

СОГЛАСИТЕЛЬНЫЙ ДОКУМЕНТ WAO-ARIA-GA²LEN ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКЕ

Джорджи Уолтер Каноника^{1*}
Email: canonica@unige.it
Игнасио Дж. Ансотеги²
Email: iansotegui.bil@quiron.es
Руби Пауанкар³
Email: rawankar.ruby@gmail.com
Питер Шмид-Грендельмайер⁴
Email: peter.schmid@usz.ch
Марианна ван Хаге⁵
Email: Marianne.van.Hage@ki.se
Карлос Э Баэна-Каньяни⁶
Email: cebaenas@fundacionlibra.org
Джованни Мелиоли⁷
Email: giovannimelioli@gmail.com
Карлос Нунс⁸
Email: cnalvor@hotmail.com
Джованни Пассалакуа⁹
Email: passalacqua@unige.it
Лэнни Розенвассер¹⁰
Email: lrosenwasser@cmh.edu
Хью Сэмпсон¹¹
Email: hugh.sampson@mssm.edu
Джоакин Састре¹²
Email: jsastre@fjd.es
Жан Бускет¹³
Email: jean.bosuquet@orange.fr
Торстен Зубербир¹⁴
Email: torsten.zuberbier@charite.de
Катрина Аллен¹⁵
Email: Katie.allen@rch.org.au
Рикардо Асеро¹⁶
Email: r.asero@libero.it
Барбара Боле¹⁷
Email: barbara.bohle@meduniwien.ac.at
Линда Кокс¹⁸
Email: lindaswolfcox@msn.com
Фредерик де Блай¹⁹
Email: frederic.deblay@chru-strasbourg.fr
Мотохиро Эбисава²⁰
Email: m-ebisawa@sagamihara-hosp.gr.jp
Рене Максимилиано-Гомес²¹
Email: gomezmaximiliano@hotmail.com
Сандра Гонсалес-Диаз²²
Email: sgonzalezdiaz@yahoo.com

* Автор для корреспонденции.

Тари Хаахтела²³
Email: tari.haahetela@hus.fi
Стивен Холгейт²⁴
Email: syh@soton.ac.uk
Тило Якоб²⁵
Email: thilo.jakob@uniklinik-freiburg.de
Марк Ларче²⁶
Email: larche@mcmaster.ca
Паоло Мария Матрикарди²⁷
Email: paolo.matricardi@charite.de
Джон Оппенхаймер²⁸
Email: Nalopp@optonline.net
Ларс К. Поулсен²⁹
Email: lkallgy@mail.dk
Харальд Э. Ренц³⁰
Email: renzh@med.uni-marburg.de
Нельсон Розарио³¹
Email: nelson.rosario@onda.com.br
Марк Розенберг³²
Email: Rothenberg@cchmc.org
Марио Санчес-Боррес³³
Email: sanchezbmario@gmail.com
Энрико Скала³⁴
Email: enrico_scala@fastwebnet.it
Рудольф Валента³⁵
Email: rudolf.valenta@meduniwien.ac.at

Оперативная группа WAO-ARIA-GA²LEN

¹ Аллергия и респираторные заболевания, DIMI, Отделение внутренней медицины, Университет Генуи, Ларго Розанна Бенци, Генуя, Италия.

² Отделение аллергии и иммунологии, больница Quirón Bizkaia, Carretera Leioa-Inbe, Эрандио (Бильбао), Испания.

³ Отделение педиатрии, Отдел аллергии, Медицинская школа Ниппон, Токио, Япония.

⁴ Отделение дерматологии, отдел аллергий, Университетская больница Цюриха, Цюрих, Швейцария.

⁵ Институт медицины и клинической иммунологии, Каролинский университет SJH Solna, Стокгольм, Швеция.

⁶ Исследовательский центр респираторной медицины, Католический университет, Кордоба, Аргентина.

⁷ Отделение экспериментальной медицины, Институт Giannina Gaslini, Генуя, Италия.

⁸ Центр аллергий Алгарве, Алгарве, Португалия

⁹ Университет Генуи, Генуя, Италия.

¹⁰ Университет Миссури — Школа медицины Канзас-Сити, больница Children's Mercy, Канзас, штат Канзас, США.

¹¹ Отделение педиатрии, отдел аллергологии и иммунологии, Школа медицины Икан, Маунт Синай, Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США.

¹² Отделение медицины, фонд Jimenez Diaz, Университет Мадрида, Avenida Reyes Catolicos, Мадрид, Испания.

¹³ Service Maladies Respiratoires, Hopital Arnaud de Villeneuve, Av. Doyen, Gaston Giraud, Монтепелье, Франция.

¹⁴ Клиника дерматологии и аллергологии, Шарите — Медицинский университет Берлина, Шарите-плац, Берлин, Германия.

¹⁵ Отделение аллергий и иммунологии, Исследовательский институт Мардока по детским заболеваниям, Королевская детская больница, Флемингтон Роад, Мельбурн, Австралия.

¹⁶ Отделение аллергологии, клиника Сан-Карло, Милан, Италия.

¹⁷ Отделение патофизиологии и аллергических исследований им. Кристиана Допплера, Лаборатория иммуномодуляции, Медицинский университет Вены, Вена, Австрия.

¹⁸ Центр аллергии и астмы, Отделение медицины, Юго-Восточный университет Нова, Дэйви, штат Флорида, США.

¹⁹ Отделение заболеваний грудной клетки, Университетская больница Страсбурга, Федерация трансляционной медицины Страсбурга, Университет Страсбурга, Страсбург, Франция.

²⁰ Отделение педиатрии, Клинический исследовательский центр аллергии и ревматологии, национальный госпиталь Сагамихара, Сагамихара, Япония.

²¹ Отделение аллергий и астмы, госпиталь Сан-Бернардо, Piedrabuena, Barrio Gran Bourg, Сальга, Аргентина.

²² Centro de Especialidades Medicas, Hospital Universitario, Монтеррей, Мексика.

²³ Университетская больница, Университет Хельсинки, Хельсинки, Финляндия.

²⁴ Отделение клинических и экспериментальных исследований, Медицинский факультет, Главная больница Саусгемптона, Тремона-Роуд, Саусгемптон, Великобритания.

²⁵ Отделение дерматологии, Группа исследований и клиники аллергий, Медицинский центр университета Фрайбурга, Фрайбург, Германия.

²⁶ Отделение медицины, отдел клинической иммунологии и аллергологии, Университет Мак-Мастера, Мейн-стрит-Вест, Гамильтон, штат Онтарио, Канада.

²⁷ Отделение детской пневмологии и иммунологии, Медицинский университет Шарите, Берлин, Германия.

²⁸ Ассоциация аллергии и легочных заболеваний, Медицинская школа Нью-Джерси, Дэнвилль, штат Нью-Джерси, США.

²⁹ Аллергоклиника, больница университета Копенгагена, Джентофте, Дания.

³⁰ Институт Лабораторной медицины и патологии, Университетская клиника GI & MR GmbH, Standort Марбург, Балдингерштрассе, Марбург, Германия.

³¹ Федеральный университет Параны, Куритаба, Парана, Бразилия.

³² Отделение аллергологии и иммунологии, медицинский центр детской больницы Цинциннати, Цинциннати, штат Оклахома, США.

³³ Отделение аллергологии и клинической иммунологии, медицинский центр Centro Medico Docente La Trinidad, клиника El Avila, Каракас, Венесуэла.

³⁴ Отделение иммунодерматологии, отдел экспериментальной аллергологии IDI-IRCCS, Рим, Италия.

³⁵ Отделение патофизиологии, Центр патофизиологии, инфектологии и иммунологии, отдел иммунопатологии, Медицинский университет Вены, Вена, Австрия.

Резюме

Молекулярная алергодиагностика (МА) — это подход, используемый для картирования аллергенной сенсibilизации пациента на молекулярном уровне, с применением очищенных натуральных или рекомбинантных аллергенных молекул (компонентов аллергенов) вместо экстрактов аллергенов. С момента внедрения в лабораторную диагностику МА постоянно увеличивает свою долю в ежедневной лабораторной практике — на сегодняшний день более 130 аллергенных молекул для аллерген-специфического IgE-тестирования *in vitro* (asIgE) доступны для коммерческих заказов. МА позволяет повысить точность диагноза и прогноза при аллергии и играет важную роль в трех ключевых аспектах алергодиагностики: 1) дифференциации истинной сенсibilизации и перекрестной реактивности у полисенсibilизированных пациентов, что улучшает таким образом выявление причинных аллергенов; 2) оценки, в отдельных случаях, риска развития острых системных реакций вместо слабых и местных при пищевой аллергии, что уменьшает таким образом необоснованное волнение пациента и необходимость проведения пищевых провокационных тестов, и 3) выявлении пациентов и причинных аллергенов для аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ). На рынке доступны разные платформы для молекулярной диагностики аллергий, как для

единичных, так и для множественных исследований. Технология чипов с иммобилизованными аллергенами на твердой фазе (Immuno-Solid phase Allergen Chip, ISAC) — это самая полноценная платформа, доступная на данном этапе, которая включает в себя технологию биочипов для определения количества аsIgE против более чем ста аллергенных молекул в одном исследовании. С дальнейшим развитием МА будущие работы должны быть сфокусированы на широкомасштабных популяционных исследованиях, включающих прикладные задачи, описание новых аллергенных молекул и расширение их числа, а также помощь в правильной интерпретации теста. Быстрорастущая доказательная база для МА требует от аллергологов максимальной информированности о новых достижениях в этой области. Цель этого консенсусного документа — предоставить практическое руководство для показаний, определения и интерпретации диагностики МА для аллергологов-клиницистов.

Введение

- **Итак**, роль молекулярной аллергодиагностики (МА) стремительно возрастает среди рутинных лабораторных исследований. В настоящее время доступны более 130 аллергенных молекул для тестирования аsIgE *in vitro*.

- МА сначала может показаться сложной, однако с обретением все большего опыта в этой области полученная информация становится в основном проще для понимания и дает больше полезных данных для аллерголога. Это особенно подтверждается в случае пищевой аллергии и при выборе аллерген-специфической иммунотерапии.

- Тем не менее все тесты на аsIgE, включая МА, необходимо оценивать с учетом данных истории болезни пациента, так как сенсibilизация аллергеном не обязательно подразумевает клинический ответ.

- Клиницисты и иммунологи, имеющие специализацию по аллергологии, должны следить за новейшими и быстро развивающимися технологиями, доступными для МА.

В конце 1960-х открытие иммуноглобулинов (IgE) предоставило специфический биомаркер, который мог использоваться для выявления аллергических заболеваний, вызванных аллергенами окружающей среды (то есть в основном белков). Традиционные тесты на антитела изотипа IgE, такие как кожный прик-тест или аsIgE-тесты *in vitro*, основаны на использовании «грубых» («сырых») экстрактов из аллергенных и неаллергенных молекул, полученных из источника аллергенов. С помощью ДНК-технологий в конце 1980-х годов аллергенные молекулы были охарактеризованы и клонированы для определения детерминант разнообразных аллергических заболеваний [1–4]. Доступность аллергенных молекул в течение по-

следнего десятилетия открыла двери новой фазе диагностики, называемой молекулярной аллергодиагностикой (МА), что позволило улучшить контроль аллергических заболеваний [5].

Сегодня многие из наиболее распространенных аллергенных молекул клонированы или очищены, описаны трехмерные структуры этих молекул, и их можно постоянно производить промышленным способом [6]. Из-за растущего количества выявляемых аллергенов была предложена систематическая номенклатура аллергенов, одобренная Всемирной организацией здравоохранения и Подкомитетом номенклатуры аллергенов Международного союза иммунологических обществ (WHO/IUIS). Подкомитет отвечает за разработку и ведение систематической номенклатуры аллергенных молекул, а также за обширную базу известных аллергенных белков, доступную на www.allergen.org. Аллергенные молекулы называют, используя латинское название их семейства (род и вид). Например, аллергены, которые начинаются на **Phl p**, происходят от *Phleum pratense* (timoфеевка). Для отличия разных аллергенов из одних источников к названию добавляют номер (например, Phl p 1, Phl p 2 и т. д.). Номера присваиваются аллергенам в порядке их открытия. Аллергенные молекулы классифицируют по белковым семействам согласно их структуре и биологической функции [7]. Много разных молекул имеют общие эпитопы (сайты связывания антител), а одно антитело изотипа IgE может связывать и индуцировать иммунный ответ к аллергенным молекулам с похожими структурами из разных источников аллергенов. Такие перекрестно реактивные аллергены дают ценную информацию относительно сенсibilизации к нескольким разным источникам. С другой стороны, некоторые молекулы являются уникальными маркерами для специфических источников аллергенов, позволяя определить первичную сенсibilизацию.

МА все больше проникает в рутинные лабораторные исследования и может помочь контролировать развитие аллергии у пациентов. Наглядный пример — пищевая аллергия [8–10]. Информация, к каким аллергенным молекулам сенсibilизирован пациент, может помочь в установлении различий между местными или системными реакциями и постоянными клиническими симптомами. Так, показано, что некоторые аллергены, такие как запасные белки арахиса (например, Ara h 2) и лесных орехов (например, Cor a 9), ассоциированы с развитием тяжелых реакций, в то время как другие аллергены вызывают сенсibilизацию в основном без клинических реакций. Другой важный аспект, сложно объяснимый с помощью традиционных тестов, — это стабильность аллергена. Аллергены, стабильные к нагреванию и расщеплению (например, Ara h 2 арахиса), с

большой вероятностью будут вызывать тяжелые клинические реакции, в то время как лабильные к нагреванию и расщеплению молекулы (например, Ara h 8 арахиса), вероятнее всего, вызовут более слабые, локальные реакции или не вызовут их вовсе. Подобным образом, определение, является ли сенсibilизация истинно природной или это результат перекрестной реактивности, помогает оценить вероятность реакций при контакте с разными источниками аллергенов [8]. Молекулярная диагностика может также улучшить отбор как пациентов, так и специфических аллергенов АСИТ респираторных аллергий (например, на пыльцу трав) [11, 12] и аллергии на яд перепончатокрылых насекомых [13, 14]. Все больше публикаций, число которых быстро растет, посвящено различным аллергическим молекулам или аллергическим заболеваниям. В то же время необходимо выявлять все больше клинически значимых молекул, и этот поиск непрерывно продолжается. Наличие антител изотипа IgE против аллергических молекул можно определить, используя платформы для единичных (исследование образца на один фактор) или множественных (исследование образца на многие факторы) тестов. Платформа для единичных исследований позволяет врачу выбрать те аллергические молекулы, которые необходимы для точного диагноза, поставленного исходя из истории болезни пациента. Подход с множественными исследованиями позволяет охарактеризовать IgE-ответ на широкий спектр заранее отобранных на чипе аллергенов независимо от данных истории болезни. На сегодняшний день доступна только одна платформа для множественных исследований — твердофазные иммуноаллергочипы (immunosolid phase allergen chip, ISAC), содержащие более 100 аллергенов из около 50 источников аллергенов. Большое количество аллергенов предоставляет исчерпывающую информацию о профиле сенсibilизации пациента [12, 15]. ISAC особенно подходит пациентам с комплексным типом сенсibilизации или симптомами. Технология ISAC — это многообещающий подход для усовершенствованной диагностики, прогноза и отбора пациентов для АСИТ. Хотя это и коммерческий продукт, технология является опорной для многих исследовательских работ.

Подводя итог, необходимо отметить, что при постоянно растущем опыте исследований МА в основном однозначна и предоставляет важную дополнительную информацию для аллерголога. Тем не менее клиническое значение многих аллергических молекул требует дальнейших исследований. Из-за скорости получения новых данных в области МА от клиницистов требуется не сбавлять скорость изучения большого количества новой информации. Этот консенсусный документ WAO-ARIA-GA²LEN по молекулярной аллергодиагностике является

практическим руководством для показаний, определения и интерпретации данных МА диагностики для клиницистов, специализирующихся в области аллергологии.

Определения и концепции

Источник аллергена

Ткань, частица, пища или организм, вызывающий аллергию (например, перхоть кошки, *D. pteronyssinus*, молоко, *Aspergillus fumigatus*, пыльца *Phleum pratense* и т. д.).

Экстракт аллергена

Неочищенная, нефракционированная смесь аллергических и неаллергических белков, полисахаридов и липидов, полученных путем экстракции из аллергических источников (например, частицы пыльцы).

Аллергическая молекула (компонент аллергена)

Молекула (например, белок или гликопротеин) из данного источника аллергенов, выявляемая антителами изотипа IgE (далее — аллерген). Аллергены можно выделить из природных источников аллергенов (нативные, очищенные аллергены) или получить с помощью технологии рекомбинантных ДНК (рекомбинантные аллергены).

Стабильность аллергенов

Аллергены, чувствительные к кислому pH вплоть до расщепления до пептидов (в желудке), не могут пройти через желудочный барьер (кроме случаев терапии пациентов антацидными препаратами [16]). Чувствительность к температуре (приготовление пищи или кипячение) указывает на то, что аллерген не может сохранить свои аллергические свойства после кипячения/приготовления пищи. Пища может поддаваться нагреванию как при промышленном приготовлении продуктов, так и в домашних условиях. Структуру аллергенов, чувствительных к **расщеплению протеазами**, разрушают ферменты желудочно-кишечного тракта. Следовательно, аллергены, чувствительные к этим факторам, считаются лабильными, а нечувствительные — стабильными.

Больше об аллергических молекулах

Истинный аллерген вызывает специфическую сенсibilизацию к соответствующему источнику аллергенов. **Мажорными (главными)** считаются аллергены, которые связываются с IgE у 50% и более пациентов с одинаковой аллергией. Иными словами, большинство пациентов (≥50%) с одинаковой аллергией сенсibilизированы к рассматриваемому аллергену. **Первичный** аллерген — это оригинальная сенсibilизирующая молекула (то есть главный «спусковой механизм» в отличие от вторичной сенсibilизации из-за перекрестной реактивности). Как правило, мажорные аллергены также являются

истинными и первичными. И последний параметр, который необходимо учитывать, — количество молекулы в источнике аллергена.

Перекрестная реактивность: феномен узнавания, связывания антител изотипа IgE и запуска иммунного ответа к похожим аллергенным молекулам (гомологам), присутствующим у разных видов организмов. Например, антитела изотипа IgE, которые связываются и реагируют как с Bet v 1 пыльцы березы, так и с Cog a 1 лесного ореха из-за своего структурного сходства (обычно характеризуется более чем 50–70% гомологией последовательностей между первичными структурами белков). Перекрестная IgE-реактивность часто происходит в следующих случаях:

а) перекрестная реактивность между аллергенными молекулами из близкородственных видов (например, между аллергенами различных видов трав или клещей);

б) перекрестная реактивность высококонсервативных белков с похожими функциями из дальнеродственных видов, которые принадлежат к одному белковому семейству (например, члены белкового семейства тропомиозинов, такие как Der p 10 клеща домашней пыли и Pen m 1 черной тигровой креветки).

Диагностика, основанная на компонентах аллергенов (CRD)

Смотрите: Молекулярная аллергодиагностика.

Косенсибилизация

Истинная сенсibilизация к более чем одному источнику аллергенов (например, тимофеевке и березе), которая возникает не из-за перекрестной реактивности.

CCD

Перекрестно реактивная карбогидратная детерминанта. CCD — это карбогидратные части гликопротеинов. Наиболее полно описанная CCD — это MUXF3 [17].

Эпитоп

Белковый участок, который узнается и связывается антителами (то есть сайт связывания антител).

Молекулярная аллергодиагностика (МА)

Диагностический подход для определения сенсibilизации аллергеном пациента на молекулярном уровне с использованием очищенного натурального или рекомбинантного аллергена и платформы для единичных или множественных исследований.

Паналлерген

Перекрестно реактивный аллерген, принадлежащий к белковому семейству с высокой консерватив-

ностью структуры между многими дальнеродственными видами, способный инициировать связывание с антителами изотипа IgE (например, профилины или сывороточные альбумины). Смотрите также определение перекрестной реактивности (б).

Рекомбинантный аллерген

Аллергенная молекула, полученная с помощью технологий клонирования ДНК и очистки белков. Рекомбинантные аллергены можно получить в необходимых количествах и в требуемые сроки без CCD-структур. Экстракты аллергенов нельзя получить с помощью рекомбинантных технологий.

Концентрация / уровни аллерген-специфических IgE

а) высокий уровень: отражает высокую концентрацию asIgE к аллергенному экстракту или молекуле. Как правило, чем выше уровень asIgE, тем выше вероятность клинических реакций. Для некоторых аллергенов существует высокая вероятность индукции тяжелых реакций при низких концентрациях asIgE (например, запасных белков и белков-переносчиков липидов [LTP]), в то время как другие аллергены вызывают какие-либо клинические реакции только в высокой концентрации (например, перекрестно реактивные карбогидратные детерминанты [CCD]);

б) низкий уровень: отражает низкую концентрацию asIgE к аллергенному экстракту или молекуле.

Сенсibilизация по наличию аллерген-специфических IgE

Наличие аллерген-специфических IgE (asIgE) в крови, что может сопровождаться клиническими симптомами или проходить при их отсутствии.

а) **Моносенсибилизация:** сенсibilизация к одному источнику аллергенов (*Dermatophagoides pteronyssinus*) или к близкородственному таксономическому семейству или группе источников аллергенов (то есть клещей).

б) **Поли- или мультисенсибилизация:** сенсibilизация к трем или более источникам аллергенов (например, клещам, березе и пыльце трав).

Выявление аллерген-специфических IgE на основе экстрактов аллергенов

Платформы для единичных или множественных исследований для определения реактивности sIgE к экстрактам аллергенов *in vitro*. Термины CAP, радиоаллергосорбентный тест (RAST), sIgE и *in vitro*-тест часто используются как взаимозаменяемые названия этого метода. Однако производительность разных платформ для определения антител отличается между собой, и это необходимо учитывать при представлении и сравнении результатов. Этот подход не позволяет идентифицировать перекрестно-реактивные молекулы.

Выявление аллерген-специфических IgE на основе аллергенных молекул

Платформы для единичных или множественных исследований для определения реактивности asIgE к аллергенным молекулам *in vitro*.

Повышение точности и раскрытие тайн перекрестной реактивности

- Одной из самых важных характеристик МА является свойство разделять истинную сенсibilизацию и сенсibilизацию, вызванную перекрестной реактивностью.

- Эта информация позволяет клиницистам определить, сколько источников аллергенов нужно учитывать при постановке диагноза: один, несколько близкородственных или несколько неродственных источников.

У лиц с аллергией могут продуцироваться asIgE к отдельным видам или общие антитела ко многим источникам аллергенов. Таким образом, пациент может иметь истинную сенсibilизацию ко многим неродственным видам из-за иммунологической перекрестной реактивности к структурно похожим аллергенам. Говоря в общем, чем ближе виды друг к другу в таксономическом отношении, тем выше степень структурного и иммунологического сходства между аллергенами.

Однако белки с важными биологическими функциями часто высококонсервативны и присутствуют у всех организмов, как родственных, так и неродственных. Белки классифицируют по белковым семействам согласно их биологической функции и структуре [7]. Белки одного семейства имеют общие эпитопы, и одни и те же asIgE могут связываться с похожими структурами аллергенов из разных источников. Эти перекрестно реактивные аллергены предоставляют ценную информацию о потенциальной сенсibilизации и клинических реакциях к нескольким различным источникам. Так, антитела изотипа IgE против аллергена пыльцы березы Bet v 1 из семейства патогенез-ассоциированных белков PR-10 или аллергена яблока Mal d 1 перекрестно реагируют и вызывают чувствительность и к яблоку, и к березе. Стоит отметить, что некоторые перекрестно реактивные молекулы могут вызывать клинически значимые симптомы, в то время как другие не вызывают подобных симптомов. Несмотря на то что исследования в области молекулярной аллергологии не до конца проливают свет на механизм, управляющий развитием перекрестной реактивности и возникновением симптомов, анализ эпитопов ключевых аллергенов может все же помочь в раскрытии этого вопроса [26]. На данном этапе для заказа доступно значительное количество очищенных или рекомбинантных аллергенов. В табл. 2 приведен список аллергенов, доступных

для исследований *in vitro* по состоянию на январь 2013 года.

В то же время специфические аллергены являются маркерами для соответствующих источников аллергенов, позволяя определять первичный сенсibilизирующий аллерген. Одно из наиболее важных клинических применений МА — это способность определять причинную молекулу аллергена и отличать специфические молекулы от маркеров перекрестной реактивности. Таким образом, можно вычислить вероятность развития клинических реакций при контакте с разными источниками аллергенов, а в некоторых случаях — определить принцип сенсibilизации к разным аллергенам.

Благодаря использованию МА при диагностике пищевых аллергий, связанных с аллергией на пыльцу растений, возросла точность диагноза. Примером может служить аллергия на арахис, при которой сенсibilизация Ara h 2 считается истинным маркером аллергии на арахис и вызывает системные реакции. В то же время Ara h 8 является маркером перекрестной реактивности между пищевыми аллергенами и пыльцой деревьев из семейства *Fagales* и ассоциируется в основном со слабыми, оральными реакциями [8, 27]. Поэтому определение IgE-ответа к ряду пищевых аллергенов может снизить необходимость в провокационных пищевых тестах [28–30]. В случае сенсibilизации пыльцой разных видов растений МА позволяет в ряде случаев повысить точность диагноза, проведенного традиционными методами — с помощью кожных тестов. МА может выявить новые клинически значимые сенсibilизации или исключить неинформативную сенсibilизацию, вызванную симптоматически незначимыми перекрестно реактивными аллергенами [11, 31]. Например, МА позволяет различать пекарскую астму и аллергию на пыльцу или пшеницу [32].

При использовании традиционных кожных прик-тестов некоторые аллергены могут быть слабо представлены в экстрактах из-за биологической вариабельности источников аллергенов. Например, Can f 5, аллерген из простаты самцов собаки, вызывает чувствительность у 38% пациентов с аллергией на собаку [33]. Однако в экстрактах аллергенов для кожных тестов в качестве источника аллергенов обычно используется шерсть собаки. В результате эти кожные тесты стабильно не могут выявить чувствительность пациента к Can f 5, вероятно, из-за его низкой концентрации в шерсти собаки [33]. Детекция IgE-ответа на Can f 5 с помощью МА может повысить точность диагностики аллергии на собаку.

При использовании ограниченного набора молекул для диагностики выявить можно только те аллергены, для детекции которых тест был разработан изначально. Иными словами, при использовании положительных кожных прик-тестов или тестов на asIgE к *Phleum pratense* только Phl p 1 и Phl p 5 могут

указывать на истинную сенсibilизацию, в то время как Phl p 7 и Phl p 12 позволяют идентифицировать asIgE к поликальцинам и профилинам соответственно. Выявление других молекул, таких как Phl p 2 и Phl p 4, может повысить точность диагностики. Если исследовать ответ на все эти молекулы, можно получить достаточно репрезентативный IgE-профиль для *P. pratense*. Если же оценивается ответ только на одну или несколько молекул, характеристика IgE-профиля будет менее точной. Таким образом, описательная точность sIgE-профиля будет основана на выборе тестов, назначенных врачом.

Несмотря ни на что, необходимо помнить, что любую аллергодиагностику, в том числе и молекулярную, необходимо рассматривать исходя из истории болезни пациента, потому что IgE-сенсibilизация к данному аллергену не обязательно означает клинический ответ. Этот момент особенно важен, так как ответ каждого пациента с аллергией на аллергены из разных источников индивидуален, то есть каждый индивид имеет свой уникальный IgE-профиль на молекулярном уровне [12].

Оценка риска и типа реакции

- МА стала рутинным методом лабораторной диагностики благодаря более точной оценке риска развития аллергических реакций, особенно в случае пищевых аллергий.

- Различные продукты питания содержат уникальные аллергенные молекулы, устойчивые или чувствительные к нагреванию и расщеплению. Стабильность молекулы и история болезни пациента помогают врачу оценить риск системных или локальных реакций. Лабильные аллергены связаны с локальными реакциями (типично-оральные симптомы), а приготовленная пища обычно нормально переносится, в то время как стабильные аллергены обычно связаны с системными реакциями вдобавок к локальным.

- МА позволяет снизить необходимость проведения провокационных тестов и улучшить рекомендации для исключения контакта с аллергеном.

Оценка риска развития аллергических реакций у пациентов – это одна из потенциальных возможностей МА. Так как профили сенсibilизации пациента могут отличаться в зависимости от проявлений и тяжести болезни, выявление молекул «низкого риска» и «высокого риска» является крайне интересной областью, которая может уменьшить использование потенциально вредных диагностических процедур, таких как провокационные тесты. Подобная информация также может улучшить рекомендации по контролю болезни для пациентов (например, уменьшение контакта с источником аллергенов). Это было показано при использовании МА для диагностики пищевой, респираторной аллергии, аллергии на латекс и яд насекомых [8, 34].

Кроме того, профиль сенсibilизации пациента может влиять на общую симптоматику, в частности, полисенсibilизация к нескольким разным аллергенам из одного источника может усилить тяжесть симптомов [27, 35].

В любом случае необходимо отметить, что полученную информацию можно применять только для специфических популяций, которые уже были исследованы, так как известно, что профили как пищевой, так и ингаляторной сенсibilизации, а также проявления заболеваний отличаются в зависимости от воздействия аллергенов в каждом географическом регионе [36].

Пищевые аллергены

Как правило, аллергены, устойчивые к нагреванию и расщеплению, обычно вызывают более тяжелые аллергические реакции (например, анафилаксию) по сравнению с лабильными аллергенами, которые являются типичной причиной местных симптомов, таких как оральный аллергический синдром (ОАС) (табл. 1). Более того, еще один параметр,

Таблица 1. Молекулы высокого и низкого риска из продуктов питания, которые могут вызвать анафилаксию

Источник	Высокий риск	Низкий риск
Арахис	Ara h 1, 2, 3, 9	Ara h 8, профилин, CCD
Лесной орех	Cor a 8, 9	Профилин, CCD
Грецкий орех	Jug r 1, 2, 3	Профилин, CCD
Соя	Gly m 5, 6, (4)	Профилин, CCD
Фрукты семейства Розоцветные	Pru p 3, Mal d 3	Pru p 1, Mal d 1, профилин, CCD
Пшеница	Tri a 14, Tri a 19	Профилин, CCD

Условные обозначения: CCD – перекрестно реактивная карбогидратная детерминанта.

который необходимо учитывать, – это количество молекул в пищевом источнике аллергенов. Ниже приведено несколько примеров, как IgE-сенсibilизация к разным аллергенам из пищевых источников может приводить к развитию клинически уникальных реакций.

Арахис

Для определения профилей сенсibilизации арахисом были проведены обширные исследования профилей пациентов с аллергией на арахис. Антитела изотипа IgE против запасных белков, таких как Ara h 1, 2 и 3, ассоциированы с истинными реакциями на арахис. В отличие от вышеназванных белков сенсibilизация только к Ara h 8 (белок PR-10 и гомолог Bet v 1) – это маркер более слабых или локальных симптомов [24, 27, 35, 37]. В Южной Европе преобладающим сенсibilизирующим аллергеном является LTP (Ara h 9), который может выступать как маркер тяжести реакций и быть связанным с

системными и более тяжелыми реакциями [8]. Для выяснения роли Ara h 9 в других географических регионах необходимы дальнейшие исследования [36]. Пациенты с сенсибилизацией к профилину или CCD только к арахису обычно имеют только местные симптомы или же симптомы вообще отсутствуют, а жареный арахис может нормально переноситься.

Соя

Сенсибилизация к Gly m 5 и / или Gly m 6 связана с тяжелыми реакциями у пациентов с аллергией, в то время как Gly m 4 (PR-10) обычно связаны с ОАС [38]. Тем не менее у пациентов с аллергией на пыльцу березы сочетание чувствительности к Gly m 4 и употребление больших количеств слабо обработанной сои в виде, например, соевых напитков, может вызвать сильные реакции [39]. У пациентов с сенсибилизацией только к профилину или CCD сои обычно не возникает никаких реакций или только местные оральные симптомы, а прожаренная/вареная соя может нормально переноситься.

Лесной орех

Сенсибилизация к Cor a 1 (PR-10) ассоциирована с локальными реакциями вроде ОАС, в то время как Cor a 8 (LTP) и запасные белки (например, Cor a 9 и Cor a 14) чаще узнаются IgE антителами пациентов с тяжелыми реакциями [40–42]. У пациентов с сенсибилизацией только к профилину (Cor a 2) или CCD лесного ореха, как правило, не возникает никаких реакций или проявляются только местные оральные симптомы, а жареные лесные орехи нормально переносятся.

Грецкий орех

Тяжелые реакции у пациентов с аллергией на грецкий орех связаны с сенсибилизацией к запасным белкам (Jug r 1, Jug r 2) или LTP (Jug r 3) [43]. До недавнего времени аллергены грецкого ореха не были доступны на рынке из-за отсутствия значительного количества актуальных клинических случаев. У пациентов с сенсибилизацией только к профилину или CCD грецкого ореха обычно наблюдаются только местные оральные симптомы или же они вообще отсутствуют. Жареные грецкие орехи могут нормально переноситься.

Пшеница

Сенсибилизация к ω -5-глиадину (Tri a 19) – это фактор риска развития немедленных аллергических реакций у детей и системных реакций, вызванных физическими нагрузками, у взрослых [44–46]. LTP пшеницы (Tri a 14) выявляет некоторую степень перекрестной реактивности с LTP из других продуктов, однако необходимо больше информации для исследования его распространенности и клинического значения. У пациентов с сенсибилизацией

только к профилину или CCD пшеницы обычно наблюдаются только местные оральные симптомы или полное их отсутствие. Приготовленная пшеница может нормально переноситься.

Фрукты семейства Розоцветные

Яблоко, персик и другие фрукты с косточкой относятся к семейству Розоцветные (*Rosaceae*). У пациентов с аллергией на эти фрукты, особенно чувствительных к аллергенам типа белков PR-10 (Mal d 1, Pru p 1) или профилинам (Pru p 4), местные оральные реакции наблюдаются чаще, так как эти белковые семейства чувствительны к повышению температуры и расщеплению. С другой стороны, сенсибилизация к LTP (Pru p 3), типичная для средиземноморского региона, ассоциирована с широким спектром клинических проявлений (от бессимптомности до анафилаксии) и обычно считается маркером риска тяжелых реакций, включая кофактор-зависимую анафилаксию (например, под влиянием физических упражнений, алкоголя или лекарственных препаратов) [25, 47–50].

Яйца

Высокий уровень asIgE к овомукоиду (Gal d 1) считается фактором риска развития постоянной аллергии на яйца, включая реакции на жареные/вареные яйца. В то же время не выявляемые уровни указывают на переносимость приготовленных яиц [51].

Молоко

Аллерген-специфические IgE к казеину (Bos d 8) и бета-лактоглобулину (Bos d 5) – это маркеры персистентной аллергии на молоко, включая кипяченое, в то время как не выявляемый уровень указывает на переносимость выпечки с добавлением молока [52].

Рыба

Парвальбумины (например, Gad c1 и Sur s 1) – это мажорные аллергены рыбы, которые обычно стабильны к действию температуры и переваривающих ферментов. Парвальбумины отличаются высокой степенью перекрестной реактивности, при которой пациенты, сенсибилизированные к одному парвальбумину, могут также реагировать на парвальбумины другой рыбы, включая карпа, треску, сельдь, камбалу, скумбрию, тунца, лосося, окуня и угря [53–55].

Ракообразные

Аллергические реакции на ракообразных могут быть вызваны тропомиозином, который выявляет высокую степень перекрестной реактивности с широким спектром организмов, включая клещей [56]. Креветка и прочие ракообразные также содержат другие клинически значимые аллергены, например,

саркоплазматический кальций-связывающий белок и аргининкиназы [57].

Аллергия на мясо

Галактоза- α -1,3-галактоза (α -Gal) — это сахар, обнаруживаемый в составе гликопротеинов и гликолипидов мяса животных и широконосых обезьян, но не человека и других приматов. Аллерген-специфические IgE к α -Gal (анти- α -Gal-IgE) могут быть ассоциированы с сильными аллергическими симптомами и анафилаксией замедленного типа [58]. α -Gal также присутствует на IgA кошек, который не проявляет высокой аллергенной активности [59], и в желатин-содержащем материале. Считается, что сенсibilизация к α -Gal может вызываться укусами клещей или рядом паразитарных инфекций [60–62]. Клинически α -Gal-сенсibilизированные пациенты могут страдать от поздних реакций немедленного типа к красному мясу (говядине, свинине, мясу козы и оленя) [23].

Химерные антитела к α -Gal также обнаруживаются при использовании цетуксимаба (антиракового препарата), и у пациентов, сенсibilизированных к α -Gal, может развиваться анафилаксия после приема этого препарата. Поэтому необходимо проводить исследование на α -Gal перед назначением цетуксимаба [63].

Бычий сывороточный альбумин (например, Bos d 6) — это чувствительный к нагреванию аллерген, который присутствует как в молоке, так и в говядине, что может приводить к развитию перекрестных реакций между мясом разных млекопитающих [64].

Ингалируемые аллергены

Перхоть домашних животных

Высокий уровень asIgE против Fel d 1 ассоциирован с астмой у пациентов с аллергией на кошку [65]. Узнавание более трех аллергенов животного происхождения — липокалина (Mus m 1, Equ c 1, Fel d 4, Can f 1, 2), калликреина (Can f 5) и серетоглобина (Fel d 1) ассоциировано с тяжелыми формами астмы у шведских детей [66]. Для дальнейших исследований аллергии на домашних животных необходимо больше информации, так как многие пациенты полисенсibilизированы к нескольким видам животных, а данных истории болезни часто недостаточно. Кроме того, перекрестная реактивность между домашними животными, например, собакой, кошкой и лошадью, недостаточно глубоко изучена на молекулярном уровне.

Пыльца

Исследования аллергии на пыльцу сфокусированы на разделении истинной аллергии и перекрестной реактивности, однако на сегодняшний день мало сведений о специфических маркерах тяжелых

реакций. Несмотря на это, некоторая чувствительность к специфическим аллергенам может считаться маркером более тяжелых симптомов при аллергии на пыльцу. В таких случаях повышается риск системных реакций во время проведения иммунотерапии, например, при чувствительности к таким маркерам, как Ole e 9 и LTP пыльцы Ole e 7 [67].

Сенсibilизация к профилину часто обнаруживается у пациентов с аллергией на пыльцу, и обычно она ассоциирована со слабыми клиническими симптомами или с полным их отсутствием. Однако для меньшего числа пациентов профилин может быть фактором риска более тяжелых реакций у лиц с аллергией на пыльцу оливкового дерева и пациентов с аллергией на ряд продуктов растительного происхождения, в частности, дыню или цитрусовые [8, 25].

Клещи

Хотя для клещей не описано ни одного специфического профиля сенсibilизации как фактора риска для заболеваний нижних дыхательных путей или тяжести болезни, более высокое соотношение asIgE/IgG4 для Der p 2 ассоциировано с астмой [68, 69]. Der p 10 (тропомиозин) — минорный аллерген у пациентов с аллергией на клещей домашней пыли, однако он также может указывать на риск развития аллергических реакций к ракообразным или улиткам, которые могут быть тяжелыми [70].

Плесень

При реакциях гиперчувствительности к *Aspergillus fumigatus* наличие IgE-реактивности к Asp f 2, 4 и 6 может указывать на аллергический бронхолегочный аспергиллез (АВРА) [71], в то время как сенсibilизация к Asp f 1 и/или Asp f 3 может свидетельствовать об аллергической астме [72]. Подобные связи все равно необходимо подтверждать в других популяциях.

Тараканы

Согласно недавним данным, показано, что сенсibilизация к Per a 2 коррелирует с тяжестью респираторной аллергии у пациентов с аллергией на тараканов [73]. Per a 2 до сих пор недоступен в виде коммерческого теста для диагностики *in vitro*. Однако можно проводить исследования с гомологом Per a 2 - Bla g 2. У тараканов также имеется перекрестно реактивный тропомиозин (Bla g 7), указывающий на риск аллергических реакций к ракообразным или улиткам, которые могут быть тяжелыми [70].

Другие аллергены

Латекс

Сенсibilизация к Hev b 8 (профилину) считается клинически незначимой и не связанной с клиническими реакциями на латекс. Другие аллергены латекса ассоциированы с клиническими реакциями.

Однако к настоящему времени никакой связи между аллергенами и тяжестью реакций обнаружено не было [74, 75]. Перекрестно реактивный аллерген, ответственный за так называемый латексно-фруктовый синдром, точно не определен, хотя полученные данные указывают, что Nev b 5, 6 и 11 играют при этом некоторую роль [8, 76].

Яд перепончатокрылых

Аллергены яда большинства перепончатокрылых содержат CCD, которые отвечают за некоторую часть клинически незначимой перекрестной IgE-реактивности между ядом пчел и ос. С помощью рекомбинантных аллергенов яда можно разделить истинную сенсibilизацию ядом и перекрестную реактивность из-за CCD у пациентов с двойным положительным результатом, полученным в традиционных тестах на основе экстракта аллергенов яда [8, 13, 14].

Аллерген-специфическая иммунотерапия

- Молекулярная аллергодиагностика (МА) является удобным инструментом для разделения истинной сенсibilизации и перекрестных реакций у полисенсibilизированных пациентов в случае, когда традиционных диагностических тестов и данных истории болезни недостаточно для определения значимых аллергенов для АСИТ.

- Учитывая, что АСИТ — это дорогостоящее лечение, которое проводится обычно продолжительное время (в течение 3–5 лет), правильный диагноз, выбор действительно подходящих пациентов и определение аллергенов (первичных сенсibilизаторов) важны для оптимального и экономичного контроля за состоянием пациента.

АСИТ включает в себя подкожное или подъязычное введение экстракта аллергена, вызывающего клинические симптомы, для появления устойчивости к аллергену и снижения реактивности, то есть для уменьшения симптомов, вызванных аллергеном [77, 78]. Это достигается с помощью сложных иммунных модификаций, включающих гуморальный и клеточный иммунитет [79]. Парадигмой является «специфичность» иммунотерапии аллергеном — это значит, что иммунотерапия изменяет иммунный ответ против аллергена, которым была проведена вакцинация. В итоге для назначения АСИТ необходим точный этиологический диагноз, при котором аллерген, вызывающий клинические симптомы, должен быть однозначно идентифицирован. В случае некоторых пациентов для определения причинного аллергена достаточно подробной истории болезни и традиционных IgE-тестов на основе экстрактов аллергенов [80]. Такая ситуация справедлива прежде всего для аллергии на растения с четко определенным периодом цветения, который минимально перекрывается с периодами цветения

других растений или другими источниками аллергенов.

С другой стороны, сложность диагноза возрастает, когда у пациента наблюдается полисенсibilизация, выявляемая традиционными диагностическими тестами на основе экстрактов аллергенов, а данных истории болезни недостаточно для точного определения природы сенсibilизации. Такая ситуация может наблюдаться у относительно большого количества пациентов [81, 82]. Так, в США в подобных случаях вакцину для АСИТ готовят, смешивая все аллергены, тесты к которым положительны [83, 84]. Смешивание ряда аллергенов достаточно эффективно в клиническом смысле. Однако иногда из-за побочных эффектов определить причинный аллерген не представляется возможным [85].

Хорошо известно, что во многих случаях множественные положительные результаты, полученные с использованием экстрактов аллергенов (например, кожные прик-тесты и/или *in vitro* asIgE), являются таковыми из-за наличия перекрестно реактивных аллергенов в диагностических экстрактах [86, 87]. Некоторые белки (в частности, профилины, полкальцины, LTP, PR10, тропомиозины) высококонсервативны у большого числа видов. Например, при проведении кожных прик-тестов пациент с первичной сенсibilизацией к травам может давать положительный результат в тесте на березу [88]. Такая перекрестная реактивность наблюдается из-за того, что используемый в тесте экстракт березы содержит профилин (скажем, Bet v 2), который во многом похож на профилины трав (например, Phl p 12). Несомненно, использование рекомбинантных или очищенных аллергенов поможет разграничить первичную сенсibilизацию и перекрестную реактивность.

В вышеприведенном примере пациент с asIgE к Phl p 1 и Phl p 5, но не против Bet v 1 действительно сенсibilизирован к пыльце трав. Но если также выявлены asIgE к Phl p 12 (профилину), скорее всего именно профилин будет причиной положительных результатов в кожных прик-тестах с экстрактом березы, который тоже содержит профилин. Таким образом, основываясь на данных идентификации аллергенов, необходимо назначать АСИТ только пыльцой трав. Подобным образом, если пациент сенсibilизирован к традиционному экстракту клещей домашней пыли, но его антитела реагируют с Der p 10 (тропомиозином), но не с Der p 1, 2/ Der f 1, 2, АСИТ против клещей домашней пыли назначать не следует, так как экстракты содержат в основном Der p 1, 2/ Der f 1, 2, а концентрация Der p 10 — низкая или варьируется. Молекулярная диагностика также может способствовать точному отбору пациентов для АСИТ ядом перепончатокрылых. Сенсibilизация к мажорным аллергенам Api m 1 медоносной пчелы и Ves v 5 и/или Ves v 1

ос может помочь в разделении истинной двойной сенсибилизации к яду пчел и ос и перекрестной реактивности из-за CCD [13].

Более того, большинство коммерческих экстрактов аллергенов для АСИТ стандартизованы по мажорным аллергенам, но содержат лишь минимальные или переменные количества минорных аллергенов [89, 90]. Таким образом, пациенты с сенсибилизацией только к минорным аллергенам с большой долей вероятности не получают достаточное количество аллергена для эффективной АСИТ. В недавних исследованиях было показано, что у пациентов, проходившие двухлетний курс АСИТ пылью трав или березы, результат терапии был более удовлетворительным при сенсибилизации к мажорным аллергенам березы или трав по сравнению с пациентами, сенсибилизированными только минорными, перекрестно реактивными аллергенами [91].

У полисенсibilizированных пациентов наиболее значимые аллергены, с которыми назначается АСИТ, более точно определяются с помощью МА. В недавних исследованиях было продемонстрировано, что использование МА корректировало назначение АСИТ по сравнению с использованием кожных прик-тестов более чем у 50% пациентов [11]. Такие данные указывают на то, что для полисенсibilizированных пациентов существует риск назначения некорректной АСИТ.

Теоретически подробное определение молекул, против которых вырабатываются asIgE, может позволить разработать индивидуальную АСИТ, основанную только на аллергенах с точно зафиксированным IgE-ответом для каждого конкретного пациента. На практике же это не представляется осуществимым. Во-первых, если учитывать все источники аллергенов, то количество возможных комбинаций профилей сенсибилизации огромно [12]. Во-вторых, рекомбинантные вакцины работают не лучше традиционных экстрактов аллергенов, о чем говорится в некоторых работах [92, 93]. И, в-третьих, каждый рекомбинантный/очищенный аллерген нужно отдельно тестировать и регистрировать, что несет значительные финансовые затраты для производителей. Таким образом, индивидуальная АСИТ — это до сих пор далекая перспектива [94].

Технология микроматриц

• Молекулярные платформы для множественных исследований помогают врачу получить основную информацию о профиле сенсибилизации пациента, используя малое количество сыворотки, и определить перекрестно реактивные, непредвиденные или потенциально опасные аллергены.

• На сегодняшний день на рынке представлена только одна платформа для множественных исследований — ISAC (Immuno-Solid phase Allergen

Chip — алергочипы на твердой фазе). Не являясь взаимозаменяемыми, результаты, полученные на платформе ISAC, аналогичны данным, которые предоставляют платформы для единичных исследований. Но при низком уровне asIgE ImmunoCAP более чувствительный, чем ISAC, и это надо учитывать при интерпретации результатов ISAC, соотнося их с данными истории болезни пациента.

• Полисенсibilizированные дети и взрослые, у которых есть подозрение на сенсибилизацию перекрестно реактивными аллергенами, больше подходят для исследований на ISAC, особенно в случае реакции и на пищевые, и на респираторные аллергены.

МА доступна на платформах для единичных исследований — ImmunoCAP и NuTech — уже в течение многих лет. В этих платформах используются панели отдельных аллергенов вместе с соответствующим экстрактом аллергенов. В настоящее время МА также может проводиться с помощью технологии множественных исследований для определения количества asIgE против многих аллергенов в одном исследовании [95]. Этот метод позволяет проводить исследование большого количества аллергенов, используя малые объемы сыворотки. Несколько исследовательских платформ были описаны в литературе, из которых только одна, технология алергочипов на твердой фазе, ImmunoCAP Immuno-Solid Phase Allergen Chip (ISAC) (Phadia AB), доступна для заказа. Первая, сертифицированная в соответствии со стандартами качества и безопасности Европейского союза (СЕ) версия ISAC была разработана и запущена в производство компанией VBC-Genomics (Вена, Австрия) в 2003 году. Первый чип содержал 23 аллергена, и с тех пор чипы постоянно совершенствуются, предлагается все большее число аллергенов. В 2007 г. был представлен чип со 103 аллергенами, а в 2011 г. в продажу поступил чип ISAC со 112 аллергенами.

ImmunoCAP ISAC — это компактная платформа для иммунологических исследований, в которой используется микроматрица с иммобилизованными аллергенами. Для постановки исследования на чипе необходимо минимум 30 мкл сыворотки или плазмы, полученных из капиллярной или венозной крови. Одно исследование — это покрытая полимером стеклянная пластинка, содержащая четыре микроматрицы для исследования четырех образцов одновременно. Аллергены наносятся в трех повторах и ковалентно иммобилизуются на чипе. Процедура состоит из двух основных последовательных этапов: 1) связывания asIgE из образца пациента с иммобилизованными аллергенами и 2) детекции аллерген-связанных asIgE флуоресцентно-мечеными анти-IgE антителами. Общее время проведения исследования, включая все этапы промывки и инкубации, занимает менее четырех часов. Флуоресценция измеряется с помощью

лазерного сканера, а результаты обрабатываются программным обеспечением для анализа изображений с микроматриц (Microarray Image Analysis, MIA), которое позволяет проводить автоматическое считывание результатов. Кроме того, доступно дополнительное программное обеспечение ISAC Xplain, предоставляющее основанную на доказательной базе информацию об аллергене, значимом для конкретного пациента. Используя стандартную калибровочную кривую, полученные результаты выводятся в диапазоне от 0,3 до 100 Стандартизированных Единиц ISAC (ISU-E), которые представляют собою полуколичественные показатели уровня asIgE. В этом заключается отличие от количественных результатов ImmunoCAP (кЕд/л), и, следовательно, данные двух методов не являются взаимозаменяемыми, хотя и хорошо коррелируют друг с другом [96]. Более того, необходимо понимать, что в технологии ImmunoCAP IgE-связанные антитела определяются в условиях избытка иммобилизованного аллергена, в то время как в ISAC используются малые количества иммобилизованного аллергена, что позволяет конкурировать за связывания другим аллерген-специфическим изотипам, отличным от IgE.

В нескольких работах, приведенных в табл. 2, проанализировали воспроизводимость данного иммунологического метода и сравнили чип ISAC с другими методами определения концентрации sIgE [31, 96–101]. В целом результаты ISAC воспроизводимы на уровне, согласованном и достаточном для большинства лабораторий. В то же время рекомендуется обратить особое внимание на образцы с низким содержанием asIgE (0,3–1 ISU-E), так как при таком уровне антител наблюдается высокая степень варибельности. При сравнении ISAC с другими тестами для определения asIgE, например, платформой для единичных исследований ImmunoCAP, согласованность результатов исследований между протестированными аллергенами может варьировать [31, 75, 96–98, 101, 102]. Результаты сравнения с платформами ImmuLite или NuTech в литературе отсутствуют. Тем не менее в новых версиях ISAC часть проблемных вопросов решена. Из-за высокой степени варибельности между исследованиями платформы ISAC по сравнению с ImmunoCap, как правило, ISAC не рекомендуется для количественного мониторинга IgE на протяжении определенного времени в ежедневной клинической практике. Несмотря на то что интерференции с очень высокими уровнями общего IgE не обнаружено [97], была отмечена возможность интерференции между IgE и другими изотипами, прежде всего IgG (например, при АСИТ) [103].

Использование микроматриц с аллергенами не только подняло на новый уровень диагностику аллергий [15, 97] и оптимизировали назначения

АСИТ [11]. В некоторых работах указывается, что микроматрицы могут использоваться для анализа аллергического марша [104], сенсibilизации в доклинических исследованиях и распространенности молекул [105, 106]. Хотя чувствительность по сравнению с ImmunoCAP во многих случаях до сих пор ниже, ISAC имеет большое клиническое значение из-за способности определять тип сенсibilизации к известным аллергенам и перекрестно реагирующих групп. Более того, широкая панель аллергенов позволяет идентифицировать непредвиденные причинные аллергены. В недавней работе по наблюдению за пациентами на протяжении более 30 лет обнаружена сенсibilизация к *Aln g 1*. Благодаря этим результатам вновь посаженная импортная гибридная ольха (*A. spaethii*) была определена как наиболее вероятный источник многочисленных случаев необъяснимых симптомов сенной лихорадки, возникавших в период раньше ожидаемого. Этот факт объяснялся более ранним периодом цветения гибридной ольхи по сравнению с источниками аллергенов, обычных для данного региона [107].

В табл. 3 приведены преимущества и ограничения разных методов определения IgE. Принимая решение, нужно ли использовать технологию микрочипов и в каких случаях, полезно оценить число аллергенов, которые нужно будет исследовать. В общих чертах (в зависимости от местных цен и системы страхования), если для точного диагноза необходимо определить 10–12 аллергенов на системе для единичных исследований, предпочтительнее использовать тесты на микрочипах как для полноты полученной информации, так и по техническим соображениям [15].

Интерпретация результатов I12-аллергенной панели может быть сложной задачей даже для опытного пользователя ISAC. Во-первых, необходимо учитывать клиническую значимость различных аллергенов. Во-вторых, результаты нужно оценивать в соответствии с традиционными диагностическими тестами. Последнее и самое важное – результаты необходимо интерпретировать в соответствии с данными истории болезни пациента. Конечно, несмотря на то, что большая часть молекул перекрывает спектр положительных традиционных тестов, известно, что результаты ISAC для некоторых аллергенов, например, кешью, кунжута, полыни и амброзии, могут быть отрицательными, даже если тест на основе экстракта положительный. Очевидно, это может происходить из-за отсутствия причинного аллергена на чипе. Стандартная стратегия, используемая для интерпретации результатов ISAC, приведена на рисунке.

В заключение следует сказать, что результаты, полученные с помощью чипов ISAC, хоть и не взаимозаменяемы, но похожи на результаты, полученные с помощью платформы ImmunoCAP. Единственным

Таблица 2. Сравнение разных методов определения аллерген-специфических IgE

Методы	Аллергены	Основные преимущества	Литературные источники
ImmunoCAP и ISAC 50	Клещи домашней пыли, шерсть кошки, пыльца березы, трав и полыни	ROC-кривые указывают на одинаково высокую производительность и CAP, и ISAC при определении антител к кошке, березе и пыльце трав. ISAC отличался немного меньшей чувствительностью при детекции антител к клещам домашней пыли и меньшей чувствительностью для пыльцы полыни	Wöhrl et al. [98]
ImmunoCAP и Прототип ISAC	Аллергены березы и трав	Сравнимая чувствительность между CAP и ISAC	Jahn-Schmid et al. [99]
ImmunoCAP и ISAC 103	Пыльца трав и кипариса	Показана сходная диагностическая чувствительность и специфичность	Cabrera-Freitag et al. [100]
ImmunoCAP и ISAC 103	Множественные аллергены	Соответствие 78,65% для положительных результатов. Соответствие 93,57% для отрицательных результатов	Gadisseur et al. JACI [97]
Воспроизводимость ISAC 103	rAri g 1, rBet v 2, nBos d 4, nGal d 1, nGal d 2, nGal d 3, rHev b 8, rPhl p 5, rPhl p 6 и rPhl p 7	Перекрестная вариабельность в пределах слайда, между слайдами и между исследованиями. Для rAri g 1, nGal d 3 и rPhl p 6 показана высокая вариабельность в отдельных исследованиях	Cabrera-Freitag et al. [100]
ImmunoCAP и ISAC 103	Аллергены латекса	Сходная воспроизводимость	Ebo et al. [75]
ImmunoCAP, ISAC 103 и ADVIA-CENTAUR	Аллергены пыльцы	Результаты диагностических методов соответствовали друг другу в 62,5% случаев. Для ISAC показана недостаточная чувствительность при детекции ответа на <i>Salsola</i> и <i>Plantago</i> ; Advia-Centaur не выявлял сенсibilизацию к кипарису. Для концентрации asIgE ко многим пыльцевым аллергенам, определяемых ISAC и ADVIA, в большинстве случаев была показана положительная корреляция	Lizaso et al. [31]
ImmunoCAP и ISAC 103	103 ISAC молекулы	Для низких значений ISU (от 0,3 до 1) коэффициент вариабельности в рамках одного исследования был очень высок (>100%); как и ожидалось, для средних (от 1 до <15) и высоких (15 и более) значений ISU CV находился на уровне 17 и 8% соответственно. Соответствующие значения CV между разными исследованиями составляли >100; 33 и 13,2% соответственно	Melioli et al. [96]
ImmunoCAP и ISAC 103	Alt a 1	Идентичная воспроизводимость	Twaroch et al. [102]

Условные обозначения: HDM – клещ домашней пыли; ISAC – аллергочип на твердой фазе; ISU – стандартные единицы ISAC; ROC – характеристическая кривая соотношения правильного и ложного обнаружения сигналов; asIgE – аллерген-специфический иммуноглобулин E.

недостатком метода считается чувствительность ISAC, которая ниже, чем у ImmunoCAP, особенно в случае низкого уровня asIgE. Однако возможность использовать малое количество сыворотки для получения профиля сенсibilизации пациента, определение перекрестно реагирующих аллергенов и выявление неожиданных и потенциально опасных аллергенов – это неоспоримые преимущества использования ISAC в диагностике пациентов с аллергическими и похожими на них симптомами (например, с астмой, ринитом, экземой, крапивницей,

идиопатической анафилаксией или эозинофильным эзофагитом).

Основные преимущества МА для пациента

- Молекулярная аллергодиагностика (МА) – наиболее полезный метод для отбора пациентов для АСИТ, определения перекрестной реактивности и тяжести реакции, ассоциированной с различными аллергенами.
- Полисенсibilизированные пациенты, пациенты с неясными симптомами или типом сенсibil-

Таблица 3. Преимущества и недостатки ISAC, ImmunoCAP и кожных прик-тестов

	Преимущества	Недостатки
ISAC	<ul style="list-style-type: none"> • 30 мкл сыворотки или плазмы (капиллярная или венозная кровь) • Параллельное исследование 112 аллергенов • Натуральные и рекомбинантные белки • Требуется меньше аллергена (примерно в 100 000 раз, пг вместо мкг) на 1 исследование • Отсутствие интерференции даже с очень высокими уровнями общего IgE 	<ul style="list-style-type: none"> • Ручной метод • Полуколичественный анализ • Меньшая чувствительность • Большая вариабельность для ряда аллергенов в пределах одного исследования • Большой коэффициент вариации
ImmunoCAP	<ul style="list-style-type: none"> • Автоматический метод • Количественное определение • Высокая чувствительность • Коэффициент вариации ниже • Натуральные, рекомбинантные белки или неочищенные экстракты • Подходит для мониторинга сенсibilизации 	<ul style="list-style-type: none"> • Не включены некоторые источники аллергенов • Возможная интерференция между IgE и другими изотипами, прежде всего IgG • 40 мкл сыворотки на аллерген • Один аллерген на исследование • Обнаружение низкоаффинных антител, имеющих невысокое клиническое значение или незначимых для клиники в принципе
Кожный прик-тест	<ul style="list-style-type: none"> • Высокая чувствительность (зависит от экстракта) • Моментальный результат 	<ul style="list-style-type: none"> • Ручной метод • Один аллерген на один прик-тест • Только неочищенные экстракты • Не подходит для мониторинга сенсibilизации

лизации или те, у кого нет ответа на лечение, могут быть диагностированы в стандартной лаборатории при доступности в ней МА.

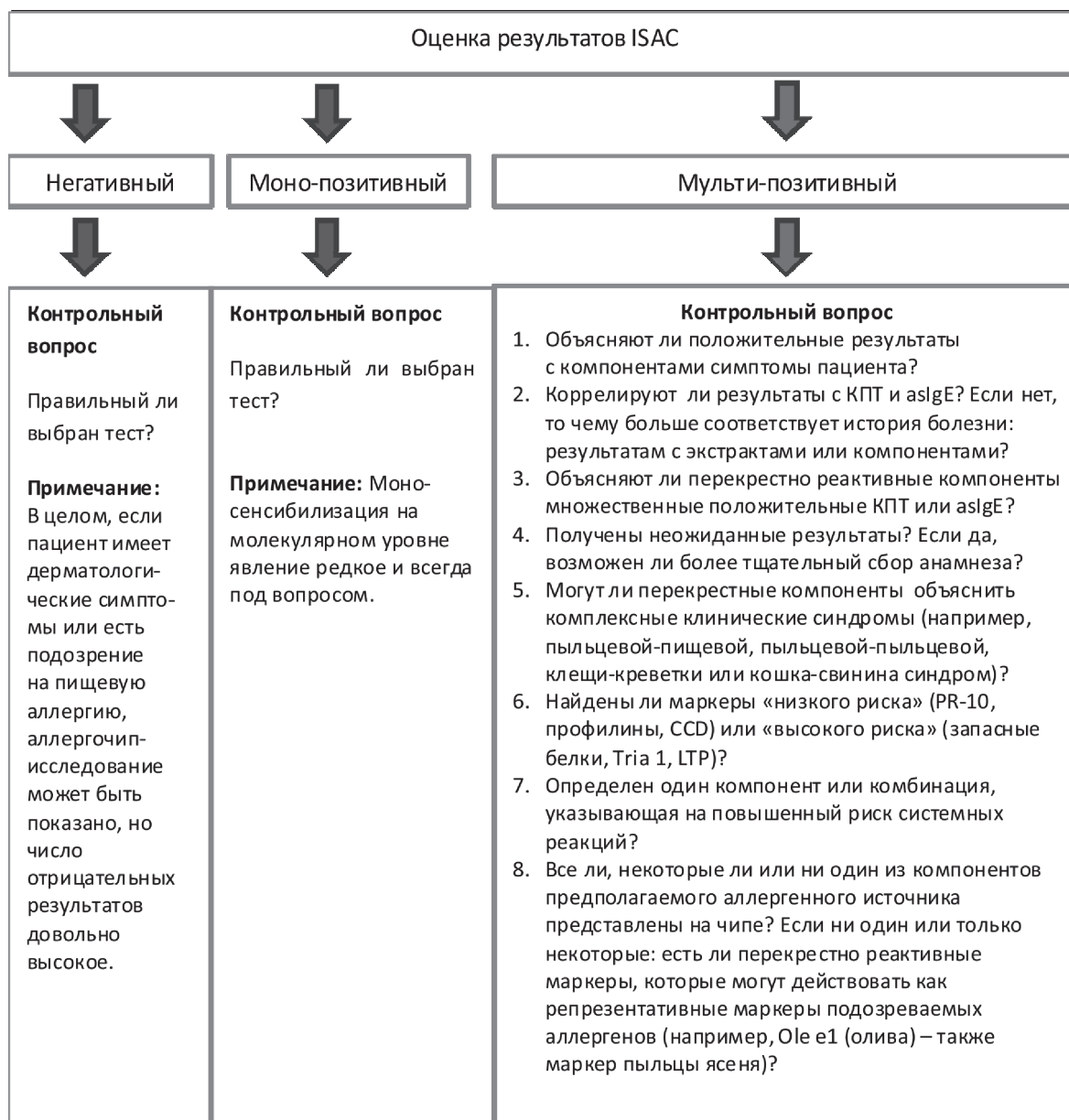
- Для моносенсибилизированных пациентов с однозначными данными истории болезни и симптоматическим профилем выгоды МА по сравнению с традиционными диагностическими тестами не являются очевидными.

МА обладает рядом преимуществ для диагностики пациентов с аллергическими симптомами – астмой, ринитом, экземой, крапивницей, желудочно-кишечными симптомами, оральным аллергическим синдромом или анафилаксией. Определение истинной сенсibilизации так же важно, как и выявление вторичной сенсibilизации под действием перекрестно реагирующих аллергенов.

МА, основанная на выборе врачом отдельных аллергенов или использовании микроматриц, предлагает большой объем информации, относящейся к IgE-профилю сенсibilизированных пациентов. Эта информация служит в основном для трех целей. Во-первых, МА помогает выявлять истинную сенсibilизацию к источнику аллергенов, особенно для назначения АСИТ. Для большинства пациентов с аллергиями МА обязательно проводится для точного назначения АСИТ [8]. Во-вторых, с помощью МА можно обнаружить сенсibilизацию к определенным перекрестно реагирующим аллергенным белкам или белковым семействам, что вносит вклад в определение причинного источника аллергенов и более корректных рекомендаций пациенту с учетом исключения контакта с аллергеном. И в-третьих, МА помогает оценить риск развития реакций, связанных с определенными аллергенами (то есть тип реакции, местная или системная). Например, сенсibilизация к ЛТР или запасным белкам может

вызывать тяжелые системные реакции у пациентов с аллергией, в то время как профилины, ССД и белки PR-10 обычно ассоциированы с незначительными местными реакциями при пищевой аллергии. Пациентов, которые нуждаются в МА, можно разделить на несколько групп. Для большинства пациентов МА является полезным и интересным, но не критически важным исследованием, в частности, если назначено только симптоматическое лечение. Для моносенсибилизированных пациентов (например, к аллергенам домашних животных или клещей) и пациентов с однозначной историей болезни и симптоматическим профилем значительные выгоды от МА по сравнению с традиционными диагностическими тестами отсутствуют.

Ранее пациенты, сенсibilизированные к одному или двум источникам аллергенов, были наиболее распространенным типом пациента в клинической практике. В настоящее время они становятся меньшинством, в основном в развитых странах. Фактически полисенсibilизированные дети и взрослые со сложными симптомами, а также пациенты с подозрением на перекрестную реактивность должны обязательно проходить МА. Пациенты с зафиксированной полисенсibilизацией к одному или нескольким респираторным аллергенам, которые также страдают от пищевой аллергии (от менее тяжелых проявлений вроде ОАС до более тяжелых, включая анафилаксию, астму или экзему), должны проходить МА в обычном режиме. Кроме того, МА может предоставить дополнительную информацию для ранней диагностики аллергий и помочь при мониторинге эволюции аллергических заболеваний, что может быть полезным для заблаговременного выявления и наблюдения за пациентом.



КПТ – кожные прик-тесты.

Рисунок. Интерпретация результатов ISAC

Современные руководства по аллергодиагностике должны обязательно рекомендовать тщательное клиническое обследование как первостепенный подход, вторым шагом после которого является исследование ответа на экстракты аллергенов с помощью определения *in vitro* asIgE или кожные прик-тесты. МА – это третий этап исследований. Для опытных клиницистов МА может быть включена во второй этап исследований.

Неудовлетворенные запросы

- Несмотря на то что молекулярная аллергодиагностика в любом случае повышает клиническое значение определения уровня asIgE при аллергии, существует ряд нерешенных задач.

- Молекулярный анализ типов сенсibilизации к аллергенам может повысить клиническую значимость аллерготестов на основе экстрактов. В некоторых случаях он также может улучшить отбор и назначение АСИТ. В то же время ряд вопросов, связанных с МА, требует дальнейших исследований:

- 1) Для определения категорий пациентов, которым наиболее выгодна МА, необходимы широкомасштабные многоцентровые популяционные исследования.

- 2) Практическую пользу и отбор аллергенов для МА необходимо оценить в широкомасштабных исследованиях, в которые должны быть включены всесторонне охарактеризованные пациенты и здоровые, сенсibilизированные лица контрольной группы из разных географических регионов.

3) Необходима оценка повышения выгод относительно роста расходов на МА в работах по изучению связи цены и пользы. Авторы таких исследований должны сравнить эффективность МА с традиционными *in vitro* asIgE-исследованиями или кожными прик-тестами, доступными в настоящее время.

4) Идентификация и клиническая оценка большинства значимых аллергенов должна в дальнейшем быть исследована для многих источников аллергенов (то есть орехов, плесени, пыльцы деревьев и трав).

5) Необходима профессиональная подготовка в области МА как в клинике, так и в области научных исследований, с акцентом на развитие новой «молекулярной» эры аллергологии.

6) Необходимо совершенствовать диагностические методы, подкрепляющие принятие клинического решения, для того чтобы исключить неверное толкование данных, а также повысить уровень осведомленности врачей, поскольку объемная информация, полученная благодаря использованию МА, сложна для анализа, учитывая в особенности то, что уровень доказательности результатов МА быстро возрастает.

В области аллергодиагностики сохраняется необходимость продолжения исследований традиционных методов, основанных на использовании водно-солевых экстрактов аллергенов. В настоящее время есть одна опубликованная работа, посвященная анализу соотношения стоимости к эффективности по диагностике пищевой аллергии [108]. Так как МА повышает точность диагностики при определенных пищевых аллергиях (например, при аллергии к арахису) и отборе пациентов для АСИТ по сравнению с традиционными методами, основанными на использовании экстрактов аллергенов, логично допустить, что экономическая характеристика диагностики должна улучшиться при указанных конкретных ситуациях. Однако, учитывая тот факт, что имеется лишь одна работа по оценке отношения стоимости к эффективности при пищевой аллергии, необходимы дополнительные исследования этого показателя при использовании соответствующих методов аллергологической диагностики.

Необходима также более тщательная оценка характеристики и стандартизации концентрации аллергенов в диагностических и лечебных формах водно-солевых экстрактов.

Выводы

- Международные руководства рекомендуют первый этап диагностики проводить на основе данных истории болезни пациента, а определение уровня IgE в реакциях с экстрактами аллергенов (*in vitro* аллерген-специфический IgE или кожные прик-тесты) выполнять на втором этапе.

- Молекулярная аллергодиагностика (МА) считается подходом третьей линии диагностики,

используемым в случае, если исследований первого и второго уровня недостаточно для точного диагноза. Для опытных клиницистов МА может быть включена во второй этап.

- МА — это новая и сложная процедура, которая в ближайшем будущем станет стандартным инструментом в арсенале аллерголога. Поэтому для врачей нужны образовательные программы и курсы по МА.

МА была разработана более десяти лет назад. Нынешняя доступность большого количества аллергенов на рынке существенно усовершенствовала диагностический алгоритм, используемый многими аллергологами. В настоящее время международные руководства рекомендуют в качестве первого этапа аллергодиагностики использовать подробные данные истории болезни пациента, а IgE-тесты с экстрактами аллергенов (*in vitro* определение аллерген-специфического IgE или кожный прик-тест) — на втором этапе диагностики аллергии для определения источника, ответственного за развитие симптомов у пациента. Кожные прик-тесты и *in vitro* определение аллерген-специфических IgE дают сходную информацию, а достоинства и недостатки обоих методов зависят от конкретного клинического случая. Для большинства пациентов достаточно первых двух этапов для выявления природы аллергии пациента. МА считается методом третьего этапа, который используется в том случае, когда первые два этапа диагностики недостаточны. Опытные врачи могут использовать МА на втором этапе исследований. Традиционные диагностические тесты считаются достаточными для определения наилучших рекомендаций для большинства пациентов. Вместе с идентификацией специфических и перекрестно реагирующих аллергенов врачам доступно большое количество новых наборов диагностических и терапевтических методов, включая возможность выбора сочетания аллергенов для АСИТ. МА относительно дорога методика по сравнению с традиционными тестами, особенно в случае технологии микроматриц. Экономические опасения или ограничение бюджета могут влиять на решение отдельного пациента, вне зависимости от того, идет ли речь о платформе для единичных или множественных исследований. На это решение может повлиять количество аллергенов, которые нужно исследовать — как с точки зрения объема полученной информации в результате исследования, так и с точки зрения необходимого для теста объема сыворотки (особенно у маленьких детей).

При выборе использования диагностики на основе микроматриц важно учитывать главное преимущество — широкомасштабный анализ IgE-профиля пациента с использованием очень малого объема сыворотки или крови. В то же время недостатком является то, что пациент может подвергаться ри-

ску определения неожиданной сенсibilизации, обнаруженной во время диагностики. Интерпретация такой сенсibilизации у пациентов без явной клинической симптоматики затруднена или даже невозможна (хотя в некоторых случаях это можно считать преимуществом метода).

Несмотря на то что МА – это сложная область исследований, она предоставляет новую и клинически значимую информацию для аллерголога и скоро станет стандартным инструментом в арсенале врача. Поэтому образовательные программы для врачей-аллергологов в этой области крайне необходимы.

Конфликт интересов

Дж. Уолтер Каноника: консультант, лектор и исследователь в следующих коммерческих компаниях: Thermo Fisher, Alk-Abello, Allergopharma, Allergy Therapeutics, Anallergo, Hal, Lofarma, Stallergenes.

Игнасио Анзотеги: консультант и лектор, сотрудничающий с компаниями: Faes Farma, Bial-Aristegui, Pfizer and Sanofi.

Руби Пауанкар: конфликт интересов отсутствует.

Питер Шмид-Грендельмайер: консультант и лектор ThermoFisher, Phadia, Scientific AG, Siemens, Diagnostics AG, Buhlmann Labs AG.

Марианна ван Хаге: член Клинического совета директоров Biomaу, Вена, Австрия, исследователь, сотрудничество с профессором Валентой, Медицинский университет Вены.

Карлос Э. Баэна-Каньяни: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Novartis, Sanofi, Stallergenes, FAES, Lofarma.

Джованни Мелиоли: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Thermo Fisher-Phadia, Милан, Италия, Bruschetti srl, Генуя, Италия, Lallemand Pharma, Lugano (CH).

Карлос Нунс: конфликт интересов отсутствует.

Джованни Пассалакуа: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Anallergo, Almirall, AstraZeneca, GSK, Lofarma, Menarini, MSD, Phadia, Stallergenes.

Ленни Розенвассер: конфликт интересов отсутствует.

Хью Сэмпсон: Allertein Therapeutics, LLC – консультант, Научный совет директоров Danone – консультант, DBV – консультант на общественных началах, Novartis – консультант на общественных началах, Университет Небраски – совет директоров FAARP – консультант, NIAID – NIH – исследовательские гранты, FARE – исследовательские гранты.

Джоакин Састре: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Novartis, GSK, Stallergenes, ALK, Thermofisher, FAES, Mundipharma, MSD, FAES FARMA, Mundipharma, Roche, Gennetech, GSK, Novartis.

Жан Бускет: конфликт интересов отсутствует.

Торстен Зубербир: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: AnseII, Bayer Schering, DST, FAES, Fujisawa, HAL, Henkel, Kryolan, Leti, Merck, MSD, Novartis, Procter and Gamble, Sanofi-Aventis, Schering Plough, Stallergenes, UCB.

Катрина Аллен: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Abbott, Danone, Pfizer.

Рикардо Асеро: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Phadia/Thermo-Fisher Allergopharma Lofarma SpA ALK-Abellò Malesci Mediolanum Allergy Therapeutics.

Барбара Боле: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Biomaу AG, Vienna, Austria Bencard Allergie GmbH, Вена, Австрия.

Линда Кокс: конфликт интересов отсутствует.

Фредерик де Блей: конфликт интересов отсутствует.

Мотохиро Эбисава: конфликт интересов отсутствует.

Рене Максимилиано Гомес: конфликт интересов отсутствует.

Сандра Гонсалес-Диас: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: GSK, MSD, Pfizer, Novartis, Allmiral.

Тари Хаахтела: конфликт интересов отсутствует.

Стивен Холгейт: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Synairgen, Novartis, MSD, Stallergenes, Crescendo Biologics, Sterna, Amgen, BI.

Тило Якоб: консультант Thermo Fisher Scientific.

Марк Ларче: консультант Circassia Ltd., акционер Adiga Life Sciences, консультант Adiga.

Life Sciences, исследовательские контракты с Sanofi США: консультант, Air Canada: консультант.

Паоло Мария Матрикарди: консультант, лектор или исследователь в следующих коммерческих компаниях: Allergopharma, ALK, ThermoFisher Scientific.

Джон Оппенхаймер: консультант: GSK, AZ, Sunorium, Myelin Research: GSK, Novartis, BI, Meddimune, Председатель совета директоров: ABAI, помощник редактора: Annals of Allergy Asthma and Immunology.

Ларс К. Поулсен: докладчик на симпозиуме Thermo Fischer Scientific Symposia. Спонсорами части исследований в области диагностики выступали Siemens и Thermo Fischer Scientific.

Нельсон Розарио: консультант, лектор или исследователь следующих коммерческих компаний: Danone, MSD, Novartis, Aché, Sanofi, Takeda, Nestlé.

Марк Розенберг: конфликт интересов отсутствует.

Марио Санчес-Боргес: консультант Novartis, Sanofi Aventis.

Энрико Скала: конфликт интересов отсутствует.
Рудольф Валента: консультант Phadia/Ther-mofisher, Упсала, Швеция, и BIOMAY AG, Вена, Австрия.

ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ

- Valenta R., Duchene M., Vrtala S., Birkner T., Ebner C., Hirschwehr R., Breitenbach M., Rumpold H., Scheiner O., Kraft D. Recombinant allergens for immunoblot diagnosis of tree-pollen allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1991, v. 88, p. 889-894.
- Valenta R., Vrtala S., Ebner C., Kraft D., Scheiner O. Diagnosis of grass pollen allergy with recombinant timothy grass (*Phleum pratense*) pollen allergens. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1992, v. 97, p. 287-294.
- Valenta R., Kraft D. Recombinant allergen molecules: tools to study effector cell activation. *Immunol. Rev.* 2001, v. 179, p. 119-127.
- Thomas W.R., Stewart G.A., Simpson R.J., Chua K.Y., Plozza T.M., Dilworth R.J., Nisbet A., Turner K.J. Cloning and expression of DNA coding for the major house dust mite allergen Der p 1 in *Escherichia coli*. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1988, v. 85, p. 127-129.
- Valenta R., Lidholm J., Niederberger V., Hayek B., Kraft D., Gronlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin. Exp. Allergy.* 1999, v. 29, p. 896-904.
- Valenta R., Ferreira F., Focke-Tejkl M., Linhart B., Niederberger V., Swoboda I., Vrtala S. From allergen genes to allergy vaccines. *Annu. Rev. Immunol.* 2010, v. 28, p. 211-241.
- Radauer C., Bublin M., Wagner S., Mari A., Breiteneder H. Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008, v. 121, p. 847-852. e847.
- Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin. Exp. Allergy.* 2010, v. 40, p. 1442-1460.
- Borres M.P., Ebisawa M., Eigenmann P.A. Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2011, v. 22, p. 454-461.
- Shreffler W.G. Microarrayed recombinant allergens for diagnostic testing. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 127, p. 843-849.
- Sastre J., Landivar M.E., Ruiz-Garcia M., Andregnette-Rosigno M.V., Mahillo I. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy.* 2012, v. 67, p. 709-711.
- Tripodi S., Frediani T., Lucarelli S., Macri F., Pingitore G., Di Rienzo Businco A., Dondi A., Pansa P., Ragusa G., Asero R. et al. Molecular profiles of IgE to *Phleum pratense* in children with grass pollen allergy: Implications for specific immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012, v. 129, p. 834-839. e838.
- Muller U., Schmid-Grendelmeier P., Hausmann O., Helbling A. IgE to recombinant allergens Api m 1, Ves v 1, and Ves v 5 distinguish double sensitization from crossreaction in venom allergy. *Allergy.* 2012, v. 67, p. 1069-1073.
- Mittermann I., Zidarn M., Silar M., Markovic-Housley Z., Aberer W., Korosec P., Kosnik M., Valenta R. Recombinant allergen-based IgE testing to distinguish bee and wasp allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010, v. 125, p. 1300-1307.
- Melioli G., Compalati E., Bonini S., Canonica G.W. The added value of allergen microarray technique to the management of poly-sensitized allergic patients. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2012, v. 12, p. 434-439.
- Pali-Scholl I., Jensen-Jarolim E. Anti-acid medication as a risk factor for food allergy. *Allergy.* 2011, v. 66, p. 469-477.
- Mertens M., Brehler R. Suitability of different glycoproteins and test systems for detecting cross-reactive carbohydrate determinant-specific IgE in hymenoptera venomallergic patients. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011, v. 156, p. 43-50.
- Ruiz-Garcia M., Garcia del Potro M., Fernández-Nieto M., Barber D., Jimeno-Nogales L., Sastre J. Profilin: A relevant aeroallergen? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 128, p. 416-418.
- Ayuso R., Sanchez-Garcia S., Lin J., Fu Z., Ibanez M.D., Carrillo T., Blanco C., Goldis M., Bardina L., Sastre J., Sampson H.A. Greater epitope recognition of shrimp allergens by children than by adults suggests that shrimp sensitization decreases with age. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010, v. 125, p. 1286-1293.
- Palacin A., Tordesillas L., Gamboa P., Sanchez-Monge R., Cuesta-Herranz J., Sanz M.L., Barber D., Salcedo G., Diaz-Perales A. Characterization of peach thaumatin-like proteins and their identification as major peach allergens. *Clin. Exp. Allergy.* 2010, v. 40, p. 1422-1430.
- Perez-Gordo M., Cuesta-Herranz J., Maroto A.S., Cases B., Ibanez M.D., Vivanco F., Pastor-Vargas C. Identification of sole parvalbumin as a major allergen: study of crossreactivity between parvalbumins in a Spanish fish-allergic population. *Clin. Exp. Allergy.* 2011, v. 41, p. 750-758.
- Jin C., Hantusch B., Hemmer W., Stadlmann J., Altmann F. Affinity of IgE and IgG against cross-reactive carbohydrate determinants on plant and insect glycoproteins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008, v. 121, p. 185-190.
- Mullins R.J., James H., Platts-Mills T.A., Commins S. Relationship between red meat allergy and sensitization to gelatin and galactose- α -1,3-galactose. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012, v. 129, p. 1334-1342.
- Ebo D.G., Bridts C.H., Verweij M.M., De Knop K.J., Hagendorens M.M., De Clerck L.S., Stevens W.J. Sensitization profiles in birch pollen-allergic patients with and without oral allergy syndrome to apple: lessons from multiplexed component-resolved allergy diagnosis. *Clin. Exp. Allergy.* 2010, v. 40, p. 339-347.
- Hauser M., Roulias A., Ferreira F., Egger M. Panallergens and their impact on the allergic patient. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2010, v. 6, p. 1.
- Wang J., Lin J., Bardina L. et al. Correlation of IgE/IgG4 milk epitopes and affinity of milk-specific IgE antibodies with different phenotypes of clinical milk allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010, v. 125, p. 695-702.
- Nicolaou N., Custovic A. Molecular diagnosis of peanut and legume allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 11, p. 222-228.
- Zijlstra W.T., Flinterman A.E., Soeters L. et al. Parental anxiety before and after food challenges in children with suspected peanut and hazelnut allergy. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2010, v. 21, p. 439-445.
- Klemans R.J.B., Otte D., Knol M. et al. The diagnostic value of specific IgE to Ara h 2 to predict peanut allergy in children is comparable to a validated and updated diagnostic prediction model. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013, v. 131, p. 157-163.
- Dang T.D., Tang M., Choo S. et al. Increasing the accuracy of peanut allergy diagnosis by using Ara h 2. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012, v. 129, p. 1056-1063.
- Lizaso M.T., Garcia B.E., Tabar A.I. et al. Comparison of conventional and component-resolved diagnostics by two different methods (Advia-Centaur/Microarray-ISAC) in pollen allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2011, v. 107, p. 35-41.
- Constantin C., Quirce S., Poorafshar M. et al. Micro-arrayed wheat seed and grass pollen allergens for component-resolved diagnosis. *Allergy.* 2009, v. 64, p. 1030-1037.
- Mattsson L., Lundgren T., Everberg H. et al. Prostatic kallikrein: a new major dog allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, v. 123, p. 362-368.
- Treudler R., Simon J.C. Overview of component resolved diagnostics. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2013, v. 13, p. 110-117.
- Glaumann S., Nopp A., Johansson S.G. et al. Basophil allergen threshold sensitivity, CD-sens, IgE-sensitization and

- DBPCFC in peanutsensitized children. *Allergy*. 2012, v. 67, p. 242-247.
36. Vereda A., van Hage M., Ahlstedt S. et al. Peanut allergy: clinical and immunologic differences among patients from 3 different geographic regions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 127, p. 603-607.
 37. Asarnoj A., Nilsson C., Lidholm J. et al. Peanut component Ara h 8 sensitization and tolerance to peanut. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012, v. 130, p. 468-472.
 38. Holzhauser T., Wackermann O., Ballmer-Weber B.K et al. Soybean (Glycine max) allergy in Europe: Gly m 5 (beta-conglycinin) and Gly m 6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, v. 123, p. 452-458.
 39. Kosma P., Sjolander S., Landgren E. et al. Severe reactions after the intake of soy drink in birch pollen-allergic children sensitized to Gly m 4. *Acta Paediatr.* 2011, v. 100, p. 305-306.
 40. Flinterman A.E., Akkerdaas J.H., Knulst A.C. et al. Hazelnut allergy: from pollen-associated mild allergy to severe anaphylactic reactions. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2008, v. 8, p. 261-265.
 41. Verweij M.M., Hagendorens M.M., De Knop K.J. et al. Young infants with atopic dermatitis can display sensitization to Cor a 9, an 11S legumin-like seed-storage protein from hazelnut (*Corylus avellana*). *Pediatr. Allergy Immunol.* 2011, v. 22, p. 196-201.
 42. Masthoff L.J., Mattsson L., Zuidmeer-Jongejan L. et al. Sensitization to Cor a 9 and Cor a 14 is highly specific for a hazelnut allergy with objective symptoms in Dutch children and adults. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013.
 43. Roux K.H., Teuber S.S., Sathe S.K. Tree nut allergens. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2003, v. 131, p. 234-244.
 44. Palosuo K., Varjonen E., Kekki O.M. et al. Wheat omega-5 gliadin is a major allergen in children with immediate allergy to ingested wheat. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001, v. 108, p. 634-638.
 45. Ebisawa M., Shibata R., Sato S. et al. Clinical utility of IgE antibodies to omega-5 gliadin in the diagnosis of wheat allergy: a pediatric multicenter challenge study. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2012, v. 158, p. 71-76.
 46. Matsuo H., Dahlstrom J., Tanaka A. et al. Sensitivity and specificity of recombinant omega-5 gliadin-specific IgE measurement for the diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergy*. 2008, v. 63, p. 233-236.
 47. Fernandez-Rivas M., Bolhaar S., Gonzalez-Mancebo E. et al. Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006, v. 118, p. 481-488.
 48. Egger M., Hauser M., Mari A. et al. The role of lipid transfer proteins in allergic diseases. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2010, v. 10, p. 326-335.
 49. Pascal M., Munoz-Cano R., Reina Z. et al. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin. Exp. Allergy*. 2012, v. 42, p. 1529-1539.
 50. Romano A., Scala E., Rumi G. et al. Lipid transfer proteins: the most frequent sensitizer in Italian subjects with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin. Exp. Allergy*. 2012, v. 42, p. 1643-1653.
 51. Caubet J.C., Kondo Y., Urisu A., Nowak-Węgrzyn A. Molecular diagnosis of egg allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 11, p. 210-215.
 52. Caubet J.C., Nowak-Węgrzyn A., Moshier E. et al. Utility of casein-specific IgE levels in predicting reactivity to baked milk. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013, v. 131, p. 222-224.
 53. Bugajska-Schretter A., Elfman L., Fuchs T. et al. Parvalbumin, a cross-reactive fish allergen, contains IgE-binding epitopes sensitive to periodate treatment and Ca²⁺ depletion. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1998, v. 101, p. 67-74.
 54. Van Do T., Hordvik I., Endresen C., Elsayed S. Characterization of parvalbumin, the major allergen in Alaska pollack, and comparison with codfish Allergen M. *Mol. Immunol.* 2005, v. 42, p. 345-353.
 55. Torres Borrego J., Martinez Cuevas J.F., Tejero Garcia J. Cross reactivity between fish and shellfish. *Allergol. Immunopathol (Madr.)*. 2003, v. 31, p. 146-151.
 56. Seiki K., Oda H., Yoshioka H. et al. A reliable and sensitive immunoassay for the determination of crustacean protein in processed foods. *J. Agric. Food Chem.* 2007, v. 55, p. 9345-9350.
 57. Leung N.Y., Wai C.Y., Shu S. et al. Current immunological and molecular biological perspectives on seafood allergy: a comprehensive review. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2012.
 58. Commins S.P., Satinover S.M., Hosen J. et al. Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, v. 123, p. 426-433.
 59. Gronlund H., Adedoyin J., Commins S.P. et al. The carbohydrate galactose-alpha-1,3-galactose is a major IgE-binding epitope on cat IgA. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, v. 123, p. 1189-1191.
 60. Hamsten C., Starkhammar M., Tran T.A. et al. Identification of galactose-alpha-1,3-galactose in the gastrointestinal tract of the tick *Ixodes ricinus*; possible relationship with red meat allergy. *Allergy*. 2013.
 61. Commins S.P., James H.R., Kelly L.A. et al. The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose-alpha-1,3-galactose. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 127, p. 1286-1293. e1286.
 62. Arkestål K., Sibanda E., Thors C. et al. Impaired allergy diagnostics among parasite-infected patients caused by IgE antibodies to the carbohydrate epitope galactose-[alpha]1,3-galactose. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 127, p. 1024-1028.
 63. Chung C.H., Mirakhor B., Chan E. et al. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactosealpha-1,3-galactose. *N. Engl. J. Med.* 2008, v. 358, p. 1109-1117.
 64. Vicente-Serrano J., Caballero M.L., Rodriguez-Perez R. et al. Sensitization to serum albumins in children allergic to cow's milk and epithelia. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2007, v. 18, p. 503-507.
 65. Gronlund H., Adedoyin J., Reininger R. et al. Higher immunoglobulin E antibody levels to recombinant Fel d 1 in cat-allergic children with asthma compared with rhinoconjunctivitis. *Clin. Exp. Allergy*. 2008, v. 38, p. 1275-1281.
 66. Nordlund B., Konradsen J.R., Kull I. et al. IgE antibodies to animal-derived lipocalin, kallikrein and secretoglobulin are markers of bronchial inflammation in severe childhood asthma. *Allergy*. 2012, v. 67, p. 661-669.
 67. Barber D., de la Torre F., Feo F. et al. Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy*. 2008, v. 63, p. 1550-1558.
 68. Bronnert M., Mancini J., Birnbaum J. et al. Component-resolved diagnosis with commercially available D. pteronyssinus Der p 1, Der p 2 and Der p 10: relevant markers for house dust mite allergy. *Clin. Exp. Allergy*. 2012, v. 42, p. 1406-1415.
 69. Resch Y., Weghofer M., Seiberler S. et al. Molecular characterization of Der p 10: a diagnostic marker for broad sensitization in house dust mite allergy. *Clinical & Experimental Allergy*. 2011, v. 41, p. 1468-1477.
 70. Lopata A.L., Lehrer S.B. New insights into seafood allergy. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2009, v. 9, p. 270-277.
 71. Kurup V.P., Banerjee B., Hemmann S. et al. Selected recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens bind specifically to IgE in ABPA. *Clin. Exp. Allergy*. 2000, v. 30, p. 988-993.
 72. Casaulta C., Fluckiger S., Cramer R. et al. Time course of antibody response to recombinant *Aspergillus fumigatus* antigens in cystic fibrosis with and without ABPA. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2005, v. 16, p. 217-225.

73. Lee M.F., Song P.P., Hwang G.Y. et al. Sensitization to Per a 2 of the American cockroach correlates with more clinical severity among airway allergic patients in Taiwan. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2012, v. 108, p. 243-248.
74. Ott H., Schroder C., Raulf-Heimsoth M. et al. Microarrays of recombinant *Hevea brasiliensis* proteins: a novel tool for the component-resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2010, v. 20, p. 129-138.
75. Ebo D.G., Hagedorens M.M., De Knop K.J. et al. Component-resolved diagnosis from latex allergy by microarray. *Clin. Exp. Allergy.* 2010, v. 40, p. 348-358.
76. Sanchez-Monge R., Blanco C., Lopez-Torres G. et al. Differential allergen sensitization patterns in chestnut allergy with or without associated latex-fruit syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006, v. 118, p. 705-710.
77. Bousquet J., Lockey R., Malling H.J. et al. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1998, v. 81, p. 401-405.
78. Canonica G.W., Bousquet J., Casale T. et al. Sub-lingual immunotherapy: world allergy organization position paper 2009. *Allergy.* 2009, v. 64 (Suppl. 91), p. 1-59.
79. Jutel M., Akdis C.A. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy.* 2011, v. 66, p. 725-732.
80. Bousquet J., Khaltaev N., Cruz A.A. et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the world health organization, GA²LEN and AllerGen). *Allergy.* 2008, v. 63 (Suppl. 86), p. 8-160.
81. Ciprandi G., Alesina R., Ariano R. et al. Characteristics of patients with allergic polysensitization: the POLISMAIL study. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2008, v. 40, p. 77-83.
82. Marogna M., Massolo A., Berra D. et al. The type of sensitizing allergen can affect the evolution of respiratory allergy. *Allergy.* 2006, v. 61, p. 1209-1215.
83. Cox L., Jacobsen L. Comparison of allergen immunotherapy practice patterns in the United States and Europe. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2009, v. 103, p. 451-459.
84. Cox L., Nelson H., Lockey R. et al. Allergen immunotherapy: a practice parameter third update. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 127, p. 1-55.
85. Nelson H.S. Specific immunotherapy with allergen mixes: what is the evidence? *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2009, v. 9, p. 549-553.
86. Weber R.W. Cross-reactivity of pollen allergens: impact on allergen immunotherapy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2007, v. 99, p. 203-211.
87. Santos A., Van Ree R. Profilins: mimickers of allergy or relevant allergens? *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011, v. 155, p. 191-204.
88. Valenta R., Twaroch T., Swoboda I. Component-resolved diagnosis to optimize allergen-specific immunotherapy in the Mediterranean area. *Journal of investigational allergology & clinical immunology.* 2007, v. 17 (Suppl. 1), p. 36-40.
89. Focke M., Marth K., Flicker S., Valenta R. Heterogeneity of commercial timothy grass pollen extracts. *Clin. Exp. Allergy.* 2008, v. 38, p. 1400-1408.
90. Focke M., Marth K., Valenta R. Molecular composition and biological activity of commercial birch pollen allergen extracts. *Eur. J. Clin. Invest.* 2009, v. 39, p. 429-436.
91. Schmid-Grendelmeier P. Recombinant allergens. For routine use or still only science? *Hautarzt.* 2010, v. 61, p. 946-953.
92. Jutel M., Jaeger L., Suck R. et al. Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. *Journal of Allergy & Clinical Immunology.* 2005, v. 116, p. 608-613.
93. Pauli G., Larsen T.H., Rak S. et al. Efficacy of recombinant birch pollen vaccine for the treatment of birch-allergic rhinoconjunctivitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008, v. 122, p. 951-960.
94. Cromwell O., Häfner D., Nandy A. Recombinant allergens for specific immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, v. 127, p. 865-872.
95. Hiller R., Laffer S., Harwanegg C. et al. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J.* 2002, v. 16, p. 414-416.
96. Melioli G., Bonifazi F., Bonini S. et al. The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. *Clin. Biochem.* 2011, v. 44, p. 1005-1011.
97. Gadisseur R., Chapelle J.P., Cavalier E. A new tool in the field of in-vitro diagnosis of allergy: preliminary results in the comparison of ImmunoCAP(c) 250 with the ImmunoCAP(c) ISAC. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2011, v. 49, p. 277-280.
98. Wohrl S., Vigl K., Zehetmayer S. et al. The performance of a component-based allergen-microarray in clinical practice. *Allergy.* 2006, v. 61, p. 633-639.
99. Jahn-Schmid B., Harwanegg C., Hiller R. et al. Allergen microarray: comparison of microarray using recombinant allergens with conventional diagnostic methods to detect allergen-specific serum immunoglobulin E. *Clin. Exp. Allergy.* 2003, v. 33, p. 1443-1449.
100. Cabrera-Freitag P., Goikoetxea M.J., Beorlegui C. et al. Can component-based microarray replace fluorescent enzyme immunoassay in the diagnosis of grass and cypress pollen allergy? *Clinical & Experimental Allergy.* 2011, v. 41, p. 1440-1446.
101. Cabrera-Freitag P., Goikoetxea M.J., Gamboa P.M. et al. A study of the variability of the in vitro component-based microarray ISAC CDR 103 technique. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2011, v. 21, p. 414-415.
102. Twaroch T. Carrier-bound Alt a 1 peptides without allergenic activity for vaccination against *Alternaria alternata* allergy. *Clin. Exp. All.* 2012, v. 42, p. 966-975.
103. Balboni I., Limb C., Tenenbaum J.D., Utz P.J. Evaluation of microarray surfaces and arraying parameters for autoantibody profiling. *Proteomics.* 2008, v. 8, p. 3443-3449.
104. Melioli G., Marcomini L., Agazzi A. et al. The IgE repertoire in children and adolescents resolved at component level: A cross-sectional study. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2012, v. 23, p. 433-440.
105. Hatzler L., Panetta V., Lau S. et al. Molecular spreading and predictive value of preclinical IgE response to Phleum pratense in children with hay fever. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012, v. 130, p. 894-901. e895.
106. Onell A., Hjalte L., Borres M.P. Exploring the temporal development of childhood IgE profiles to allergen components. *Clin. Transl. Allergy.* 2012, v. 2, p. 24.
107. Gassner M., Gehrig R., Schmid-Grendelmeier P. Hay Fever as a Christmas Gift. *N. Engl. J. Med.* 2013, v. 368, p. 393-394.
108. Walsh J., O'Flynn N. Diagnosis and assessment of food allergy in children and young people in primary care and community settings: NICE clinical guideline. CG116 Food allergy in children appendix 3 – health economics, appendix 3.1 - IgE-mediated food allergy – cost effectiveness analysis. *Br. J. Gen. Pract.* 2011, v. 61, p. 473-475. Published online 23 february 2011: <http://guidance.Nice.org.uk/CG116/guidance/appendices/3/pdf/english>.