

Эволюция стандартизации лечебно-диагностических аллергенов, произведенных в России

REV — обзорная статья

<https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-2-26-37>

Статья поступила 05.05.2024

Статья принята в печать 06.06.2024

УДК 615.375

Конфликт интересов.

Авторы заявляют о конфликте интересов: Масальский С. С. — член редакционной коллегии журнала «Аллергология и иммунология в педиатрии»; Саканян Е. И., Ясная М. А. — сотрудники АО «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген».

**Масальский С. С.^{1,2}, Саканян Е. И.³, Ясная М. А.⁴**¹ Московский медицинский университет «Реавиз», 125466, г. Москва, ул. Соколово-Мещерская, д. 29, Россия² Ставропольский государственный университет Минздрава России, 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310, Россия³ Акционерное общество «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген», 2-й Волконский переулок, д. 10, Москва, 127473, Россия⁴ НПО «Аллерген», филиал АО «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген», ул. Биологическая, д. 20, Ставрополь, 355019, Россия

Масальский Сергей Сергеевич — к. м. н., доцент кафедры акушерства, гинекологии и педиатрии Медицинского университета «Реавиз», ассистент кафедры иммунологии с курсом дополнительного послевузовского образования Ставропольского государственного медицинского университета, ORCID ID: 0000-0002-2048-5709, e-mail: masalsky@live.com.

Саканян Елена Ивановна — д. ф. н., профессор, директор по науке АО «НПО «Микроген», ORCID ID: 0000-0002-1693-2422, e-mail: e.i.sakanjan@microgen.ru.

Ясная Мария Анатольевна — к. х. н., начальник отдела регистрации лекарственных средств НПО «Аллерген», филиала АО «НПО «Микроген» в г. Ставрополе, ORCID ID: 0000-0002-4486-4834, e-mail: m.a.yasnaya@microgen.ru.

Аннотация

Аллерген-специфическая иммунотерапия — метод лечения, основанный на формировании индуцированной толерантности у пациентов. В качестве лечебных аллергенов во всем мире чаще всего используются натуральные экстракты.

В статье представлена информация о новых подходах к биологической стандартизации лекарственных препаратов аллергенов для подкожного введения. Установлено, что отечественные аллергены обладают специфической аллергенной активностью, которая была определена на сенсibilизированных пациентах-добровольцах. В РФ применяются собственные единицы — ЕАА (единицы аллергенной активности). 100 000 ЕАА/мл соответствуют размеру уртикария при прик-тестировании, равного 8 мм. Стандартные образцы предприятия (СОП) аллергенной активности пылевых аллергенов «Микроген» имеют различную специфическую активность в зависимости от вида аллергена. Серии, поступающие в обращение, имеют аллергенную (специфическую) активность, чаще всего в пределах 150 000 — 200 000 ЕАА/мл.

Контроль специфической активности выпускаемых лекарственных препаратов аллергенов осуществляется методом конкурентного иммуноферментного анализа с использованием специфических сывороток, содержащих IgE-антитела, относительно действующего аттестованного стандартного образца предприятия (СОП).

Кроме того, СОП аллергенной активности препаратов — пылевых аллергенов аттестуются по трем дополнительным характеристикам: содержание общего белка (методом Бредфорд); белковый профиль (методом электрофореза в полиакриламидном геле с натрия додецилсульфатом в восстанавливающих условиях); подлинность по наличию главных специфических компонентов — методом вестерн-блот с использованием сывороток, содержащих IgE-антитела к соответствующему аллергену.

В настоящее время в РФ стандартизация лечебно-диагностических аллергенов одновременно ведется по двум показателям: по содержанию белкового азота, выраженному в единицах белкового азота PNU (Protein Nitrogen Unit) и по аллергенной (специфической) активности, выраженной в единицах аллергенной активности (ЕАА/мл). Так как показатель PNU не в полной мере отражает аллергенные (специфические) свойства препарата, то назрела необходимость исключения PNU из показателей качества лекарственных препаратов аллергенов, что повлечет за собой изменения нормативной документации и инструкций к препаратам аллергенов. При оценке аллергенной (специфической) активности аллергенов в данный момент рекомендуется ориентироваться на единицы ЕАА.

Постоянство состава и представленность белков в препарате обеспечивает повышенную безопасность и эффективность терапии и позволяет осуществлять сравнение препаратов.

Ключевые слова: стандартизация, аллергены, «микроген», аллерген-специфическая иммунотерапия.

Для цитирования: Масальский СС, Саканян ЕИ, Ясная МА. Эволюция стандартизации лечебно-диагностических аллергенов, произведенных в России. *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2024; 2: 26–37. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-2-26-37>

Для корреспонденции:

Масальский Сергей Сергеевич, кандидат медицинских наук, врач аллерголог-иммунолог ООО «НККЦ аллергологии и иммунологии», ответственный секретарь Ассоциации детских аллергологов и иммунологов России.

Адрес: 117513, Российская Федерация, Москва, ул. Островитянова, д. 6.

E-mail: masalskysergey@yandex.ru.

For correspondence:

Sergey S. Masalskiy, candidate of science, Executive Secretary of Association Pediatric Allergist and Immunologist Russia (APAIR), allergist-immunologist of Scientific-Clinical Consultative Center of Allergology and Immunology.

Address: 6 Ostrovityanova st., 117513, Moscow, Russia.

E-mail: masalskysergey@yandex.ru.

Evolution of standardization of therapeutic and diagnostic allergens produced in Russia

<https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-2-26-37>

Received 05.05.2024

The article is accepted for publication 06.06.2024

Conflict of interest.

The authors declare a conflict of interest: Sergey S. Masalskiy — member of the editorial board of the journal «Allergology and Immunology in Pediatrics», Elena I. Sakanyan, Maria A. Yasnaya — employees of Microgen Scientific Industrial Company for Immunobiological Medicines. This study was not supported by any external sources of funding.

Sergey S. Masalskiy^{1,2}, Elena I. Sakanyan³, Maria A. Yasnaya⁴

¹ Moscow Medical University "Reaviz", 29 Sokolovo-Meshcherskaya st., 125466, Moscow, Russian Federation

² Stavropol state medical university, 310 Mira st., Stavropol, 355017, Russian Federation

³ Microgen Scientific Industrial Company for Immunobiological Medicines, 10^{2nd} Volkonsky LN., Moscow, 127473, Russian Federation

⁴ Allergen, Branch of Microgen Scientific Industrial Company for Immunobiological Medicines, 20 Biologicheskaya st., Stavropol, 355019, Russian Federation

Sergey Sergeevich Masalskiy — Cand. Sci., Associate Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Pediatrics, Moscow Medical University "Reaviz", Assistant of the Department of Immunology with a course of continuing professional education, Stavropol State Medical University, Russia, Stavropol, ORCID ID: 0000-0002-2048-5709, e-mail: masalsky@live.com.

Elena Ivanovna Sakanyan — Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Director for Science at SPO Microgen, ORCID ID: 0000-0002-1693-2422, e-mail: e.i.sakanjan@microgen.ru.

Maria Anatolievna Yasnaya — Cand. Sci. (Chem.), Head of the Regulatory Affairs department at SPO Allergen, SPO Microgen's branch in Stavropol, ORCID ID: 0000-0002-4486-4834, e-mail: m.a.yasnaya@microgen.ru.

Annotation

Allergen-specific immunotherapy is based on the development of induced tolerance in patients. Natural extracts are most often used as therapeutic allergens worldwide.

The article presents new approaches to biological standardization of subcutaneous administered allergens. It is established that own standard allergens have specific allergenic activity, which was determined on sensitized patients-volunteers. The Russian Federation uses its own units — EAA (Units of Allergenic Activity). 100 000 EAA/mL corresponds to the size of wheal in prick test equal to 8 mm. The internal reference material (RM) of allergenic activity of pollen allergens "Microgen" have different specific activity depending on the type of allergen. The most common series have allergenic (specific) activity in the range of 150,000 — 200,000 EAA/mL.

The control of the specific activity of allergen drugs is carried out in accordance with the current certified standard samples of the company's standards. A method of competitive enzyme-linked immunosorbent assay using specific sera containing specific IgE antibodies is used for this purpose.

In addition, the specific activity of allergen preparations is certified through three additional characteristics: total protein content (using the Bradford method), protein profile (through electrophoresis in a polyacrylamide gel with sodium dodecyl sulfate under reducing conditions), and authenticity through the presence of major specific components, which is determined by the Western blot method using sera containing IgE antibodies specific for the corresponding allergen.

Currently, in the Russian Federation, the standardization of therapeutic and diagnostic allergens is conducted simultaneously according to two indicators: protein nitrogen content, expressed in Protein Nitrogen Units (PNU), and allergenic (specific) activity expressed in units of allergenic activity per milliliter (EAA/mL). While the PNU indicator partially reflects the allergenic properties of the drug, it does not fully capture these properties, making it necessary to remove PNU from the list of quality indicators for allergen medicines. This would require changes to regulatory documentation and instructions for allergens.

When evaluating the allergenic activity of allergens, it is now recommended to focus on units of EAA. The consistency of the protein composition and presentation in the drug ensures increased safety and efficacy of therapy, as well as allows for comparison between drugs.

Keywords: standardization, allergens, "microgene", allergen specific immunotherapy.

For citation: Masalsky SS, Sakanyan EI, Yasnaya MA. Evolution of standardization of therapeutic and diagnostic allergens produced in Russia. *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2024; 2: 26–37. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-2-26-37>

ВВЕДЕНИЕ

Аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ) — метод лечения, основанный на формировании индуцированной толерантности к аллергенам у пациентов с atopическими заболеваниями. Причинно-значимый чужеродный антиген вызывает патологическую иммунную реакцию после связывания с ранее сформированными ре-

цепторами на иммунных клетках. Формирование невосприимчивости к аллергенам предотвращает развитие проявлений заболевания путем формирования пула регулирующих Т-клеток и синтеза блокирующих антител. Процесс может происходить естественным путем, что характерно для пищевых аллергенов, или в результате индуцированного воздействия после терапии. Толерантность чаще

Список сокращений/list of abbreviations:

IR:	индексы реактивности (специфическая активность, Staller-genes Greer).
PNU:	белковые единицы азота.
АСИТ:	Аллерген-специфическая иммунотерапия.
АФС:	активная фармакологическая субстанция.
ЕАА:	единицы аллергенной активности (Микроген).
КИФА:	конкурентный иммуноферментный анализ.
ЛП:	лекарственный препарат.
ПКИТ:	подкожная иммунотерапия.
СЛИТ:	сублингвальная иммунотерапия.
СОП (RM):	стандартный образец предприятия.
ЭФ в ПААГ:	электрофорез в полиамидном геле.

возникает, если определенные дозы антигена систематически попадают в организм, минуя барьерные ткани, которые богаты связанными с Т2 типом воспаления антиген-презентирующими клетками [1].

Введение лечебных препаратов аллергенов подкожно (ПКИТ) и сублингвально (СЛИТ) стало стандартными путями использования терапии. Практическим путем исследователи пришли к выводам, что АСИТ имеет дозозависимый характер и для достижения стойкого эффекта необходимы повторные введения аллергена на протяжении нескольких лет, причем для СЛИТ дозы аллергена должны быть в сотни раз выше по сравнению с ПКИТ. Промышленное производство и широкое использование лечебных аллергенов, в том числе и в амбулаторной практике, потребовало изменения лекарственных форм и технологии производства биопрепаратов, а следовательно, сделало необходимым обеспечение постоянства состава и активности лечебных аллергенов [2].

В статье мы рассмотрим новые подходы к стандартизации лечебно-диагностических аллергенов производства «Микроген», дадим короткую характеристику процессам стандартизации в РФ, США и Евросоюзе.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАНДАРТИЗАЦИИ

Под стандартизацией аллергенов понимают приведение препарата к некоторому эталону либо

выражение его иммуногенности в общепринятых единицах, что позволяет оценить активность лекарственного аллергена. Процедура используется не только при производстве препарата, но необходима для обеспечения безопасности и эффективности терапии, поскольку позволяет точно дозировать аллергены при АСИТ и предотвращать появление препаратов ненадлежащего качества. Вариабельность активности лекарственных препаратов аллергенов сопряжена с проблемами эффективности и безопасности терапии [3].

Возможны два основных варианта стандартизации аллергена:

1. Исследование биологической активности препарата с помощью проведения исследований на сенсibilизированных добровольцах *in vivo*, методом кожных проб, и сравнение их с положительным контролем или с эталонным аллергеном.
2. Стандартизация аллергена *in vitro* с помощью различных лабораторных методов, направленных на определение количества и качественного состава иммуногенных компонентов, основанных на использовании соответствующих стандартных образцов.

Практически во всем мире реализована схема производства аллергена, при которой используется комплексный подход к стандартизации: производитель определяет необходимую концентрацию аллергена в препарате, стандартизует аллерген биологическим способом (провокационные пробы на добровольцах), а далее в процессе производства каждой серии происходит аналитический контроль качества продукта [4].

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПО ВИДУ АЛЛЕРГЕНА

В случае химически синтезированных активных фармацевтических субстанций (АФС) они представлены одной молекулой, имеющей установленную структуру. При этом, фармакологическая активность лекарственного препарата (ЛП) на основе таких АФС имеет линейную зависимость от количества АФС и предсказуема по фармакокинетике. Концентрация в конечном препарате зависит от чистоты химического синтеза и внедрения на производстве стандартных процедур, поэтому такие препараты стандартизуют по количественному содержанию субстанции. В то же время биологические препараты, получаемые из натурального сырья, требуют принципиально другого подхода.

Большинство ЛП аллергенов не синтезируют, а получают из природного сырья, подверженного значительной вариабельности в отношении состава аллергизирующих компонентов [3, 4].

Исторически первым способом стандартизации был объемный метод разведения натурального экстракта пыльцы и проведение последующего конъюнктивного тестирования у каждого пациента. От подобного подхода в большинстве стран пришлось отказаться в связи с проблемой безопасности и воспроизводимости экстракта. Первоначально не было понимания, что аллергены — это сложная смесь компонентов, чаще всего белковой природы, поэтому ранее использовался простой сбор одного вида пыльцы или шерсти и т. д. В первой половине XX века считалось, что для получения качественного продукта достаточно обеспечить чистоту сырья и его микробиологическую и химическую безопасность.

Требования к чистоте сырья, актуальные и до настоящего времени присутствуют в отечественной и зарубежных фармакопеях, регламентирующих производство аллергенов, сбор и очистку сырья. Согласно «ОФС.1.7.1.0001.15 Аллергены», для получения аллергенов пыльцы требуется собрать чистое сырье (один вид) от дикорастущих или культивируемых растений, обеспечив содержание не более 10% примесей, и после этого провести экстракцию. Для производства клещевых аллергенов представителей рода *Dermatophagoides* культивируют в течение 3–4 мес., после чего исходное сырье измельчают и экстрагируют аллергены, обеспечивая их естественную экспозицию. Нестандартизированный аллерген, собранный из чистого сырья, считался качественным и пригодным к использованию. В практике США до настоящего времени используются объемные разведения нативных аллергенов по типу 1 грамм на 100 мл растворителя, а в Европе, и реже в РФ, активно используются кожные пробы с натуральными аллергенами пищи и с растворенными ЛП [5].

При производстве аллергенов животного происхождения сразу встает вопрос о представленности разных протеинов в полученном аллергене. Аллергены животных, по современным данным, не ограничиваются поверхностными частицами эпидермиса и шерсти: значимую роль играют аллергены слюны (секреторные альбумины), желез внешней секреции (липокалина, утероглобины), простатические половые антигены (аргининовая эстераза) и др. Сенсибилизация к сывороточным альбуминам, находящимся в крови, моче, мясе, встречаются

у 35% пациентов с аллергией на собак и в 14–23% случаев при гиперчувствительности к кошкам, что объясняется перекрестной реактивностью между компонентами аллергенов. Кроме того, некоторые особи продуцируют больше аллергена в связи с видовыми и породными особенностями, а также в зависимости от физиологического состояния организма [6]. В работе Мачарадзе Д. Ш. на популяции школьников г. Москвы показана значительная разница при проведении кожного тестирования между двумя аллергенами различного производства, изготовленными из шерсти и эпителия кошки [7].

Содержание аллергенов при получении препаратов из домашней пыли будет вариабельно и зависит от характера меняющегося во времени акарокомплекса. За 20 лет наблюдений в домашней пыли из помещений г. Москвы доля клещей амбарно-зерновой группы уменьшилась с 14% до 1%, а также изменилось соотношение долей рода *Dermatophagoides*: *D. pteronyssinus* уменьшился в 2 раза, напротив, *D. farinae* увеличился в 2,6 раза [8]. Состав пыли существенно зависит от питания в семье и сезона сбора сырья. Зачастую в домашней пыли, кроме неорганических волокон и минеральных включений, обнаруживаются частицы аллергенов пищи и пыльцы растений [9].

Исследованиями отечественных авторов показано, что для домашней пыли помещений крупных городов России независимо от проживания животного характерно наличие основного аллергена кошки Fel d 1, причем концентрация варьировалась от практически нулевой до высокой [10].

Следовательно, для сложных аллергенов необходимо точно понимать, какие аллергены входят в состав препарата и насколько активно они вызывают симптомы аллергии. Использование подобных экстрактов в диагностике и терапии скорее носит исторический характер. Феномен содержания разнородных соединений в аллергене, полученном из одного источника, послужил поводом для следующего этапа стандартизации: определение точной дозы аллергена и присутствия в препарате строго определенных соединений, ответственных за развитие аллергии.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПО ДОЗЕ

Чужеродные антигены представлены чаще всего белками или их комплексами с липидами и полисахаридами. Одним из общепризнанных методов стандартизации по дозе стала стандартизация аллергенов по общей массе белка в ЛП. Логичным было подсчитать

массу белка и в дальнейшем поддерживать эту дозировку для эффективного лечения. Стандартизация по единицам белкового азота была общепринятой с 60–70-х годов XX века. При таком способе аллергены получают маркировку PNU (protein nitrogen unit, *англ.* — «единица белкового азота»). 1 PNU принимается равным 10^{-5} мг азота или, по данным литературы, примерно 0,06 мкг белка. Значения белка в препарате указаны не точно, поскольку, в зависимости от метода определения PNU, они значительно ($\approx$ в 2 раза) отличались в одном образце: метод Бредфорда показывал низкие концентрации протеина по сравнению с методами Лоури и Несслера [11]. Маркировка PNU сохраняется для отечественных и некоторых зарубежных аллергенов, согласно утвержденной документации и фармакопее.

Выполненные в последние десятилетия сравнительные исследования специфической активности ЛП аллергенов и их массы (PNU) наглядно демонстрируют, что в целом ряде случаев они не совпадают. То есть при низкой специфической активности отмечаются высокие значения PNU, и наоборот. Феномен объясняется тем, что не все содержащиеся в ЛП белки являются аллергенами и, более того, не все аллергены представлены белками. Следовательно, стандартизация ЛП аллергенов по PNU не отражает степени выраженности аллергенной активности.

В США используется в актуальных рекомендациях объемный метод сравнения дозы и определение общего белка PNU, когда активность препарата просто определяется его разведением от маточного раствора [12]. Причем работа Dua B. (2021), сравнивая два этих метода, отдает предпочтение PNU, который применяется и в России. Рекомендации Американской академии аллергии, астмы и иммунологии (AAAAI) поддерживают использование концентрации аллергенов для ПКИТ от 1:100 до 1:200 массы на объем или от 3000 до 5000 единиц PNU, оба в объеме 0,5 мл в качестве поддерживающих доз [13]. Отечественные аллергены, согласно актуальным инструкциям, возможно использовать в концентрации 1000 PNU/мл 1–2 раза в неделю, основываясь на индивидуальной переносимости препарата пациентом. Подобная разница в рекомендациях объяснима не только различными методами определения массы белка (PNU), но и неодинаковой специфической активностью препаратов.

В конце 80-х годов группой европейских исследователей было проведено изучение 43 аллерген-

ных экстрактов и сделано заключение о том, что аллергены с одинаковой концентрацией PNU обнаруживают разный размер уртикарии при кожном тестировании, что говорит о различной специфической аллергенной биологической активности экстрактов. Причем разницу показывали ЛП как различных производителей, так и серии одного препарата [14].

БИОЛОГИЧЕСКАЯ СТАНДАРТИЗАЦИЯ

При производстве аллергенов оказалось невозможным провести стандартизацию просто по массе по причинам зависимости активности экстракта от первоначального качества и однородности натурального сырья. Особенности технологии производства могут приводить к изменениям конформации молекул и потере аллергенности эпитопов антигенов. При определении только массовых параметров белка неизбежно часть массы будет представлена инертными неаллергенными протеинами, что приведет к вариабельной биологической активности.

Для приведения препаратов к единому эталону стали использовать биологическую стандартизацию и ввели понятие специфической аллергенной активности — способности вызывать реакцию *in vivo* у сенсibilизированных лиц. По способности вызывать аллергическую реакцию можно сделать вывод о достаточной активности и представленности аллергенных компонентов в ЛП. В США применяют внутрикожные пробы с разведенным аллергеном, в Европе и России с учетом безопасности было выбрано кожное прик-тестирование, проводимое по стандартной процедуре [15]. Результаты кожного тестирования оценивают, после чего значения размеров кожных реакций переводят в единицы аллергенной активности [16].

Европейский, равно как и отечественный регулятор, не установил строгих критериев включения в «эталонную» группу пациентов: размер выборки, степень сенсibilизации, заболевание и пр. [17]. Более того, все вендоры используют отличающийся способ описания размеров волдыря, положительный контроль (гистамин, кодеин, аллерген) и способ тестирования. Общим является принцип: после проведения сравнительной оценки результатов кожных проб *in vivo* происходит их перевод в единицы специфической (аллергенной) активности, особенной для каждого производителя, что делает невозможным сравнение доз и схем введения препаратов [18]. В ходе этих стандартных процедур формируются внутренние, не сравнимые единицы

специфической активности аллергенов. Разные методы оценки вызывают разумные опасения в отношении безопасности и эффективности препаратов при необходимости эквивалентной замены одного аллергена на аналог другого производителя. Однако использование биологически стандартизованного препарата внутри одной продуктовой линейки вполне приемлемо.

При сравнении препаратов различных западных производителей наблюдали значительные колебания в специфической аллергенной активности и массе мажорных белков аллергенов. Для коммерческих экстрактов аллергена тимopheевки нескольких производителей обнаружено, что в диагностических аллергенах ($n = 5$) белок колебался от 15 до 427 мкг/мл, концентрация Phl p 5 от 0,15 до 18,3 мкг/мл. В лечебных препаратах для сублингвального использования ($n = 10$) общая концентрация белка находилась в диапазоне от 5 до 153 мкг, а содержание Phl p 5 варьировалось от 0,2 до 21,6 мкг [19]. Различное содержание мажорных белков оказывает влияние на схемы использования препаратов и на конечную эффективность ЛП.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ СТАНДАРТИЗАЦИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АЛЛЕРГЕНОВ

В настоящее время разработана система биологической стандартизации лечебных аллергенов и аллергоидов, позволившая добиваться высокой стабильности состава и воспроизводимости между сериями.

Отечественные аллергены ранее отставали от западных образцов, используя стандартизацию в PNU. Ситуация изменилась в 2020-х, когда была проведена стандартизация аллергенов *in vivo* и разработана методология стандартизации ЛП аллергенов методом конкурентного иммуноферментного анализа (КИФА) по степени ингибирования иммунологической реакции в сравнении со стандартным образцом. Мы можем заключить, что для большинства пыльцевых аллергенов выполнен переход от стандартизации экстрактов в PNU к биологически стандартизованным лекарственным препаратам.

Биологическая стандартизация в России в зависимости от вида аллергена проходила на популяциях с высокой региональной сенсибилизацией, использовались клинические базы в Ставрополе, Санкт-Петербурге и Саратове. Определение специфической (аллергенной) активности первой серии СОП (внутреннего референса произведе-

ля) проводили в соответствии с рекомендованной методикой ОФС.1.7.2.0040.185. Использовали метод постановки кожных проб (прик-тест) у 15–20 лиц в возрасте от 18 до 60 лет, сенсибилизированных к исследуемому аллергену, в период ремиссии заболевания (аллергический ринит, atopический конъюнктивит и бронхиальная астма). Учитывался размер пробы с гиперемией у пациентов или без таковой (у представителей контрольной группы).

В России производятся лечебные и диагностические аллергены для накожного скарификационного нанесения, внутрикожного и подкожного введения. Именно они послужили в качестве первых серий стандартных образцов предприятия (СОП). К сожалению, не существует эталонных биологически стандартизованных международных референсов аллергенов, с которыми можно было провести сравнение. Проект ВОЗ, направленный на стандартизацию образцов, находится в стагнации. Ограниченный список пыльцевых (береза (*Birch pollen*, *Betula verrucosa*), тимopheевка (*Timothy-grass pollen*, *Phleum pratense*), амброзия (*Short Ragweed pollen*, *Ambrosia artemisiifolia*), эпидермальных (шерсть собаки (*Dog Hair Dander*, *Canis familiaris*) и бытовых (клещи *Der. Pteromyssinus* (House Dust Mite)) аллергенов хранится в Великобритании в Национальном институте биологических стандартов и контроля (NIBSC). Международный эталон ВОЗ определенного аллергена (Международный стандартный образец — МСО) представляет собой водный раствор, содержащий 1 мг аллергена в 1 мл растворителя (например, 1 мг пыльцы березы или тимopheевки одного вида, собранные в Великобритании в 1986 г.). Аллергенность эталона ВОЗ установлена 100 000 IU (International Units — международных единиц), но она не исследована биологически и по методу приготовления представляет собой объемный тип стандартизации аллергена.

МСО экстракта пыльцы тимopheевки луговой, по информации NIBSC, был аттестован различными методами (RAST, количественный иммуноэлектрофорез, изоэлектрическое фокусирование, высвобождение гистамина и др.). Информация об аттестации МСО методом кожных проб отсутствует. В прилагаемой информации, сопровождающей МСО, отсутствуют аттестованные значения содержания общего белка, белкового профиля (определены только мажорные аллергены Phl p 1 и Phl p 2) и содержания аллергенных компонентов, активности, определенной методом кожных проб.

Независимые исследователи проводили биологическое тестирование нескольких видов МСО и выявили, что они способны вызвать специфическую кожную реакцию. Количество сухого вещества аллергена в МСО, необходимого для проявления одинаковой кожной реакции, было неодинаковым: масса аллергена МСО березы, ольхи, лещины, тимopheевки, ржи, полыни, *D. farinae* отличалась в 3 раза. Для аллергена *Cladosporium herbarum*, чтобы вызвать одинаковую биологическую реакцию требовалась масса аллергена в 30 раз большая, чем для клещей *Dermatophagoides* [20]. Прослеживаемость метрологической характеристики аллергенной активности СОП аллергена тимopheевки луговой «Микроген» к метрологической характеристике МСО отсутствует в связи с тем, что определение аллергенной активности кандидата в СОП и Международного стандартного образца (МСО) проводилось разными способами. Более того, в исследовании Martínez A. (1992) в референсах МСО тимopheевки при исследовании методом иммунноблота прослеживались не все белки, а в МСО *Dermatophagoides pteronyssinus* почти не обнаруживался хромогенным методом Der p 2 [21]. Содержание основных аллергенных белков в международных экстрактах, исходя из приведенной информации, не может быть эталоном для сравнения.

Таким образом, аттестация СОП аллергенной активности, например аллергена пыльцы тимopheевки, относительно Международного стандартного образца (МСО) WHO International Standard Timothy Pollen Extract (NIBSC code: 82/520) невозможна в силу указанных выше причин, основной из которых является отсутствие у МСО аттестации аллергенной (специфической) активности, как методами *in vivo*, так и *in vitro*. Международные стандартные образцы могут быть использованы в качестве образцов сравнения при определении подлинности образцов лекарственных препаратов из пыльцы тимopheевки, но не их аллергенной (специфической) активности.

По результатам проведения кожного тестирования (prick-тест) на выборке пациентов для препаратов пыльцевых аллергенов производства «Микроген» аллергенную (специфическую) активность выражали в ЕАА/мл, где в качестве активности 100 000 ЕАА/мл принимали значение разведения, которое вызывало развитие кожной реакции у высоко сенсибилизированных лиц (основная группа) в виде уртикария размером 8 мм. Для расчета единиц аллергенной активности (ЕАА/мл) были учте-

ны результаты кожного тестирования у основной группы лиц ($n = 10$), выраженность кожной реакции которых соответствовала размеру папулы — не менее 8 мм. Дальнейший расчет соотношения активности и усредненных диаметров реакции проводился с помощью математического алгоритма для вычисления результатов.

Первые серии СОП аллергенной активности аллергенов не стандартизовались относительно каких-либо других стандартов (в частности, МСО). Показатели аллергенной (специфической) активности первых серий СОП были определены впервые непосредственно по результатам кожных проб (биологический метод стандартизации). Например, после тестирования первой серии экстракта из пыльцы тимopheевки луговой была определена аллергенная активность 138 700 ЕАА/мл. В ходе подобной стандартизации получен локальный эталон — первичный стандартный образец предприятия (СОП) аллергенной активности аллергена из пыльцы тимopheевки луговой.

Документация производителя приведена в соответствии с XIV изданием Государственной фармакопеи Российской Федерации и выполнена стандартизация внутренних СОП аллергенной активности для группы пыльцевых аллергенов. Установлены следующие специфические аллергенные активности: ржи посевной (177 300 ЕАА/мл), полыни горькой (204 000 ЕАА/мл), березы висячей (112 800 ЕАА/мл), ежи сборной (235 700 ЕАА/мл), орешника (149 600 ЕАА/мл), дуба черешчатого (148 300 ЕАА/мл), ольхи клейкой (112 000 ЕАА/мл), амброзии полыннолистной (170 000 ЕАА/мл), овсяницы луговой (131 400 ЕАА/мл), костра прямого (100 000 ЕАА/мл), мятлика лугового (101 300 ЕАА/мл), подсолнечника однолетнего (101 800 ЕАА/мл), одуванчика лекарственного (118 800 ЕАА/мл) [26]

Разница активности между аллергенами изначально рассчитывалась из разницы в размере реакции, полученной при кожном прик-тестировании. В связи с высоким коэффициентом пересчета отклонение диаметра кожной пробы от референсных 8 мм на 1–2 мм в результате пересчета ЕАА/мл будет отличаться уже на заметные значения. Значения специфической аллергенной активности (ЕАА), определенные для СОП, нужны для последующей стандартизации маточных экстрактов и ЛП аллергенов.

Можно отметить, что стандартные образцы действительно имеют разную биологическую активность (ЕАА/мл), установленную в ходе регистрации различных СОП, т. к. активность препарата связана с количественным составом основных аллергенов и их соотношением в извлекаемом комплексе. По этой же причине различаются и установленные нормативные значения аллергенной активности для выпускаемых аллергенов: рожь посевная — 200 000 ЕАА/мл, полынь горькая — 250 000 ЕАА/мл, береза висячая — 150 000 ЕАА/мл, ежа сборная — 250 000 ЕАА/мл, орешник — 150 000 ЕАА/мл, дуб черешчатый — 150 000 ЕАА/мл, ольха клейкая — 120 000 ЕАА/мл, амброзия полынно-листная — 170 000 ЕАА/мл, овсяница луговая — 150 000 ЕАА/мл, костер прямой — 100 000 ЕАА/мл, мятлик луговой — 110 000 ЕАА/мл, подсолнечник однолетний — 110 000 ЕАА/мл, одуванчик лекарственный — 130 000 ЕАА/мл, циклахена дурнишниковидная — 70 000 ЕАА/мл, и другие.

Следующие серии СОП оценивали методом КИФА *in vitro*, используя специфические сыворотки с IgE-антителами, относительно установленного нормативного уровня ЕАА/мл.

В настоящее время в РФ стандартизация лечебно-диагностических аллергенов ведется по обоим показателям (PNU и ЕАА), т. к. исключение PNU потребует изменения нормативной документации и инструкций к препаратам аллергенам. При оценке аллергенной активности аллергенов в данный момент рекомендуется ориентироваться на единицы ЕАА, а не на соотношение PNU/ЕАА, т. к. это разные, не связанные между собой величины.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПО СОСТАВУ

Актуальные ЛП аллергенов представляют собой натуральные экстракты, значительно отличающиеся по содержанию аллергенных компонентов. Часть молекул иммунологически инертна, другая может вызвать IgE-зависимый ответ у большинства пациентов в первые годы аллергического заболевания, сенсibilизация к некоторым протеиновым группам развивается через много лет после первичного заболевания. Аллергенные компоненты, к которым развивается чувствительность у более чем 50% пациентов, называются «мажорными» или главными. Они являются предикторами хорошего ответа на аллерген-специфическую иммунотерапию у статистического большинства пациентов, вызывают хороший иммунный ответ и толерантность после лечения.

Гиперчувствительность к некоторым белкам повсеместная, другие являются триггерами патологических реакций реже, причем их значимость может варьироваться в зависимости от региона — на Юге чаще, чем в холодных регионах, сенсibilизация представлена LTP-белками и профиллинами [22]. Для некоторых аллергенов их важность в развитии заболевания устанавливается. Так, неожиданно высокая частота встречаемости сенсibilизации к аллергену Bet v 6 у детей г. Москвы была уточнена в работах, опубликованных в нашем журнале в последний год, и составила почти 54,9% от обследованных [23]. Для достижения индуцированной толерантности особое значение придается соответствию ЛП аллергена и естественного, релевантного для заболевания.

Содержание мажорных аллергенных компонентов в готовом препарате может отличаться у разных производителей, в том числе в США и в странах ЕС, что влияет на исходы и эффективность терапии [24]. При производстве лекарственных препаратов аллергенов для поддержания стабильной специфической активности биопрепарата необходимо, во-первых, сохранить структуру эпитопа триггерной аллергенной молекулы, а во-вторых, обеспечить присутствие основных аллергенных компонентов, статистически часто ответственных за сенсibilизацию [25].

При производстве отечественных препаратов внедрены процессы контроля качества состава аллергена. В статье Саканян Е. И. [26] приведен пример стандартизации СОП аллергенной активности аллергена из пыльцы тимopheевки луговой. Белковый профиль определяли методом электрофореза в полиакриламидном геле с натрия додецилсульфатом в восстанавливающих условиях (ЭФ в ПААГ), подлинность аллергена была определена по наличию главных специфических компонентов методом вестерн-блот с использованием сывороток, содержащих IgE-антитела к аллергенам из пыльцы тимopheевки луговой. Сравнение белкового профиля препаратов аллергенов из пыльцы тимopheевки луговой «Микроген» с международным стандартом аллергена из пыльцы тимopheевки луговой (NIBSC code: 82/520) показало высокую степень сходства по специфическим аллергенным компонентам [26]. Выявлены полосы преципитации белков с ожидаемыми для главных и второстепенных аллергенных компонентов с молекулярной массой в областях 45–65, 27–35 и менее 20 кДа. Мажорный аллерген

тимофеевки Phl p 1 (beta-expansin) имеет молекулярную массу 27 кДа; Phl p 5 — 32 кДа, Phl p 2 — 10–12 кДа. Массовые характеристики указанных аллергенов укладываются в диапазоны, определенные для стандартного образца.

Стандартизация аллергенов для подкожной иммунотерапии — сложный и трудоемкий процесс, требующий контроля стерильности и остаточной токсичности препарата, поскольку при экстрагировании из сырья используется диэтиловый эфир или ацетон. Низкая загрязненность токсическими веществами обеспечивает высокую химическую безопасность. Современные методы определения остаточных органических растворителей (газожидкостная хроматография) реализованы в производстве отечественных ЛП аллергенов, что позволило добиться рекомендуемого остаточного количества растворителей (<0,5%). В лекарственных аллергенах для ПКИТ содержание диэтилового эфира 0,0053–0,0524%, ацетона — 0,0029–0,0994% [26, 27].

ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В течение 120 лет методика лечения ЛП аллергенами используется специалистами во всем мире, но механизмы возникновения аллергии и обратного ее развития при использовании АСИТ не вполне изучены. В связи с этим не установлены референсные количества аллергенов, необходимые для лечебного воздействия. Стандартизация аллергенов по составу и биологической активности позволяет работать стабильными составами. Постоянство аллергенов для ПКИТ крайне необходимо, поскольку выраженность нежелательных явлений при таком методе лечения традиционно выше по сравнению с сублингвальным приемом [28].

Изучение толерантности показало, что для большинства пациентов существует условно «пороговая» доза, после которой толерантность формируется с одинаковой скоростью, но превышение «порога» ведет к нарастанию нежелательных явлений. Например, в исследовании Larsen T. при изучении применимости сублингвальных таблеток луговых трав лечебный эффект дозы 500 и 300 IR оказался сравним, но было показано, что повышение дозы препарата в 2 раза приводит к достоверному повышению нежелательных реакций: серьезные отеки гортани наблюдались только в группе пациентов, получавших дозу 500 IR, по сравнению с дозой 300 IR, где отмечали только локальные легкие реакции [29]. Напротив, уменьшение содержания

мажорной молекулы Phl p 1-5b до 5–7 мкг привело к клинически неэффективной терапии, а повышение суточной дозы до 15–25 мкг показало значимое улучшение течения заболевания [30].

Особенно это проблематично, когда в натуральном экстракте значимую сенсibilизацию обеспечивают два и более мажорных аллергена с гиперчувствительностью к каждому из них. По этой причине каждый производитель подбирает дозу лечебных аллергенов в процессе исследований II–III фазы на пациентах. К сожалению, это приводит к субъективизации терапии — доза, подобранная на одной популяции, экстраполируется на остальных, что особенно значимо для неделимых таблеток аллергенов. Препараты с гибким режимом дозирования в этом аспекте имеют преимущество в отношении гибкого дозирования. В Японии наблюдается высокая сенсibilизация к клещам домашней пыли, поэтому установленные дозы таблеток для педиатрической популяции в Европе (12 HDMSLIT) оказались плохо переносимы, и производитель уменьшал дозы вдвое [31]. Позднее были проведены исследования постепенного введения высоких доз АСИТ в Японии и постанализ — сравнение с мировыми данными, в ходе которого авторы делают выводы о сопоставимости безопасности терапии у детей при условии постепенного введения препарата, но пример показателен в отношении важности дозирования аллергена [32].

Стабильность содержания аллергена между сериями особенно важна для препаратов с подкожным путем введения, поскольку частота побочных реакций при этом методе выше, но и при сублингвальной иммунотерапии до 30% пациентов испытывают локальные нежелательные явления, которые в некоторых случаях могут приводить к отказу от терапии [33]. Врачебное сообщество и редакция журнала надеется, что современные методы стандартизации будут поддерживать высокое качество отечественных аллергенов. Следующим шагом должно быть переосмысление стандартизации: от локальной производственной к общей. Основные надежды в этом направлении на возвращение стандартизации по массе белка, но избирательно, по его активным фракциям — наиболее статистически частым релевантным «мажорным» аллергенам.

Около 20 лет назад стартовал проект CREATE, целью которого являлась унификация методов измерения мажорных аллергенов в референсных образцах. К 2008 году к окончанию проекта было стан-

дартизировано определение только 2 аллергенов Bet v 1 и Phl p 5, которые вошли в Европейскую фармакопею, но и этот тип стандартизации не применяется в Европе повсеместно [34]. Уверенность врача, что в используемом препарате есть определенное точное количество мажорного аллергена позволит более точно дозировать препарат и, вероятно, оценивать эффективность лечения. В настоящее время несмотря на то, что методы определения подлинности и аллергенной активности подтверждают качество препарата, проведение сравнительных метаанализов эффективности АИТ затруднено, т. к. количество одного и того же аллергенного компонента в препаратах различных производителей отличается.

Особенность подкожной иммунотерапии состоит в возможности гибкого дозирования. Подбор первичной дозы в подкожной иммунотерапии проводится методом аллергометрического титрования, что позволяет установить биологическую аллергическую активность препарата и начать терапию с необходимой дозы. При проведении АСИТ достигаемая поддержи-

вающая терапевтическая доза устанавливается индивидуально, что позволяет эффективно проводить терапию, используя визуальный контроль волдыря и клинические симптомы. Однако если ЛП будет плохо стандартизован, то переход на другую серию будет сопряжен с нежелательными реакциями при условии повышенного содержания аллергена или примесных минорных белков в новом препарате либо со снижением эффективности в противном случае. Одновременно стабильные препараты с гарантированным содержанием основных мажорных аллергенных компонентов дают возможность использования четких и понятных схем иммунотерапии и позволяют перейти к продленным схемам лечения, обеспечивающим большую эффективность [35].

Авторы надеются на продолжение работы по повышению качества отечественных ЛП аллергенов, расширение представленности перечня диагностических наборов и появление современных стандартизованных сублингвальных форм препаратов, доступных для использования в педиатрической практике.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Павлова КС и др. Актуальные представления о механизмах аллерген-специфической иммунотерапии, потенциальных маркерах эффективности и путях совершенствования. Российский аллергологический журнал. 2017; 14 (4–50): 5–17. <https://doi.org/10.36691/RJA290>. [Pavlova KS et al. Actual conception of allergen-specific immunotherapy mechanisms, potential biomarkers of efficacy and ways of enhancement. Russian Journal of Allergology. 2017; 14 (4–50): 5–17. (In Russ.)]
2. Скороходкина ОВ, Архипова СА, Лунцов АВ, Зайнетдинова ГМ, Волкова ДА. Оценка эффективности аллерген-специфической иммунотерапии у детей и взрослых с аллергическим ринитом. Вестник оториноларингологии. 2020; 85 (6): 60–65. <https://doi.org/10.17116/otorino20208506160>. [Skorokhodkina OV, Arkhipova SA, Luntsov AV, Zaynetdinova GM, Volkova DA. Assessment of efficacy of allergen immunotherapy in children and adults with allergic rhinitis. Bulletin of Otorhinolaryngology = Vestnik otorinolaringologii. 2020; 85 (6): 60–65. (In Russ.)]
3. Смолкин ЮС, Трусова ОВ, Алискандиева ЗА, Барычева ЛЮ и др. Аллерген-специфическая иммунотерапия у детей. Согласительный документ Ассоциации детских аллергологов и иммунологов России (позиционная статья). Аллергология и иммунология в педиатрии. 2023; 4: 5–30. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-4-5-30>. [Smolkin YS, Trusova OV, Aliskandieva ZA, Barycheva LY et al. Allergen-specific immunotherapy in children. Consensus document of the Association of Pediatric Allergologists and Immunologists of Russia (positional paper). Allergology and Immunology in Pediatrics. 2023; 3: 5–30. (In Russ.)] <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-4-5-30>.
4. Аллерген-специфическая иммунотерапия у детей (на правах руководства). Согласительный документ Ассоциации детских аллергологов и иммунологов России. Москва: АДАИР, 2021; Подольск: ОАО «Подольская Фабрика Офсетной Печати», 2021. — 198 с. [Allergen-specificheskaya immunoterapiya u detej (na pravah rukovodstva). Soglasitel'nyj dokument Associacii detskih allergologov i immunologov Rossii. Moskva: ADAIR, 2021; Podol'sk: ОАО «Podol'skaya Fabrika Ofsetnoj Pechati», 2021. — 198 s.]
5. Назарова ЕВ, Примак АС. Использование раствора таблетки-лиофилизата смеси клещей домашней пыли с целью проведения кожных прикестов для подтверждения сенсibilизации пациентов к клещам домашней пыли. Российский аллергологический журнал. 2023; 20 (1): 9–18. <https://doi.org/10.36691/RJA3911>. [Nazarova EV, Primak AS. Tablet-lyophilizate containing a mixture of house dust mites usage for skin prick testing to confirm house dust mites sensitization. Russian Journal of Allergy. 2023; 20 (1): 9–18. (In Russ.)] <https://doi.org/10.36691/RJA3911>.
6. Ramadour M, Guetat M, Guetat J, El Biaze M et al. Dog factor differences in Can f 1 allergen production. Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2005; 60 (8): 1060–1064. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2005.00824.x>.

7. Мачарадзе ДШ, Беридзе ВД. Аллергия к домашним животным: особенности диагностики и лечения. Лечащий врач. 2009; (11): 11180909. [Macharadze DSh, Beridze VD. Allergiya k domashnim zhivotnym: osobennosti diagnostiki i lecheniya. Lechashchij vrach. 2009; (11): 11180909. (In Russ.)]
8. Желтикова ТМ, Антропова АБ, Мокроносова МА. Многолетняя динамика акарокомплекса домашней пыли и структуры сенсibilизации к бытовым аллергенам у atopических больных. Иммунология. 2016; 37 (1): 25–28. [Zheltikova TM, Antropova AB, Mokronosova MA. Long-term dynamics of house dust acarocomplex and sensitization to indoor allergens in atopie patients. Immunologiya. 2016, 37: 25–28. (In Russ.)] <https://doi.org/10.18821/0206-4952-2016-37-1-25-28>.
9. Bertelsen RJ, Faeste CK, Granum B et al. Food allergens in mattress dust in Norwegian homes — a potentially important source of allergen exposure. Clin Exp Allergy. 2014; 44 (1): 142–149. <https://doi.org/10.1111/cea.12231>.
10. Мокроносова МА, Ахапкина ИГ, Басс ЕА, Желтикова ТМ. Мажорный аллерген кошки (Fel d 1) в пыли жилых помещений. Иммунология. 2017; 38 (4): 209–213. <http://dx.doi.org/10.18821/0206-4952-2017-38-4-209-213>. [Mokronosova MA, Akhapkina IG, Bass EA, Zheltikova TM. Major cat allergen (Fel d 1) in house dust. Immunologiya. 2017; 38 (4): 209–213. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.18821/0206-4952-2017-38-4-209-213>.
11. Бержец ВМ. Сравнительная характеристика методов определения концентрации белка в клещевых аллергенах. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2004; 4: 99–103. [Berzhec VM. Sravnitel'naya harakteristika metodov opredele-niya koncentracii belka v kleshchevyh allergenah. Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya. 2004; 4: 99–103. (In Russ.)]
12. Dua B, Park J, Kim H. Comparison of weight per volume and protein nitrogen units in non-standardized allergen extracts: implications for prescribing subcutaneous immunotherapy. Allergy Asthma Clin Immunol. 2021; 17 (1): 92. Published 2021 Sep 16. <https://doi.org/10.1186/s13223-021-00588-5>.
13. Cox L et al. Allergen immunotherapy: a practice parameter third update. J Allergy Clin Immunol. 2011; 127 (1 Suppl): S1–55. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.09.034>.
14. Björkstén F, Haahtela T, Backman A, Suoniemi I. Assay of the biologic activity of allergen skin test preparations. J Allergy Clin Immunol. 1984; 73 (3): 324–331. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(84\)90404-4](https://doi.org/10.1016/0091-6749(84)90404-4).
15. Балаболкин ИИ, Мачарадзе ДШ. Кожные пробы: показания и противопоказания. Вопросы современной педиатрии. 2013; 12 (3): 31–37. <https://doi.org/10.15690/vsp.v12i3.678>. [Balabolkin II, Macharadze DSh. Skin tests: indications and contraindications. Current Pediatrics. 2013; 12 (3): 31–37. (In Russ.)] <https://doi.org/10.15690/vsp.v12i3.678>.
16. Радунская СФ, Лавренчик ЕИ, Невская ЛВ, Мосягин ВД, Иванов ВБ. Проблемы оценки подлинности и специфической активности препаратов аллергенов. Биопрепараты. 2013; 2: 14–17. [Radunskaya SF, Lavrenchik EI, Nevskaya LV, Mosyagin VD et al. Problems associated with assessment of identity and specific activity of allergen preparations. Biopreparation (Biopharmaceuticals). 2013; 2: 14–17. (In Russ.)]
17. Larenas-Linnemann D, Cox LS. Immunotherapy and Allergy Diagnostics Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. European allergen extract units and potency: review of available information. Ann Allergy Asthma Immunol. 2008; 100 (2): 137–145. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)60422-X](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)60422-X).
18. Невская ЛВ, Лавренчик ЕА, Вдовиченко МВ, Жданова МЮ. Сравнительная оценка белкового и антигенного профилей препаратов аллергенов. Российский аллергологический журнал. 2018; (15): 67–69 [Nevskaya LV, Lavrenchik EA, Vdovichenko MV, Zhdanova MYu. Sravnitel'naya ocenka belkovogo i antigennogo profilej preparatov allergenov. Rossijskij allergologicheskij zhurnal. 2018; (15): 67–69 (In Russ.)]
19. Sander I, Fleischer C, Meurer U, Brüning T, Raulf-Heimsoth M. Allergen content of grass pollen preparations for skin prick testing and sublingual immunotherapy. Allergy. 2009; 64 (10): 1486–1492. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2009.02040.x>.
20. Dreborg S, Belin L, Eriksson NE et al. Results of biological standardization with standardized allergen preparations. Allergy. 1987; 42 (2): 109–116. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1987.tb02368.x>.
21. Martínez A, Martínez J, Llamazares A, Palacios R. Comparison of in-house reference extracts of Dermatophagoides pteronyssinus and Phleum pratense with the WHO International Standards. Allergol Immunopathol (Madr). 1992; 20 (3): 106–112.
22. Хабибулина ЛР, Власова НВ, Манжос МВ, Кавеленова ЛМ. Анализ роли аллергокомпонентов в комплексной диагностике поллиноза и прогнозировании эффективности аллерген-специфической иммунотерапии. РМЖ. 2019; 3: 7–10. [Habibulina LR, Vlasova NV, Manzhos MV, Kavelenova LM. Analiz roli allergokomponentov v kompleksnoj diagnostike pollinoza i prognozirovanii effektivnosti allergen-spezificheskoy immunoterapii. RMZh. 2019; 3: 7–10. (In Russ.)]
23. Сновская МА, Семикина ЕЛ, Макарова СГ, Ерешко ОА и др. Анализ профилей антител IgE к пищевым и пылевым растительным аллергенам у детей с аллергией на березу и оральным аллергическим синдромом. Аллергология и иммунология в педиатрии. 2023; (2): 57–59. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-2-57-59>. [Snovskaya MA, Semikina EL, Makarova

- SG, Ereshko OA, Yasakov DS, Galimova AA. Analysis of IgE antibody profiles to food and pollen plant allergens in children with birch allergy and oral allergic syndrome. *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2023; (2): 57–59. (In Russ.)] <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-2-57-59>.
24. Невская ЛВ, Лавренчик ЕИ, Жданова МЮ, Фадейкина ОВ, Капитанова ВК. Международный опыт стандартизации препаратов аллергенов. БИО-препараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2017; 17 (4): 222–229. [Nevskaya LV, Lavrenchik EI, Zhdanova MYu, Fadeykina OV, Kapitanova VK. International practice of allergen products standardization. BIO preparations. Prevention, Diagnosis, Treatment. 2017; 17 (4): 222–229. (In Russ.)]
25. Игнатов АА, Раменская ГВ, Смирнов ВВ. Современные тенденции в стандартизации препаратов аллергенов. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2015; 1: 16–20. [Ignatov AA, Ramenskaya GV, Smirnov VV. Current trends in the standardization of preparations of allergens. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. 2015; 1: 16–20. (In Russ.)]
26. Саканян ЕИ, Ясная МА, Вуль ВФ, Бубенчиков РА и др. Лекарственные препараты пыльцевых аллергенов: современные аспекты стандартизации. БИО-препараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2023; 23 (3–1): 367–378. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-3-1-367-378>. [Sakanyan EI, Yasnaya MA, Vul VF, Bubenchikov RA et al. Pollen allergen products: current standardisation issues. Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment. 2023; 23 (3–1): 367–378. (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-3-1-367-378>.
27. ОФС.1.1.0008.15 Остаточные органические растворители. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.: 2018. Веб-ресурс: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-1/ostatochnye-organicheskie-rastvoriteli/> (время доступа 20.05.2024).
28. Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. Injection allergen immunotherapy for asthma. Cochrane Airways Group, ed. Cochrane Database of Systematic Reviews. Published online August 4, 2010. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001186.pub2>.
29. Larsen TH, Poulsen LK, Melac M et al. Safety and tolerability of grass pollen tablets in sublingual immunotherapy — a phase-1 study. *Allergy*. 2006; 61: 1173–1176. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01203.x>.
30. Demoly P, Calderon MA. Dosing and efficacy in specific immunotherapy. *Allergy*. 2011; 66 (Suppl 95): 38–40. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02631.x>.
31. Masuyama K, Okamoto Y, Okamiya K et al. Efficacy and safety of SQ house dust mite sublingual immunotherapy-tablet in Japanese children. *Allergy*. 2018; 73 (12): 2352–2363. <https://doi.org/10.1111/all.13544>.
32. Horn A, Bernstein DI, Okubo K et al. House dust mite sublingual immunotherapy tablet safety in adolescents with allergic rhinoconjunctivitis: Worldwide clinical trial results. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2023; 130 (6): 797–804.e2. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2023.03.006>.
33. Курбачева ОМ, Павлова КС. Высокодозная сублингвальная иммунотерапия: целесообразность и безопасность. Российский аллергологический журнал. 2014; 11 (3): 61–65. [Kurbacheva OM, Pavlova KS. High-dose sublingual allergen immunotherapy: advisability and safety. Russian Journal of Allergy. 2014; 11 (3): 63–67. (In Russ.)] <https://doi.org/10.36691/RJA529>.
34. Van Ree R, Chapman MD, Ferreira F et al. The CREATE Project: Development of certified reference materials for allergenic products and validation of methods for their quantification. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008; 63 (3): 310–326. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01612.x>.
35. Radulovic S, Calderon MA, Wilson D, Durham S. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis. Cochrane ENT Group, ed. Cochrane Database of Systematic Reviews. Published online December 8, 2010. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002893.pub2>.

ВКЛАД АВТОРОВ В РАБОТУ

Масальский С. С. — написание текста, литературный обзор.

Саканян Е. И. — редакция статьи, осуществление научного и методического руководства рабочей группы по стандартизации аллергенов.

Ясная М. А. — редакция статьи, член рабочей группы по стандартизации аллергенов.

THE AUTHORS' CONTRIBUTION TO THE WORK

Sergey S. Masalskiy — writing a text, literary review.

Elena I. Sakanyan — editorial board of the article, implementation of scientific and methodological guidance of the working group on standardization of allergens.

Maria A. Yasnaya — the editorial board of the article, a member of the working group on the standardization of allergens.