.

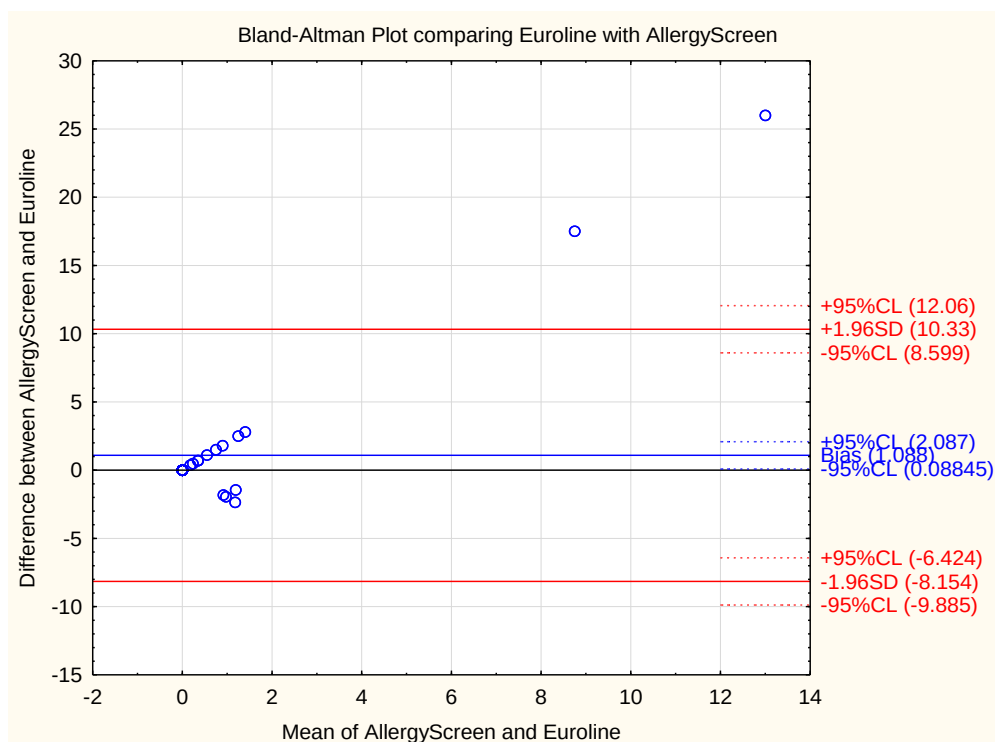


Рис. 5.14 – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену шерсті хом'яка методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 1,08 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження. При цьому

графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 4,71, що суттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Не всі значення вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті хом'яка методами К – імуноблоту та НК - імуноблоту не досить добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження результатів.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті хом'яка та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті хом'яка та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

Серед обстежених, сенсibilізація до алергену шерсті кролика склала 2,3 % (2 особи) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 2,3 % (2 особи) за наявності специфічних IgE методом НК - імуноблоту та 0 % (0 осіб) за даними шкірного тестування методом прик-тесту з відповідним алергеном.

У табл. 5.57 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE методом К – імуноблоту до алергену шерсті кролика з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом встановлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті кролика відзначено домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про тісний збіг результатів двох різних методів (валідність результатів склала 97,7 % або 86 випадків).

Таблиця 5.57

Сенсибілізація до алергену шерсті кролика за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуоблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	86	0	2	88
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	0	0	0
Усього	86	0	2	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті кролика частково не збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної симетрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті кролика через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.58) показали, що коефіцієнт вказує на відсутність погодженості ($r = 0$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу ($0 - 0$) включають 0, що вказує на недостовірність відповідності.

Таблиця 5.58

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кролика

Коефіцієнт каппа	0
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кролика визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,549 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергенами шерсті кролика та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

У табл. 5.59 наведені результати зіставлення визначення наявності специфічних IgE до алергену шерсті кролика методом НК - імуноблоту з даними шкірного тестування методом прик-тесту.

При порівнянні двох різних видів специфічної алергологічної діагностики методом установлення корелятивних зв'язків сенсibilізації до алергену шерсті кролика відзначено відсутність домінування елементів головної діагоналі, що свідчить про слабкий ступінь збігу результатів двох різних методів (валідність співпадіння результатів склала 93,2 % або 82 випадки).

Таблиця 5.59

Сенсибілізація до алергену шерсті кролика за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту

Прик-тест	Специфічний IgE (ku/l)			Усього
	< 0,35 (негативний)	0,35-0,7 (сумнівний)	> 0,7 (позитивний)	
Папула 0 мм (негативний результат)	82	4	2	88
Папула 1-2 мм (сумнівний результат)	0	0	0	0
Папула $\geq$ 3мм (позитивний результат)	0	0	0	0
Усього	82	4	2	88

Результати двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті кролика не збігаються, відзначено асиметрію розходжень результатів шкірного тестування методом прик-тесту та визначення специфічного IgE крові, коли один тест дає негативні результати, а другий – позитивні чи сумнівні.

Для отримання висновків щодо достовірності подібної асиметрії нами було проведено поглиблений статистичний аналіз кореляції показників лабораторного алергологічного та шкірного тестувань. Результати аналізу погодженості результатів двох різних методів алергологічної діагностики для визначення сенсибілізації до алергену шерсті кролика через побудову довірчого інтервалу (табл. 5.60) показали, що коефіцієнт вказує на відсутність погодженості ($r = 0$) висновків двох різних тестів. Межі 95 % довірчого інтервалу (0–0) включають 0, що вказує на недостовірність відповідності.

Таблиця 5.60

Результати статистичного оцінювання погодженості результатів за результатами шкірного тестування та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кролика

Коефіцієнт каппа	0
Асимптотична помилка каппи $\sqrt{\text{var}}$	0
Нижня границя 95% довірчого інтервалу	0
Верхня границя 95% довірчого інтервалу	0

За результатами статистичного оцінювання нульової гіпотези відсутності погодженості результатів двох різних методів специфічної алергологічної діагностики для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кролика визначено, що асимптотична помилка каппи за H_0 дорівнює 0,088 та гіпотеза не приймається і за однобічним, і двобічним тестуванням, що засвідчує достовірну узгодженість між обома алергологічними тестами. Тобто, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті кролика та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

Для оцінки подібного розходження результатів двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті кролика методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту нами було проведено порівняльний аналіз за графіками Бленда-Альтмана. Результати порівняння наведено на рис. 5.15.

По-перше, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 0,10 ku/l, що свідчить про присутність невеликого систематичного розходження. При цьому графік розподілу відповідає типу графіків абсолютної систематичної помилки. По-друге, стандартне відхилення різниць склало 0,51, що несуттєво у порівнянні з самими значеннями. По-третє, немає залежності різниці вимірювань від кількості специфічних IgE у крові. Не всі значення вкладаються у межі довірчого інтервалу $\pm 95\%$.

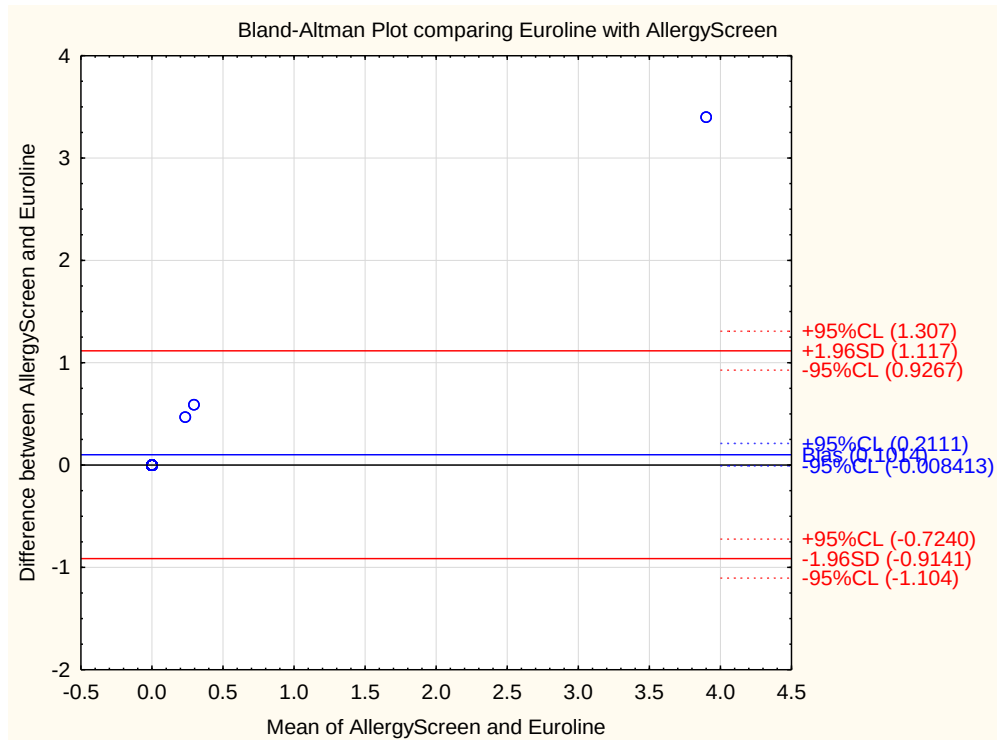


Рис. 5.15. – Графік Бленда-Альтмана для визначення специфічного IgE до алергену шерсті кролика методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

Таким чином, результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті кролика методами К – імуноблоту та НК - імуноблоту добре узгоджуються між собою.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті кролика та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті кролика та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту немає погодженості між результатами досліджень.

Таким чином, можна зробити наступні висновки:

1. В результаті аналізу узгодженості тестування методом шкірного прик тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до кліщової групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides pteronyssinus* та *Dermatophagoides arinae* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту

узгоджуються між собою, проте мають систематичне розходження показників. Між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами, між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

2. Між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами, між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

3. В результаті аналізу узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до пилкової групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену ліщини, дуба, подорожника методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте мають систематичне розходження показників. Аналіз узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до пилкової групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену вільхи, берези, жита, полину методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження показників.

4. Між даними шкірного тестування з алергенами вільхи та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном вільхи та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

5. Між даними шкірного тестування з алергенами берези та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує відмінна погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергену берези та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень.
6. Між даними шкірного тестування з алергенами ліщини та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном ліщини та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень.
7. Між даними шкірного тестування з алергенами дуба та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном дуба та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.
8. Між даними шкірного тестування з алергенами жита, подорожнику та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є помірна погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном жита, подорожнику та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірна погодженість між результатами досліджень.
9. Між даними шкірного тестування з алергенами полину та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном полину та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірна погодженість між результатами досліджень.
10. В результаті аналізу узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до епідермальної групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті кішки, шерсті морської

свинки, шерсті кролика методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте мають систематичне розходження показників. В результаті аналізу узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до епідермальної групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену лупи коня, шерсті собаки, шерсті хом'яка методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не досить добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження результатів.

11. Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є відмінна погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту є відмінна погодженість між результатами досліджень.

12. Між даними шкірного тестування з алергенами із лупи коня та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном із лупи коня та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

13. Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

14. Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті морської свинки, шерсті хом'яка, шерсті кролика та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень, між даними шкірного тестування з алергеном шерсті морської свинки, шерсті хом'яка, шерсті кролика та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту немає погодженості між результатами досліджень.

15. Отримані результати чітко показують різницю між результатами визначення сенсibiliзації до алергенів інгаляційної групи трьома різними методами (in vivo та in vitro) у пацієнтів з АР та / або АБА. Для певних алергенів погодженість між результатами не є задовільною через систематичне розходження результатів та хибнонегативні / хибнопозитивні результати. Для подальшої оцінки причин подібних розходжень в наступному розділі ми приведемо результати статистичного розрахунку основних параметрів діагностичної значущості методів.

Матеріали даного розділу дослідження відображені в наступних публікаціях:

1. Bogomolov, A. E. Correlation between skin prick test and MAST-immunoblot results in patients with airway allergies / A. E. Bogomolov // Астма та алергія. - 2015. - № 1. - С. 39–44.
2. Bogomolov, A. E. Disagreement between skin prick test and specific IgE levels in patients with respiratory allergy (literature review and our own research data)/ A. E. Bogomolov // Астма та алергія. - 2015. - № 3. - С. 51–56.
3. Bogomolov, A. Ye. Different methods of *Dermatophagoides farina* sensitization determination in patients with respiratory allergy / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2019. - № 2. - С. 24–28.
4. Bogomolov, A. Ye. Skin prick test versus Western blot specificity and sensitivity for mugwort (*Artemisia*) pollen sensitization determination in patients with respiratory allergy / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2019. - № 4. - С. 50 - 54.
5. Bogomolov, A. Ye. Diagnostic value of methods for alder (*Alnus incana*) allergen sensitization determination in people with respiratory allergy / A. Ye. Bogomolov // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. - 2019. - № 2. - С. 72 - 77.

6. Bogomolov, A. Ye. Diagnostic value of methods for sensitization determination in people with allergic rhinitis/ A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2019. - № 1. - С. 44 - 49.

7. Богомолів, А. Є. Узгодженість результатів шкірного тестування методом прик-тесту та імуноблоту у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями / А. Є. Богомолів // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. - 2016. - Вип. 25. - С. 152-158.

8. Богомолів, А. Є. Сенсibilізація до алергену жита у пацієнтів з алергічним ринітом та atopічною бронхіальною астмою: порівняння діагностичних параметрів / А. Є. Богомолів // Буковинський медичний вісник. - 2020. - Т.24, No1 (93). – С. 28 – 34.

9. Богомолів, А. Є. Порівняння діагностичних параметрів методів визначення сенсibilізації до алергену *D.Pteronyssinus* хворих на респіраторні алергічні захворювання / А. Є. Богомолів, Л. І. Дубчак // Оториноларингологія. – 2019. - No4-5 (2). – С. 19 – 26.

10. Богомолів, А. Є. Визначення сенсibilізації до алергену ліщини у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями: порівняння діагностичної цінності різних методів / А. Є. Богомолів // Оториноларингологія. – 2019. - No4-5 (2). – С. 19 – 26.

РОЗДІЛ 6

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ДІАГНОСТИЧНОЇ ЗНАЧИМОСТІ РІЗНИХ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ ДО АЛЕРГЕНІВ У ПАЦІЄНТІВ З АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ ТА БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ

Відомо, що обидва лабораторних методи визначення рівня специфічного IgE, які використанні в роботі, є перш за все діагностичними методами. А отже, крім показників погодженості методів з результатами шкірного тестування методом прик-тесту з аналогічними алергенами, потрібно визначити параметри діагностичної значимості методів. Для цього нами було продовжено аналіз даних, отриманих в результаті обстеження зазначених в попередньому розділі 88 осіб з АР та / або АБА.

Для зручності аналізу 15 алергенів, з якими було виконано обстеження пацієнтів методами шкірного тестування та імуноблоту, було розподілено наступним чином:

- алергени побутових кліщів (*Dermatophagoides pteronissynus* та *Dermatophagoides farinae*);
- пилкові алергени (вільха, береза, ліщина, дуб, жито, полин, подорожник);
- епідермальні алергени (шерсть кішки, собаки, хом'яка, кролика).

За результатами шкірного тестування методом прик-тесту моносенсibiliзацію до алергенів було виявлено у 12 пацієнтів (13,3 % випадків). Найбільш часто спостерігалась сенсibiliзація до пилкових алергенів (жито – 34 пацієнти (37,7 % випадків), береза – 32 пацієнти (35,5 % випадків) та вільха – 24 пацієнти (26,6 % випадків) та алергенів побутових кліщів (*Dermatophagoides pteronissynus* – 34 пацієнти (37,7 % випадків) та

Dermatophagoides farinae – 30 пацієнтів (33,3 % випадків)). Результати шкірного тестування пацієнтів наведено на рис. 6.1.

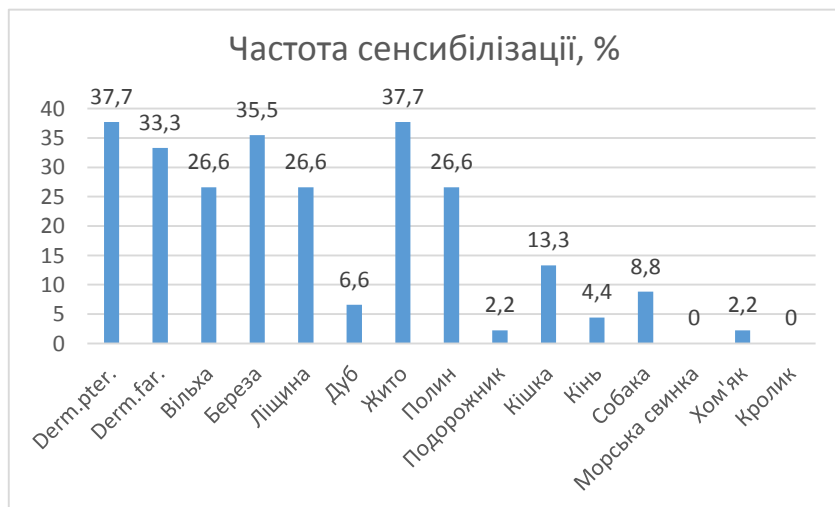


Рис. 6.1 – Частота сенсibilізації до окремих алергенів за даними прик-тестів

Отже, найбільш часто у пацієнтів сенсibilізація спостерігалась до алергенів кліщів домашнього пилу та алергенів пилоквої групи.

6.1. Результати показників діагностичної значимості лабораторного обстеження методом НК - імуноблоту

Отримані дані розрахунку чутливості методу наведено на рис. 6.2.

При цьому найвищі показники чутливості отримано для визначення специфічних IgE до алергенів подорожника, кішки та дуба (100 %). Чутливість показує частку істинно позитивних результатів серед всіх проведених тестів, а, отже, при збільшенні кількості досліджуваних результатів чутливість методу буде наближатись до істинного значення. Чутливість методу є очевидно достатньо високою для алергенів побутових кліщів та епідермальних алергенів, середньою для пилкових алергенів.

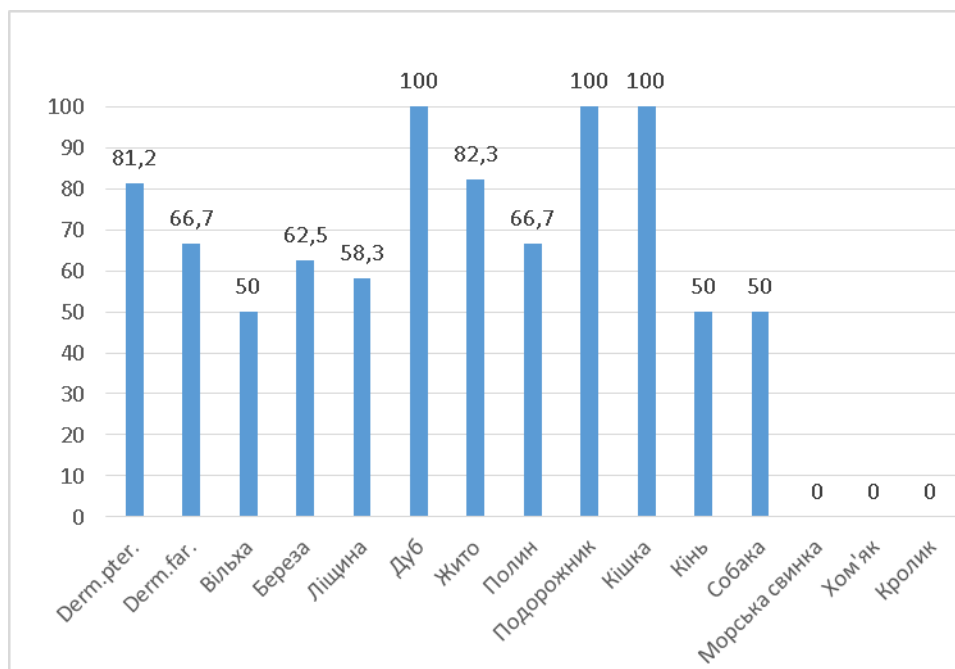


Рис. 6.2 – Показники чутливості лабораторного обстеження методом НК - імуноблоту за різними алергенами

Дані отримані при розрахунках специфічності методу наведено на рис. 6.3.

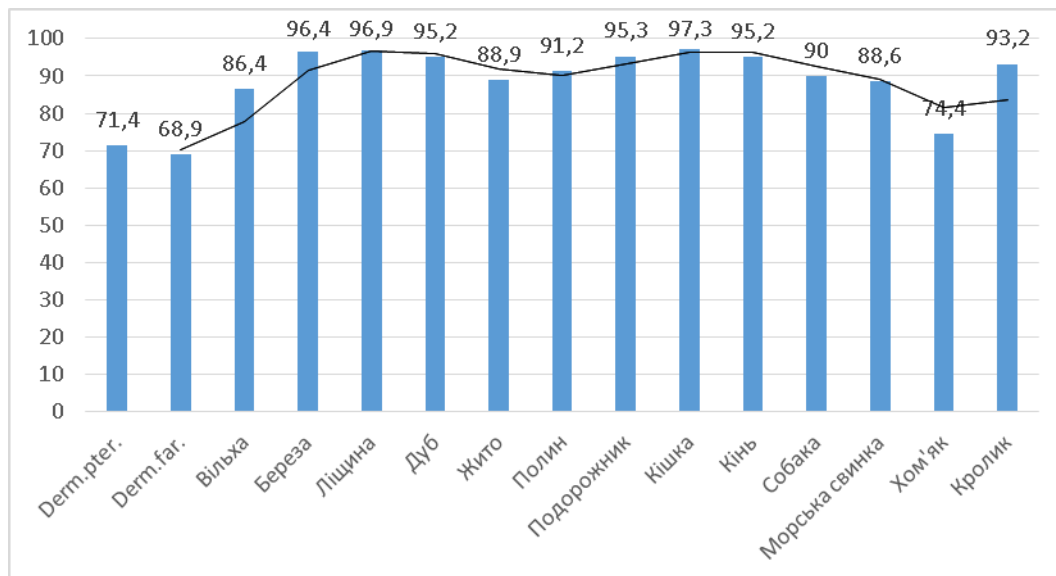


Рис. 6.3 – Показники специфічності лабораторного обстеження методом НК - імуноблоту за різними алергенами

Як видно з наведених даних, специфічність методу є виражено високою для всіх груп алергенів, при цьому специфічність для групи кліщів

домашнього пилу є дещо нижчою в порівнянні з іншими групами алергенів (71,4 % та 68,9 %). Очевидно, що тест є високоспецифічним для всіх інших груп досліджуваних алергенів. Дані отриманої при розрахунках точності методу наведено на рис. 6.4.

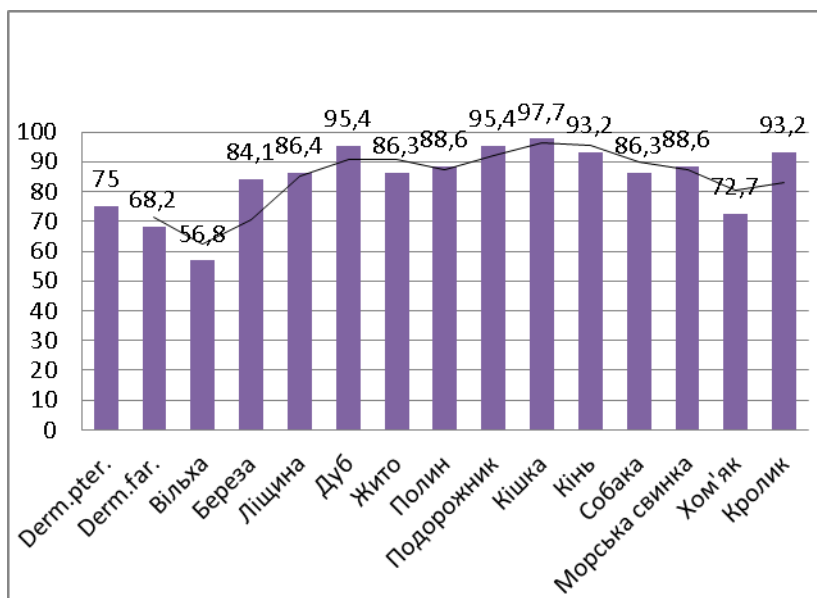


Рис. 6.4 – Показники точності лабораторного обстеження методом НК - імуноблоту за різними алергенами

Точність показує, скільки правильних результатів було отримано при застосуванні даного діагностичного методу і є додатковим оціночним критерієм. Очевидно, що точність застосованого методу є достатньо високою для побутових епідермальних та пилових алергенів та середньою (75,0 % та 68,2 %) для алергенів кліщів домашнього пилу.

Найкращим є діагностичний метод, чутливість та специфічність якого знаходяться на достатньо високому рівні (від 90%), адже він дозволяє максимально точно встановити правильний результат.

6.2. Результати показників діагностичної значимості лабораторного обстеження методом К - імуноблоту

Отримані дані розрахунку чутливості методу наведено на рис. 6.5.

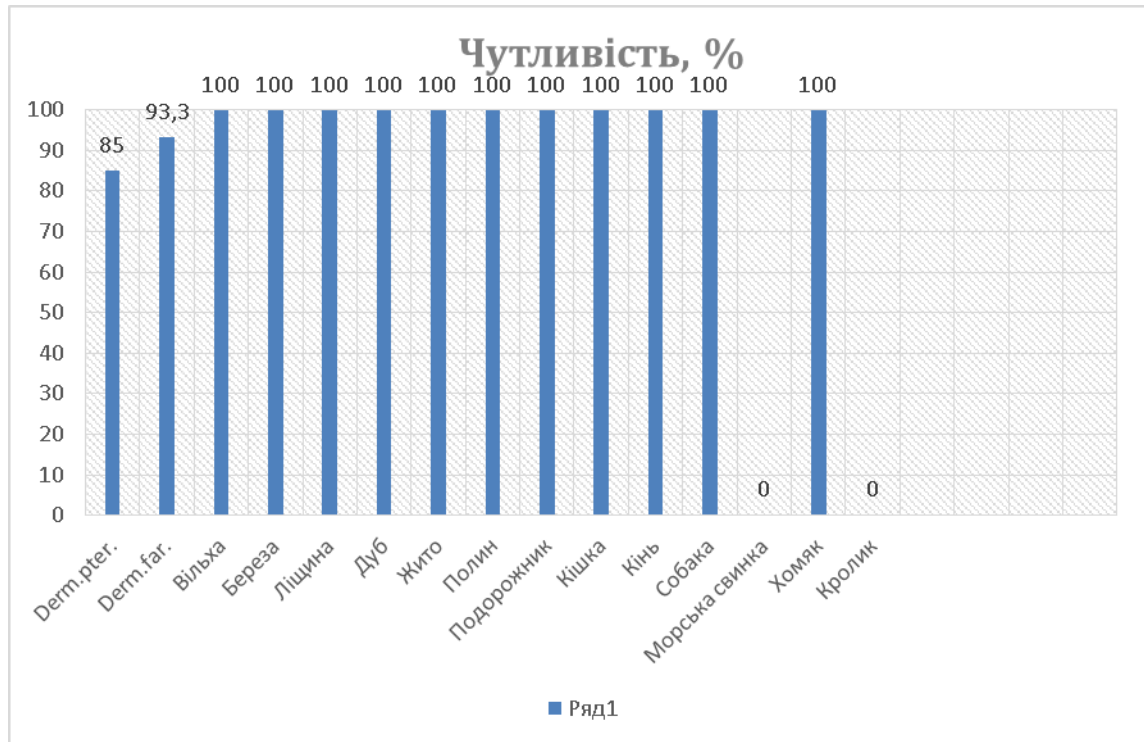


Рис. 6.5 – Показники чутливості лабораторного обстеження методом К - імуноблоту за різними алергенами

Як видно з наведених даних, чутливість методу у порівнянні з тестуванням методом прик-тесту є високою для всіх досліджуваних алергенів, окрім морської свинки, кролика. Знижені показники чутливості отримано для алергенів кліщів домашнього пилу (85,0 % та 93,3 %). Отже, цей тест є високочутливим для визначення специфічного IgE до алергенів пилкової групи та епідермальних алергенів, середньочутливим для алергенів кліщів домашнього пилу.

Дані отриманої при розрахунках специфічності методу наведено на рис. 6.6.

Специфічність методу є високою для деяких пилкових алергенів (дуб – 97,6 %, береза – 96,4 %) та епідермальних алергенів (кішка – 97,3 %), середньою для епідермальних (шерсть собаки – 95,0 %), проте для більшості пилкових алергенів та алергенів кліщів домашнього пилу вона є низькою (84,4- 93,0 %).

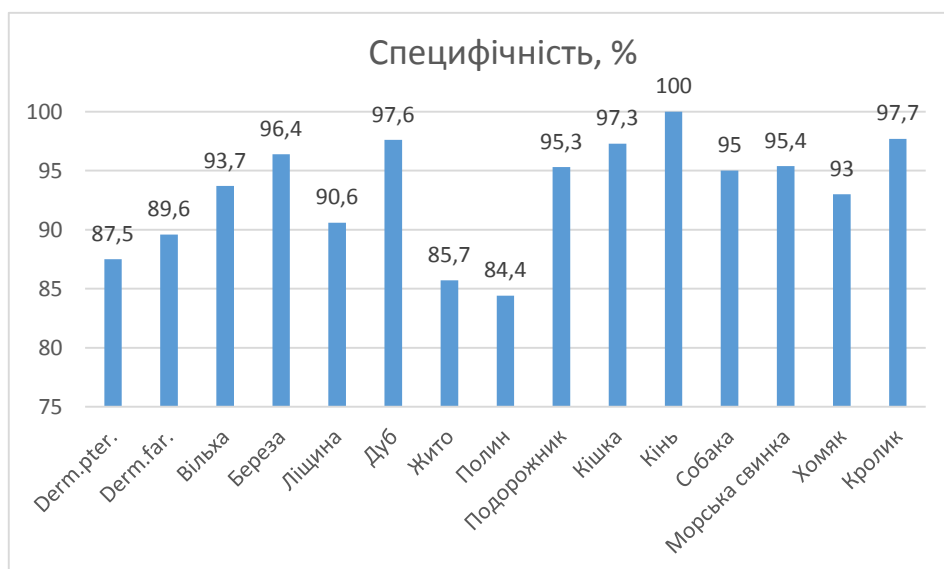


Рис. 6.6 – Показники специфічності лабораторного обстеження методом К - імуноблоту за різними алергенами

Дані точності використаного методу наведено на рис. 6.7.



Рис. 6.7 – Показники точності лабораторного обстеження методом К - імуноблоту за різними алергенами

На рис. 6.8 представлені порівняльні дані точності досліджуваних методів.

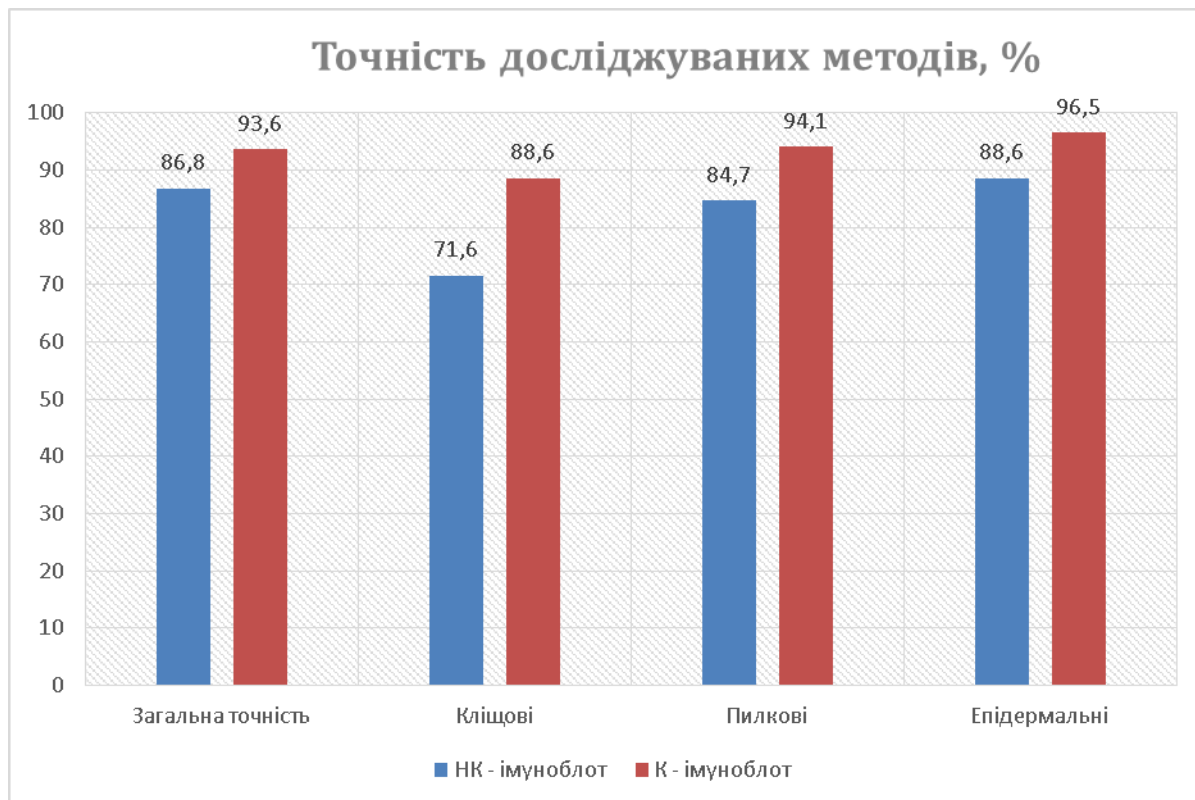


Рис. 6.8 – Порівняльні дані точності лабораторного обстеження методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту за різними алергенами

Як видно з вищенаведених даних, загальна точність та точність за окремими групами алергенів у К - імуноблоту вища, ніж у НК - імуноблоту.

6.3. Оцінка діагностичної значимості методів виявлення специфічного IgE

Для якісної оцінки діагностичної значимості серологічних методів визначення специфічних IgE та показників чутливості, специфічності та точності ми у статистичному аналізі використали метод ROC – аналізу, що базується на співставленні показників вказаних методів з показниками шкірного тестування методом прик-тесту в якості стандарту.

6.3.1. Діагностична значимість виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергенів кліщової групи

Для якісного аналізу діагностичної значимості методів було використано ROC – аналіз, який являє собою побудову графіка залежності чутливості методу від відносної кількості хибнонегативних результатів. Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronissinus* наведено на рис. 6.9.

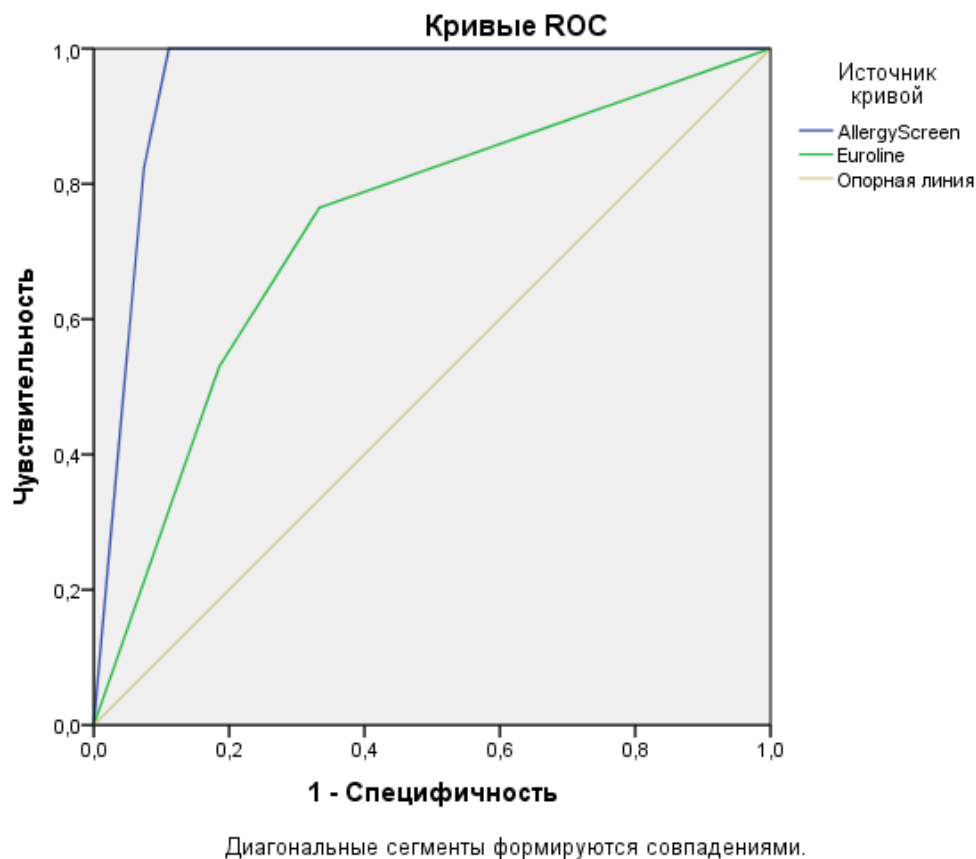


Рис. 6.9 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronissinus*

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у таблиці 6. 1.

Таблиця 6.1

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronissinus*

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість нульової гіпотези	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,953	0,023	0,000	0,907	0,999
НК - імуноблот	0,733	0,056	0,000	0,624	0,843

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronissinus* має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,953$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronissinus* – добру діагностичну значимість ($AUC=0,733$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae* наведено на рис. 6.10.

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.2.

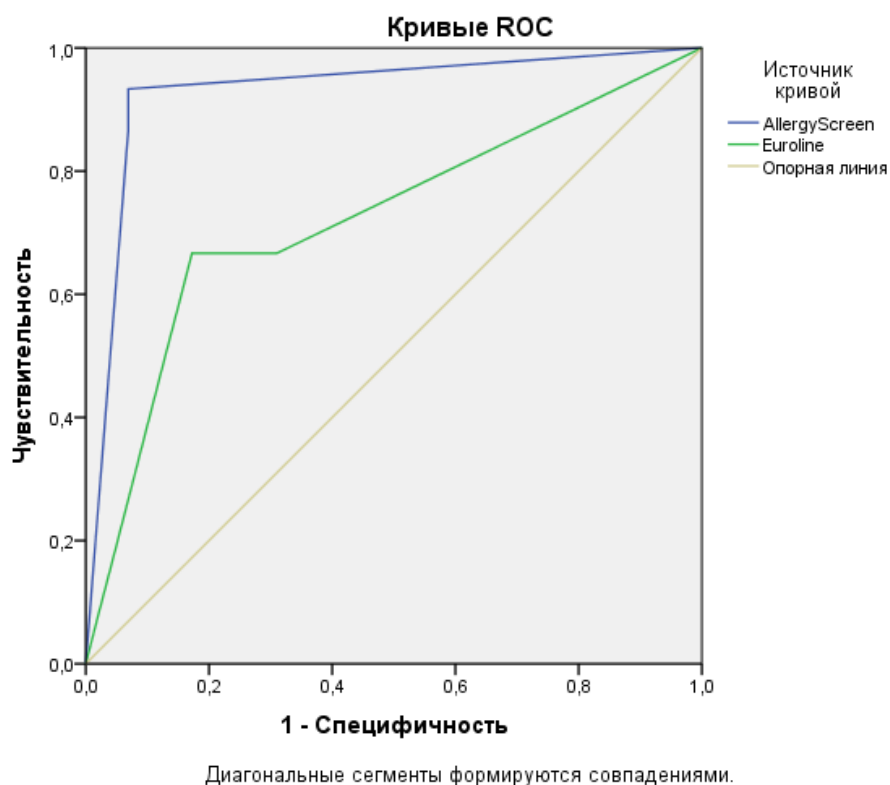


Рис. 6.10 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae*

Таблиця 6.2

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами AllergyScreen та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae*

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість нульової гіпотези	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,930	0,033	0,000	0,865	0,995
НК - імуноблот	0,724	0,061	0,001	0,604	0,844

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae* має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,930$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae* – добру діагностичну значимість ($AUC=0,724$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

6.3.2. Діагностична значимість виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергенів пилкової групи

Для якісного аналізу діагностичної значимості методів було використано ROC – аналіз, який являє собою побудову графіка залежності чутливості методу від відносної кількості хибнонегативних результатів. Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К- імуноблоту та НК- імуноблоту для визначення алергії до вільхи наведено на рис. 6.11.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену вільхи має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,922$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту 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.

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.3.

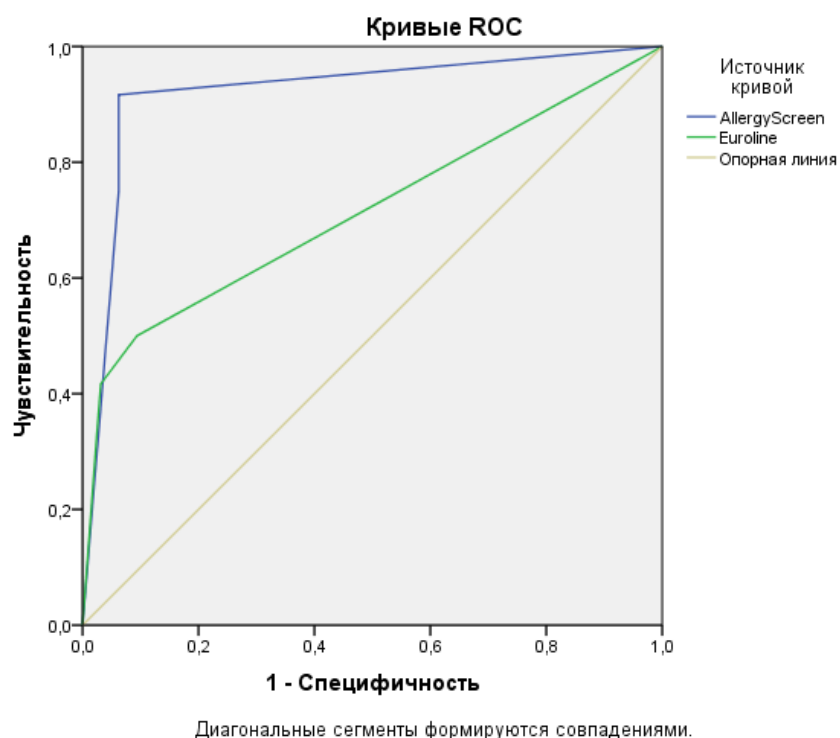


Рис. 6.11 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену вільхи

Таблиця 6.3

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену вільхи

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,922	0,038	0,000	0,848	0,996
НК - імуноблот	0,715	0,070	0,002	0,578	0,851

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену берези наведено на рис. 6.12.

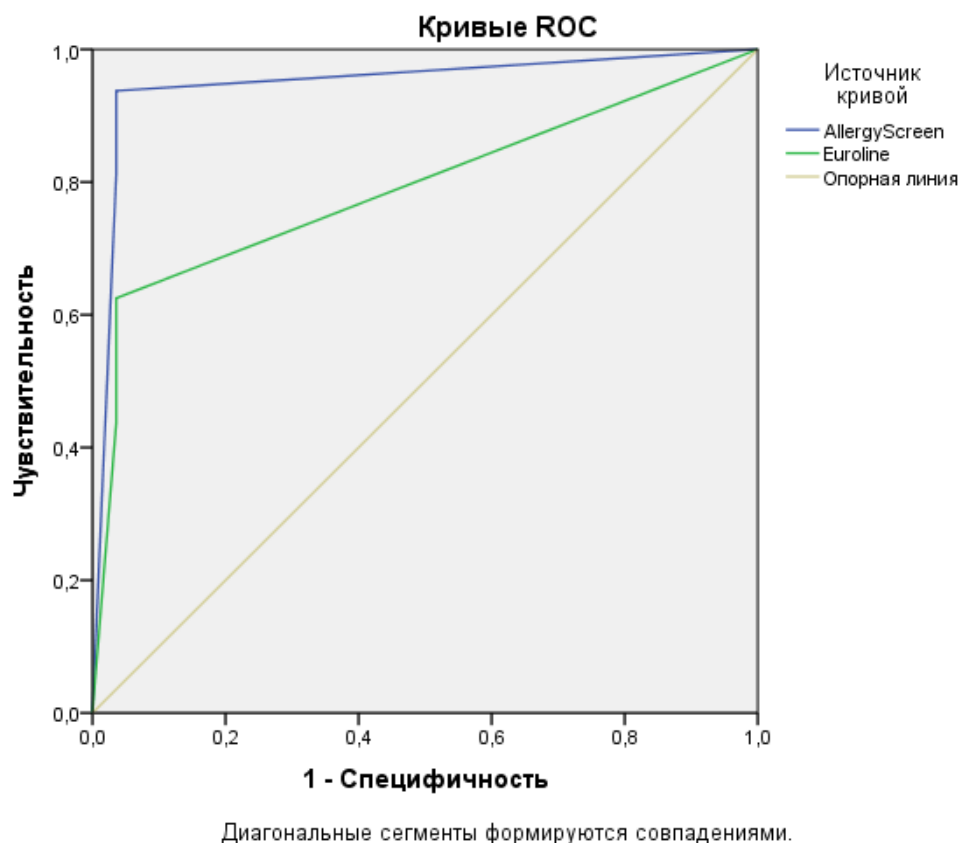


Рис. 6.12 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену берези

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.4.

Таблиця 6.4

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену берези

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,949	0,029	0,000	0,891	1,000
НК - імуноблот	0,791	0,056	0,000	0,681	0,902

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену берези має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,949$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту 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.

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену ліщини наведено на рис. 6.13.

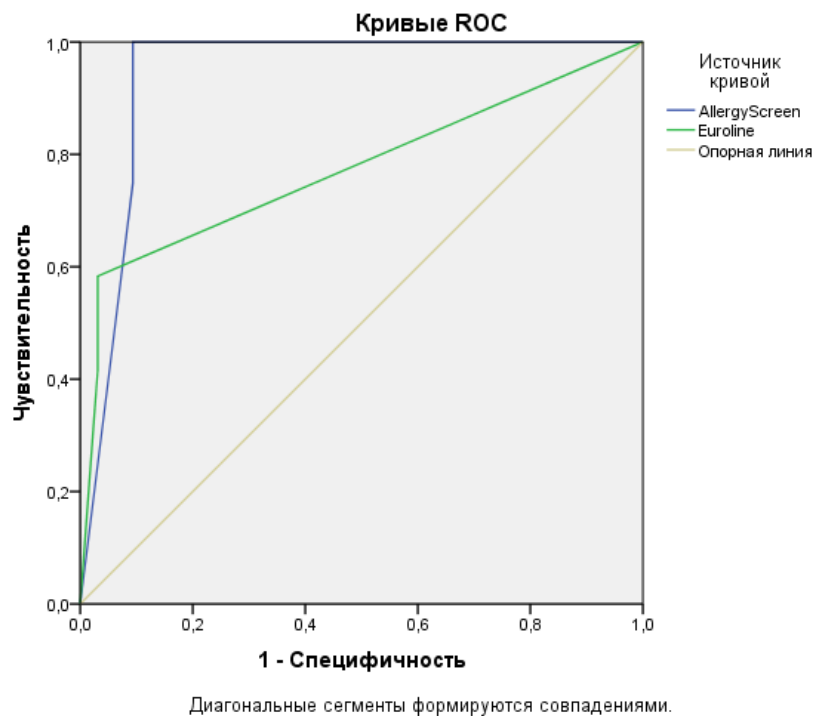


Рис. 6.13 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену ліщини

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.5.

Таблиця 6.5

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену ліщини

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,941	0,025	0,000	0,892	0,991
НК - імуноблот	0,773	0,065	0,000	0,645	0,902

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену дуба наведено на рис. 6.14.

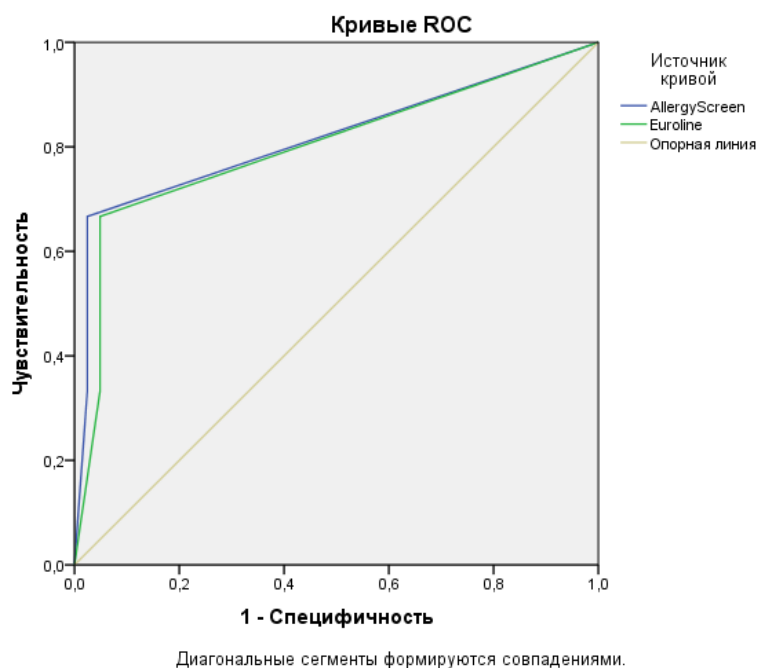


Рис. 6.14 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену дуба

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену ліщини має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,941$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту 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.

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.6.

Таблиця 6.6

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену дуба

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,817	0,117	0,000	0,587	1,000
НК - імуноблот	0,801	0,116	0,014	0,573	1,000

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену дуба має дуже добру діагностичну значимість ($AUC=0,817$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту 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.

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену жита наведено на рис. 6.15.

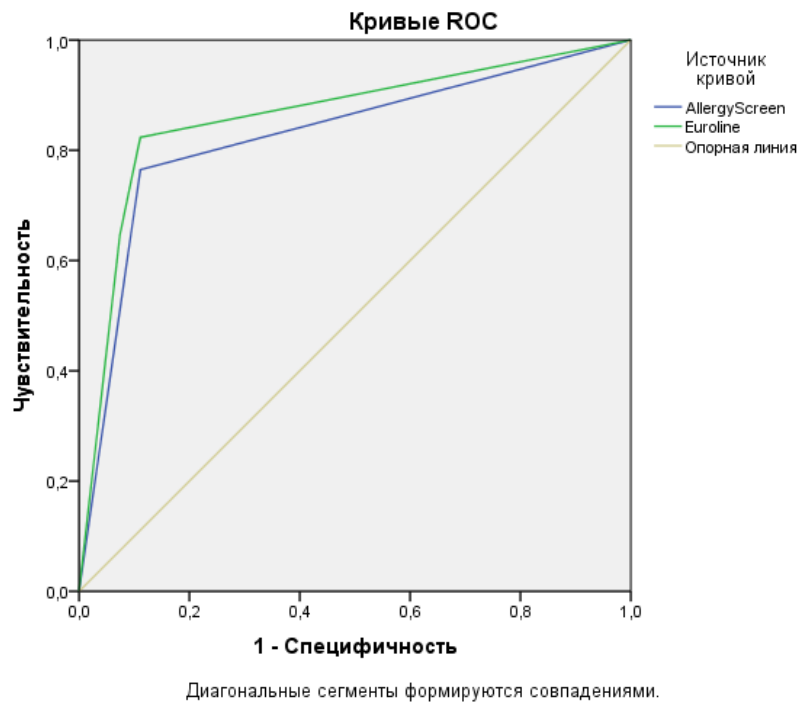


Рис. 6.15 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену жита

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.7.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену жита має дуже добру діагностичну значимість ($AUC=0,827$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту 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 6.7

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену жита

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,827	0,050	0,000	0,730	0,924
НК - імуноблот	0,862	0,045	0,000	0,773	0,950

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену полину наведено на рис. 6.16.

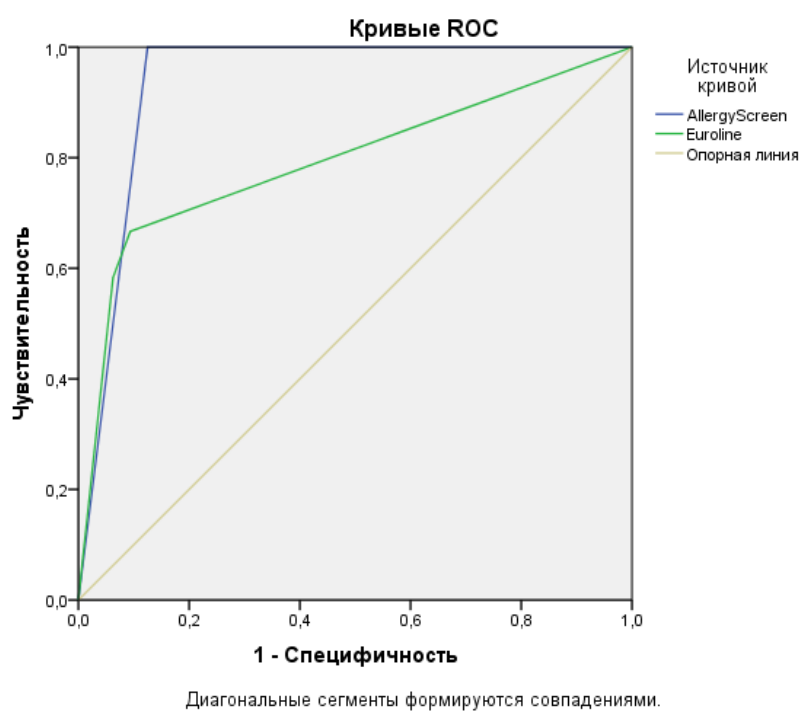


Рис. 6.16 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену полину

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.8.

Таблиця 6.8

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену полину

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,938	0,026	0,000	0,887	0,988
НК - імуноблот	0,793	0,062	0,000	0,671	0,915

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 НК - імуноблоту 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.

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику наведено на рис. 6.17.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,988$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику – відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,988$).

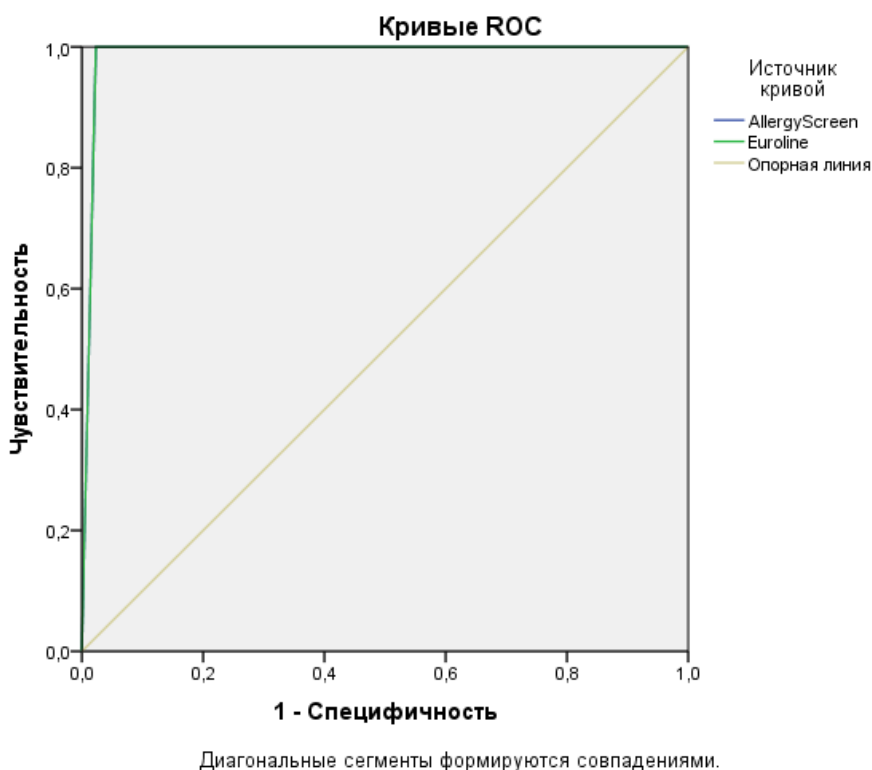


Рис. 6.17 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.9.

Таблиця 6.9

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену подорожнику

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,988	0,012	0,019	0,966	1,000
НК - імуноблот	0,988	0,012	0,019	0,966	1,000

В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

1.3.3. Діагностична значимість виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергенів епідермальної групи

Для якісного аналізу діагностичної значимості методів було використано ROC – аналіз, який являє собою побудову графіка залежності чутливості методу від відносної кількості хибнонегативних результатів. Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.10.

Таблиця 6.10

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000
НК - імуноблот	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки наведено на рис. 6.18.

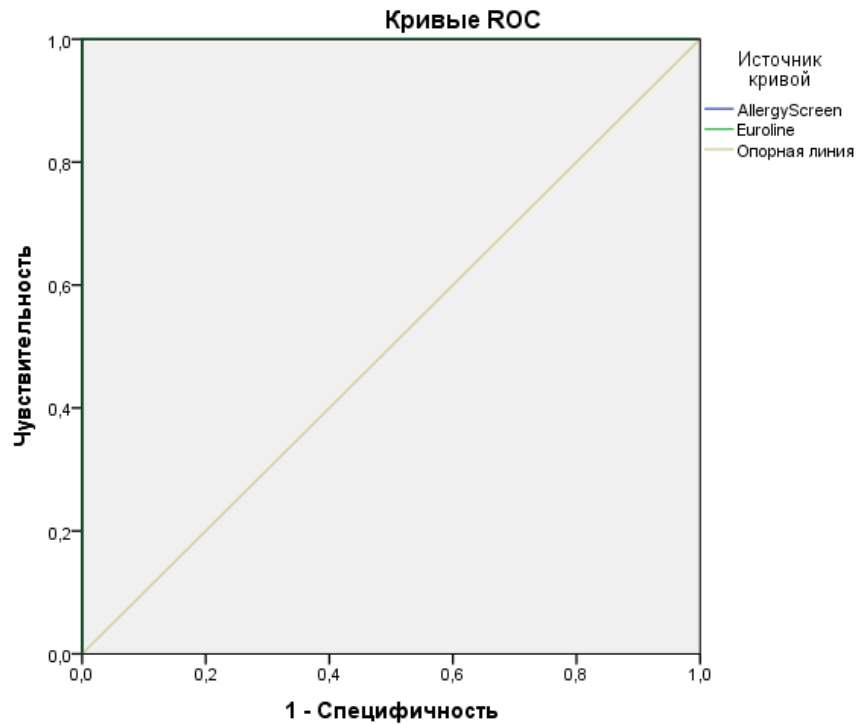


Рис. 6.18 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки має відмінну діагностичну значимість ($AUC=1,0$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки – відмінну діагностичну значимість ($AUC=1,0$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену лупи коня наведено на рис. 6.19.

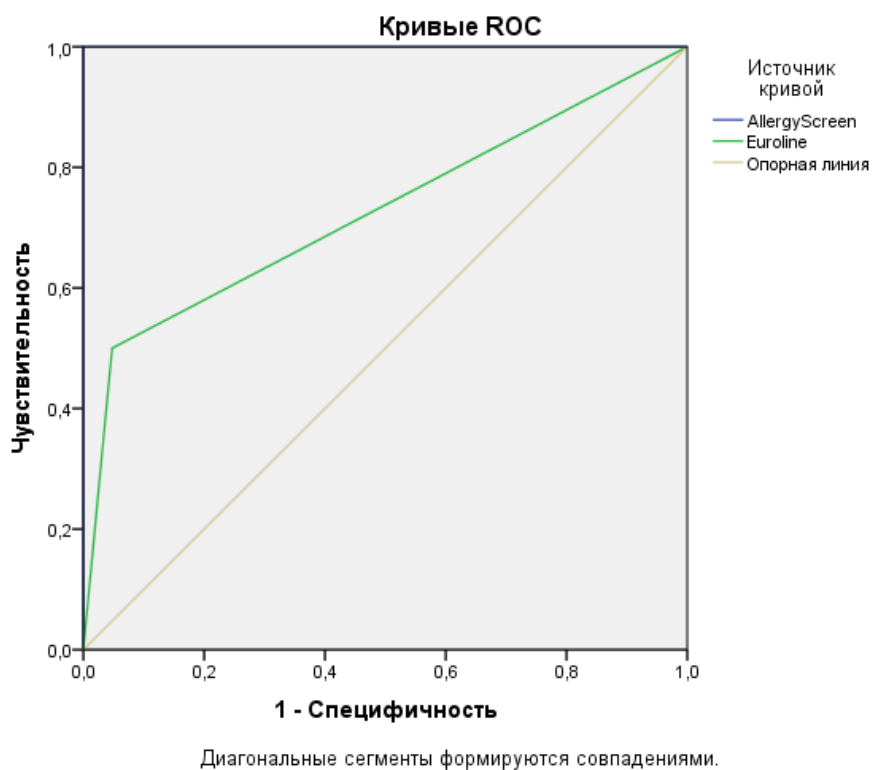


Рис. 6.19 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену луи коня

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.11.

Таблиця 6.11

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену луи коня

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблоту	1,000	0,000	0,001	1,000	1,000
НК - імуноблоту	0,726	0,160	0,128	0,412	1,000

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену лупи коня має відмінну діагностичну значимість ($AUC=1,0$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену лупи коня – добру діагностичну значимість ($AUC=0,726$). В випадку виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену лупи коня асимптотична значимість доводить погодження нульової гіпотези, при якій істинна площа рівна 0,5.

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки наведено на рис. 6.20.

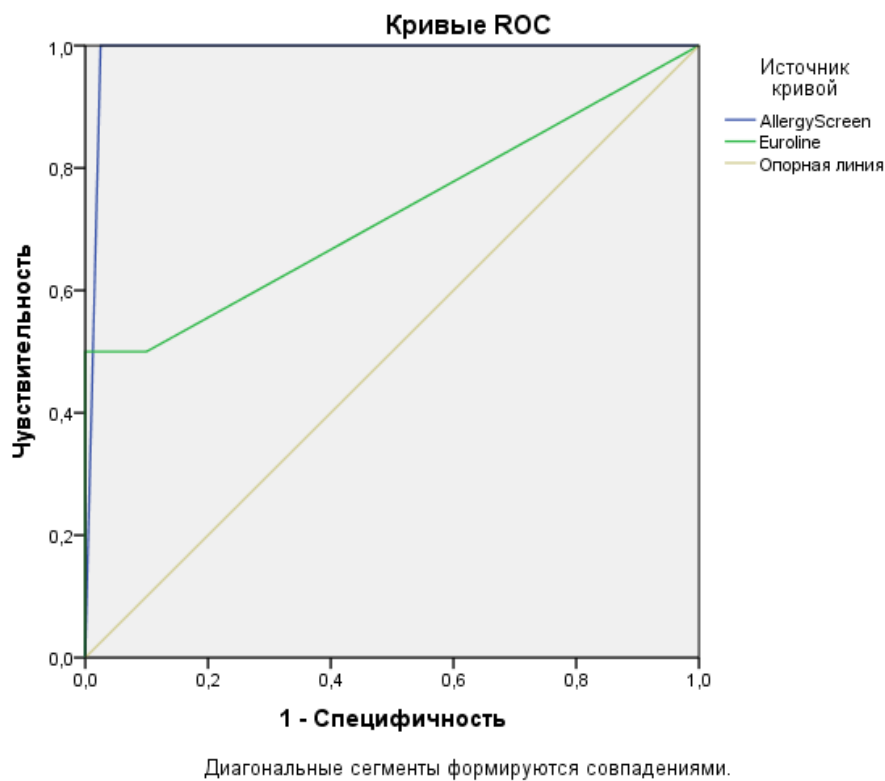


Рис. 6.20 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.12.

Таблиця 6.12

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,988	0,011	0,000	0,966	1,000
НК - імуноблот	0,725	0,119	0,037	0,492	0,958

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом AllergyScreen для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,988$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки – добру діагностичну значимість ($AUC=0,725$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

Графік ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка наведено на рис. 6.21.

Результати кількісної оцінки побудованої кривої за допомогою обчислення площі AUC наведено у табл. 6.13. За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка має відмінну діагностичну значимість ($AUC=0,965$), виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка – незадовільну діагностичну значимість ($AUC=0,360$).

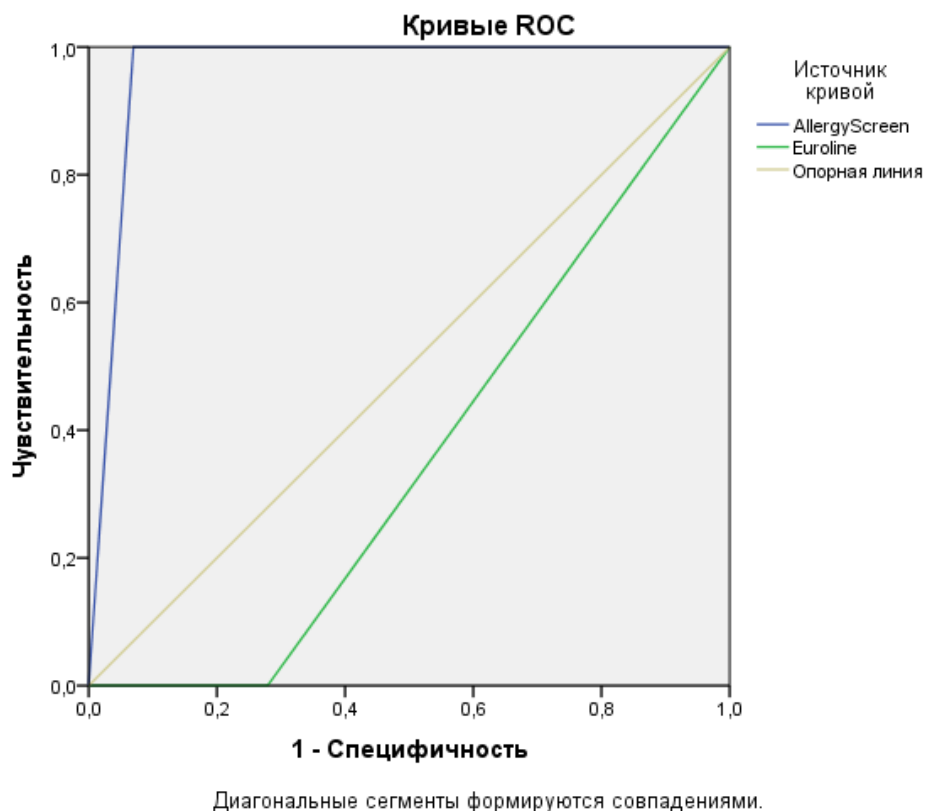


Рис. 6.21 – ROC-крива для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка

В випадку виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту асимптотична значимість доводить погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна або менше 0,5).

Таблиця 6.13

Результати статистичної оцінки ROC-кривої для виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті хом'яка

Тестові змінні	Площа	Стандарт-на похибка	Асимптотична значимість	Асимптотичний 95% довірчий інтервал	
				Нижня межа	Верхня межа
К - імуноблот	0,965	0,023	0,025	0,920	1,000
НК - імуноблот	0,360	0,153	0,502	0,061	0,660

В випадках виявлення специфічного IgE методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту для визначення сенсibiliзації до алергену шерсті кролика та алергену шерсті морської свинки діагностична значимість незадовільна та ROC – криві побудувати неможливо через відсутність погодженості результатів серологічних методів та шкірного тестування методом прик-тесту.

У відповідності до наведених даних, показники градації діагностичної значимості методів імуноблоту в порівнянні з прик-тестом наведені в табл. 6.14.

Таблиця 6.14

Показники градації діагностичної значимості методів імуноблоту в порівнянні з прик-тестом

Градація	К - імуноблоту	НК - імуноблоту
1	2	3
Відмінна	Шерсть хом'яка Шерсть собаки Лупа коня Шерсть кішки Подорожник Полин Береза Ліщина Вільха Dermatophagoides farinae Dermatophagoides pteronissinus	Шерсть кішки Подорожник
Дуже добра	Жито Дуб	Жито Дуб
Добра		Шерсть собаки Лупа коня Полин Береза Ліщина Вільха Dermatophagoides farinae Derm. pteronissinus

Продовження таблиці 6.14

1	2	3
Середня		
Незадовільна	Шерсть морської свинки Шерсть кролика	Шерсть морської свинки Шерсть кролика Шерсть хом'яка

Узагальнюючи результати, можна зробити наступні висновки: при виявленні позитвних результатів прик-тесту з кліщовими, епідермальними та більшістю пилкових (окрім дуба та жита) алергенами при подальшому обстеженні пацієнта з АР та / або АБА краще користуватися імуноблотом К - імуноблот, при виявленні за допомогою шкірного тестування гіперчутливості до алергенів жита і дуба обидва імуноблоти мають співставні параметри діагностичної цінності, а при виявленні сенсibiliзації до шерсті кролика та морської свинки подальше обстеження рекомендовано проводити без виконання дослідження імуноблотом.

Матеріали даного розділу дослідження відображені в наступних публікаціях:

1. Bogomolov, A. E. Correlation between skin prick test and MAST-immunoblot results in patients with airway allergies / A. E. Bogomolov // Астма та алергія. - 2015. - № 1. - С. 39 – 44.
2. Bogomolov, A. E. Disagreement between skin prick test and specific IgE levels in patients with respiratory allergy (literature review and our own research data) / A. E. Bogomolov // Астма та алергія. - 2015. - № 3. - С. 51–56.
3. Bogomolov, A. Ye. Different methods of Dermatophagoides farina sensitization determination in patients with respiratory allergy / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2019. - № 2. - С. 24–28.
4. Bogomolov, A. Ye. Skin prick test versus Western blot specificity and sensitivity for mugwort (Artemisia) pollen sensitization determination in patients

with respiratory allergy / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2019. - № 4. - С. 50 - 54.

5. Bogomolov, A. Ye. Diagnostic value of methods for alder (*Alnus incana*) allergen sensitization determination in people with respiratory allergy / A. Ye. Bogomolov // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. - 2019. - № 2. - С. 72 - 77.

6. Bogomolov, A. Ye. Diagnostic value of methods for sensitization determination in people with allergic rhinitis / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2019. - № 1. - С. 44 - 49.

7. Богомолів, А. Є. Узгодженість результатів шкірного тестування методом прик-тесту та імуноблоту у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями / А. Є. Богомолів // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. - 2016. - Вип. 25. - С. 152-158.

8. Богомолів, А. Є. Сенсibiliзація до алергену жита у пацієнтів з алергічним ринітом та atopічною бронхіальною астмою: порівняння діагностичних параметрів / А. Є. Богомолів // Буковинський медичний вісник. - 2020. - Т.24, No1 (93). – С. 28 – 34.

9. Богомолів, А. Є. Порівняння діагностичних параметрів методів визначення сенсibiliзації до алергену *D. Pteronyssinus* у хворих на респіраторні алергічні захворювання / А. Є. Богомолів, Л. І. Дубчак // Оториноларингологія. – 2019. - No4-5 (2). – С. 19 – 26.

10. Богомолів, А. Є. Визначення сенсibiliзації до алергену ліщини у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями: порівняння діагностичної цінності різних методів / А. Є. Богомолів // Оториноларингологія. – 2019. - No4-5 (2). – С. 19 – 26.

РОЗДІЛ 7

ПОРІВНЯННЯ ДІАГНОСТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ІМУНОБЛОТИНГУ ТА КОМПОНЕНТНОГО МУЛЬТИПЛЕКСНОГО ТЕСТУВАННЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ДО АЛЕРГЕНІВ У ПАЦІЄНТІВ З АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ ТА БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ

Специфічна діагностика респіраторних алергічних захворювань є безумовним базисом сучасної алергології, адже дозволяє не тільки адекватно провести освіту пацієнта з метою елімінації причинного алергену, а й раціонально призначити пацієнтам алерген-специфічну імунотерапію [84, 120, 177, 261, 264, 267, 269] . Поряд з тим, різноманіття сучасних діагностичних методів не завжди дає лікарю правильне уявлення щодо послідовності їх застосування, переваги і недоліки кожного з них. Безумовним «золотим стандартом» діагностики в усьому світі є шкірне тестування методом прик-тесту [81, 91, 97, 104, 112, 131]. Втім, існує ряд факторів, які обмежують використання шкірного тестування – вік пацієнта (діти до 5 років та люди похилого віку), прийом протиалергічних препаратів, можливість виникнення анафілаксії тощо. В якості другого етапу діагностики, як правило, застосовуються лабораторні серологічні методи – імуноферментний аналіз, імуноблотуінг, тест активації базофілів, молекулярний компонентний аналіз. Вони дозволяють отримати результат з невеликої кількості плазми крові, їх дані не залежать від супутнього прийому протиалергічних препаратів, проте результат не показує безпосередню чутливість пацієнта до алергенів [6, 19, 87, 98, 187, 276, 277].

У процесі цього дослідження двома різними методами специфічної алергологічної діагностики (*in vitro*) було обстежено 40 пацієнтів, хворих на

БА та / або АР. Дослідження було відкритим, порівняльним. Кількісне визначення специфічних IgE в сироватці крові проводили за допомогою методу імуноблоту «AllergyScreen» (К – імуноблот) на базі приватної лабораторії ТОВ «Алерго-імунологічний центр КПП».

Як вказувалося у розділі 2, тест К - імуноблоту (панелі 1, 2, 3, 4) заснований на принципі імуноблотингу. Специфічні алергени, відповідні за складом панелі, нанесені на поверхню нітроцелюлозних мембран (стрипів). IgE-антитіла, специфічні до цих алергенів, присутні у зразках крові пацієнтів, реагують з антигенами, забезпечуючи тим самим на другій стадії інкубації прикріплення антитіл до IgE людини, кон'югованих з біотином (що проявляють антитіла), до смуг алергенів на стрипах. Для обстеження нами було використано панель 2 (респіраторну), яка містила наступні алергени: домашній пил (кліщ *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*), вільха, береза, ліщина, дуб, суміш трав, жито, полин, подорожник, епідермальний алерген кішки, коня, собаки, морської свинки, хомяка, кролик, *Alternaria alternata*, *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*. У відповідності до існуючих критеріїв результати інтерпретувались в залежності від концентрації специфічного IgE як клас 0–6. Клас ≥ 1 інтерпретували як позитивний. У клінічній практиці алергени з результатами, більшими, ніж у 2 класу ($sIgE \geq 0,7$ Ку / л), вважались позитивними. Після отримання результатів всі дані було конвертовано у номінальні шкали.

Алергочіп ImmunoCAP (Phadia AB, Thermo Fisher Scientific, Швеція) – це метод кількісного вимірювання рівня IgE-антитіл до різних алергенів в сироватці крові, розроблений компанією Phadia. Обстеження пацієнтів методом Immunosar ISAC було виконане у «Клініці алергології та імунології «Форпост»». Метод дозволяє одномоментно визначити наявність антитіл класу Е до 112 алергокомпонентів з 51 джерела алергенів, а саме: продуктів харчування, пилку рослин, епідермальних алергенів тварин, алергенів цвілевих грибів, комах, кліщів домашнього пилу на імунному твердофазному

алергочіпі (ISAC). Після отримання результатів всі дані також було конвертовано у номінальні шкали.

7.1. Порівняння діагностичних параметрів імуноблотуінгу та компонентного тестування (МКТ) для визначення сенсibilізації до алергенів пилоквої групи у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою

Серед обстежених пацієнтів з АР та / або АБА сенсibilізація до алергену берези склала 80,0 % (32 особи) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 77,5 % (31 особа) за наявності специфічних IgE методом ImmunoCAP ISAC. У табл. 7.1 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до берези.

Таблиця 7.1

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену берези

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	7	1	8
	«позитивно»	2	30	32
Разом		9	31	40

Оскільки у випадку визначення сенсibilізації до алергену берези двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном берези відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Для повноцінного аналізу діагностичних параметрів методів було проведено розрахунок чутливості, специфічності, точності, прогностичності позитивного та негативного результатів імуноблоту по відношенню до МКТ. Результати вказаних параметрів для алергену берези наведено в табл. 7.2.

Таблиця 7.2

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену берези

Параметр	Значення	95% ДІ
Чутливість	96,8 %	83,3-99,9 %
Специфічність	77,8 %	40,0-97,2 %
Прогностичність позитивного результату	93,8 %	81,5-98,1 %
Прогностичність негативного результату	87,5 %	49,7- 98,0 %
Точність	92,5 %	79,6-98,4 %

Як свідчать наведені в таблиці дані, імуноблот в порівнянні з МКТ має високу чутливість та прогностичність позитивного результату (96,8 % та 93,8 %, відповідно), проте специфічність та прогностичність негативного результату мають значення 77,8 % (95 % ДІ: 39,99; 97,19) та 87,5 % (95 % ДІ: 49,66; 98,03), відповідно, а точність методу складає 92,5 % (95 % ДІ: 79,61; 98,43).

Сенсибілізація до алергену вільхи склала 40,0 % (16 осіб) за наявності специфічних IgE методом К - імуноблоту, 42,5 % (17 осіб) за наявності специфічних IgE методом МКТ. В табл. 7.3 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до вільхи.

Таблиця 7.3

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену вільхи

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	22	2	24
	«позитивно»	1	15	16
Разом		23	17	40

Оскільки у випадку визначення сенсibilізації до алергену вільхи двома різними методами очікувана частота ознаки у жодній з клітинок зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування χ^2 -квадрату Пірсона. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення критерію χ^2 -квадрат за алергеном вільхи склало 28,662, що відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001. При таких рівнях асимптотичної значимості різниці між групами вимірювань нульова гіпотеза відхиляється, а, отже, знайдено статистично достовірну різницю між методами обстеження для визначення специфічних IgE до обох алергенів.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену вільхи наведено в табл. 7.4.

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену вільхи імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (95,6 % та 93,8 %), проте чутливість та прогностичність негативного результату мають значення 88,2 % (95% ДІ: 63,56; 98,54) та 91,7 % (95 % ДІ: 74,90; 97,59), відповідно, а точність методу складає 92,5 % (95 % ДІ: 79,61; 98,43).

Таблиця 7.4

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену вільхи

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	88,2 %	63,6-98,5 %
Специфічність	95,7 %	78,1-99,9 %
Прогностичність позитивного результату	93,8 %	68,6- 99,0 %
Прогностичність негативного результату	91,7 %	74,9- 97,6 %
Точність	92,5 %	79,6-98,4 %

Сенсибілізація до алергену полину склала 27,5 % (11 осіб) за наявності специфічного IgE на К - імуноблоту, 25,0 % (10 осіб) за наявності специфічного IgE за допомогою МКТ. У табл. 7.5 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену полину.

Таблиця 7.5

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену полину

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	29	0	29
	«позитивно»	1	10	11
Разом		30	10	40

Оскільки у випадку визначення сенсибілізації до алергену полину двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера. В результаті

статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном полину відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,024, що відхиляє нульову гіпотезу.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену полину наведено в табл. 7.6.

Таблиця 7.6

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену полину

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	100 %	69,2-100 %
Специфічність	96,7 %	82,8- 99,9 %
Прогностичність позитивного результату	90,9 %	59,3- 98,6 %
Прогностичність негативного результату	100 %	---
Точність	97,5 %	86,8- 99,9 %

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену полину імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу чутливість та прогностичність негативного результату (100,0 %), проте прогностичність позитивного результату має значення 90,9 % (95 % ДІ: 59,28; 98,57), а точність складає 97,5 % (95 % ДІ: 86,84; 99,94).

Сенсибілізація до алергену ліщини склала 27,5 % (11 осіб) за наявності специфічного IgE на К - імуноблоту, 30,0 % (12 осіб) за наявності специфічного IgE за допомогою МКТ. У табл. 7.7 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену ліщини.

Таблиця 7.7

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену ліщини

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	26	3	29
	«позитивно»	2	9	11
Разом		28	12	40

Оскільки у випадку визначення сенсibilізації до алергену ліщини двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном ліщини відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену ліщини наведено в табл. 7.8.

Таблиця 7.8

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену ліщини

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	75,0%	42,8-94,5 %
Специфічність	92,9%	76,5-99,1 %
Прогностичність позитивного результату	81,8%	53,2-94,7 %
Прогностичність негативного результату	89,7%	76,4-95,9 %
Точність	87,5%	73,2-95,8 %

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену полину імуноблоту в порівнянні з МКТ має відносно високу специфічність та прогностичність негативного результату (92,9 % та 89,7 %, відповідно), проте чутливість та прогностичність позитивного результату є доволі низькими 75,0 % (95 % ДІ: 42,81; 94,51) і 81,8 % (95 % ДІ: 53,23; 94,68), відповідно, а точність методу склала 87,5 % (95 % ДІ: 73,20; 95,81).

7.2. Порівняння діагностичних параметрів імуноблотуінгу та компонентного тестування для визначення сенсibilізації до алергенів кліщової групи у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою

Сенсibilізація до алергену *Dermatophagoides farinae* склала 40,0 % (16 осіб) за наявності специфічного IgE методом К - імуноблоту, 45,0 % (18 осіб) за наявності специфічного IgE за допомогою МКТ. У табл. 7.9 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides farinae*.

Таблиця 7.9

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides farinae*

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	22	2	24
	«позитивно»	0	16	16
Разом		22	18	40

Оскільки у випадку визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides fainaе* двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном

Dermatophagoides farinae відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides farinae* наведено в табл. 7.10. Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides farinae* імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (100 %), проте прогностичність негативного результату та чутливість не є такими високими - 91,7 % (95 % ДІ: 74,86; 97,60) і 88,9 % (95 % ДІ: 65,29; 98,62), відповідно, а точність методу склала 95,0 % (95 % ДІ: 83,08; 99,39).

Таблиця 7.10

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides farinae*

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	88,9 %	65,3-98,6 %
Специфічність	100 %	84,6-100 %
Прогностичність позитивного результату	100 %	---
Прогностичність негативного результату	91,7 %	74,9-97,6 %
Точність	95,0 %	83,1- 99,4 %

Сенсибілізація до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* склала 40,0 % (16 осіб) за наявності специфічного IgE на К - імуноблоті, 45,0 % (18 осіб) за наявності специфічного IgE за допомогою МКТ. У табл. 7.11 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Таблиця 7.11

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus*

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	23	5	28
	«позитивно»	0	12	12
Разом		23	17	40

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* наведено в табл. 7.12.

Таблиця 7.12

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus*

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	70,6 %	44,0-89,7 %
Специфічність	100 %	85,2-100 %
Прогностичність позитивного результату	100 %	----
Прогностичність негативного результату	82,1 %	68,8-90,6 %
Точність	87,5 %	73,2- 95,8 %

Оскільки у випадку визначення сенсibiliзації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього

критерію Фішера. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном *Dermatophagoides pteronyssinus* відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (100 %), проте чутливість та прогностичність негативного результату є не такими високими – 70,6 % (95 % ДІ: 44,04; 89,69) і 82,1 % (95 % ДІ: 68,77; 90,57), відповідно, а точність методу склала 87,5 % (95 % ДІ: 73,20; 95,81).

7.3. Порівняння діагностичних параметрів імуноблотингу та компонентного тестування для визначення сенсibilізації до алергенів епідермальної групи у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою

Сенсibilізація до алергену шерсті собаки склала 35,0 % (14 осіб) за наявності специфічного IgE на К - імуноблоту, 42,5 % (17 осіб) за наявності специфічного IgE за допомогою МКТ. У табл. 7.13 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену шерсті собаки.

Таблиця 7.13

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену шерсті собаки

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	23	3	26
	«позитивно»	0	14	14
Разом		23	17	40

Оскільки у випадку визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок

(25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену шерсті собаки наведено в табл. 7.14. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном шерсті собаки відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Таблиця 7.14

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену шерсті собаки

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	82,4 %	56,6-96,2 %
Специфічність	100 %	85,2-100 %
Прогностичність позитивного результату	100 %	---
Прогностичність негативного результату	88,5 %	73,3-95,5 %
Точність	92,5 %	79,6-98,4 %

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену шерсті собаки імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (100 %), проте прогностичність негативного результату та чутливість не такими високими 88,5 % (95 % ДІ: 73,30; 95,54) і 82,4 % (95 % ДІ: 56,57; 96,20), відповідно, а точність методу склала 92,5 % (95 % ДІ: 79,61; 98,43).

Сенсибілізація до алергену шерсті кішки мала місце у 77,5 % (31 особи) за наявності специфічного IgE на К - імуноблоті, 82,5 % (33 особи) за наявності специфічного IgE за допомогою МКТ. У табл. 7.15 наведені

результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену шерсті кішки.

Оскільки у випадку визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера.

Таблиця 7.15

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену шерсті кішки

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	7	2	9
	«позитивно»	0	31	31
Разом		7	33	40

В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном шерсті кішки відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену шерсті кішки наведено в табл. 7.16.

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену шерсті кішки імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (100 %), проте прогностичність негативного результату та чутливість не такими високими 77,8 % (95 % ДІ: 47,74; 93,06) і 93,9 % (95 % ДІ: 79,77; 99,26), відповідно, а точність методу склала 95,0 % (95 % ДІ: 83,08; 99,39).

Таблиця 7.16

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену шерсті кішки

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	93,9 %	79,8- 99,3 %
Специфічність	100 %	59,0-100 %
Прогностичність позитивного результату	100 %	---
Прогностичність негативного результату	77,8 %	47,7-93,1 %
Точність	95,0 %	83,1-99,4 %

Сенсибілізація до алергену лупи коня склала 17,5 % (7 осіб) за наявності специфічного IgE на К - імуноблоті, 22,5 % (9 осіб) за наявності специфічного IgE за допомогою МКТ. У табл. 7.17 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену лупи коня.

Таблиця 7.17

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену лупи коня

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	31	2	33
	«позитивно»	0	7	7
Разом		31	9	40

Оскільки у випадку визначення сенсибілізації до алергену лупи коня двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %)

зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену лупи коня наведено в табл. 7.18.

Таблиця 7.18

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену лупи коня

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	77,8 %	40,0-97,2 %
Специфічність	100 %	88,8-100 %
Прогностичність позитивного результату	100 %	---
Прогностичність негативного результату	93,9 %	82,0-98,1 %
Точність	95,0%	83,1-99,4 %

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену лупи коня імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (100 %), проте прогностичність негативного результату та чутливість є не такими високими 93,9 4 % (95 % ДІ: 82,03; 98,14) і 77,8 % (95 % ДІ: 39,99; 97,19), відповідно, а точність методу склала 95,0 % (95 % ДІ: 83,08; 99,39).

7.4. Порівняння діагностичних параметрів імуноблоту та компонентного тестування для визначення сенсibilізації до алергенів грибової групи у пацієнтів з алергічним ринітом та бронхіальною астмою

Сенсibilізація до алергену *Alternaria alternata* склала 45,0 % (18 осіб) як за наявності специфічного IgE на К-імуноблоті, так і за наявності специфічного IgE за допомогою ImmunoCAP ISAC. У табл. 7.19 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Alternaria alternata*.

Таблиця 7.19

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Alternaria alternata*

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	22	0	22
	«позитивно»	0	18	18
Разом		22	18	40

Оскільки у випадку визначення сенсibilізації до алергену *Alternaria alternata* двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном *Alternaria alternata* відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Alternaria alternata* наведено в табл. 7.20.

Таблиця 7.20

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Alternaria alternata*

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	100 %	81,5-100 %
Специфічність	100 %	84,6-100 %
Прогностичність позитивного результату	100 %	---
Прогностичність негативного результату	100 %	---
Точність	100 %	91,2-100 %

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену *Alternaria alternata* імуноблоту в порівнянні з ISAC має абсолютні значення чутливості, специфічності, прогностичності негативного результату та негативного результату, оскільки дані повністю співпали (100 %), точність методу склала 100 % (95 % ДІ: 91,19; 100,00).

Сенсибілізація до алергену *Aspergillus fumigatus* склала 12,5 % (5 осіб) за наявності специфічного IgE на МКТ, 0 % (0 осіб) за наявності специфічного IgE за допомогою К - імуноблоту. У табл. 7.21 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Aspergillus fumigatus*.

Таблиця 7.21

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Aspergillus fumigatus*

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	35	5	40
	«позитивно»	0	0	0
Разом		35	5	40

Оскільки у випадку визначення сенсibilізації до алергену *Aspergillus fumigatus* двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном *Aspergillus fumigatus* відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Aspergillus fumigatus* наведено в табл. 7.22.

Таблиця 7.22

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Aspergillus fumigatus*

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	0	---
Специфічність	100 %	90,0-100 %
Прогностичність позитивного результату	0	---
Прогностичність негативного результату	87,5 %	87,5- 87,5 %
Точність	87,5 %	73,2-95,8 %

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену *Aspergillus fumigatus* імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність (100 %), проте прогностичність негативного результату є нижчою – 87,5 % (95 % ДІ: 87,50; 87,50), а прогностичність позитивного результату і чутливість рівні 0; точність методу склала 87,5 % (95 % ДІ: 73,20; 95,81).

Сенсибілізація до алергену *Cladosporium sp.* склала 12,5 % (5 осіб) за наявності специфічного IgE на МКТ, 2,5 % (1 особа) за наявності специфічного IgE за допомогою К - імуноблоту. У табл. 7.23 наведені результати побудови таблиці спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Cladosporium sp.*

Таблиця 7.23

Зведена таблиця спорідненості результатів визначення специфічних IgE до алергену *Cladosporium sp.*

Частота		МКТ		Разом
		«негативно»	«позитивно»	
К - імуноблот	«негативно»	35	4	40
	«позитивно»	0	1	0
Разом		35	5	40

Оскільки у випадку визначення сенсибілізації до алергену *Cladosporium sp.* двома різними методами очікувана частота ознаки у одній з клітинок (25 %) зведених таблиць нижче 5, було застосовано для аналізу взаємозв'язку метод вирахування точного двостороннього критерію Фішера. В результаті статистичної обробки даних визначено, що абсолютне значення точного двостороннього критерію Фішера за алергеном *Cladosporium sp.* відповідає двосторонній асимптотичній значимості 0,001, що відхиляє нульову гіпотезу.

Результати розрахунку параметрів діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Cladosporium sp.* наведено в табл. 7.24.

Як свідчать наведені в таблиці дані, для визначення специфічних IgE до алергену *Cladosporium sp.* імуноблот в порівнянні з МКТ має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (100 %), проте прогностичність негативного результату є нижчою – 89,7 % (95 % ДІ: 84,95; 93,13), а чутливість рівна всього 20,0 %; точність методу склала 90,0 % (95 % ДІ: 76,34; 97,21).

Таблиця 7.24

Параметри діагностичної цінності імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення специфічних IgE до алергену *Cladosporium sp.*

Параметр	Значення	95 % ДІ
Чутливість	20,0 %	0,5-71,6 %
Специфічність	100 %	90,0-100 %
Прогностичність позитивного результату	100 %	---
Прогностичність негативного результату	89,7 %	85,0-93,1 %
Точність	90,00 %	76,3-97,2 %

Узагальнюючи результати, можна зробити наступні висновки. Чим вище чутливість тесту, тим частіше з його допомогою буде виявлятися захворювання, тим, отже, він більш ефективний. У той же час, якщо такий високочутливий тест виявляється негативним, то наявність захворювання малоймовірно. Тому їх слід застосовувати для виключення захворювань. У силу цього високочутливі методи нерідко називають *ідентифікаторами*, їх рекомендується застосовувати на ранніх етапах діагностичного процесу, коли потрібно звужити коло передбачуваних захворювань. З іншого боку, чим вище специфічність методу, тим надійніше з його допомогою підтверджується захворювання, і тим, отже, він більш ефективний. Високоспецифічні методи називаються в діагностиці *дискримінаторами*.

Такі дослідження ефективні на другому етапі діагностики, коли коло передбачуваних захворювань звужене і необхідно з великою впевненістю довести наявність хвороби.

Отримані результати аналізу показали різні дані чутливості та специфічності імуноблоту в порівнянні з МКТ для різних алергенів, що потребує детального аналізу, так як найбільша кількість зареєстрованих неспівпадінь результатів є хибнонегативними, а, отже, можуть мати негативні наслідки для подальшого обстеження та лікування пацієнтів.

На нашу думку, причини подібних розбіжностей можуть бути пов'язані з рядом факторів. Основним є той факт, що підвищення чутливості тесту неминуче супроводжується втратою його специфічності і навпаки, підвищення специфічності пов'язане зі зниженням його чутливості. Методики діагностики з високою чутливістю рідко «пропускають» пацієнтів, у яких є хвороба, а методики з високою специфічністю не відносять здорових до категорії хворих. З іншого боку, знижена чутливість методу може бути напряду пов'язана з самою технікою оцінки імуноблотуінгу, адже фотометричний аналіз на практиці залежить від багатьох факторів – якості сканування, правильно виконаних процедур підготовки, наявності чи відсутності калібрування тощо.

Матеріали даного розділу дослідження відображені в наступних публікаціях:

1. Bogomolov, A. E. Definition of sensitization to pollen allergens wormwood and hazel in patients with respiratory allergic diseases by immunoblot and multiplex component test / A. E. Bogomolov, S. V. Zaikov // Імунологія та алергологія: наука і практика. - 2020. - № 1. - С. 39 – 43.
2. Богомолів, А.Є. Визначення сенсibiliзації до кліщових алергенів D. pteronyssinus та D. farinae у хворих на респіраторні алергійні захворювання за допомогою імуноблоту та мультиплексного компонентного тестування / А.

Є. Богомолів, С. В. Зайков, О. П. Назаренко // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ – інфекція. – 2020. - №1. – С. 43 – 48.

РОЗДІЛ 8

ШЛЯХИ ОПТИМІЗАЦІЇ СПЕЦИФІЧНОЇ АЛЕРГОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ АЛЕРГІЧНОГО РИНИТУ ТА БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

Визначення профілю сенсibilізації пацієнта при IgE-опосередкованих АЗ є невід'ємною частиною як постановки діагнозу, так і призначення наступного лікування такого хворого. Це має величезне значення в розумінні ймовірності виникнення невідкладних станів (анафілаксії та гострого ангіоневротичного набряку), перехресних реакцій на інші алергени, елімінаційних заходів (без яких будь-яке лікування не буде достатньо ефективним) та, безперечно, для проведення єдиного існуючого етіотропного методу лікування – АСІТ.

В умовах сьогодення лікарю – алергологу доступний ряд методів *in vivo* та *in vitro* для визначення сенсibilізації пацієнта, кожен з яких, як ми вказували раніше, має свої переваги та недоліки.

Найпростішим та найбільш доступним для виконання методом залишається шкірне тестування методом прик-тесту. Для його виконання потрібні екстракти діагностичних алергенів, що є доступними на ринку. Дослідження компонентного складу екстрактів вітчизняного виробництва показало, що вони є досить різноманітними за білковим складом. Узагальнені результати визначення білкового складу вітчизняних алергенних екстрактів наведено у табл. 8.1.

Аналіз даних таблиці показує, що у 14 з 20 (70 %) досліджених нами екстрактів алергенів присутній баластний неалергенний білок. В ряді випадків (наприклад, для алергенів кліщової групи, амброзії) цей

неалергенний білок здатний маскувати мажорні білкові компоненти алергенів.

Таблиця 8.1.

**Узагальнені результати визначення білкового складу вітчизняних
алергенних екстрактів**

Група	Алерген	Алергенні білкові компоненти	Баластні білки
Кліщові	Dermatophagoides farinae	Der f1	Так
	Dermatophagoides pteronyssinus	Der p1	Так
	Acarus siro	Aca s13	Так
Пилкові	Береза	Bet v1, Bet v3	Ні
	Вільха	Aln g1	Так
	Жито	Sec c38, Sec c5	Так
	Полин	Art ab1	Ні
	Костриця лучна	Fes p4	Так
	Соняшник	Hel a1, Hel a2, Hel a6	Так
	Пажитниця багаторічна	Lol p1, Lol p4, Lol p11, Lol p2-Lol p3	Так
	Тимофіївка лугова	Phl p5, Phl p4, Phl p2	Ні
	Тонконіг лучний	--	Так
	Кукурудза	Zea m1, Zea m12	Так
	Амброзія	Amb a3	Ні
	Граб	Car b1	Ні
	Грястиця збірна	Dac g1, Dac g4, Dac g2, Dac g3	Так
	Собака	Can f1, Can f2, Can f3	Так
	Кішка	Fel d1, Fel d2, Fel d3, Fel d4	Ні
	Вівця	--	Так
	Пір'я подушки	--	Так

Для більшості досліджених екстрактів мажорні компоненти були чітко детектовані. Більшість досліджених екстрактів, окрім мажорних, містили і мінорні компоненти, формуючи «коктейль» кожного окремого алергену.

Однак, як ми вже вказували раніше, неалергенні баластні білки можуть бути серйозною проблемою при існуючій схемі стандартизації екстрактів за білковими одиницями азоту, адже при такій стандартизації фактично вираховується загальна кількість білка в одиниці об'єму екстракту.

Окрім того, в наступній частині нашого дослідження було показано, що ці алергенні «коктейлі» можуть мати різний склад в залежності від клімато-географічних, екологічних та інших умов, адже компонентний склад алергену берези із 6 регіонів України – Вінниці, Києва, Львова, Одеси, Харкова та Запоріжжя відрізнявся за вмістом мінорних білків; при цьому в кожному з досліджуваних зразків містився головний мажорний білок Bet v1. Втім, і експресія Bet v1 в досліджуваних зразках відрізнялась. Так, за результатами полімеразно-ланцюгової реакції визначено, що в зразках з Вінниці та Харкова експресія Bet v1 становила в середньому 0,6 від калібратора (зразка стандартного екстракту алергену), з Львова – 0,7 від калібратора, Києва та Одеси – 1,2 рівня експресії калібратора, а Запоріжжя – 1,3 рівня експресії калібратора.

Ці дані в принципі корелюють з даними аналогічного дослідження, яке було проведене на території України та Словенії групою вчених – екологів [278]. В ньому було показано, що рівень експресії Bet v1 залежить від умов зростання берези – в більш екологічно забруднених регіонах експресія Bet v1 виявилась вищою. Вірогідно, кількість Bet v1 є не єдиним чинником, що впливає на алергенність пилку [159, 165, 168, 173], проте у розрізі наступного приготування екстрактів алергенів з такої сировини ця кількість є вкрай важливою. Це зумовлено двома аспектами: по-перше, за даними літератури, понад 95 % усіх сенсibilізованих до пилку берези пацієнтів є сенсibilізовані саме до Bet v1 [160, 165, 168, 173]. Вміст Bet v1 в екстракті алергену берези, що використовується для шкірного тестування напряму зумовлює параметри діагностичної цінності такого тестування – специфічність, чутливість та точність. При зниженні вмісту Bet v1 в екстракті та зсуві загального вмісту білка в бік баластних білків, перш за все буде знижуватись чутливість тесту,

адже буде збільшуватись кількість хибно негативних результатів. По-друге, вміст Bet v1 в екстракті є критичним для проведення АСІТ таким екстрактом, адже за основними механізмами десенсибілізації, описаними в літературі [84, 123, 249, 261, 264], важливою є саме поступовість наростання дози алергену в процесі проведення терапії. Усі вищевказані результати ще один раз доводять необхідність перебудови процесу стандартизації алергенних екстрактів, включення в процес стандартизації аналізу компонентного складу алергенів та, можливо, кількісного визначення мажорних компонентів алергенів для стандартів виробництва.

Вказані проблеми стандартизації алергенних екстрактів не є специфічними лише для України та спостерігаються у всіх країнах світу, де є комерційне виробництво таких екстрактів. Це зумовило пряму рекомендацію в Європейському стандарті з прик-тестів [104] не порівнювати кількісно результати тестувань з комерційними екстрактами різних виробників, адже різні підходи до стандартизації та, відповідно, різний компонентний склад екстрактів можуть зумовлювати різну реактивність шкіри у відповідь на тестування. І дійсно, результати наступної частини нашого дослідження по порівнянню результатів тестування пацієнтів з АР та АБА комерційними екстрактами двох різних виробників показали, що середня різниця між вимірами дорівнювала 1,2 мм, що свідчить про наявність систематичної розбіжності. Стандартне відхилення різниць склало 1,26 мм, що суттєво в порівнянні з самими значеннями. Вимірювання, отримані обома способами, узгоджувались один з одним, однак існувала систематична розбіжність результатів.

Окремою частиною цього порівняння була оцінка результатів тестування за допомогою медичного тепловізора, що показала при порівнянні результатів візуального та термографічного вимірювань розміру папули високий коефіцієнт кореляції між оцінкою тестів ($r = 0,9$), різниця між розмірами папули становила в середньому 1,6 мм. Однак, за даними проведених тестів, результати візуального аналізу алергологом та

термографічного вимірювання співпали лише в 70 % випадків. Медична термографія з успіхом застосовується в медичній практиці, проте намагання застосувати її для оцінки шкірного тестування є поодинокими і радше теоретичними [143, 144]. Отримані дані показують важливість об'єктивізації оцінки результатів шкірного тестування, адже вимірювання розміру папули за допомогою стандартної лінійки все ж містить у собі значну долю суб'єктивності (30 % результатів візуального і термографічного оцінювання не співпали).

8.1. Шляхи оптимізації визначення сенсibiliзації до алергенів кліщової групи

Між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між їх результатами, а між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень. При цьому результати двох систем визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides pteronyssinus* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту мають систематичне розходження показників (-1,27 kU/l).

Між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами, а між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень. Результати двох систем визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides farinae* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте існує систематичне розходження показників (-0,71 kU/l).

В результаті порівняння результатів К - імуноблоту з даними ImmunoCap ISAC було отримано значення 100,0 % специфічності та 70,6 % чутливості для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus*, що означає достатньо високу ймовірність хибно негативних результатів (в середньому, 3 з 10) імуноблоту. Як вже вказувалося раніше, при компонентному аналізі екстракту алергену *Dermatophagoides pteronyssinus* нами було відмічено наявність баластного неалергенного білка та відсутність чіткого піку мажорного компоненту Der p2, що може призводити до виникнення перш за все хибно негативних результатів тестування з екстрактом. Відповідно, такі дані при застосуванні шкірного тестування або імуноблоту в якості одиничного методу діагностики сенсibilізації можуть призводити до помилок діагностики та невірної інтерпретації клінічних симптомів захворювання.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae* відзначена відмінна діагностична значимість ($AUC=0,930$), а виявлення специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae* продемонструвала добру діагностичну значимість ($AUC=0,724$). 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 К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronissinus* отримана відмінна діагностична значимість ($AUC=0,953$), а при виявленні специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides pteronissinus* – добра діагностична значимість ($AUC=0,733$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

В результаті порівняння результатів К - імуноблоту з даними ImmunoCap ISAC було отримано значення 100,0 % специфічності та 88,9 % чутливості для визначення сенсibilізації до алергену *Dermatophagoides farinae*, що означає низьку ймовірність хибно негативних результатів (в середньому, 1 з 10) імуноблоту. Як вже вказувалося раніше, при компонентному аналізі екстракту алергену *Dermatophagoides farinae* було відмічено наявність баластного неалергенного білка та відсутність чіткого піку мажорного компоненту Der f2, що може призводити до виникнення перш за все хибно негативних результатів тестування з екстрактом. Відповідно, такі дані при застосуванні шкірного тестування або імуноблоту в якості одиничного методу діагностики сенсibilізації можуть призводити до помилок діагностики та невірної інтерпретації клінічних симптомів захворювання.

8.2. Шляхи оптимізації визначення сенсibilізації до алергенів епідермальної групи

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень. Результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті собаки методами К – імуноблоту та НК - імуноблоту не досить добре узгоджуються між собою, систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 0,26 ku/l, що свідчить про присутність систематичного розходження.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки вивлена відмінна діагностична значимість ($AUC=0,988$), а при виявленні

специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки – добра діагностична значимість ($AUC=0,725$). В обох випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

В результаті порівняння К - імуноблоту з даними МКТ отримано значення 100,0 % специфічності та 82,4 % чутливості для визначення сенсibilізації до алергену шерсті собаки, що означає низьку ймовірність хибно негативних результатів (в середньому, 2 з 10) імуноблоту. Як вказувалося раніше, при компонентному аналізі екстракту алергену шерсті собаки було відмічено наявність баластного неалергенного білка, що може призводити до виникнення перш за все хибно негативних результатів тестування з екстрактом. Відповідно, такі дані при застосуванні шкірного тестування або імуноблоту в якості одиничного методу діагностики сенсibilізації можуть призводити до помилок діагностики та невірної інтерпретації клінічних симптомів захворювання.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є відмінна погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту також відмінна погодженість між результатами досліджень. Результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті кішки методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте існує систематичне відхилення результатів (0,1 ku/l) та не всі значення вкладаються в довірчий інтервал.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки зареєстрована відмінна діагностична значимість ($AUC=1,0$), а при виявленні специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки – відмінна діагностична значимість ($AUC=1,0$). В обох

випадках асимптотична значимість доводить відсутність погодження нульової гіпотези (при якій істинна площа рівна 0,5) та достовірність значень площі AUC.

В результаті порівняння результатів К - імуноблоту з даними МКТ було отримано значення 100,0 % специфічності та 93,9 % чутливості для визначення сенсibilізації до алергену шерсті кішки, що означає низьку ймовірність хибно негативних результатів (в середньому, 1 з 10) імуноблоту. При компонентному аналізі екстракту алергену шерсті кішки було відмічено наявність баластного неалергенного білка, що може призводити до виникнення перш за все хибно негативних результатів тестування з екстрактом. Відповідно, такі дані при застосуванні шкірного тестування або імуноблоту в якості одиничного методу діагностики сенсibilізації можуть призводити до помилок діагностики та невірної інтерпретації клінічних симптомів захворювання.

Виходячи з даних аналізу отриманих даних для алергенів кліщової групи (*Dermatophagoides pteronyssinus* та *Dermatophagoides farinae*) та алергенів епідермальної групи (шерсті кішки та шерсті собаки) – з метою оптимізації діагностики доцільно запропонувати алгоритм, наведений на рис. 8.1.

Суть вказаного алгоритму полягає в тому, що замість класичної діагностичної схеми у пацієнтів з підозрою на сенсibilізацію до алергенів кліщової та епідермальної групи пропонується використовувати модифіковану схему, в якій при відсутності позитивного результату визначення сенсibilізації за допомогою прик-тестів або імуноблоту в якості первинного методу обстеження доцільно одразу переходити до молекулярного компонентного обстеження.

Така схема ґрунтується на отриманих даних про вірогідність хибнонегативних результатів шкірного тестування з екстрактами алергенів та визначення специфічного IgE за допомогою імуноблоту.

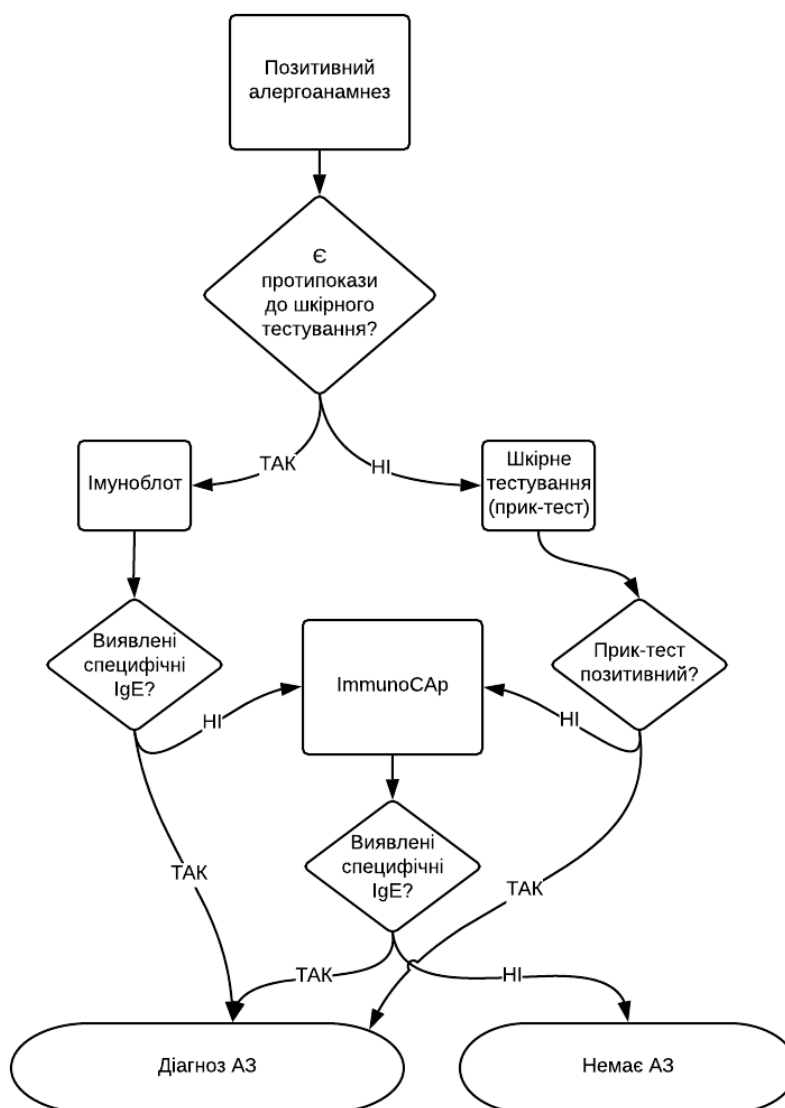


Рис. 8.1. Алгоритм дій лікаря при підозрі на сенсibiliзацію до алергенів кліщової та епідермальної групи

8.3. Шляхи оптимізації визначення сенсibiliзації до алергенів грибкової групи

Аналіз діагностичної значимості методів визначення сенсibiliзації до алергенів грибкової групи був обмеженим через відсутність на ринку України екстрактів діагностичних алергенів грибів для шкірного тестування. Отримані дані показали, що для визначення специфічних IgE до алергену *Alternaria alternata* імуноблоту в порівнянні з МКТ має абсолютні значення

чутливості, специфічності, прогностичності негативного результату та негативного результату, оскільки дані повністю співпали (100 %), а точність методу склала 100 % (95 % ДІ: 91,19; 100,00). Для визначення специфічних IgE до алергену *Aspergillus fumigatus* імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність (100 %), проте прогностичність негативного результату є нижчою – 87,5 % (95 % ДІ: 87,50; 87,50), а прогностичність позитивного результату і чутливість рівні 0; точність методу склала 87,5 % (95 % ДІ: 73,20; 95,81). Для визначення специфічних IgE до алергену *Cladosporium sp.* імуноблоту в порівнянні з ImmunoCap ISAC має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (100 %), проте прогностичність негативного результату є нижчою – 89,7 % (95 % ДІ: 84,95; 93,13), а чутливість рівна всього 20,0 %; точність методу склала 90,0 % (95 % ДІ: 76,34; 97,21).

Таким чином, для одного з досліджуваних алергенів (*Alternaria alternata*) дані імуноблоту та МКТ якісно повністю співпали, для одного – співпали лише частково (*Cladosporium sp.*), а для третього – повністю не співпали (*Aspergillus fumigatus*), причому неспівпадіння відбулись через хибно негативні результати імуноблоту.

Виходячи з таких даних, з метою оптимізації діагностичного пошуку при підозрі на сенсibiliзацію до алергенів грибової групи (*Alternaria alternata*, *Cladosporium sp.*, *Aspergillus fumigatus*) використовувати так званий алгоритм «згори вниз», коли в якості первинного методу обстеження одразу розпочинають з компонентної алергодіагностики (рис. 8.2).

Він в цілому відповідає описаному в літературі «підходу U», який має в основі використання молекулярного компонентного тестування в якості первинного методу обстеження пацієнтів із підозрою на алергопатологію з метою специфічної алергологічної діагностики.

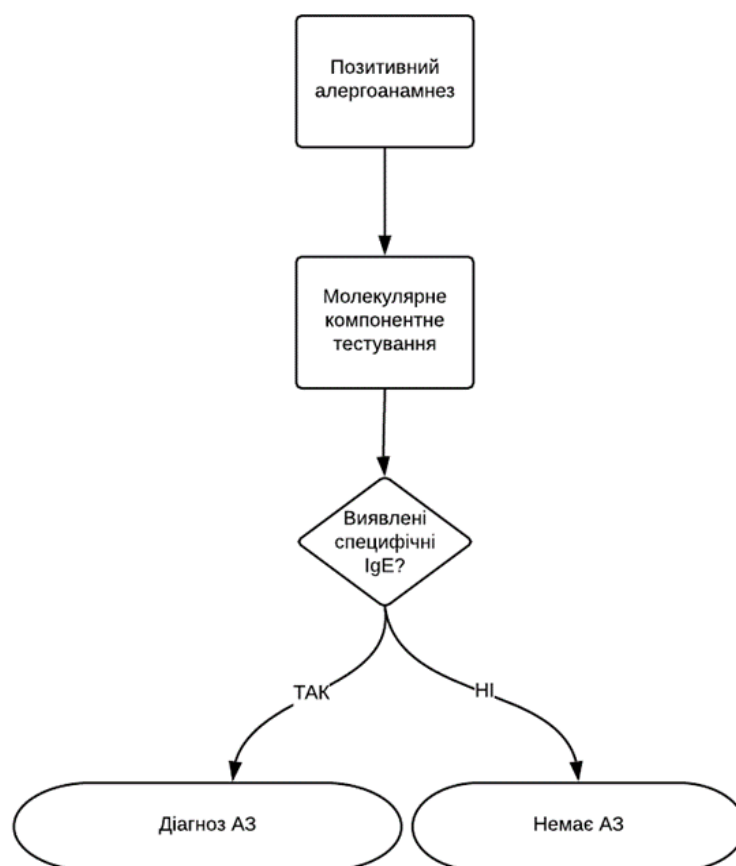


Рис. 8.2. Алгоритм дій лікаря при підозрі на сенсibiлізацію до алергенів грибкової групи

8.4. Шляхи оптимізації визначення сенсibiлізації до алергенів пилкової групи

Між даними шкірного тестування з алергенами вільхи та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном вільхи та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту – задовільна погодженість між результатами досліджень. Результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену вільхи методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою

внаслідок систематичного розходження показників (стандартне відхилення різниць склало 7,23).

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену вільхи отримана відмінна діагностична значимість ($AUC=0,922$), а при виявленні специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену вільхи – добра діагностична 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.

Між даними шкірного тестування з алергенами берези та виявленням специфічного IgE методом К – імуноблоту існує відмінна погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергену берези та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту – помірна погодженість між результатами досліджень (систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 2,27 ku/l). Результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену берези методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження показників.

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену берези відзначена відмінна діагностична значимість ($AUC=0,949$), а при виявленні специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену берези – добра діагностична 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.

Між даними шкірного тестування з алергенами ліщини та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном

ліщини та виявленню специфічного IgE методом НК - імуноблоту – помірна погодженість між результатами досліджень. Результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену ліщини методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте існує систематичне розходження показників (систематична похибка результатів вимірювань дорівнює 0,72 ku/l).

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену ліщини отримана відмінна діагностична значимість ($AUC=0,941$), а при виявленні специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену ліщини – добра діагностична 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.

Між даними шкірного тестування з алергенами полину та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном полину та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірна погодженість між результатами досліджень. Результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену полину методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження показників (систематична похибка результатів вимірювань дорівнює -3,01 ku/l).

За результатами оцінки кривої виявлення специфічного IgE методом К - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену полину відзначена відмінна діагностична значимість ($AUC=0,938$), а при виявленні специфічного IgE методом НК - імуноблоту для визначення сенсibilізації до алергену полину – добра діагностична 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.

Дані аналізу параметрів діагностичної цінності К - імуноблоту в порівнянні з МКТ наведені на рис. 8.3.

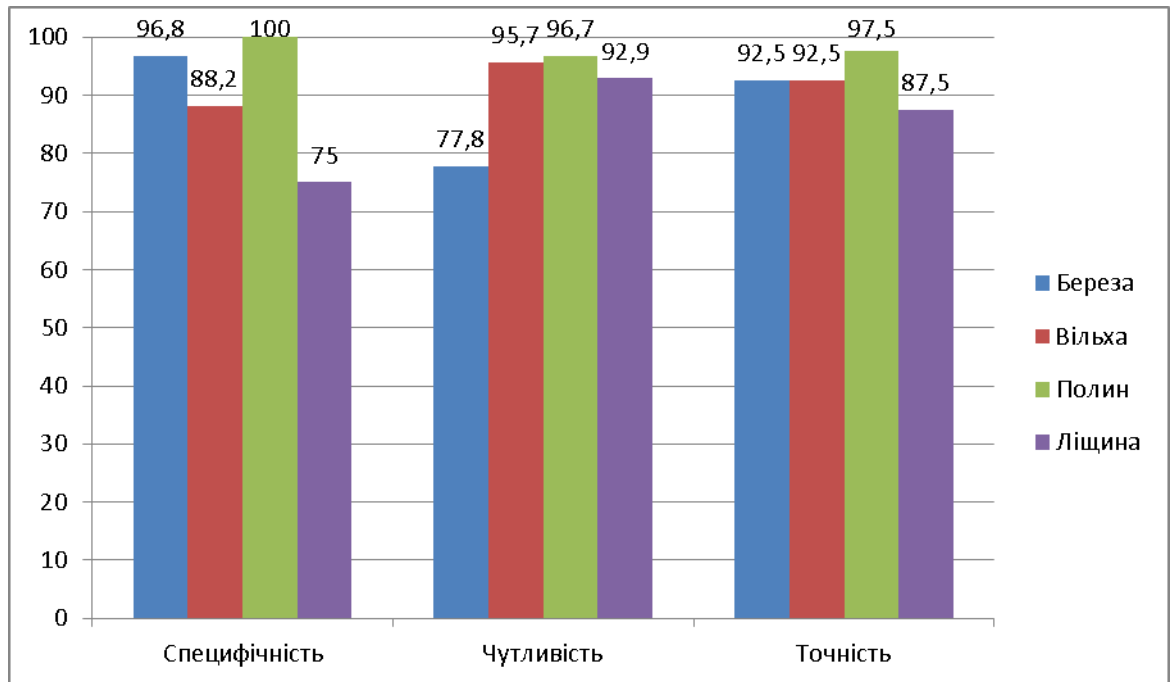


Рис. 8.3. Параметри діагностичної цінності К - імуноблоту в порівнянні з МКТ для визначення сенсibilізації до алергенів пилкової групи

Аналізуючи представлені дані, можна зробити висновок, що для визначення сенсibilізації до алергену берези К - імуноблоту в порівнянні з МКТ виявився високоспецифічним і низькочутливим, для алергену полину – високоспецифічним та високочутливим, для алергену вільхи – високочутливим та помірносспецифічним, а для алергену ліщини – високочутливим та низькоспецифічним.

З метою оптимізації діагностичного пошуку при підозрі на сенсibilізацію до алергену полину пропонуємо використовувати класичний діагностичний пошук, який розпочинається з шкірного тестування методом

прик-тесту (за наявності протипоказів – з імуноблоту), за необхідності в подальшому виконується компонентний молекулярний тест (рис. 8.4).

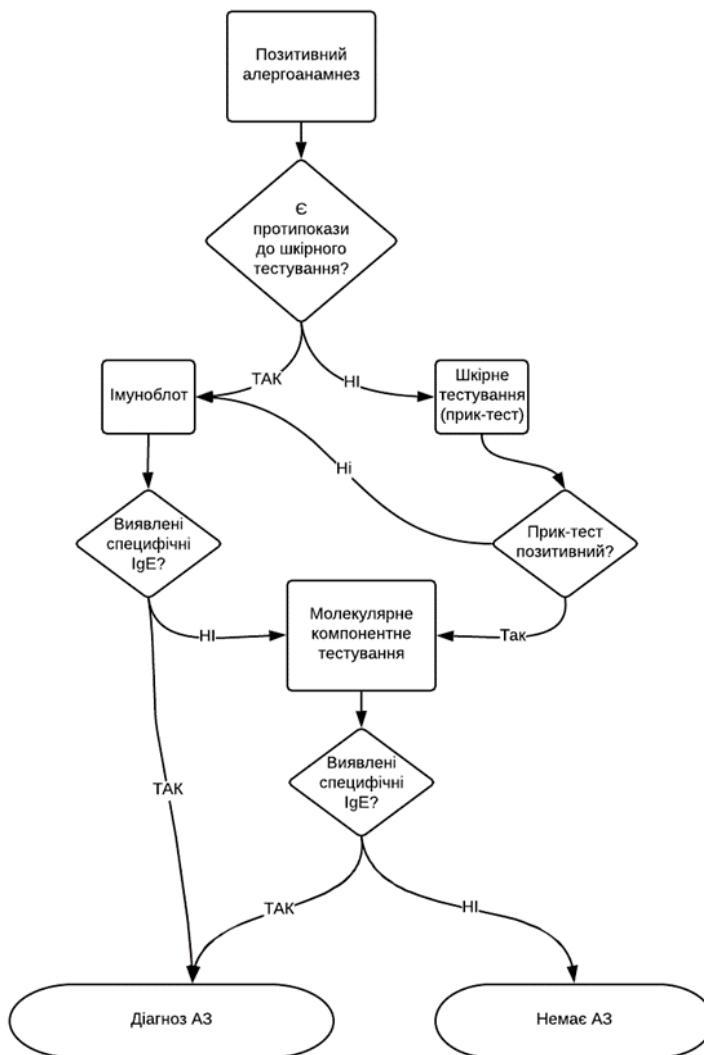


Рис. 8.4. Алгоритм дій лікаря при підозрі на сенсibilізацію до алергену полину

При підозрі на сенсibilізацію до алергену берези пропонується діагностичний алгоритм, аналогічний запропонованому для алергенів кліщової та епідермальної груп (рис. 8.1). При підозрі на сенсibilізацію до алергенів ліщини та вільхи оптимізований діагностичний алгоритм полягає у

ШПТ у якості первинного обстеження та виконання в подальшому за необхідності компонентного молекулярного тесту (рис. 8.5).

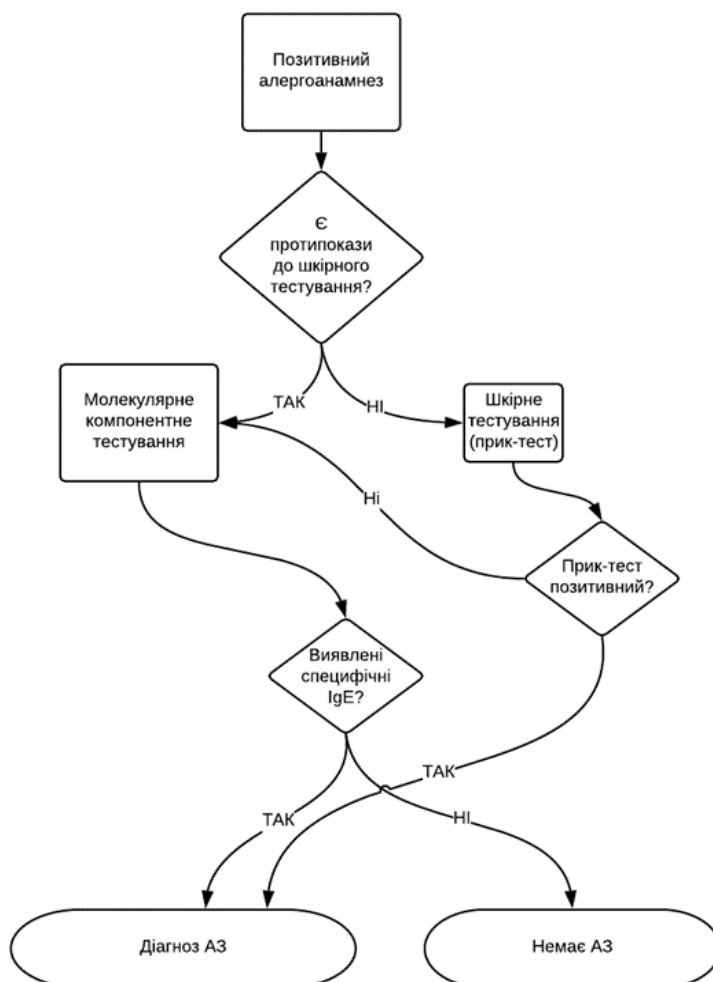


Рис. 8.5. Алгоритм дій лікаря при підозрі на сенсibilізацію до алергенів ліщини та вільхи

Таким чином, в існуючих реаліях класична трьохрівнева схема специфічної алергологічної діагностики (шкірне тестування методом прик-тесту, лабораторні методи визначення специфічних IgE, мультиплексне компонентне тестування) може бути оптимізована, виходячи з наявних даних діагностичної цінності кожного з методів в порівнянні з іншими. Запропоновані нами алгоритми діагностичного пошуку при підозрі на

сенсibilізацію до алергенів різних груп можуть дозволити удосконалити специфічну алергодіагностику, даючи можливість більш раннього встановлення профілю сенсibilізації пацієнта та етіологічного підтвердження діагнозу, що веде за собою раннє призначення елімінаційної терапії та алерген- специфічної імунотерапії.

Матеріали даного розділу дослідження відображені в наступних публікаціях:

1. Bogomolov, A. E. Definition of sensitization to pollen allergens wormwood and hazel in patients with respiratory allergic diseases by immunoblot and multiplex component test / A. E. Bogomolov, S. V. Zaikov // Імунологія та алергологія: наука і практика. - 2020. - № 1. - С. 39 – 43.
2. Богомолів, А.Є. Визначення сенсibilізації до кліщових алергенів *D. pteronyssinus* та *D. farinae* у хворих на респіраторні алергійні захворювання за допомогою імуноблоту та мультиплексного компонентного тестування / А. Є. Богомолів, С. В. Зайков, О. П. Назаренко // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ – інфекція. – 2020. - №1. – С. 43 – 48.
3. Zaikov S. Comparison of the determination of sensitization to the dust – mite allergens in patients with respiratory allergies using the multiplex microarray test and western-blot test / S. Zaikov, A. Bogomolov, A. Nazarenko // Allergy. 2020. Vol. 75. Supplement 109. P. 355.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

В процесі виконання поставлених завдань було проаналізовано компонентний склад екстрактів алергенів вітчизняного виробництва за допомогою електрофорезу в поліакріламідному гелі з наступною побудовою електрофореграм та спектрограм.

Аналізи спектрограм діагностичних препаратів алергенів показали наявність мажорних та міnorних компонентів в більшості проаналізованих випадків. Так, для алергенів кліщової групи визначено наявність у алергенах *Dermatophagoides pteronyssinus* – Der p1 з молекулярною масою 24 kDa, *Dermatophagoides farinae* – Der f1 з молекулярною вагою 27 kDa, *Acarus siro* – Aca s13 з молекулярною масою 15 kDa), у пилкових алергенах дерев: берези – Bet v1 з молекулярною масою 17 kDa, міnorного компоненту Bet v3 (24 kDa), вільхи – Aln g1 з молекулярною масою 18 kDa, грабу – мажорного компоненту Car b1 (17 kDa).

Для пилкових алергенів трав визначено наявність у алергенах жита – Sec c38 з молекулярною масою 13,5 kDa, міnorних компонентів Sec c5 (30 kDa) та Sec c20 (70 kDa), полину – Art v1 з молекулярною масою 28 kDa, костриці – Fes p4 з молекулярною масою 60 kDa, соняшника – Hel a1 з молекулярною масою 34 kDa, міnorних компонентів Hel a2 (14,7 kDa) та Hel a6 (42 kDa), пажитниці багаторічної – Lol p1 (27 kDa) та міnorних компонентів Lol p4 (57 kDa), Lol p11 (16 kDa), Lol p2-Lolp 3 (молекулярна маса 11 kDa), тимофіївки лугової – мажорного компоненту Phl p5 (32 kDa) та міnorних компонентів Phl p4 (55 kDa), Phl p2 (10-12 kDa), кукурудзи звичайної – мажорного компоненту Zea m1 (25-35 kDa) та міnorного компоненту Zea m12 (14 kDa), амброзії – міnorного компоненту Amb a3 (11 kDa), грястиці збірної – мажорного компоненту Dac g1 (32 kDa) та міnorних компонентів Dac g4 (60 kDa), Dac g2 та Dac g3 (11 kDa та 14 kDa).

Для епідермальних алергенів визначено, що у алергені шерсті собаки наявний мажорний компонент Can f1 (ліпокалін) з молекулярною масою 23 kDa, мінорні компоненти Can f2 (19 kDa) та Can f3 (69 kDa), шерсті кішки – мажорний компонент Fel d1 з молекулярною масою 38 kDa, мажорний компонент Fel d4 (22 kDa), мінорні компоненти Fel d2 (69 kDa) та Fel d3 (11 kDa).

Для окремих алергенів – шерсть вівці, пір'я подушки, тонконіг лучний – за допомогою побудови спектрограми після електрофорезу розчинів в поліакріламідному гелі компонентний склад оцінити не є можливим, оскільки вони представляють собою суміш білків з близькими молекулярними масами. Окрім того, ряд діагностичних алергенів – шерсть собаки, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, береза, вільха, жито, костриця, соняшник, пажитниця, кукурудза, гречиця – містять в розчинах неалергенні баластні білки.

Вказані результати вперше визначають молекулярний компонентний склад вітчизняних діагностичних алергенів, що має декілька аспектів. По-перше, для повноцінного застосування у діагностиці IgE-залежних алергічних захворювань діагностичні алергени мають бути стандартизовані. Як вказувалося раніше, єдиної процедури стандартизації в світі наразі не існує, що зумовлює різні підходи до стандартизації алергенних екстрактів виробниками. В Україні стандартизація алергенних екстрактів відбувається за вмістом PNU – білкових одиниць азоту, що є характеристикою вмісту білка в 1 мл розчину алергену. Втім, баластні неалергенні компоненти можуть значно впливати на загальний вміст білка, при цьому не маючи діагностичного та тим більше лікувального значення.

По-друге, відсутність деяких мажорних білкових компонентів може знижувати діагностичні можливості екстрактів, даючи хибнонегативні результати при їх застосуванні у конкретних пацієнтів, сенсibilізованих до таких компонентів. Все це зумовлює необхідність порівняння результатів тестування різними методами у пацієнтів з IgE-залежними алергічними

захворюваннями та удосконалення процедури стандартизації алергенних екстрактів.

Результати визначення компонентного складу пилку берези з різних регіонів України показують, що мінорні компоненти в складі пилку можуть варіювати в залежності від екології місця зростання дерева та клімато-географічних умов зростання рослин. При цьому всі зразки пилку містили мажорні білки, що дає можливість використовувати сировину для виготовлення діагностичних екстрактів алергенів, однак стандартизації за білковими одиницями азоту може бути недостатньо. Окрім того, всі зразки містили різну експресію Bet v1 – головного мажорного білка алергену берези, що може свідчити про їх різну алергенність. Різна кількість мажорного білка в екстракті алергену може бути причиною як хибнонегативних результатів тестування з таким екстрактом, так і, що найголовніше, невдачі застосування такого екстракту з лікувальною метою для АСІТ.

Наступним етапом нашого дослідження стало порівняння шкірного тестування з аналогічними по складу мікст-екстрактами діагностичних алергенів різних виробників. Отримані дані доводять, що відсутність чітких підходів до стандартизації алергенних екстрактів та, вірогідно, пов'язаний із цим різний компонентний склад екстрактів можуть мати певне діагностичне значення у верифікації сенсibiliзації у пацієнтів з IgE-опосередкованими респіраторними алергічними захворюваннями. Систематичне розходження розмірів діаметрів папул в певних граничних випадках може спричинити кардинально іншу інтерпретацію результатів специфічної алергодіагностики, що може мати значення для подальшого обстеження пацієнтів, елімінації причинних факторів та АСІТ відповідних категорій осіб. Використання медичної термографії покращує та об'єктивізує оцінку результатів шкірного тестування.

Однакові за номенклатурою алергени різних виробників можуть достатньо суттєво відрізнятися між собою за складом алергенних молекул, тому логічним виглядає порівняння результатів тестування ними між собою.

Два комерційних екстракти мікст-алергенів кліщової групи (виробництва «Sevapharma» та «Імунолог») є відтвореними і добре корелюють між собою (прямо пропорційна кореляція сильного ступеня зв'язку, значення коефіцієнта кореляції Спірмена 0,88). Обидва екстракти можна використовувати для діагностики сенсibilізації пацієнтів до кліщових алергенів. При цьому між результатами тестування алергенами «Sevapharma» і «Імунолог» існує систематичне середнє розходження 1,2 мм на користь збільшення діаметра прик-тесту з алергеном вітчизняного виробництва. Це необхідно враховувати при оцінці проб у пацієнтів з сумнівними результатами тестування кліщовими мікст-алергенами «Sevapharma» ($D = 1-2$ мм).

В наступному етапі дослідження проведено обстеження групи пацієнтів з АР та алергічною БА за допомогою шкірного тестування методом прик-тесту та імуноблоту двох різних виробників. В результаті аналізу узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до кліщової групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до *Dermatophagoides pteronyssinus* та *Dermatophagoides farinae* методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте мають систематичне розходження показників. Між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами, а між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides pteronyssinus* та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами, а між даними шкірного тестування з алергенами *Dermatophagoides farinae* та виявленням специфічного IgE

методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

В результаті аналізу узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до пилкової групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену ліщини, дуба, подорожника методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте мають систематичне розходження показників. Аналіз узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до пилкової групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену вільхи, берези, жита, полину методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не дуже добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження показників.

Між даними шкірного тестування з алергенами вільхи та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном вільхи та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами берези та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує відмінна погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном берези та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами ліщини та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном ліщини та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами дуба та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту існує помірна погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном дуба та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами жита, подорожнику та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є помірна погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном жита, подорожнику та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірна погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами полину та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном полину та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту присутня помірна погодженість між результатами досліджень.

В результаті аналізу узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до епідермальної групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену шерсті кішки, шерсті морської свинки, шерсті кролика методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту узгоджуються між собою, проте мають систематичне розходження показників. В результаті аналізу узгодженості тестування методом шкірного прик-тесту та двома різними системами імуноблоту для визначення сенсibilізації до епідермальної групи алергенів визначено, що результати двох систем визначення специфічного IgE до алергену лупи коня, шерсті собаки, шерсті хом'яка методами К - імуноблоту та НК - імуноблоту не досить добре узгоджуються між собою внаслідок систематичного розходження результатів.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є відмінна погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном шерсті кішки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту є відмінна погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами із лупи коня та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном із лупи коня та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом К – імуноблоту є добра погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном шерсті собаки та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту існує задовільна погодженість між результатами досліджень.

Між даними шкірного тестування з алергенами шерсті морської свинки, шерсті хом'яка, шерсті кролика та виявленням специфічного IgE методом К - імуноблоту відсутня погодженість між результатами досліджень, а між даними шкірного тестування з алергеном шерсті морської свинки, шерсті хом'яка, шерсті кролика та виявленням специфічного IgE методом НК - імуноблоту немає погодженості між результатами досліджень.

Отримані результати чітко показують різницю між результатами визначення сенсibilізації до алергенів інгаляційної групи трьома різними методами (*in vivo* та *in vitro*) у пацієнтів з АР та / або алергічною БА. Для певних алергенів погодженість між результатами не є задовільною через систематичне розходження результатів та хибнонегативні / хибнопозитивні результати. Для подальшої оцінки причин подібних розходжень в наступному розділі нами було проведено результати статистичного розрахунку основних параметрів діагностичної значущості методів.

При аналізі основних параметрів діагностичної цінності методів імуноблоту відзначено, що при виявленні позитивних результатів прик-тесту з кліщовими, епідермальними та більшістю пилкових (окрім дуба та жита) алергенами при подальшому обстеженні пацієнта з АР та / або алергічною БА краще користуватися імуноблотуом К - імуноблоту, при виявленні за допомогою шкірного тестування гіперчутливості до алергенів жита і дуба обидва імуноблотуи мають співставні параметри діагностичної цінності, а при виявленні сенсibiliзації до шерсті кролика та морської свинки подальше обстеження рекомендовано проводити без виконання дослідження за допомогою імуноблоту.

Аналізуючи представлені дані, можна зробити висновок, що для визначення сенсibiliзації до алергену берези імуноблоту в порівнянні з МКТ виявився високоспецифічним і низькочутливим, для алергену полину – високоспецифічним та високочутливим, для алергену вільхи – високочутливим та помірноспецифічним, а для алергену ліщини – високочутливим та низькоспецифічним.

В результаті порівняння К - імуноблоту з даними МКТ нами було отримано значення 100,0 % специфічності та 70,6 % чутливості для визначення сенсibiliзації до алергену *Dermatophagoides pteronyssinus*, що означає достатньо високу ймовірність хибно негативних результатів (в середньому, 3 з 10) імуноблоту.

Аналіз діагностичної значимості методів визначення сенсibiliзації до алергенів грибової групи був обмеженим через відсутність на ринку України екстрактів діагностичних алергенів грибів для шкірного тестування. Отримані нами дані показали, що для визначення специфічних IgE до алергену *Alternaria alternata* імуноблоту в порівнянні з МКТ має абсолютні значення чутливості, специфічності, прогностичності негативного результату та негативного результату, оскільки дані повністю співпали (100 %), точність методу склала 100 % (95 % ДІ: 91,19; 100,00). Для визначення специфічних IgE до алергену *Aspergillus fumigatus* імуноблот в порівнянні з МКТ має

високу специфічність (100 %), проте прогностичність негативного результату є нижчою – 87,5 % (95 % ДІ: 87,50; 87,50), а прогностичність позитивного результату і чутливість рівні 0; точність методу склала 87,5 % (95 % ДІ: 73,20; 95,81). Для визначення специфічних IgE до алергену *Cladosporium sp.* імуноблоту в порівнянні з МКТ має високу специфічність та прогностичність позитивного результату (100 %), проте прогностичність негативного результату є нижчою – 89,7 % (95 % ДІ: 84,95; 93,13), а чутливість рівна всього 20,0 %; точність методу склала 90,0 % (95 % ДІ: 76,34; 97,21).

Таким чином, поставлена мета роботи досягнута а її завдання виконані, що дозволило запропонувати нове рішення актуальної проблеми сучасної алергології – удосконалення специфічної алергологічної діагностики бронхіальної астми та алергічного риніту.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на підставі даних клінічних, тестів *in vivo* та *in vitro*, математичних методів дослідження наведено теоретичне узагальнення та нове рішення актуальної проблеми сучасної алергології – удосконалення специфічної алергологічної діагностики бронхіальної астми та алергічного риніту шляхом оцінки компонентного складу екстрактів діагностичних алергенів різних груп, визначення їх регіональних особливостей, аналізу результатів застосування екстрактів алергенів різних виробників, впровадження в практику медичної термографії для об'єктивізації оцінки шкірного тестування з алергенами методом прик-тесту, проведення порівняльного дослідження різних методів визначення сенсibilізації до алергенів, комплексного клінічного та лабораторного аналізу діагностичної значущості екстрактів різних груп алергенів оптимізації підходів до визначення профілю сенсibilізації у відповідних категорій пацієнтів.

1. В більшості препаратів алергенів присутні мажорні та мінорні компоненти, які необхідні для проведення якісної специфічної алергологічної діагностики. Але для окремих алергенів – шерсть вівці, пір'я подушки, тонконіг лучний компонентний склад оцінити не є можливим, оскільки вони представляють собою суміш білків з близькими молекулярними масами. Ряд діагностичних алергенів – шерсть собаки, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, береза, вільха, жито, костриця, соняшник, пажитниця, кукурудза, гречиця містять неалергенні баластні білки, що негативно впливає на результати алергодіагностики.

2. Для екстрактів алергенів характерні регіональні особливості компонентного складу, оскільки пилок берези, зібраний в різних точках України, містить різні мажорні і мінорні компоненти: в зразках з міст Вінниці та Харкова експресія головного мажорного алергену берези Bet v1

становить в середньому 0,6 від калібратора (зразка стандартного екстракту алергену), з м. Львова – 0,7 від калібратора, з міст Києва та Одеси – 1,2 рівня експресії калібратора, а м. Запоріжжя – 1,3 рівня експресії калібратора, що має враховуватися при проведенні специфічної алергодіагностики та імунотерапії.

3. Результати визначення компонентного складу екстрактів алергенів тарегіональних особливостей пилку берези свідчать про необхідність розробки нових підходів до стандартизації алергенних екстрактів, які повинні включати оцінку їх компонентного складу та кількісне визначення мажорних білкових компонентів алергенів.

4. Використання медичної термографії для оцінки результатів шкірного тестування з алергенами методом прик-тесту дозволяє об'єктивізувати вимірювання діаметру папул. При порівнянні результатів візуального та термографічного вимірювань і розміру папули виявляється високий коефіцієнт кореляції між оцінкою тестів ($r = 0,9$), однак різниця між розмірами папули становить в середньому 1,6 мм. Результати візуального аналізу та термографічного вимірювання діаметру папул співпадають лише в 70 % випадків.

5. Результати прик-тесту з різними екстрактами мікст-алергенів кліщової групи відтворюються і добре корелюють між собою (прямо пропорційна кореляція сильного ступеня зв'язку, значення коефіцієнта кореляції Спірмена 0,88), але між результатами тестування алергенами різних виробників існує систематичне середнє розходження діаметру папули 1,2 мм на користь збільшення діаметра прик-тесту з алергеном вітчизняного виробництва, тому результати тестувань з комерційними екстрактами алергенів різних виробників недоцільно порівнювати будь-яким чином, окрім категорійної оцінки.

6. Визначення сенсibilізації до алергенів за допомогою каліброваного імуноблоту в порівнянні з шкірним прик-тестом володіє відмінною діагностичною значимістю (площа AUC 0,900 – 0,965) для кліщових

алергенів *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronissinus*, епідермальних алергенів шерсті кішки, собаки, хом'яка та лупи коня, пилкових алергенів берези, ліщини, вільхи, подорожника, полину, дуже доброю діагностичною значимістю (площа AUC 0,8-0,9) для алергенів жита і дуба, незадовільною діагностичною значимістю (площа AUC менше 0,6) для алергенів шерсті морської свинки та кролика.

7. Визначення сенсibiliзації до алергенів за допомогою некаліброваного імуноблоту в порівнянні з шкірним тестуванням методом прик-тесту володіє відмінною діагностичною значимістю (площа AUC 0,900-0,965) для алергенів подорожника та шерсті кішки, дуже доброю діагностичною значимістю (площа AUC 0,8-0,9) для алергенів жита і дуба, доброю діагностичною значимістю (площа AUC 0,8-0,7) для кліщових алергенів *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronissinus*, епідермальних алергенів шерсті собаки та лупи коня, пилкових алергенів берези, ліщини, вільхи, полину, незадовільною діагностичною значимістю (площа AUC менше 0,6) для алергенів шерсті морської свинки, хом'яка та кролика.

8. Різні лабораторні методи (калібрований, некалібрований імуноблот, молекулярний компонентний тест) визначення гіперчутливості до алергенів різних груп при порівнянні їх результатів між собою демонструють різні специфічність та чутливість, що слід враховувати при виборі методу визначення рівня алерген-специфічних IgE.

9. З метою оптимізації специфічної алергодіагностики при алергічному риніті та бронхіальній астмі доцільно застосовувати модифіковані схеми діагностичного пошуку, які базуються на різній послідовності використання шкірних прик-тестів та лабораторних методів визначення гіперчутливості до алергенів різних груп.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В процедуру стандартизації екстрактів діагностичних алергенів для шкірного тестування методом прик-тесту слід включити аналіз компонентного складу кожного з алергенів та кількісне визначення основних мажорних білкових компонентів.

2. Внаслідок відсутності єдиних системних підходів до стандартизації екстрактів діагностичних алергенів і різного компонентного складу екстрактів різних виробників, слід проводити лише якісне порівняння результатів шкірного тестування методом прик-тесту.

3. Для оцінювання результатів шкірного тестування методом прик-тесту рекомендоване використання медичної термографії (UltrVisionTI - 120), що в порівнянні з класичною візуальною оцінкою має більшу точність та підвищує об'єктивність оцінки даних шкірного тестування.

4. При підозрі на сенсibilізацію до алергенів кліщової, епідермальної груп та пилку берези у пацієнтів з бронхіальною астмою та алергічним ринітом замість класичної діагностичної методики використовується модифікована схема, за якою при відсутності позитивного результату визначення сенсibilізації за допомогою прик-тестів та/або імуоблоту в якості первинного методу обстеження здійснюється молекулярне компонентне дослідження методом ImmunoCapISAC.

5. При підозрі на сенсibilізацію до алергенів грибкової групи (*Alternaria alternata*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus fumigatus*) використовується алгоритм «згори вниз», коли первинним методом обстеження стає компонентна алергодіагностика.

6. При підозрі на сенсibiliзацію до алергену полину застосовується класичний діагностичний пошук, який розпочинається з шкірного тестування методом прик-тесту (за наявності протипоказів до нього – з імуноблоту), в подальшому за необхідності виконується компонентний молекулярний тест; для алергенів ліщини та вільхи у якості первинного методу обстеження залишаються шкірне тестування з алергенами та виконання за необхідності компонентного молекулярного тесту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Chauveau, A, M-L Dalphin, F Mauny, V Kaulek, E Schmausser-Hechfellner, H Renz, J Riedler, et al. 2017. Skin prick tests and specific IgE in 10-year-old children: Agreement and association with allergic diseases. *Allergy* 72. Denmark: 1365–1373. <https://doi.org/10.1111/all.13148>.
2. Seidman, Michael D., Richard K. Gurgel, Sandra Y. Lin, Seth R. Schwartz, Fuad M. Barood, James R. Bonner, Douglas E. Dawson, et al. 2015. Clinical Practice Guideline: Allergic Rhinitis. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. <https://doi.org/10.1177/0194599814561600>.
3. Srisuwatchari, W, P Kwanthong, C Bunnag, P Pacharn, O Jirapongsananuruk, and N Visitsunthorn. 2020. Association between skin prick test and serum specific immunoglobulin E to American cockroach allergens in allergic rhinitis patients. *Allergologia et immunopathologia* 48. Spain: 170–174. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2019.07.007>.
4. Bousquet, J, H J Schunemann, J Fonseca, B Samolinski, C Bachert, G W Canonica, T Casale, et al. 2015. MACVIA-ARIA Sentinel Network for allergic rhinitis (MASK-rhinitis): the new generation guideline implementation. *Allergy* 70. Denmark: 1372–1392. <https://doi.org/10.1111/all.12686>.
5. Meltzer, Eli O. 2016. Allergic Rhinitis: Burden of Illness, Quality of Life, Comorbidities, and Control. *Immunology and allergy clinics of North America* 36. United States: 235–248. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2015.12.002>.
6. Scadding, Glenis K., and Guy W. Scadding. 2016. Diagnosing Allergic Rhinitis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2015.12.003>.
7. Okubo, Kimihiro, Yuichi Kurono, Keiichi Ichimura, Tadao Enomoto,

- Yoshitaka Okamoto, Hideyuki Kawauchi, Harumi Suzaki, Shigeharu Fujieda, and Keisuke Masuyama. 2017. Japanese guidelines for allergic rhinitis 2017. *Allergology International*. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2016.11.001>.
8. Incorvaia, C, C Cavaliere, F Frati, and S Masieri. 2018. Allergic rhinitis. *Journal of biological regulators and homeostatic agents* 32. Italy: 61–66.
 9. Bousquet, Jean, Holger J Schünemann, Akdis Togias, Claus Bachert, Martina Erhola, Peter W Hellings, Ludger Klimek, et al. 2020. Next-generation Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma (ARIA) guidelines for allergic rhinitis based on Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE) and real-world evidence. *The Journal of allergy and clinical immunology* 145. United States: 70-80.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.06.049>.
 10. Yan, Junmei, Jing Chen, Haiqi Li, and Yan Hu. 2018. The comparison of skin prick test, serological specific IgE test and solid phase immunoassay in the diagnosis of infantile allergic diseases. *Minerva pediatrica*. Italy. <https://doi.org/10.23736/S0026-4946.18.05199-X>.
 11. Loftus, Patricia A, and Sarah K Wise. 2016. Epidemiology of asthma. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery* 24. United States: 245–249. <https://doi.org/10.1097/MOO.0000000000000262>.
 12. Tejedor Alonso, M. A., M. Moro Moro, and M. V. Múgica García. 2015. Epidemiology of anaphylaxis. *Clinical and Experimental Allergy*. <https://doi.org/10.1111/cea.12418>.
 13. Lambrecht, Bart N, and Hamida Hammad. 2017. The immunology of the allergy epidemic and the hygiene hypothesis. *Nature immunology* 18. United States: 1076–1083. <https://doi.org/10.1038/ni.3829>.
 14. Flom, Julie D., and Scott H. Sicherer. 2019. Epidemiology of cow's milk allergy. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu11051051>.
 15. Bousquet, Jean, Peter W Hellings, Ioana Agache, Flore Amat, Isabella Annesi-Maesano, Ignacio J Ansotegui, Josep M Anto, et al. 2019. Allergic

- Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) Phase 4 (2018): Change management in allergic rhinitis and asthma multimorbidity using mobile technology. *The Journal of allergy and clinical immunology* 143. United States: 864–879. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.08.049>.
16. Custovic, Adnan. 2017. Chapter 3 - Epidemiology of Allergic Diseases. In , ed. Robyn E. O’Hehir, Stephen T. Holgate, and Aziz B. T. Middleton’s Allergy Essentials Sheikh, 51–72. Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-37579-5.00003-9>.
 17. Scadding, G. K., H. H. Kariyawasam, G. Scadding, R. Mirakian, R. J. Buckley, T. Dixon, S. R. Durham, et al. 2017. BSACI guideline for the diagnosis and management of allergic and non-allergic rhinitis (Revised Edition 2017; First edition 2007). *Clinical and Experimental Allergy*. <https://doi.org/10.1111/cea.12953>.
 18. Martinez, Fernando D., and Donata Vercelli. 2013. Asthma. *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61536-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61536-6).
 19. Wise, Sarah K., Sandra Y. Lin, Elina Toskala, Richard R. Orlandi, Cezmi A. Akdis, Jeremiah A. Alt, Antoine Azar, et al. 2018. International Consensus Statement on Allergy and Rhinology: Allergic Rhinitis. *International Forum of Allergy and Rhinology*. <https://doi.org/10.1002/alr.22073>.
 20. Sompornrattanaphan, Mongkhon, Torpong Thongngarm, Pailin Ratanawatkul, Chamard Wongsas, and Jeffrey J Swigris. 2020. The contribution of particulate matter to respiratory allergy. *Asian Pacific journal of allergy and immunology* 38. Thailand: 19–28. <https://doi.org/10.12932/AP-100619-0579>.
 21. Kakli, Hasan A., and Timothy D. Riley. 2016. Allergic Rhinitis. *Primary Care - Clinics in Office Practice*. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2016.04.009>.
 22. Small, Peter, Paul K. Keith, and Harold Kim. 2018. Allergic rhinitis. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0280-7>.
 23. Scadding, Glenis K. 2015. Optimal management of allergic rhinitis. *Archives*

- of Disease in Childhood*. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2014-306300>.
24. Nagaraju, Major K. 2017. Allergic rhinitis in children. In *Allergy and Allergen Immunotherapy: New Mechanisms and Strategies*. <https://doi.org/10.1201/9781315207520>.
 25. Tharpe, Chet A., and Stephen F. Kemp. 2015. Pediatric Allergic Rhinitis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2014.09.003>.
 26. Bousquet, Jean, Holger J. Schünemann, Akdis Togias, Claus Bachert, Martina Erhola, Peter W. Hellings, Ludger Klimek, et al. 2020. Next-generation Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma (ARIA) guidelines for allergic rhinitis based on Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE) and real-world evidence. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.06.049>.
 27. Incorvaia, C., C. Cavaliere, F. Frati, and S. Masieri. 2018. Allergic rhinitis. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. <https://doi.org/10.21518/2079-701x-2018-20-76-79>.
 28. Pefura-Yone, Eric Walter, André Pascal Kengne, Adamou Dodo Balkissou, Julie RaïBoulleys-Nana, Nelly Rachel Efe-de-Melingui, Patricia Ingrid Ndjéutcheu-Moualeu, Charles Lebon Mbele-Onana, et al. 2015. Prevalence of asthma and allergic rhinitis among adults in yaounde, Cameroon. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123099>.
 29. Giavina-Bianchi, Pedro, Marcelo Vivolo Aun, Priscila Takejima, Jorge Kalil, and Rosana Câmara Agondi. 2016. United airway disease: Current perspectives. *Journal of Asthma and Allergy*. <https://doi.org/10.2147/JAA.S81541>.
 30. Cardell, Lars Olaf, Petter Olsson, Morgan Andersson, Karl Olof Welin, Johanna Svensson, Gunnel Ragnarson Tennvall, and Johan Hellgren. 2016. TOTALL: High cost of allergic rhinitis - A national Swedish population-based questionnaire study. *npj Primary Care Respiratory Medicine*. <https://doi.org/10.1038/npjpcrm.2015.82>.

31. Linneberg, A., K. Dam Petersen, J. Hahn-Pedersen, E. Hammerby, N. Serup-Hansen, and N. Boxall. 2016. Burden of allergic respiratory disease: A systematic review. *Clinical and Molecular Allergy*. <https://doi.org/10.1186/s12948-016-0049-9>.
32. Solé, Dirceu, Nelson A. Rosário Filho, Emanuel S. Sarinho, Inês C. Camelo-Nunes, Bruno A. Paes Barreto, Mércia L. Medeiros, Jackeline Motta Franco, et al. 2015. Prevalence of asthma and allergic diseases in adolescents: Nine-year follow-up study (2003-2012). *Jornal de Pediatria*. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2014.05.002>.
33. Kim, Hyeong Yun, Eun Byul Kwon, Ji Hyeon Baek, Youn Ho Shin, Hye Yung Yum, Hye Mi Jee, Jung Won Yoon, and Man Yong Han. 2013. Prevalence and comorbidity of allergic diseases in preschool children. *Korean Journal of Pediatrics*. <https://doi.org/10.3345/kjp.2013.56.8.338>.
34. Weiland, Stephan K., B. Björkstén, B. Brunekreef, W. O.C. Cookson, E. von Mutius, D. P. Strachan, B. Bjsorkstén, et al. 2004. Phase II of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC II): Rationale and methods. *European Respiratory Journal*. <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00090303>.
35. Global Asthma Network. 2018. *the Global Asthma Report 2018*. Auckland, New Zealand.
36. Zhang, Yuan, and Luo Zhang. 2019. Increasing Prevalence of Allergic Rhinitis in China. *Allergy, asthma & immunology research* 11: 156–169. <https://doi.org/10.4168/aaair.2019.11.2.156>.
37. Feshchenko, Y. I. 2018. Urgent Challenges of Modern Pulmonology. *Ukrainian Pulmonology Journal* 101: 5–12. <https://doi.org/10.31215/2306-4927-2018-101-3-5-12>.
38. Feshchenko, Y. I., I. F. Illyinskaya, L. V. Arefieva, and L. M. Kuryk. 2018. Non-controlled bronchial asthma: the contemporary condition of the problem. *Asthma and allergy* 5: 20–25. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2018-2-20-25>.

39. Feshchenko, Yu. I., L. O. Iashyna, D. M. Boiko, V. K. Gavrysiuk, O. O. Krakhmalova, L. F. Matiukha, Yu. M. Mostovoy, et al. 2020. ADAPTED EVIDENCE-BASED CLINICAL GUIDELINES: BRONCHIAL ASTHMA(Part 1). *Asthma and allergy*: 5–26. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2020-2-5-26>.
40. Барзилович, В, І Гогунська, Д Заболотна, С Зайков, И Кайдашев, Т Уманець, В Чоп, et al. 2019. Проблеми екології та медицини ПРОЕКТ “ARIA ”: ШЛЯХИ НАДАННЯ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ ПРИ АЛЕРГІЧНОМУ РИНИТІ (2019 РІК) – УКРАЇНА *: 3–14.
41. Яшина, Л О, Бронхіальна Астма, Актуальна Проблема, Г У Национальный, Ф Г Яновского, and Намн Украины. 2018. БРОНХІАЛЬНА АСТМА — АКТУАЛЬНА ПРОБЛЕМА СЬОГОДЕННЯ: 16–20.
42. Koretskaia, I. V., and Ye. Dytyatkovska. 2019. Features of Pollinic Sensitization in Patients With Pollinosis in the City of Dnipro. *Asthma and allergy* 2019: 29–34. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2019-3-29-34>.
43. Гацкая, Д О, and И В Корицкая. 2015. Динамика распространенности аллергических заболеваний среди детей и молодежи Винницкой области (результаты 1-го этапа эпидемиологического исследования) 2.
44. Pawankar, Ruby. 2014. Allergic diseases and asthma: a global public health concern and a call to action. *The World Allergy Organization journal* 7: 12. <https://doi.org/10.1186/1939-4551-7-12>.
45. Lindner, Melanie. 2010. When allergies attack. It’s not just you. Allergies are increasing nationwide--and so is the impact on the work place. *Fortune*. United States.
46. Blaiss, Michael S, Eva Hammerby, Susan Robinson, Tessa Kennedy-Martin, and Sarah Buchs. 2018. The burden of allergic rhinitis and allergic rhinoconjunctivitis on adolescents: A literature review. *Annals of allergy, asthma & immunology* □: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology 121. United States: 43-52.e3.

- <https://doi.org/10.1016/j.anai.2018.03.028>.
47. Nunes, Carlos, Ana Margarida Pereira, and Mário Morais-Almeida. 2017. Asthma costs and social impact. *Asthma Research and Practice*. <https://doi.org/10.1186/s40733-016-0029-3>.
 48. National Asthma Council Australia. 2016. Australian Asthma Handbook. In *Australian Asthma Handbook*.
 49. Brožek, Jan L., Jean Bousquet, Ioana Agache, Arnav Agarwal, Claus Bachert, Sinthia Bosnic-Anticevich, Romina Brignardello-Petersen, et al. 2017. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines—2016 revision. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.03.050>.
 50. Global Initiative for Asthma. 2020. Global Initiative for Asthma: Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2020). *Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(96\)80056-6](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(96)80056-6).
 51. Barranco Sanz, Pilar, Alfonso Del Cuvillo Bernal, Julio Delgado Romero, Luis M. Manuel Entrenas Costa, Leovigildo Ginel Mendoza, Jordi Giner Donaire, Javier Korta Murua, et al. 2016. SPANISH GUIDELINE ON THE MANAGEMENT OF ASTHMA. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. <https://doi.org/10.18176/jiaci.0065>.
 52. Global Initiative for Asthma. 2014. Global strategy for asthma management and prevention © 2014. *Global Initiative for Asthma*.
 53. Papi, Alberto, Christopher Brightling, Søren E Pedersen, and Helen K Reddel. 2018. Asthma. *Lancet (London, England)* 391. England: 783–800. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33311-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33311-1).
 54. Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). 1996. *The European respiratory journal* 9. England: 687–695. <https://doi.org/10.1183/09031936.96.09040687>.

55. Hendaus, Mohamed A., Fatima A. Jomha, and Mohammad Ehlayel. 2016. Allergic diseases among children: Nutritional prevention and intervention. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S98100>.
56. Patel, Shilpa J., and Stephen J. Teach. 2019. Asthma. *Pediatrics in Review*. <https://doi.org/10.1542/pir.2018-0282>.
57. de Benedictis, Fernando Maria, and Marina Attanasi. 2016. Asthma in childhood. *European respiratory review*: an official journal of the European Respiratory Society 25. England: 41–47. <https://doi.org/10.1183/16000617.0082-2015>.
58. Ferrante, Giuliana, and Stefania La Grutta. 2018. The Burden of Pediatric Asthma. *Frontiers in pediatrics* 6: 186. <https://doi.org/10.3389/fped.2018.00186>.
59. Schwarze, J, P Openshaw, A Jha, S R Del Giacco, D Firinu, O Tsilochristou, G Roberts, et al. 2018. Influenza burden, prevention, and treatment in asthma-A scoping review by the EAACI Influenza in asthma task force. *Allergy* 73. Denmark: 1151–1181. <https://doi.org/10.1111/all.13333>.
60. Ehteshami-Afshar, S, J M FitzGerald, M M Doyle-Waters, and M Sadatsafavi. 2016. The global economic burden of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *The international journal of tuberculosis and lung disease*: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease 20. France: 11–23. <https://doi.org/10.5588/ijtld.15.0472>.
61. Fuhlbrigge, Anne L., Benita Jackson, and Rosalind J. Wright. 2002. Gender and asthma. *Immunology and Allergy Clinics of North America* 22: 753–789. [https://doi.org/10.1016/S0889-8561\(02\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0889-8561(02)00022-X).
62. Dharmage, Shyamali C, Jennifer L Perret, and Adnan Custovic. 2019. Epidemiology of Asthma in Children and Adults. *Frontiers in pediatrics* 7: 246. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00246>.
63. Руденко, С М. 2019. Базисна терапія бронхіальної астми у дітей: 196–

- 201.
64. Feshchenko, Y. I., L. O. Iashyna, V. I. Ignatieva, M. O. Polianska, K. V. Nazarenko, G. L. Gumeniuk, S. M. Moskalenko, S. G. Opimakh, and I. V. Zvol. 2019. Features of Bronchial Asthma With Neutrophilic Inflammation. *Asthma and allergy* 2019: 35–40. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2019-3-35-40>.
 65. Dylan Trotsek. 2017. 濟無No Title No Title. *Journal of Chemical Information and Modeling* 110: 1689–1699.
 66. Bousquet, Jean, Peter W. Hellings, Ioana Agache, Flore Amat, Isabella Annesi-Maesano, Ignacio J. Ansotegui, Josep M. Anto, et al. 2019. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) Phase 4 (2018): Change management in allergic rhinitis and asthma multimorbidity using mobile technology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.08.049>.
 67. Bousquet, J., P. W. Hellings, I. Agache, A. Bedbrook, C. Bachert, K. C. Bergmann, M. Bewick, et al. 2016. ARIA 2016: Care pathways implementing emerging technologies for predictive medicine in rhinitis and asthma across the life cycle. *Clinical and Translational Allergy*. <https://doi.org/10.1186/s13601-016-0137-4>.
 68. Wright, A L, C J Holberg, F D Martinez, M Halonen, W Morgan, and L M Taussig. 1994. Epidemiology of physician-diagnosed allergic rhinitis in childhood. *Pediatrics* 94. United States: 895–901.
 69. Зайков, С В, Д О Гацька, and І В Корицька. 2015. Поширеність алергічних захворювань (бронхіальної астми , алергічного риніту , атопічного дерматиту) серед дітей та молоді Вінницької області (результати 2-го етапу клініко - епідеміологічного дослідження) 2: 28–34.
 70. Гацька, Д О, and І В Корицька. 2015. Поширеність та клінічні особливості алергічного риніту у дітей та молоді Вінницької області (результати 2-го етапуклініко-епідеміологічного дослідження). *Астма*

- та алергія*. Національна академія медичних наук України, Національний інститут фтизіатрії: 31–36.
71. Justiz Vaillant, Angel A, Pranav Modi, and Arif Jan. 2020. Atopy. In . Treasure Island (FL).
 72. Hill, David A, and Jonathan M Spergel. 2018. The atopic march: Critical evidence and clinical relevance. *Annals of allergy, asthma & immunology* □: *official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 120: 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2017.10.037>.
 73. von Kobyletzki, Laura B, Carl-Gustaf Bornehag, Mikael Hasselgren, Malin Larsson, Cecilia Boman Lindström, and Åke Svensson. 2012. Eczema in early childhood is strongly associated with the development of asthma and rhinitis in a prospective cohort. *BMC dermatology* 12: 11. <https://doi.org/10.1186/1471-5945-12-11>.
 74. Barberio, G, G B Pajno, D Vita, L Caminiti, G W Canonica, and G Passalacqua. 2008. Does a “reverse” atopic march exist? *Allergy* 63. Denmark: 1630–1632. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2008.01710.x>.
 75. Acevedo, Nathalie, Jorge Sánchez, Josefina Zakzuk, Adriana Bornacelly, Carlos Quiróz, Álvaro Alvarez, Marta Puello, et al. 2012. Particular characteristics of allergic symptoms in tropical environments: follow up to 24 months in the FRAAT birth cohort study. *BMC pulmonary medicine* 12: 13. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-12-13>.
 76. Walker, Samantha, Saba Khan-Wasti, Monica Fletcher, Paul Cullinan, Jessica Harris, and Aziz Sheikh. 2007. Seasonal allergic rhinitis is associated with a detrimental effect on examination performance in United Kingdom teenagers: Case-control study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.03.034>.
 77. van Hage, Marianne, Carl Hamsten, and Rudolf Valenta. 2017. ImmunoCAP assays: Pros and cons in allergology. *The Journal of allergy and clinical immunology* 140. United States: 974–977. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.008>.

78. Sato, Sakura, Noriyuki Yanagida, and Motohiro Ebisawa. 2018. How to diagnose food allergy. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 18. United States: 214–221. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000441>.
79. Gupta, Neeraj, Poojan Agarwal, Anil Sachdev, and Dhiren Gupta. 2019. Allergy Testing - An Overview. *Indian pediatrics* 56. India: 951–957.
80. Castillo, Jamee R, Stephen P Peters, and William W Busse. 2017. Asthma Exacerbations: Pathogenesis, Prevention, and Treatment. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice* 5: 918–927. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2017.05.001>.
81. Frati, F, C Incorvaia, C Cavaliere, G Di Cara, F Marcucci, S Esposito, and S Masieri. 2018. The skin prick test. *Journal of biological regulators and homeostatic agents* 32. Italy: 19–24.
82. Alimuddin, Suriani, Iris Rengganis, Cleopas M Rumende, and Siti Setiati. 2018. Comparison of Specific Immunoglobulin E with the Skin Prick Test in the Diagnosis of House Dust Mites and Cockroach Sensitization in Patients with Asthma and/or Allergic Rhinitis. *Acta medica Indonesiana* 50. Indonesia: 125–131.
83. Bignardi, D, P Comite, I Mori, F Ferrero, V Fontana, M Bruzzzone, M Mussap, and G Ciprandi. 2019. Allergen-specific IgE: comparison between skin prick test and serum assay in real life. *Allergologie select* 3: 9–14. <https://doi.org/10.5414/ALX01891E>.
84. Mortuaire, G., J. Michel, J. F. Papon, O. Malard, D. Ebbo, L. Crampette, R. Jankowski, A. Coste, and E. Serrano. 2017. Specific immunotherapy in allergic rhinitis. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2017.06.005>.
85. Gupta, Malika, Amanda Cox, Anna Nowak-Węgrzyn, and Julie Wang. 2018. Diagnosis of Food Allergy. *Immunology and allergy clinics of North America* 38. United States: 39–52. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2017.09.004>.
86. Castells, Mariana. 2017. Diagnosis and management of anaphylaxis in precision medicine. *The Journal of allergy and clinical immunology* 140.

- United States: 321–333. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.06.012>.
87. Matricardi, P M, J Kleine-Tebbe, H J Hoffmann, R Valenta, C Hilger, S Hofmaier, R C Aalberse, et al. 2016. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatric allergy and immunology*: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology 27 Suppl 2. England: 1–250. <https://doi.org/10.1111/pai.12563>.
 88. Patel, Gayatri, and Carol Saltoun. 2019. Skin testing in allergy. *Allergy and asthma proceedings* 40. United States: 366–368. <https://doi.org/10.2500/aap.2019.40.4248>.
 89. Carmona-Gil, Ana M, Jorge Sánchez, and Juan Maldonado-Estrada. 2019. Evaluation of Skin Prick-Test Reactions for Allergic Sensitization in Dogs With Clinical Symptoms Compatible With Atopic Dermatitis. A Pilot Study. *Frontiers in veterinary science* 6: 448. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00448>.
 90. Skin Testing for Allergic Rhinitis: A Health Technology Assessment. 2016. *Ontario health technology assessment series* 16: 1–45.
 91. van der Valk, J P M, R Gerth van Wijk, E Hoorn, L Groenendijk, I M Groenendijk, and N W de Jong. 2015. Measurement and interpretation of skin prick test results. *Clinical and translational allergy* 6: 8. <https://doi.org/10.1186/s13601-016-0092-0>.
 92. Cuomo, Barbara, Giovanni Cosimo Indirli, Annamaria Bianchi, Stefania Arasi, Davide Caimmi, Arianna Dondi, Stefania La Grutta, Valentina Panetta, Maria Carmen Verga, and Mauro Calvani. 2017. Specific IgE and skin prick tests to diagnose allergy to fresh and baked cow's milk according to age: a systematic review. *Italian journal of pediatrics* 43: 93. <https://doi.org/10.1186/s13052-017-0410-8>.
 93. Japundžić, Iva, Marin Vodanović, and Liborija Lugović-Mihić. 2018. An Analysis of Skin Prick Tests to Latex and Patch Tests to Rubber Additives and other Causative Factors among Dental Professionals and Students with Contact Dermatoses. *International archives of allergy and immunology* 177.

- Switzerland: 238–244. <https://doi.org/10.1159/000490181>.
94. Nevis, Immaculate F, Karen Binkley, and Conrad Kabali. 2016. Diagnostic accuracy of skin-prick testing for allergic rhinitis: a systematic review and meta-analysis. *Allergy, asthma, and clinical immunology* □: *official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology* 12: 20. <https://doi.org/10.1186/s13223-016-0126-0>.
 95. Coop, Christopher A, and Joseph P Forester. 2016. Comparison of pain during skin-prick testing, immunizations, and phlebotomy. *Allergy and asthma proceedings* 37. United States: 93–97. <https://doi.org/10.2500/aap.2016.37.3961>.
 96. Nelson, Ryan W, Amy E O’Connell, Fayhan Alroqi, Kosuke Kawai, Michael C Young, and Ana Dioun Broyles. 2019. Duplicate skin prick testing in the assessment of food allergy. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*. United States. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.07.024>.
 97. Ebruster, H. 1959. [The prick test, a recent cutaneous test for the diagnosis of allergic disorders]. *Wiener klinische Wochenschrift* 71: 551–554.
 98. Mostafa, HanyS, Mohamed Qotb, MohammedA Hussein, and Ahmed Hussein. 2019. Allergic rhinitis diagnosis: skin-prick test versus laboratory diagnostic methods. *The Egyptian Journal of Otolaryngology* 35: 262. https://doi.org/10.4103/ejo.ejo_8_19.
 99. Bogomolov, A E. 2020. Disagreement between skin prick test and specific IgE levels in patients with respiratory allergy (literature review and our own research data).
 100. Bogomolov, A. Ye. 2020. Determination of Hazel Allergen Sensitization in Patients With Respiratory Allergic Diseases: Comparing the Diagnostic Value of Different Methods. *Clinical & experimental pathology* 19. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.xix.1.71.2020.3>.
 101. А., Богомолів. 2020. Визначення сенсibiliзації до кліщових алергенів за допомогою імуноблоту та мультиплексного компонентного тестування 5071: 43–48.

102. Bogomolov, A.Ye. 2019. Skin Prick Test Versus Western Blot Specificity and Sensitivity for Mugwort (*Artemisia*) Pollen Sensitization Determination in Patients With Respiratory Allergy. *Asthma and allergy*: 50–54. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2019-4-50-54>.
103. Про організаційні заходи по впровадженню сучасних технологій діагностики та лікування алергічних захворювань. Наказ МОЗ України N 127/18 від 02.04.2002.
104. Heinzerling, Lucie, Adriano Mari, Karl-Christian Bergmann, Megon Bresciani, Guido Burbach, Ulf Darsow, Stephen Durham, et al. 2013. The skin prick test - European standards. *Clinical and translational allergy* 3: 3. <https://doi.org/10.1186/2045-7022-3-3>.
105. Goldberg, A, and R Confino-Cohen. 1997. Timing of venom skin tests and IgE determinations after insect sting anaphylaxis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 100. United States: 182–184. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(97\)70222-7](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(97)70222-7).
106. Ruëff, F, K-C Bergmann, K Brockow, T Fuchs, A Gröbl, K Jung, L Klimek, et al. 2011. [Skin tests for diagnostics of allergic immediate-type reactions. Guideline of the German Society for Allergology and Clinical Immunology]. *Pneumologie (Stuttgart, Germany)* 65. Germany: 484–495. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1256476>.
107. Bernstein, I L, and W W Storms. 1995. Practice parameters for allergy diagnostic testing. Joint Task Force on Practice Parameters for the Diagnosis and Treatment of Asthma. The American Academy of Allergy, Asthma and Immunology and the American College of Allergy, Asthma and Immunology. *Annals of allergy, asthma & immunology* □: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology 75. United States: 543–625.
108. Nelson, H S, J Knoetzer, and B Bucher. 1996. Effect of distance between sites and region of the body on results of skin prick tests. *The Journal of allergy and clinical immunology* 97. United States: 596–601.

- [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(96\)70304-4](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(96)70304-4).
109. Piette, V, E Bourret, J Bousquet, and P Demoly. 2002. Prick tests to aeroallergens: is it possible simply to wipe the device between tests? *Allergy* 57. Denmark: 940–942. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2002.23536.x>.
 110. Gogunskaya, I, S Zaikov, and A Bogomolov. 2020. DIAGNOSTIC PARAMETERS OF IN VIVO (SKIN PRICK) AND IN VITRO (ELISA) TESTS FOR DETERMINATION OF EPIDERMAL CAT AND DOG ALLERGENS SENSITIZATION IN PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS AND ATOPIC ASTHMA. *Georgian medical news*. Georgia (Republic): 76–81.
 111. Bousquet, J., L. Heinzerling, C. Bachert, N. G. Papadopoulos, P. J. Bousquet, P. G. Burney, G. W. Canonica, et al. 2012. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x>.
 112. Cannon, Julie, and Paul Cullinan. 2019. Skin prick testing. *Occupational Medicine*. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqz055>.
 113. Sellaturay, Priya, Shuaib Nasser, and Pamela Ewan. 2015. The incidence and features of systemic reactions to skin prick tests. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2015.07.005>.
 114. Van Der Valk, J. P.M., R. Gerth Van Wijk, E. Hoorn, L. Groenendijk, I. M. Groenendijk, and N. W. De Jong. 2016. Measurement and interpretation of skin prick test results. *Clinical and Translational Allergy*. <https://doi.org/10.1186/s13601-016-0092-0>.
 115. Griffiths, Rebecca L.M., Tariq El-Shanawany, Stephen R.A. Jolles, Clive Selwood, Adrian G. Heaps, Emily M. Carne, and Paul E. Williams. 2017. Comparison of the Performance of Skin Prick, ImmunoCAP, and ISAC Tests in the Diagnosis of Patients with Allergy. *International Archives of Allergy and Immunology*. <https://doi.org/10.1159/000464326>.
 116. Nevis, Immaculate F., Karen Binkley, and Conrad Kabali. 2016. Diagnostic accuracy of skin-prick testing for allergic rhinitis: A systematic review and

- meta-analysis. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*.
<https://doi.org/10.1186/s13223-016-0126-0>.
117. Bogomolov, Artemii. 2020. Comparative analysis of skin prick test with immunoblotting of different manufacturers in the context of determining the sensitization to birch allergen in patients with respiratory allergic diseases. *Otorhinolaryngology*: 20–27. <https://doi.org/10.37219/2528-8253-2019-6-20>.
 118. Linhart, Birgit, and Rudolf Valenta. 2012. Vaccines for allergy. *Current Opinion in Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2012.03.006>.
 119. Carnés, Jerónimo, Víctor Iraola, Seong H. Cho, and Robert E. Esch. 2017. Mite allergen extracts and clinical practice. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2016.08.018>.
 120. Mueller, Ralf S. 2019. Update on Allergen Immunotherapy. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.08.001>.
 121. Des Roches, Anne, Louis Paradis, Jean Luc Menardo, Stéphane Bouges, Jean Pierre Daurés, and Jean Bousquet. 1997. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(97\)70069-1](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(97)70069-1).
 122. Senti, G., S. Von Moos, F. Tay, N. Graf, P. Johansen, and Tomas M. Kündig. 2015. Determinants of efficacy and safety in epicutaneous allergen immunotherapy: Summary of three clinical trials. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1111/all.12600>.
 123. Zhernov, Yury, Mirela Curin, Musa Khaitov, Alexander Karaulov, and Rudolf Valenta. 2019. Recombinant allergens for immunotherapy: State of the art. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000536>.
 124. Frati, Franco, Cristoforo Incorvaia, Marie David, Silvia Scurati, Simona Seta, Guglielmo Padua, Eleonora Cattaneo, et al. 2012. Requirements for acquiring a high-quality house dust mite extract for allergen immunotherapy. *Drug*

- Design, Development and Therapy*. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S30908>.
125. Du Toit, George, Graham Roberts, Peter H. Sayre, Henry T. Bahnson, Suzana Radulovic, Alexandra F. Santos, Helen A. Brough, et al. 2015. Randomized Trial of Peanut Consumption in Infants at Risk for Peanut Allergy. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1414850>.
 126. van Hage, Marianne, Carl Hamsten, and Rudolf Valenta. 2017. ImmunoCAP assays: Pros and cons in allergology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.008>.
 127. Sun, Wangming, Lingzhi Pan, Qiying Yu, Yan Sun, Xiangyan Zeng, Xiaoli Bai, and Mengrong Li. 2018. The skin prick test response after allergen immunotherapy in different levels of tIgE children with mite sensitive Asthma/Rhinitis in South China. *Human vaccines & immunotherapeutics* 14: 2510–2515. <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1482171>.
 128. Scala, E, D Villalta, G Meneguzzi, I Brusca, and L Cecchi. 2020. Comparison of the Performance of Skin Prick and ISAC Tests in the Diagnosis of Allergy. *European annals of allergy and clinical immunology*. Italy. <https://doi.org/10.23822/EurAnnACI.1764-1489.135>.
 129. Nicholson, Paul J. 2019. When to patch test and when to prick test. *Occupational medicine (Oxford, England)*. England. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqz106>.
 130. Nam, Young-Hee, and Soo-Keol Lee. 2017. Comparison between skin prick test and serum immunoglobulin E by CAP system to inhalant allergens. *Annals of allergy, asthma & immunology*: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology 118. United States: 608–613. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2017.03.005>.
 131. Justo, X, I Díaz, J J Gil, and G Gastaminza. 2016. Prick test: evolution towards automated reading. *Allergy* 71. Denmark: 1095–1102. <https://doi.org/10.1111/all.12921>.
 132. Chauveau, Amandine, Marie-Laure Dalphin, Vincent Kaulek, Caroline

- Roduit, Aurore Pugin, Erika von Mutius, Dominique Angèle Vuitton, and Jean-Charles Dalphin. 2016. Disagreement between Skin Prick Tests and Specific IgE in Early Childhood. *International archives of allergy and immunology* 170. Switzerland: 69–74. <https://doi.org/10.1159/000446776>.
133. McCann, William A, and Dennis R Ownby. 2002. The reproducibility of the allergy skin test scoring and interpretation by board-certified/board-eligible allergists. *Annals of allergy, asthma & immunology* □: *official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 89. United States: 368–371. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)62037-6](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)62037-6).
 134. Oppenheimer, John, and Harold S Nelson. 2006. Skin testing: a survey of allergists. *Annals of allergy, asthma & immunology* □: *official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 96. United States: 19–23. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61034-4](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61034-4).
 135. Berardesca, E, P Gabba, A Nume, G Rabbiosi, and H I Maibach. 1992. Objective prick test evaluation: non-invasive techniques. *Acta dermato-venereologica* 72. Sweden: 261–263.
 136. Malling, Hans-Jørgen, Pernille Allesen-Holm, Lisbeth Sys Karved, and Lars K Poulsen. 2016. Proficiency testing of skin prick testers as part of a quality assurance system. *Clinical and translational allergy* 6: 36. <https://doi.org/10.1186/s13601-016-0126-7>.
 137. Ownby, D R. 1982. Computerized measurement of allergen-induced skin reactions. *The Journal of allergy and clinical immunology* 69. United States: 536–538. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(82\)90180-4](https://doi.org/10.1016/0091-6749(82)90180-4).
 138. Pijnenborg, H, L Nilsson, and S Dreborg. 1996. Estimation of skin prick test reactions with a scanning program. *Allergy* 51. Denmark: 782–788.
 139. Prinz, Michael, Kornelia Vigl, and Stefan Wöhr. 2005. Automatic measurement of skin wheals provoked by skin prick tests. *Studies in health technology and informatics* 116. Netherlands: 441–446.
 140. Wöhr, Stefan, Kornelia Vigl, Michael Binder, Georg Stingl, and Michael Prinz. 2006. Automated measurement of skin prick tests: an advance towards

- exact calculation of wheal size. *Experimental dermatology* 15. Denmark: 119–124. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2006.00388.x>.
141. Nyrén, M, S Ollmar, I Nicander, and L Emtestam. 1996. An electrical impedance technique for assessment of wheals. *Allergy* 51. Denmark: 923–926. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1996.tb04494.x>.
 142. Rok, Tomasz, Eugeniusz Rokita, Grzegorz Tatoń, Tomasz Guzik, and Tomasz Śliwa. 2016. Thermographic assessment of skin prick tests in comparison with the routine evaluation methods. *Postepy dermatologii i alergologii* 33: 193–198. <https://doi.org/10.5114/ada.2016.60611>.
 143. Rok, Tomasz, Eugeniusz Rokita, Grzegorz Tatoń, Tomasz Guzik, and Tomasz Śliwa. 2017. Thermographic imaging as alternative method in allergy diagnosis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 127: 1163–1170. <https://doi.org/10.1007/s10973-016-5676-3>.
 144. Stanev, Evgeni, Maria Dencheva, Maya Lyapina, and Payam Forghani. 2020. Thermographic examination of prick test reactions with local anesthetic. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 140: 225–231. <https://doi.org/10.1007/s10973-019-08814-4>.
 145. Rokita, E, T Rok, and G Tatoń. Evaluation of allergic response using dynamic thermography. *Opto-Electronics Review* 23. Berlin, Boston: De Gruyter: 55–61. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/oere-2015-0007>.
 146. Bogomolov, A.Ye. 2018. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis. *Asthma and allergy* 5: 25–28. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2018-4-25-28>.
 147. Rokita, E, T Rok, and G Tatoń. Evaluation of allergic response using dynamic thermography. *Opto-Electronics Review* 23. Berlin, Boston: De Gruyter: 55–61. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/oere-2015-0007>.
 148. Bulan, Orhan, and Yusuf Artan. 2016. Wheal detection from skin prick test images using normalized-cuts and region selection. In *2016 IEEE International Conference on Image Processing (ICIP)*, 1250–1253. IEEE.
 149. Bogomolov, A. Ye. 2019. Different Methods of Dermatophagoides Farinae

- Sensitization Determination in Patients With Respiratory Allergy. *Asthma and allergy* 6: 24–28. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2019-2-24-28>.
150. Bogomolov, A. Ye. 2020. the Component Composition of Mite and Epidermal Diagnostic Allergenic Extracts. *Asthma and allergy*: 50–56. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2020-2-50-56>.
 151. Bogomolov, Artemy Ye., and Lyudmila I. Dubchak. 2020. Comparison of diagnostic parameters of methods for determination of sensitization to allergen D. pteronyssinus in patients with respiratory allergic diseases. *Otorhinolaryngology*: 19–26. <https://doi.org/10.37219/2528-8253-2019-4-19>.
 152. Zimmer, Julia, Stefan Vieths, and Susanne Kaul. 2016. Standardization and Regulation of Allergen Products in the European Union. *Current allergy and asthma reports* 16. United States: 21. <https://doi.org/10.1007/s11882-016-0599-4>.
 153. Pomés, Anna, Janet M Davies, Gabriele Gadermaier, Christiane Hilger, Thomas Holzhauser, Jonas Lidholm, Andreas L Lopata, et al. 2018. WHO/IUIS Allergen Nomenclature: Providing a common language. *Molecular immunology* 100: 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.03.003>.
 154. Himly, M, A Nandy, H Kahlert, M Thilker, M Steiner, P Briza, A Neubauer, et al. 2016. Standardization of allergen products: 2. Detailed characterization of GMP-produced recombinant Phl p 5.0109 as European Pharmacopoeia reference standard. *Allergy* 71. Denmark: 495–504. <https://doi.org/10.1111/all.12824>.
 155. Shamji, Mohamed H, and James N Francis. 2019. Measurement of Allergen-Specific Inhibitory Antibody Activity. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 2020. United States: 33–43. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9591-2_3.
 156. Valenta, Rudolf, Alexander Karaulov, Verena Niederberger, Yury Zhernov, Olga Elisyutina, Raffaella Campana, Margarete Focke-Tejkl, et al. 2018. Allergen Extracts for In Vivo Diagnosis and Treatment of Allergy: Is There a

- Future? *The journal of allergy and clinical immunology. In practice* 6: 1845-1855.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.08.032>.
157. Röder, Martin, and Wolfgang Weber. 2016. [Allergen analysis]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 59. Germany: 889–899. <https://doi.org/10.1007/s00103-016-2370-3>.
 158. van Ree, R, M D Chapman, F Ferreira, S Vieths, D Bryan, O Cromwell, M Villalba, et al. 2008. The CREATE project: development of certified reference materials for allergenic products and validation of methods for their quantification. *Allergy* 63. Denmark: 310–326. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01612.x>.
 159. Kaul, S, J Zimmer, O Dehus, A Constanzo, A Daas, K-H Buchheit, J Asturias, et al. 2017. Validation of ELISA methods for quantification of the major birch allergen Bet v 1 (BSP090). *Pharmeuropa bio & scientific notes* 2017. France: 69–87.
 160. Himly, M, E Nony, H Chabre, L Van Overtvelt, A Neubauer, R van Ree, K-H Buchheit, S Vieths, P Moingeon, and F Ferreira. 2009. Standardization of allergen products: 1. Detailed characterization of GMP-produced recombinant Bet v 1.0101 as biological reference preparation. *Allergy* 64. Denmark: 1038–1045. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2009.01957.x>.
 161. Larsen, Jørgen Nedergaard, and Sten Dreborg. 2019. Standardization of Allergen Extracts. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 2020. United States: 63–76. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9591-2_5.
 162. Jutel, Marek, Ioana Agache, Sergio Bonini, A Wesley Burks, Moises Calderon, Walter Canonica, Linda Cox, et al. 2016. International Consensus on Allergen Immunotherapy II: Mechanisms, standardization, and pharmacoeconomics. *The Journal of allergy and clinical immunology* 137. United States: 358–368. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.12.1300>.
 163. Larenas-Linnemann, Désirée, and Linda S Cox. 2008. European allergen extract units and potency: review of available information. *Annals of allergy, asthma & immunology* □: official publication of the American College of

- Allergy, Asthma, & Immunology* 100. United States: 137–145. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)60422-X](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)60422-X).
164. Jeong, Kyoung Yong, Jae-Hyun Lee, Eun-Jin Kim, Joo-Shil Lee, Sang-Heon Cho, Soo-Jong Hong, and Jung-Won Park. 2014. Current status of standardization of inhalant allergen extracts in Korea. *Allergy, asthma & immunology research* 6: 196–200. <https://doi.org/10.4168/aaair.2014.6.3.196>.
 165. Focke, M, K Marth, and R Valenta. 2009. Molecular composition and biological activity of commercial birch pollen allergen extracts. *European journal of clinical investigation* 39. England: 429–436. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2009.02109.x>.
 166. Curin, Mirela, Renate Reininger, Ines Swoboda, Margit Focke, Rudolf Valenta, and Susanne Spitzauer. 2011. Skin prick test extracts for dog allergy diagnosis show considerable variations regarding the content of major and minor dog allergens. *International archives of allergy and immunology* 154. Switzerland: 258–263. <https://doi.org/10.1159/000321113>.
 167. Casset, Anne, Adriano Mari, Ashok Purohit, Yvonne Resch, Margit Weghofer, Rosetta Ferrara, Wayne R Thomas, et al. 2012. Varying allergen composition and content affects the in vivo allergenic activity of commercial *Dermatophagoides pteronyssinus* extracts. *International archives of allergy and immunology* 159: 253–262. <https://doi.org/10.1159/000337654>.
 168. Ackaert, Chloé, Stefan Kofler, Jutta Horejs-Hoeck, Nora Zulehner, Claudia Asam, Susanne von Grafenstein, Julian E Fuchs, et al. 2014. The impact of nitration on the structure and immunogenicity of the major birch pollen allergen Bet v 1.0101. *PloS one* 9: e104520. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104520>.
 169. Eckl-Dorna, Julia, Brigitte Klein, Thomas G Reichenauer, Verena Niederberger, and Rudolf Valenta. 2010. Exposure of rye (*Secale cereale*) cultivars to elevated ozone levels increases the allergen content in pollen. *The Journal of allergy and clinical immunology*. United States. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.06.012>.

170. Erban, Tomas, Karel Harant, and Jan Hubert. 2017. Detailed two-dimensional gel proteomic mapping of the feces of the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* and comparison with *D. farinae*: Reduced trypsin protease content in *D. pteronyssinus* and different isoforms. *Journal of proteomics* 162. Netherlands: 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.04.021>.
171. Mattsson, Lars, Thomas Lundgren, Henrik Everberg, Håkan Larsson, and Jonas Lidholm. 2009. Prostatic kallikrein: a new major dog allergen. *The Journal of allergy and clinical immunology* 123. United States: 362–368. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.11.021>.
172. Ramadour, M, M Guetat, J Guetat, M El Biaze, A Magnan, and D Vervloet. 2005. Dog factor differences in Can f 1 allergen production. *Allergy* 60. Denmark: 1060–1064. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2005.00824.x>.
173. Swoboda, I, A Jilek, F Ferreira, E Engel, K Hoffmann-Sommergruber, O Scheiner, D Kraft, H Breiteneder, E Pittenauer, and E Schmid. 1995. Isoforms of Bet v 1, the major birch pollen allergen, analyzed by liquid chromatography, mass spectrometry, and cDNA cloning. *The Journal of biological chemistry* 270. United States: 2607–2613. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.6.2607>.
174. Ferreira, F, K Hirtenlehner, A Jilek, J Godnik-Cvar, H Breiteneder, R Grimm, K Hoffmann-Sommergruber, et al. 1996. Dissection of immunoglobulin E and T lymphocyte reactivity of isoforms of the major birch pollen allergen Bet v 1: potential use of hypoallergenic isoforms for immunotherapy. *The Journal of experimental medicine* 183: 599–609. <https://doi.org/10.1084/jem.183.2.599>.
175. Henzgen, Margot, Barbara K Ballmer-Weber, Stephan Erdmann, Thomas Fuchs, Jörg Kleine-Tebbe, Ute Lepp, Bodo Niggemann, et al. 2008. Skin testing with food allergens. Guideline of the German Society of Allergology and Clinical Immunology (DGAKI), the Physicians' Association of German Allergologists (ADA) and the Society of Pediatric Allergology (GPA)

- together with the Swiss Society of. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology* □: JDDG 6. Germany: 983–988. <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2008.06889.x>.
176. Weber, Richard W. 2007. Cross-reactivity of pollen allergens: Impact on allergen immunotherapy. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)60654-0](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)60654-0).
 177. Biagtan, Mark, Ravi Viswanathan, and Robert K. Bush. 2014. Immunotherapy for House Dust Mite Sensitivity: Where Are the Knowledge Gaps? *Current Allergy and Asthma Reports*. <https://doi.org/10.1007/s11882-014-0482-0>.
 178. Akdis, Cezmi A., and Mübeccel Akdis. 2015. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and immune tolerance to allergens. *World Allergy Organization Journal*. <https://doi.org/10.1186/s40413-015-0063-2>.
 179. Slater, Jay E, Sandra L Menzies, Jennifer Bridgewater, Alexis Mosquera, Craig E Zinderman, Alan C Ou, Diane Maloney, Catherine M Cook, and Ronald L Rabin. 2012. The US Food and Drug Administration review of the safety and effectiveness of nonstandardized allergen extracts. *The Journal of allergy and clinical immunology* 129. United States: 1014–1019. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.01.066>.
 180. Spiric, Jelena, Anna M Engin, Michael Karas, and Andreas Reuter. 2015. Quality Control of Biomedicinal Allergen Products - Highly Complex Isoallergen Composition Challenges Standard MS Database Search and Requires Manual Data Analyses. *PloS one* 10: e0142404. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142404>.
 181. Knight, Vijaya, Molly L Wolf, Anita Trikha, Douglas Curran-Everett, Melissa Hiserote, and Ronald J Harbeck. 2018. A comparison of specific IgE and skin prick test results to common environmental allergens using the HYTEC™ 288. *Journal of immunological methods* 462. Netherlands: 9–12. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2018.07.005>.
 182. Wongpiyabovorn, Jongkonnee, Narissara Suratannon, Sadudee Boonmee,

- and Pantipa Chatchatee. 2018. Comparison of specific IgE detection by immunoblotting and fluorescence enzyme assay with in vivo skin prick test. *Asian Pacific journal of allergy and immunology* 36. Thailand: 159–165. <https://doi.org/10.12932/AP-270217-0035>.
183. Gradman, Josefine, Charlotte G Mortz, Esben Eller, and Carsten Bindslev-Jensen. 2016. Relationship between specific IgE to egg components and natural history of egg allergy in Danish children. *Pediatric allergy and immunology*: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology 27. England: 825–830. <https://doi.org/10.1111/pai.12644>.
 184. Aalberse, Rob C, and Joost A Aalberse. 2015. Molecular Allergen-Specific IgE Assays as a Complement to Allergen Extract-Based Sensitization Assessment. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice* 3. United States: 863–9; quiz 870. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2015.09.013>.
 185. Wilkołek, P, W Sitkowski, M Szczepanik, Ł Adamek, M Pluta, I Taszkun, M Gołyński, and A Malinowska. 2017. Comparison of serum concentrations of environmental allergen-specific IgE in atopic and healthy (nonatopic) horses. *Polish journal of veterinary sciences* 20. Germany: 789–794. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0099>.
 186. Decuyper, I I, D G Ebo, A P Uyttebroek, M M Hagendorens, M A Faber, C H Bridts, L S De Clerck, and V Sabato. 2016. Quantification of specific IgE antibodies in immediate drug hypersensitivity: More shortcomings than potentials? *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 460. Netherlands: 184–189. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.06.043>.
 187. Khasawneh, Rame, Mansour Al-Hiary, Baheieh Al-Abadi, Ahmad Bani-Salameh, and Sohaib Al-Momani. 2019. Total and Specific Immunoglobulin E for Detection of Most Prevalent Aeroallergens in a Jordanian Cohort. *Medical archives (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina)* 73: 272–275. <https://doi.org/10.5455/medarh.2019.73.272-275>.
 188. Bonyadi, M R, D Hassanzadeh, N Seyfizadeh, and S Borzoueisileh. 2017.

- Assessment of allergen-specific IgE by immunoblotting method in atopic dermatitis. *European annals of allergy and clinical immunology* 49. Italy: 213–219. <https://doi.org/10.23822/EurAnnACI.1764-1489.06>.
189. Roberts, G. 2017. A new approach to specific IgE testing, asthma and auto-injectors in schools. *Clinical and experimental allergy*: *journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. England. <https://doi.org/10.1111/cea.12982>.
 190. Yilmaz, Mustafa Deniz, Hulya Eyigori, Ustun Osma, Omer Tarik Selçuk, Levent Renda, Irfan Pirtik, and Arzu Didem Yalcin. 2016. Prevalence of allergy in patients with benign lesions of the vocal folds. *Acta Medica Mediterranea*. https://doi.org/10.19193/0393-6384_2016_1_30.
 191. Palareti, G., C. Legnani, B. Cosmi, E. Antonucci, N. Erba, D. Poli, S. Testa, and A. Tosetto. 2016. Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: Analysis of results obtained in the DULCIS study. *International Journal of Laboratory Hematology* 38: 42–49. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>.
 192. Olivieri, M, J Heinrich, V Schlünssen, J M Antó, B Forsberg, C Janson, B Leynaert, et al. 2016. The risk of respiratory symptoms on allergen exposure increases with increasing specific IgE levels. *Allergy* 71. Denmark: 859–868. <https://doi.org/10.1111/all.12841>.
 193. Yang, Xin, Gaowei Fan, and Jinming Li. 2016. Diagnostic value of Der p 1 and Der p 2 specific IgE in *Dermatophagoides pteronyssinus* IgE sensitization. *Annals of allergy, asthma & immunology*: *official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 116. United States: 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2016.02.010>.
 194. Hu, H S, H M Huang, W T Luo, Z F Huang, Q Q He, and B Q Sun. 2019. [The diagnostic value of combined specific IgG and specific IgE of *Aspergillus fumigatus* in allergic broncho pulmonary aspergillosis and severe asthma with fungal sensitization]. *Zhonghua nei ke za zhi* 58. China: 826–828. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2019.11.009>.

195. Sepiashvili, R, M Chikhladze, D Khachapuridze, and S Gamkrelidze. 2017. CORRELATION BETWEEN SPIROMETRY DATES AND SPECIAL ALLERGEN- SPECIFIC IGE IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA IN WEST GEORGIA. *Georgian medical news*. Georgia (Republic): 86–88.
196. Zgorzelska-Kowalik, Joanna, Jolanta Walusiak-Skorupa, Ewa Nowakowska-Świrta, and Marta Wiszniewska. 2017. [Diagnostic accuracy of specific IgE antibodies measurements in occupational airway allergy to high molecular weight agents]. *Medycyna pracy* 68. Poland: 31–43. <https://doi.org/10.13075/mp.5893.00486>.
197. Anvari, Sara, Jennifer Miller, Chih-Yin Yeh, and Carla M Davis. 2019. IgE-Mediated Food Allergy. *Clinical reviews in allergy & immunology* 57. United States: 244–260. <https://doi.org/10.1007/s12016-018-8710-3>.
198. Griffiths, Rebecca L M, Tariq El-Shanawany, Stephen R A Jolles, Clive Selwood, Adrian G Heaps, Emily M Carne, and Paul E Williams. 2017. Comparison of the Performance of Skin Prick, ImmunoCAP, and ISAC Tests in the Diagnosis of Patients with Allergy. *International archives of allergy and immunology* 172. Switzerland: 215–223. <https://doi.org/10.1159/000464326>.
199. Culver, Emma L., Helen Bungay, Eve Fryer, and Eleanor Barnes. 2019. IgG4-related disease. *Medicine (United Kingdom)*. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2019.09.005>.
200. Boonstra, Kirsten, Emma L. Culver, Lucas Maillette de Buy Wenniger, Marianne J. van Heerde, Karel J. van Erpecum, Alexander C. Poen, Karin M.J. van Nieuwkerk, et al. 2014. Serum immunoglobulin G4 and immunoglobulin G1 for distinguishing immunoglobulin G4-associated cholangitis from primary sclerosing cholangitis. *Hepatology*. <https://doi.org/10.1002/hep.26977>.
201. Kutukculer, Necil, Neslihan Edeer Karaca, Ozlem Demircioglu, and Guzide Aksu. 2007. Increases in serum immunoglobulins to age-related normal

- levels in children with IgA and/or IgG subclass deficiency. *Pediatric Allergy and Immunology*. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2006.00491.x>.
202. Panizo, C., M. Cimarra, E. González-Mancebo, A. Vega, C. Senent, and S. Martín. 2010. In vivo and in vitro immunological changes induced by a short course of grass allergy immunotherapy tablets. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*.
 203. Krop, E. J.M., S. O. Stapel, H. De Vrieze, and J. S. Van Der Zee. 2006. Immunoglobulin E and G4 antibody responses in occupational airway exposure to bovine and porcine plasma proteins. *International Archives of Allergy and Immunology*. <https://doi.org/10.1159/000091169>.
 204. Jones, Meinir, H. Jeal, S. Schofield, J. M. Harris, M. H. Shamji, J. N. Francis, S. R. Durham, and P. Cullinan. 2014. Rat-specific IgG and IgG4 antibodies associated with inhibition of IgE-allergen complex binding in laboratory animal workers. *Occupational and Environmental Medicine*. <https://doi.org/10.1136/oemed-2014-102119>.
 205. H., Hecker, Boot D., Van Twuijver E., Van Ree R., and Klimek L. 2011. Rush up-dosing with a registered allergoid grass pollen preparation. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
 206. Fæste, Christiane K., and Christin Plassen. 2008. Quantitative sandwich ELISA for the determination of fish in foods. *Journal of Immunological Methods*. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2007.09.007>.
 207. Maintz, Laura, Said Benfadal, Jean Pierre Allam, Tobias Hagemann, Rolf Fimmers, and Natalija Novak. 2006. Evidence for a reduced histamine degradation capacity in a subgroup of patients with atopic eczema. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.11.041>.
 208. de Leon, M. P., A. C. Drew, I. N. Glaspole, C. Suphioglu, R. E. O’Hehir, and J. M. Rolland. 2007. IgE cross-reactivity between the major peanut allergen Ara h 2 and tree nut allergens. *Molecular Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.02.016>.
 209. Kirsch, Stéphanie, Séverine Fourdrilis, Rowan Dobson, Marie Louise

- Scippo, Guy Maghuin-Rogister, and Edwin De Pauw. 2009. Quantitative methods for food allergens: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2869-7>.
210. De Leon, M. P., I. N. Glaspole, A. C. Drew, J. M. Rolland, R. E. O’Hehir, and Cenk Suphioglu. 2003. Immunological analysis of allergenic cross-reactivity between peanut and tree nuts. *Clinical and Experimental Allergy*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01761.x>.
 211. Konstantinou, George N. 2017. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In *Methods in Molecular Biology*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6925-8_7.
 212. Ansotegui, Ignacio J., Giovanni Melioli, Giorgio Walter Canonica, Luis Caraballo, Elisa Villa, Motohiro Ebisawa, Giovanni Passalacqua, et al. 2020. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organization Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2019.100080>.
 213. Perrier, C., A. C. Thierry, A. Mercenier, and B. Corthésy. 2010. Allergen-specific antibody and cytokine responses, mast cell reactivity and intestinal permeability upon oral challenge of sensitized and tolerized mice. *Clinical and Experimental Allergy*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03329.x>.
 214. Yang, Ariana C., L. Karla Arruda, Ana Beatriz R. Santos, Michelle C.R. Barbosa, Martin D. Chapman, Clóvis E.S. Galvão, Jorge Kalil, and Fábio F. Morato-Castro. 2010. Measurement of IgE antibodies to shrimp tropomyosin is superior to skin prick testing with commercial extract and measurement of IgE to shrimp for predicting clinically relevant allergic reactions after shrimp ingestion. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.11.043>.
 215. De Week, A. L., M. L. Sanz, P. M. Gamboa, W. Aberer, G. Sturm, M. B. Bilo, M. Montroni, et al. 2009. Diagnosis of immediate-type β -lactam allergy in vitro by flow-cytometric basophil activation test and sulfidoleukotriene

- production: A multicenter study. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*.
216. Kollmann, D., B. Nagl, C. Ebner, W. Emminger, S. Wöhr, C. Kitzmüller, S. Vrtala, A. Mangold, H. J. Ankersmit, and B. Bohle. 2017. The quantity and quality of α -gal-specific antibodies differ in individuals with and without delayed red meat allergy. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1111/all.12948>.
 217. Radauer, Christian, Farzaneh Adhami, Irene Fürtler, Stefan Wagner, Dorothee Allwardt, Enrico Scala, Christof Ebner, et al. 2011. Latex-allergic patients sensitized to the major allergen hevein and hevein-like domains of class I chitinases show no increased frequency of latex-associated plant food allergy. *Molecular Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2010.10.019>.
 218. Santos, Ana Beatriz R., Gutemberg M. Rocha, Constance Oliver, Virgínia P.L. Ferriani, Rodrigo C. Lima, Mário S. Palma, Valéria S.F. Sales, Rob C. Aalberse, Martin D. Chapman, and L. Karla Arruda. 2008. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.12.1147>.
 219. Corthell, John T. 2014. Immunoblotting (Western Blot). In *Basic Molecular Protocols in Neuroscience: Tips, Tricks, and Pitfalls*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801461-5.00007-1>.
 220. Jin, Shi, and Robert T. Kennedy. 2015. New developments in Western blot technology. *Chinese Chemical Letters*. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2015.01.021>.
 221. Gibbons, Janay. 2014. Western Blot: Protein transfer overview. *North American Journal of Medical Sciences*. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.128481>.
 222. Hirano, Seishiro. 2012. Western blot analysis. *Methods in Molecular Biology*. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-2-1_6.

223. Biosciences, Li-cor. 2015. Western Blot Normalization: Challenges and Considerations for Quantitative Analysis. *LI-COR Biosciences*.
224. Gwozdz, Tomasz, and Karel Dorey. 2017. Western Blot. In *Basic Science Methods for Clinical Researchers*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803077-6.00006-0>.
225. Hnasko, Thomas S., and Robert M. Hnasko. 2015. The western blot. *Methods in Molecular Biology*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2742-5_9.
226. Johnson, Mary. 2013. Western Blot Protocol. *Materials and Methods*. <https://doi.org/10.13070/mm.en.3.195>.
227. Mahmood, Tahrin, and Ping Chang Yang. 2012. Western blot: Technique, theory, and trouble shooting. *North American Journal of Medical Sciences*. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.100998>.
228. Definition, Western Blot. 2008. The Popular Technology SDS PAGE & Western blotting□: Principle and Application. *Molecular Biology*.
229. Vallejo-Illarramendi, Ainara, Denise K Marciano, and Louis F Reichardt. 2013. A novel method that improves sensitivity of protein detection in PAGE and Western blot. *Electrophoresis* 34: 1148–1150. <https://doi.org/10.1002/elps.201200534>.
230. Mishra, Manish, Shuchita Tiwari, and Aldrin V Gomes. 2017. Protein purification and analysis: next generation Western blotting techniques. *Expert review of proteomics* 14: 1037–1053. <https://doi.org/10.1080/14789450.2017.1388167>.
231. Murphy, Robyn M, and Graham D Lamb. 2013. Important considerations for protein analyses using antibody based techniques: down-sizing Western blotting up-sizes outcomes. *The Journal of physiology* 591: 5823–5831. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.263251>.
232. He, Mei, and Amy E Herr. 2010. Polyacrylamide gel photopatterning enables automated protein immunoblotting in a two-dimensional microdevice. *Journal of the American Chemical Society* 132. United States: 2512–2513. <https://doi.org/10.1021/ja910164d>.

233. Bass, J J, D J Wilkinson, D Rankin, B E Phillips, N J Szewczyk, K Smith, and P J Atherton. 2017. An overview of technical considerations for Western blotting applications to physiological research. *Scandinavian journal of medicine & science in sports* 27: 4–25. <https://doi.org/10.1111/sms.12702>.
234. Bogomolov, Artemii. 2020. Definition of Sensitization To Pollen Allergens Wormwood and Hazel in Patients With Respiratory Allergic Diseases By Immunoblot and Multiplex Component Test. *Immunology and Allergy: Science and Practice*: 39–44. <https://doi.org/10.37321/immunology.2020.01-06>.
235. Sebastian, Cherian, and Helen William. 2016. Immunochromatography: Formats and Applications. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*.
236. Pyo, Dongjin, and Jisun Yoo. 2012. New trends in fluorescence immunochromatography. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*. <https://doi.org/10.1080/15321819.2011.618863>.
237. Zhuang, Yonghua, and Stephen C. Dreskin. 2013. Redefining the major peanut allergens. *Immunologic Research*. <https://doi.org/10.1007/s12026-012-8355-x>.
238. Tatham, A. S., and P. R. Shewry. 2008. Allergens to wheat and related cereals. *Clinical and Experimental Allergy*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2008.03101.x>.
239. Kuehn, Annette, Ines Swoboda, Karthik Arumugam, Christiane Hilger, and François Hentges. 2014. Fish allergens at a glance: Variable allergenicity of parvalbumins, the major fish allergens. *Frontiers in Immunology*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00179>.
240. Chapman, Martin D., Anna Pomés, Heimo Breiteneder, and Fatima Ferreira. 2007. Nomenclature and structural biology of allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.11.001>.
241. Köhler, Julian, Simon Blank, Sabine Müller, Frank Bantleon, Marcel Frick, Johannes Huss-Marp, Jonas Lidholm, Edzard Spillner, and Thilo Jakob.

2014. Component resolution reveals additional major allergens in patients with honeybee venom allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.10.060>.
242. Pekar, Judith, Davide Ret, and Eva Untersmayr. 2018. Stability of allergens. *Molecular Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.03.017>.
243. Aalberse, Rob C. 2000. Structural biology of allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.108434>.
244. Pastor, Carlos, Javier Cuesta-Herranz, Barbara Cases, Marina Pérez-Gordo, Elena Figueredo, Manuel De Las Heras, and Fernando Vivanco. 2009. Identification of major allergens in watermelon. *International Archives of Allergy and Immunology*. <https://doi.org/10.1159/000205574>.
245. Thomas, Wayne R., Belinda J. Hales, and Wendy Anne Smith. 2005. Structural biology of allergens. *Current Allergy and Asthma Reports*. <https://doi.org/10.1007/s11882-005-0012-1>.
246. Dall'Antonia, Fabio, Tea Pavkov-Keller, Klaus Zangger, and Walter Keller. 2014. Structure of allergens and structure based epitope predictions. *Methods*. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2013.07.024>.
247. Asero, R., G. Mistrello, D. Roncarolo, and S. Amato. 2002. Allergy to minor allergens of Brazil nut. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2002.23836_1.x.
248. Cases, Barbara, Maria Dolores Ibañez, Jose Ignacio Tudela, Silvia Sanchez-Garcia, Pablo Rodriguez Del Rio, Eva A. Fernandez, Carmelo Escudero, and Enrique Fernandez-Caldas. 2014. Immunological cross-reactivity between olive and grass pollen: Implication of major and minor allergens. *World Allergy Organization Journal*. <https://doi.org/10.1186/1939-4551-7-11>.
249. Moreno-Aguilar, Carmen. 2008. Improving pollen immunotherapy: Minor allergens and panallergens. *Allergologia et Immunopathologia*. <https://doi.org/10.1157/13115668>.
250. Achatz, Gernot, Hannes Oberkofler, Erich Lechenauer, Birgit Simon, Andrea Unger, Doris Kandler, Christoph Ebner, Hansjörg Prillinger, Dietrich Kraft,

- and Michael Breitenbach. 1995. Molecular cloning of major and minor allergens of *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum*. *Molecular Immunology*. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(94\)00108-D](https://doi.org/10.1016/0161-5890(94)00108-D).
251. Rodríguez, Rosalía, Mayte Villalba, Eva Batanero, Oscar Palomares, and Guillermo Salamanca. 2007. Emerging pollen allergens. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2006.09.014>.
 252. Thomas, Wayne R. 2015. Hierarchy and molecular properties of house dust mite allergens. *Allergology International*. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2015.05.004>.
 253. Faber, M. A., M. Pascal, O. El Kharbouchi, V. Sabato, M. M. Hagendorens, I. I. Decuyper, C. H. Bridts, and D. G. Ebo. 2017. Shellfish allergens: tropomyosin and beyond. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1111/all.13115>.
 254. Roux, Kenneth H., Suzanne S. Teuber, and Shridhar K. Sathe. 2003. Tree nut allergens. *International Archives of Allergy and Immunology*. <https://doi.org/10.1159/000072135>.
 255. Zeng, G., W. Luo, P. Zheng, N. Wei, H. Huang, Baoqing Sun, and Xiaoming Zhao. 2015. Component-resolved diagnostic study of *Dermatophagoides Pteronyssinus* major allergen molecules in a southern Chinese cohort. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.12.1734>.
 256. Eiringhaus, Kathrin, Harald Renz, Paolo Matricardi, and Chrysanthi Skevaki. 2019. Component-Resolved Diagnosis in Allergic Rhinitis and Asthma. *The journal of applied laboratory medicine* 3. England: 883–898. <https://doi.org/10.1373/jalm.2018.026526>.
 257. Blank, Simon, Stefanie Etzold, Ulf Darsow, Maximilian Schiener, Bernadette Eberlein, Dennis Russkamp, Sara Wolf, et al. 2017. Component-resolved evaluation of the content of major allergens in therapeutic extracts for specific immunotherapy of honeybee venom allergy. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1323603>.

258. Klimek, L, and S Becker. 2017. [Molecular component-resolved allergy diagnostics in ENT]. *HNO* 65. Germany: 818–825. <https://doi.org/10.1007/s00106-017-0372-6>.
259. Pittner, G., S. Vrtala, W. R. Thomas, M. Weghofer, M. Kundi, F. Horak, D. Kraft, and R. Valenta. 2004. Component-resolved diagnosis of house-dust mite allergy with purified natural and recombinant mite allergens. *Clinical and Experimental Allergy*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.1930.x>.
260. Gregory, James A., Ariel Shepley-McTaggart, Michelle Umpierrez, Barry K. Hurlburt, Soheila J. Maleki, Hugh A. Sampson, Stephen P. Mayfield, and M. Cecilia Berin. 2016. Immunotherapy using algal-produced Ara h 1 core domain suppresses peanut allergy in mice. *Plant Biotechnology Journal*. <https://doi.org/10.1111/pbi.12515>.
261. Rolland, Jennifer M., Leanne M. Gardner, and Robyn E. O’Hehir. 2009. Allergen-related approaches to immunotherapy. *Pharmacology and Therapeutics*. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.11.007>.
262. Kussebi, Fatimah, Fariba Karamloo, Claudio Rhyner, Peter Schmid-Grendelmeier, Maria Salagianni, Christian Mannhart, Mübeccel Akdis, et al. 2005. A major allergen gene-fusion protein for potential usage in allergen-specific immunotherapy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.11.041>.
263. Curin, Mirela, Viktoriya Garib, and Rudolf Valenta. 2017. Single recombinant and purified major allergens and peptides: How they are made and how they change allergy diagnosis and treatment. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2016.11.022>.
264. Moldaver, D., and M. Larché. 2011. Immunotherapy with peptides. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02610.x>.
265. Bannon, Gary A., Gael Cockrell, Cathie Connaughton, C. Michael West, Ricki Helm, J. Steven Stanley, Nina King, Pat Rabjohn, Hugh A. Sampson, and A. Wesley Burks. 2001. Engineering, characterization and in vitro

- efficacy of the major peanut allergens for use in immunotherapy. In *International Archives of Allergy and Immunology*. <https://doi.org/10.1159/000053672>.
266. van Ree, Ronald. 2007. Indoor allergens: Relevance of major allergen measurements and standardization. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.10.033>.
 267. Kanni, Paranjothy, Nagendra Prasad Komarla, and A. B. Singh. 2017. Sublingual immunotherapy. In *Allergy and Allergen Immunotherapy: New Mechanisms and Strategies*. <https://doi.org/10.1201/9781315207520>.
 268. Taketomi, Ernesto Akio, Mônica Camargo Sopelete, Priscila Ferreira De Sousa Moreira, and Francisco De Assis Machado Vieira. 2006. Pollen allergic disease: Pollens and its major allergens. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. [https://doi.org/10.1016/S1808-8694\(15\)31005-3](https://doi.org/10.1016/S1808-8694(15)31005-3).
 269. Akdis, Cezmi A., and Mübeccel Akdis. 2011. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.11.030>.
 270. Thomas, Wayne R. 2010. Geography of house dust mite allergens. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*.
 271. Andersson, Kerstin, and Jonas Lidholm. 2003. Characteristics and immunobiology of grass pollen allergens. *International Archives of Allergy and Immunology*. <https://doi.org/10.1159/000069013>.
 272. Mine, Yoshinori, and Marie Yang. 2008. Recent advances in the understanding of egg allergens: Basic, industrial, and clinical perspectives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf8001153>.
 273. Bessot, J. C., and Gabrielle Pauli. 2011. Mite allergens: An overview. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*.
 274. Thomas, Wayne R., Wendy Anne Smith, and Belinda J. Hales. 2004. The allergenic specificities of the house dust mite. *Chang Gung Medical Journal*.
 275. Focke, M, K Marth, S Flicker, and R Valenta. 2008. Heterogeneity of

- commercial timothy grass pollen extracts. *Clinical and experimental allergy* □: *journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 38. England: 1400–1408. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2008.03031.x>.
276. Han, Minje, Sue Shin, Hyewon Park, Kyoung Un Park, Myoung Hee Park, and Eun Young Song. 2013. Comparison of three multiple allergen simultaneous tests: RIDA allergy screen, MAST Optigen, and polychex allergy. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2013/340513>.
277. Goikoetxea, María José, M. L. Sanz, B. E. García, C. Mayorga, N. Longo, and P. M. Gamboa. 2013. Recommendations for the use of in vitro methods to detect specific immunoglobulin E: Are they comparable? *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*.
278. Žiarovská, Jana, Mária Labajová, Katarína Ražná, Milan Bežo, Veronika Štefúnová, Tatiana Shevtsova, Kateryna Garkava, and Ján Brindza. 2013. Changes in expression of BetV1 allergen of silver birch pollen in urbanized area of Ukraine. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering* 48. England: 1479–1484. <https://doi.org/10.1080/10934529.2013.796788>.

ДОДАТОК А) Список публікацій за темою дисертації

1. Bogomolov A. E. Correlation between skin prick test and MAST-immunoblot results in patients with airway allergies. *Астма та алергія*. 2015. № 1. С. 39–44.
2. Bogomolov A. E. Disagreement between skin prick test and specific IgE levels in patients with respiratory allergy (literature review and our own research data) // *Астма та алергія*. 2015. № 3. С. 51–56.
3. Богомолов, А. Є. Узгодженість результатів шкірного тестування методом прик-тесту та імуноблоту у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 25. С. 152–158.
4. Bogomolov A. Ye. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis // *Астма та алергія*. 2018. № 4. С. 25–28.
5. Bogomolov A. Ye. Diagnostic value of methods for alder (*Alnus incana*) allergen sensitization determination in people with respiratory allergy // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція*. 2019. № 2. С. 72–77.
6. Bogomolov A. Ye. Diagnostic value of methods for sensitization determination in people with allergic rhinitis // *Астма та алергія*. 2019. № 1. С. 44–49.
7. Bogomolov A. Ye. Different methods of *Dermatophagoides farinae* sensitization determination in patients with respiratory allergy // *Астма та алергія*. 2019. № 2. С. 24–28.
8. Bogomolov A. Ye. Skin prick test versus Western blot specificity and sensitivity for mugwort (*Artemisia*) pollen sensitization determination in patients with respiratory allergy // *Астма та алергія*. 2019. № 4. С. 50–54.

9. Богомолов, А. Є., Дубчак Л. І. Порівняння діагностичних параметрів методів визначення сенсibilізації до алергену *D. Pteronyssinus* у хворих на респіраторні алергічні захворювання // Оториноларингологія. 2019. № 4-5 (2). С. 19–26.
10. Богомолов, А. Є. Порівняльний аналіз шкірного тестування методом прик-тесту та імуноблотування різних виробників у розрізі визначення сенсibilізації до алергену берези у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями // Оториноларингологія. 2019. № 6(2). С. 20–27.
11. Богомолов А. Є., Клименко Т. І. Використання антигістамінних препаратів у пацієнтів зі сверблячими дерматозами в практиці дерматолога (огляд літератури та результати власних досліджень) // Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2019. №4. С. 95–101.
12. Bogomolov A. Ye. The component composition of mite and epidermal diagnostic allergens // Астма та алергія. 2020. № 2. С. 50–56.
13. Bogomolov A. E., Zaikov S. V. Definition of sensitization to pollen allergens wormwood and hazel in patients with respiratory allergic diseases by immunoblot and multiplex component test // Імунологія та алергологія: наука і практика. 2020. № 1. С. 39–43.
14. Bogomolov A. E. The component composition of diagnostic pollen allergen extracts Український пульмонологічний журнал. 2020. № 2. С. 45–49.
15. Gogunskaya I. Diagnostic parameters of in vivo (skin prick) and in vitro (ELISA) tests for determination of epidermal cat and dog allergens sensitization in patients with allergic rhinitis and atopic asthma / I. Gogunskaya, S. Zaikov, A. Bogomolov // Georgian medical news. 2020. №5. С. 76–81.
16. Богомолов А. Є., Зайков С. В. Визначення сенсibilізації до пилоквих алергенів берези та вільхи у хворих на респіраторні алергічні захворювання за допомогою імуноблоту та мультиплексного

- компонентного тестування // Український пульмонологічний журнал. 2020. № 1. С. 15–18.
17. Богомолів, А. Є. Медична термографія в оцінці результатів шкірного тестування методом прик-тесту у пацієнтів з IgE-опосередкованими алергічними захворюваннями // Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2020. № 1. С. 76–80.
 18. Богомолів, А. Є., Зайков С. В. Аналіз діагностичних параметрів імуноблотуінгу різних виробників для визначення сенсibilізації до кліщових та епідермальних алергенів у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями // Art of medicine. 2020. №1. С. 36–42.
 19. Богомолів, А. Є., Зайков С. В. Аналіз діагностичних параметрів імуноблотуінгу різних виробників для визначення сенсibilізації до пилоквих алергенів у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями // Інфекційні хвороби. №1. 2020. С. 32–36.
 20. Богомолів А. Є. Визначення сенсibilізації до алергену ліщини у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями: порівняння діагностичної цінності різних методів // Клінічна та експериментальна патологія. 2020. Том 19, № 1. С. 16–19.
 21. Богомолів А. Є. Сенсibilізація до алергену жита у пацієнтів з алергічним ринітом та атопічною бронхіальною астмою: порівняння діагностичних параметрів // Буковинський медичний вісник. 2020. Т.24, №1 (93). С. 28–34.
 22. Богомолів А. Є. Визначення сенсibilізації до кліщових алергенів *D. pteronyssinus* та *D. farinae* у хворих на респіраторні алергічні захворювання за допомогою імуноблоту та мультиплексного компонентного тестування / А. Є. Богомолів, С. В. Зайков, О. П. Назаренко // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ – інфекція. 2020. №1. С. 43–48.
 23. Богомолів, А.Є. Порівняльне дослідження шкірного тестування з екстрактами кліщових алергенів різних виробників для специфічної

алергодіагностики у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями / А. Є. Богомолів, С. В. Зайков, Б. А. Стремедловський // Астма та алергія. 2020. № 1. С. 14–21.

24. Pukhlik B. Thermography imaging as an objective technique for evaluation of allergic skin tests / B. Pukhlik, A. Bogomolov, V. Rodinkova, S. Zaykov. Allergy. 2016. Vol. 71. Special issue. P. 377.
25. Bogomolov A. Changes in molecular structure of silver birch pollen allergen in different climatic areas of Ukraine / Bogomolov A., Zaikov S. Allergy. 2016. Vol. 71. Special issue. P. 465.
26. Rodinkova V. Assessment of allergen specific IgE to pollen allergens in allergic patients from Central Ukraine / V. Rodinkova, A. Bogomolov, O. Bobelo, L. DuBuske. Allergy. 2017. Vol. 72. Special issue. P. 547–548.
27. Bogomolov A. Alternative method in allergy diagnosis / A. Bogomolov. Allergy. 2017. Vol. 72. Special issue. P. 345.
28. Zaikov S. Comparison of the determination of sensitization to the dust – mite allergens in patients with respiratory allergies using the multiplex microarray test and western-blot test / S. Zaikov, A. Bogomolov, A. Nazarenko. Allergy. 2020. Vol. 75. Supplement 109. P. 355.

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

1. Традиційна науково - практична конференція алергологів України „Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань”, м. Вінниця, 18-19.09.2014, усна доповідь.
2. Міжрегіональна науково - практична конференція з міжнародною участю «Сучасна діагностика, лікування та профілактика імунозалежних та алергологічних захворювань», м. Київ, 20.02.2014, усна доповідь.
3. Науково - практична конференція з міжнародною участю «Бронхіальна астма, алергія, імунологія – сучасні досягнення та перспективи розвитку», м. Київ, 26-27.03.2015, усна доповідь.
4. Науково - практична конференція алергологів України «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань», м. Вінниця, 20-21.05.2015, усна доповідь.
5. Щорічний конгрес Європейської академії алергії та клінічної імунології м. Амстердам, Нідерланди, 26-30.09.2015, постерна доповідь та публікація тез.
6. Науковий симпозіум з міжнародною участю «Різдвяні читання: Харчова алергія – проблема XXI століття», м. Львів, 02-04.12.2015), усна доповідь.
7. Науково – практична конференція алергологів «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань», м. Вінниця, 27.08.2016, усна доповідь.
8. Щорічний конгрес Європейської академії алергії та клінічної імунології м. Лондон, Велика Британія, 03-06.09.2016, постерна доповідь та публікація тез.
9. III Національний конгрес з імунології, алергології та імунореабілітації, присвячений 50-річчю створення алергічної служби у Дніпропетровській області, м. Дніпро, 17-19.03.2018, усна доповідь.

10. Традиційна науково-практична конференція алергологів України «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань», м. Вінниця, 03.09.2018, усна доповідь.
11. Науково - практична конференція «Сучасні питання алергології», м. Дніпро, 02.04.2019, усна доповідь.
12. Науково - практична конференція «Практичні аспекти та актуальні питання алергології», м. Вінниця, 17.04.2019, усна доповідь.
13. Науково – практична конференція «Актуальні питання респіраторної патології», м. Луцьк, 22.05.2019, усна доповідь.
14. IV З'їзд лікарів – алергологів України, м. Вінниця, 23.05.2019, усна доповідь.
15. Науково – практична конференція «Інновації в алергології та імунології», м. Львів, 06-06.12.2019, усна доповідь.
16. Щорічний конгрес Європейської академії алергії та клінічної імунології, м. Лісабон, Португалія, 01-05.06.2019, постерна доповідь та публікація тез.
17. Наукова конференція «Кейс-орієнтована алергошкола Doctor Thinking: Allergy Case Medicine», м. Вінниця, 09.11.2019, усна доповідь.
18. Щорічний конгрес Європейської академії алергії та клінічної імунології, м. Лондон, Велика Британія, 06-08.06.2020, постерна доповідь та публікація тез.

ДОДАТОК Б) КОПІІ АКТІВ ВПРОВАДЖЕННЯ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Генеральний директор

Клініка імунології та алергології

«Форпост»

к.мед.н. О.П. Назаренко

«19» серпня 2020 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТУ НАУКОВОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
КАФЕДРИ ФТИЗИАТРІЇ З КУРСОМ КЛІНІЧНОЇ ІМУНОЛОГІЇ ТА АЛЕРГОЛОГІЇ
ВІННИЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

ІМ. М. І. ПИРОГОВА

1. Найменування пропозиції для впровадження «Використання медичної термографії для оцінки шкірного тестування з екстрактами алергенів методом прик-тесту»
2. Установа – розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра фтизіатрії з курсом клінічної імунології та алергології, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Укладачі: Богомолів А. Є.
3. Джерело інформації: Bogomolov, A. Ye. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2018. - № 4. - С. 25–28.
4. Де і коли впроваджено: Клініка імунології та алергології «Форпост»
5. Строки впровадження: 08.05.2019 р. по 08.05.2020 р.
6. Загальна кількість спостережень – 50
7. Ефективність впровадження дотримання запропонованої методики оцінки шкірного тестування методом прик-тесту дозволяє об'єктивізувати вимірювання результату тестування, середня різниця діаметрів папул при візуальному та термографічному вимірюванні складає 1,2 мм.
8. Зауваження, пропозиції - відсутні

Відповідальний за впровадження

Генеральний директор

Клініки імунології та алергології «Форпост»

кандидат медичних наук



О.П. Назаренко

«19» серпня 2020 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар



ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України»

д.мед.н., проф. М.С. Опанасенко

« 11 » 08 2020 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТУ НАУКОВОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
КАФЕДРИ ФТІЗИАТРІЇ З КУРСОМ КЛІНІЧНОЇ ІМУНОЛОГІЇ ТА АЛЕРГОЛОГІЇ
ВІННИЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ІМ. М. І. ПИРОГОВА**

1. **Найменування пропозиції для впровадження** «Використання медичної термографії для оцінки шкірного тестування з екстрактами алергенів методом прик-тесту»
2. **Установа – розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра фтизіатрії з курсом клінічної імунології та алергології, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Укладачі: Богомолів А. Є.
3. **Джерело інформації:** Bogomolov, A. Ye. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2018. - № 4. - С. 25–28.
4. **Де і коли впроваджено:** ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України»
5. **Строки впровадження:** 03.03.2019 р. по 03.03.2020 р.
6. **Загальна кількість спостережень** – 50
7. **Ефективність впровадження** дотримання запропонованої методики оцінки шкірного тестування методом прик-тесту дозволяє об'єктивізувати вимірювання результату тестування, середня різниця діаметрів папул при візуальному та термографічному вимірюванні складає 1,3 мм.
8. **Зауваження, пропозиції** - відсутні

Відповідальний за впровадження: к.мед.н. П.В. Гришило

« 11 » 08 2020 р.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор

КНП «Київська міська клінічна лікарня №8»

д.мед.н., проф. А.М. Пілецький

«19» серпня 2020 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТУ НАУКОВОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
КАФЕДРИ ФТИЗИАТРІЇ З КУРСОМ КЛІНІЧНОЇ ІМУНОЛОГІЇ ТА АЛЕРГОЛОГІЇ
ВІННИЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

ІМ. М. І. ПИРОГОВА

1. Найменування пропозиції для впровадження «Використання медичної термографії для оцінки шкірного тестування з екстрактами алергенів методом прик-тесту»
2. Установа – розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра фтизіатрії з курсом клінічної імунології та алергології, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Укладачі: Богомолов А. Є.
3. Джерело інформації: Bogomolov, A. Ye. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2018. - № 4. - С. 25-28.
4. Де і коли впроваджено: КНП «Київська міська клінічна лікарня №8», Київський міський алергоцентр
5. Строки впровадження: 05.09.2019 р. по 03.03.2020 р.
6. Загальна кількість спостережень – 50
7. Ефективність впровадження дотримання запропонованої методики оцінки шкірного тестування методом прик-тесту дозволяє об'єктивізувати вимірювання результату тестування, середня різниця діаметрів папул при візуальному та термографічному вимірюванні складає 1.3 мм.
8. Зауваження, пропозиції - відсутні

Відповідальний за впровадження

Завідуюча алергологічним відділенням №1

КНП «КМКЛ №8»

д.мед.н.

Л.І. Романюк

«19» серпня 2020 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар

ДУ «Інститут отоларингології
ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України»

В.Д. Гайдук

«10» серпня 2020 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТУ НАУКОВОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
КАФЕДРИ ФТИЗИАТРІЇ З КУРСОМ КЛІНІЧНОЇ ІМУНОЛОГІЇ ТА АЛЕРГОЛОГІЇ
ВІННИЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

ІМ. М. І. ПИРОГОВА

1. Найменування пропозиції для впровадження «Використання медичної термографії для оцінки шкірного тестування з екстрактами алергенів методом прик-тесту»
2. Установа – розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра фтизіатрії з курсом клінічної імунології та алергології, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Укладачі: Богомолів А. Є.
3. Джерело інформації: Bogomolov, A. Ye. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2018. - № 4. - С. 25–28.
4. Де і коли впроваджено: ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України», Центр алергічних захворювань верхніх дихальних шляхів
5. Строки впровадження: 15.09.2019 р. по 15.03.2020 р.
6. Загальна кількість спостережень – 50
7. Ефективність впровадження дотримання запропонованої методики оцінки шкірного тестування методом прик-тесту дозволяє об'єктивізувати вимірювання результату тестування, середня різниця діаметрів папул при візуальному та термографічному вимірюванні складає 1,3 мм.
8. Зауваження, пропозиції - відсутні

Відповідальний за впровадження

Заступник керівника Центру алергічних захворювань
верхніх дихальних шляхів
д.мед.н., ст.н.с.

І.В. Гогунська

«10» 2020 р.

Підпис
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. відділом кадрів



«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Головний лікар

ГОВ «Алергоцентр – КПП»

А.С. Бобело

2020 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТУ НАУКОВОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
КАФЕДРИ ФТИЗИАТРІЇ З КУРСОМ КЛІНІЧНОЇ ІМУНОЛОГІЇ ТА АЛЕРГОЛОГІЇ
ВІННИЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

ІМ. М. І. ПИРОГОВА

1. **Найменування пропозиції для впровадження** «Використання медичної термографії для оцінки шкірного тестування з екстрактами алергенів методом прик-тесту»
2. **Установа – розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра фтизіатрії з курсом клінічної імунології та алергології, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
Укладачі: Богомолів А. Є.
3. **Джерело інформації:** Bogomolov, A. Ye. Usage of medical thermography to evaluate the results of skin prick testing of patients with allergic rhinitis / A. Ye. Bogomolov // Астма та алергія. - 2018. - № 4. - С. 25–28.
4. **Де і коли впроваджено:** ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України», Центр алергічних захворювань верхніх дихальних шляхів
5. **Строки впровадження:** 15.09.2019 р. по 15.03.2020 р.
6. **Загальна кількість спостережень** – 50
7. **Ефективність впровадження** дотримання запропонованої методики оцінки шкірного тестування методом прик-тесту дозволяє об'єктивізувати вимірювання результату тестування, середня різниця діаметрів папул при візуальному та термографічному вимірюванні складає 1,1 мм.

8. **Зауваження, пропозиції** - відсутні

Відповідальний за впровадження

Головний лікар

А.С. Бобело

«10» 08 2020 р.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор НМАПО імені П.Л. Шупика
проф. НАМНУ проф. Ю.П. Вдовиченко

11 серпня 2020 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Для дисертаційної роботи Богомолува А.Є. на тему «ОПТИМІЗАЦІЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АЛЕРГОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ ТА АЛЕРГІЧНОГО РИНИТУ» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук зі спеціальності 14.01.29 – клінічна алергологія обговорені на засіданні кафедри фтизіатрії та пульмонології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України щодо впровадження в навчальний процес (протокол №4 засідання колективу кафедри від 20 травня 2020 р.) на кафедрі фтизіатрії і пульмонології.

Джерело інформації: Богомолува А. Є. Порівняльний аналіз шкірного тестування методом прик-тесту та імуноблотінгу різних виробників у розрізі визначення сенсibiliзації до алергену берези у пацієнтів з респіраторними алергічними захворюваннями / А. Є. Богомолува // Оториноларингологія. – 2019. – №6(2). – С. 20–27.

Впровадження проводилось з грудня 2019 по травень 2020 р. при проведенні лекцій, семінарських та практичних занять з слухачами ТУ «Ведення пацієнтів з респіраторною алергопатологією».

Відповідальний за впровадження:

професор кафедри фтизіатрії і пульмонології

С. В. Зайков