

## ИНТЕНСИВНОСТЬ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ И ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ

Саркисян Н.С., Пономаренко Д.Г., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л.,  
Костюченко М.В., Куличенко А.Н.

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Резюме.** Исследователями предложен новый методический подход к экспресс-оценке степени интенсивности специфической сенсibilизации при остром бруцеллезе, обладающий высокой чувствительностью – 96,6%, специфичностью – более 95,7%. Выявлено наличие прямой связи интенсивности специфической IgE-зависимой сенсibilизации с формированием у больных бруцеллезом иммуносупрессивного состояния: снижение общего количества CD3<sup>+</sup> клеток на 17,9%, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> – на 13,3%, CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> – на 4,39%, фагоцитарной активности нейтрофилов крови – в среднем на 25,8%. Показано, что повышение степени реакин-обусловленной алергизации при бруцеллезе тесно ассоциировано с формированием выраженной иммуносупрессии.

**Ключевые слова:** бруцеллез, *in vitro* аллегодиагностика, тест активации базофилов, иммуносупрессия

## INTENSITY OF SPECIFIC SENSITIZATION AND IMMUNE PROFILE IN PATIENTS WITH BRUCELLOSIS

Sarkisyan N.S., Ponomarenko D.G., Logvinenko V.O., Rakitina E.L.,  
Kostyuchenko M.V., Kulichenko A.N.

Stavropol Antiplague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Abstract.** The authors propose a new methodological approach to rapid intensity assessment of specific sensitization in acute brucellosis. This technique shows high sensitivity (98%), and specificity (97%). We revealed a direct relation between the intensity of specific IgE-dependent sensitization accompanied by development of immunosuppressive state in patients with brucellosis, i.e., a mean reduction of total CD3<sup>+</sup> cell counts by 17.9%; CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> cells, by 13.3%; CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, by 4.4%. Phagocytic ability of blood neutrophils was decreased by 25.8%. The study has shown that an increased reagin-dependent sensitization in brucellosis is closely associated with emergence of severe immunosuppression.

**Keywords:** brucellosis, *in vitro* allergodiagnosics, basophil activation test, immunosuppression

### Адрес для переписки:

Саркисян Нушик Сааковна  
ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»  
Роспотребнадзора  
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15.  
Тел.: 8 (962) 425-01-29.  
Тел./факс: 8 (8652) 26-03-12.  
E-mail: nyshik@yandex.ru

### Address for correspondence:

Sarkisyan Nushik S.  
Stavropol Antiplague Institute  
355035, Russian Federation, Stavropol,  
Sovietskaya str., 13-15.  
Phone: 7 (962) 425-01-29.  
Phone/fax: 7 (8652) 26-03-12.  
E-mail: nyshik@yandex.ru

### Образец цитирования:

Н.С. Саркисян, Д.Г. Пономаренко, О.В. Логвиненко,  
Е.Л. Ракитина, М.В. Костюченко, А.Н. Куличенко  
«Интенсивность специфической сенсibilизации  
и иммунный статус у больных бруцеллезом»  
// Медицинская иммунология, 2016. Т. 18, № 4.  
С. 365–372.  
doi: 10.15789/1563-0625-2016-4-365-372

© Саркисян Н.С. и соавт., 2016

### For citation:

N.S. Sarkisyan, D.G. Ponomarenko, V.O. Logvinenko,  
E.L. Rakitina, M.V. Kostyuchenko, A.N. Kulichenko  
“Intensity of specific sensitization and immune profile in patients  
with brucellosis”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya  
Immunologiya*, 2016, Vol. 18, no. 4, pp. 365–372.  
doi: 10.15789/1563-0625-2016-4-365-372

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-4-365-372>

## Введение

Бруцеллез остается одной из наиболее опасных инфекций, общих для человека и животных, в регионах с развитым животноводством. Патогенетические и клинические особенности бруцеллезной инфекции взаимообусловлены рядом факторов, определяющим из которых является степень специфической сенсибилизации и иммунологическая реактивность организма [1, 5].

Отечественные и иностранные исследователи указывают, что формирование бактериальной аллергии при бруцеллезе и ее интенсивность могут выступать в качестве основного патогенетического фактора в формировании очаговых специфических органных поражений. Метастазирование инфекта, в том числе и вторичное, чаще происходит на фоне выраженного ослабления иммунитета [10, 15]. Соответственно, интенсивность специфической сенсибилизации и изменения иммунологической резистентности у больных бруцеллезом может иметь причинно-следственную связь, проследить которую можно с использованием методов количественной оценки уровня аллергизации организма.

В развитии аллергических реакций немедленного типа ведущая роль отводится базофилам [7, 14]. Свойства базофильных гранулоцитов и особенности их антигенреактивности дают основания полагать, что эта популяция лейкоцитов может быть оптимальной «мишенью» для клеточного теста *in vitro*.

С учетом того, что при взаимодействии *in vivo* аллергенов с комплементарными молекулами IgE на мембране базофилов инициируется каскад ферментных реакций, приводящих к дегрануляции базофильных гранулоцитов, явление дегрануляции (активации) базофилов может быть основой для разработки нового подхода к оценке специфической сенсибилизации. Имеются данные о перспективах детекции маркеров активации базофилов CD294, CD203c, CD63 (gp53), под действием аллергенов, с использованием моноклональных антител и определением количества активированных антигеном клеток с помощью проточной цитофлуориметрии [9, 13].

Наиболее информативные рецепторы дегрануляции базофилов внутриклеточные антигены CD63, после стимуляции аллергеном происходит дегрануляция клеток и CD63 оказываются на поверхности базофилов. Процесс дегрануляции происходит путем экзоцитоза клетки и выбросом содержимого в межклеточную среду [8, 9, 11].

В 1994 году Sainte-Laudu et al. предложил детектировать дегрануляцию базофилов методом проточной цитометрии. Благодаря используемой технологии CAST® (Cellular Antigen Stimulation Test, тест антигенной стимуляции клеток), спо-

соб обладает высокой специфичностью по сравнению с классическими методиками [12].

Анализ доступной отечественной и зарубежной литературы свидетельствует о высокой эффективности использования в качестве основы для разработки метода оценки специфической реакин-опосредованной сенсибилизации при бруцеллезе теста активации базофилов. Технология позволяет исследовать цельную кровь, использовать растворимые тест-аллергены, предназначенные для кожных проб (бруцеллин), выявлять реакин-опосредованную аллергизацию даже при низких концентрациях сывороточного специфического IgE.

**Цель работы** — количественно оценить степень IgE-опосредованной специфической сенсибилизации организма и изучить связь интенсивности аллергизации с изменениями в иммунном статусе у больных бруцеллезом.

## Материалы и методы

Для решения поставленных в работе задач в течение 2012-2015 гг. был исследован клинический материал от 209 человек с лабораторно подтвержденным диагнозом — острый бруцеллез, поступивших в отделение по диагностике, лечению и экспертизе профпатологии бруцеллеза, ГБУЗ СК «Городская клиническая больница № 2» г. Ставрополя. Также обследовано 19 человек иммунизированных против бруцеллеза вакциной на основе штамма *Brucella abortus* 19 BA (на 30-35 сутки после вакцинации). С целью определения специфичности предлагаемого теста исследовали кровь 93 человек, не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции: 13 беременных (31-33 неделя беременности), 40 обследуемых в возрасте от 2-х до 67 лет с аллергией в анамнезе, 40 человек, не имевших в анамнезе симптомов аллергии.

Отбор и рандомизацию больных бруцеллезом по группам производили в соответствии с индивидуальными регистрационными картами больных (истории болезни), с учетом классификации клинических форм бруцеллеза по Г.П. Рудневу (1955). Все больные острым бруцеллезом имели среднюю степень тяжести течения болезни, в фазе компенсации.

Различия показателей в зависимости от пола в группах не имели статистической значимости, в связи с чем мы сочли возможным объединить обследованных без учета их половой принадлежности.

Все обследуемые дали информированное согласие на проведение настоящих исследований.

Комплексное иммунологическое обследование включало:

— определение субпопуляционного состава лимфоцитов ( $CD3^+$ ,  $CD3^+CD4^+$ ,  $CD3^+CD8^+$ ,  $CD16^+56^+$ ,  $CD19^+$ ) на проточном цитометре FACS Calibur (США), с использованием моноклональных антител (МКАТ) Beckman Coulter (США);

— оценку фагоцитарной и функциональной активности нейтрофилов крови, которую осуществляли в соответствии с общепринятыми методами;

— выявление уровня общих иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови методом радиальной иммунной диффузии с моноспецифическими сыворотками производства ФГУП НПО «Микроген» (Россия);

— определение комплементарной активности сыворотки крови по 50% гемолизу эритроцитов барана;

— выявление концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) осуществляли с помощью фотоколориметрии в реакции с ПЭГ — 6000 [3].

Наличие и интенсивность IgE-зависимой аллергической реакции к возбудителю бруцеллеза определяли, используя новый методический подход [6], который заключался в антигенспецифической активации базофилов в условиях *in vitro*.

В качестве аллергена использовали «Аллерген бруцеллезный жидкий (бруцеллин)», Рег. №: ЛС-002624 (ФГУП «НПО Микроген», Россия). Одна внутрикожная доза (0,1 мл) содержит от 3,8 до 5,4 мкг белка.

Определение клинической информативности предложенного теста *in vitro* оценки степени специфической сенсibilизации, проводили по ГОСТ Р 53022.3-2008 «Технологии лабораторные клинические». Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов».

Обеззараживание исследуемого материала от больных бруцеллезом людей осуществляли в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием стандартного пакета компьютерных программ Microsoft Excel. Достоверность различия средних рассчитывали по критерию Стьюдента (t) для коэффициентов вариации, уровень значимости Р выбран менее 0,05. С целью выявления коррелятивной связи применяли метод ранговой корреляции Спирмена, считая значения коэффициента, равные 0,3 и менее, показателями слабой тесноты связи; значения более 0,4, но менее 0,7 — показателями умеренной тесноты

связи, а значения 0,7 и более — показателями высокой тесноты связи [4].

## Результаты

Для разработки метода количественной оценки интенсивности IgE-опосредованной сенсibilизации, основанного на тесте активации базофилов, опытным путем определено количество антигена, необходимое для специфической стимуляции клеток. Испытывали следующие дозировки аллергена: 10, 25, 50, 100 и 200 мкл. При *in vitro* стимуляции бруцеллином базофилов крови обследуемых контрольной группы, беременных, лиц с аллергиями, вне зависимости от количества аллергена, полученные результаты не превышали 5%, поэтому мы сочли возможным объединить их в группу контроля.

При *in vitro* стимуляции бруцеллином базофилов крови больных бруцеллезом и привитых против бруцеллеза имелась определенная зависимость от количества внесенного аллергена в анализируемую пробу.

Объем 10 и 25 мкл бруцеллина является недостаточным для специфической активации. При внесении в анализируемые пробы 50 мкл, 100 мкл и 200 мкл бруцеллина наблюдали увеличение количества активированных базофилов, однако, стабильно воспроизводимый результат у 100% обследуемых (больных бруцеллезом и вакцинированных против бруцеллеза) получен при активации базофилов 50 мкл аллергена, соответственно, данный объем бруцеллина является оптимальным для выявления в условиях *in vitro* реактин-зависимой специфической сенсibilизации при бруцеллезе. Для подтверждения специфичности метода проведена оценка интенсивности активации базофилов крови больных бруцеллезом различными бактериальными аллергенами, используемыми для алергодиагностики инфекционных болезней: антраксином, тулярином, туберкулином, и для выявления возможной спонтанной активации базофилов — стерильным физиологическим раствором.

Учитывая, что у группы не больных, не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции (n = 93) количество активированных бруцеллином базофилов находилось в диапазоне от 0 до 5 %, соответственно, цифровое значение, принятое на основании экспериментальных данных в качестве критерия наличия специфической сенсibilизации при бруцеллезе (порог клинического решения) — активация более 5% базофилов под действием бруцеллина в условиях *in vitro*.

Клиническую информативность лабораторного метода *in vitro* оценки степени специфической сенсibilизации определяли по показателям диа-

гностической чувствительности и специфичности.

Диагностическую чувствительность оценивали путем определения количества положительных результатов аллерготестирования *in vitro* с бруцеллином среди лиц с клинически и лабораторно подтвержденным диагнозом «Острый бруцеллез». Из 209 больных острым бруцеллезом со средней степенью тяжести течения, в фазе компенсации у 202 обследованных получен положительный результат теста — активировались бруцеллином 5,1% и более базофилов, соответственно, чувствительность метода при диагностике острого бруцеллеза — 96,6%.

Диагностическую специфичность определяли при подсчете положительных результатов аллерготестирования *in vitro* с бруцеллином у лиц не больных, не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции. Из 93 обследованных (в т. ч. беременные — 13 и обследованные с аллергией — 40), положительный результат аллерготестирования с бруцеллином *in vitro* получен у 4 лиц, имевших в анамнезе аллергию, соответственно, специфичность теста — 95,7%.

Учитывая вышеизложенное, предложенный методический подход к *in vitro* количественной оценке интенсивности реакин-опосредованной (IgE-зависимой) специфической сенсibilизации организма при остром бруцеллезе, основанный на тесте активации базофилов с ци-

тометрическим учетом результатов, обладает следующими характеристиками: высокой чувствительностью — 96,6%, специфичностью — более 95,7%, экспрессностью — время, затраченное на постановку и учет реакции, не превышает 2-х часов. Метод технически не сложен и легко воспроизводим.

В ходе дальнейшего исследования больные острым бруцеллезом ( $n = 127$ ) по степени специфической реакин-опосредованной (IgE-зависимой) сенсibilизации были рандомизированы на 3 группы. Обследуемые с низкой степенью специфической сенсibilизации от 5,1 до 10 % составили группу № 1 ( $n = 32$ ), группу № 2 сформировали больные бруцеллезом со средней (умеренной) степенью специфической сенсibilизации от 11 до 25% ( $n = 56$ ) и 39 больных бруцеллезом с высокой степенью специфической сенсibilизации более 25% — составили группу № 3.

При анализе результатов исследования связи IgE-опосредованной специфической сенсibilизации с компенсаторными и патологическими изменениями в иммунном статусе больных бруцеллезом у обследуемых второй группы выявлено статистически достоверное повышение следующих показателей. Данные представлены в таблице 1.

У обследованных больных со средней (умеренной) степенью реакиновой гиперчувствительности были выявлены компенсаторные изме-

**ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ С НИЗКОЙ (группа № 1) И СРЕДНЕЙ (группа № 2) СТЕПЕНЬЮ РЕАГИН-ОПОСРЕДОВАННОЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЕНСIBILИЗАЦИИ ( $M \pm m$ )**

Показатели, ед. измерения	Группа № 1 ( $n = 32$ )	Группа № 2 ( $n = 56$ )	P, уровень достоверности межгрупповых различий
Т-лимфоциты ( $CD3^+$ ), %	$68,87 \pm 1,25$	$82,9 \pm 1,16$	$p \leq 0,001$
Т-хелперы ( $CD3^+CD4^+$ ), %	$39,1 \pm 2,38$	$55,6 \pm 0,94$	$p \leq 0,001$
Т-цитотоксические ( $CD3^+CD8^+$ ), %	$24,18 \pm 2,24$	$43,6 \pm 0,88$	$p \leq 0,001$
НК-клетки ( $CD16^+CD56^+$ ), %	$10,19 \pm 1,15$	$6,65 \pm 0,37$	$p \leq 0,01$
В-лимфоциты ( $CD19^+$ ), %	$12,17 \pm 1,32$	$8,54 \pm 0,27$	$p \geq 0,1$
ИРИ, у.е.	$1,61 \pm 0,06$	$1,27 \pm 0,05$	$p \leq 0,001$
Фагоцитарная активность нейтрофилов крови, %	$76,3 \pm 3,76$	$50,0 \pm 1,26$	$p \leq 0,001$
Функциональная активность (НСТ-тест), %	$6,98 \pm 1,3$	$18,42 \pm 0,97$	$p \leq 0,001$
IgA, мг/мл	$2,02 \pm 0,24$	$4,18 \pm 0,41$	$p \leq 0,001$
IgM, мг/мл	$1,37 \pm 0,09$	$1,42 \pm 0,06$	$p \leq 0,001$
IgG, мг/мл	$10,30 \pm 0,92$	$15,5 \pm 0,81$	$p \leq 0,001$
ЦИК, Ед	$12,3 \pm 1,02$	$64,0 \pm 0,92$	$p \leq 0,001$
Комплементарная активность сыворотки крови, Ед	$30,23 \pm 2,25$	$68,75 \pm 1,9$	$p \leq 0,001$

нения иммунологических показателей: повышение количества Т-лимфоцитов, субпопуляции  $CD3^+CD4^+$ ,  $CD3^+CD8^+$ , дисбаланс субпопуляций Т-клеток, повышение функциональной активности нейтрофилов, увеличение уровня сывороточных IgA и IgG, ЦИК и комплементарной активности сыворотки крови. На фоне приспособительных процессов иммунной системы были выявлены и дезадаптивные изменения, которые выражались в снижении количества естественных киллеров, В-лимфоцитов, значительном ослаблении фагоцитарной активности нейтрофилов.

При проведении корреляционного анализа степени взаимосвязи интенсивности IgE-зависимой специфической сенсибилизации с компенсаторными и патологическими изменениями в иммунном статусе больных группы № 2 показано, что степень специфической сенсибилизации в значительной степени обуславливает изменения в иммунном статусе. Использование корреляционного анализа позволило выявить силу данной зависимости.

Корреляционный анализ показателей больных 2 группы выявил прямую зависимость интенсивности IgE-опосредованной сенсибилизации с повышением функциональной активности нейтрофилов крови ( $r = 0,938$ ;  $p \leq 0,01$ ), снижением относительного количества лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы  $CD16^+CD56^+$  ( $r = 0,595$ ;  $p \leq 0,01$ ) и иммунорегуляторного индекса ( $r = 0,430$ ;

$p \leq 0,01$ ), увеличением содержания сывороточного иммуноглобулина А ( $r = 0,543$ ;  $p \leq 0,01$ ), повышением уровня ЦИК ( $r = 0,027$ ) и относительного количества  $CD19^+$  лимфоцитов ( $r = 0,386$ ;  $p \leq 0,01$ ) и IgM ( $r = 0,220$ ;  $p \leq 0,01$ ) соответственно.

Установлена статистически достоверная ( $p \leq 0,01$ ) обратно пропорциональная зависимость степени реакиновой гиперчувствительности с комплементарной активностью сыворотки крови ( $r = -0,690$ ), с относительным содержанием  $CD3^+$ Т-лимфоцитами ( $r = -0,571$ ),  $CD3^+CD4^+$ -Т-хелперов ( $r = -0,600$ ),  $CD3^+CD8^+$ -Т-цитотоксических ( $r = -0,300$ ) и с уровнем IgG ( $r = -0,600$ ).

Анализируя результаты иммунологического обследования больных с высокой степенью IgE-зависимой специфической сенсибилизации, установили следующие особенности изменения иммунологических показателей. Данные представлены в таблице 2.

У больных бруцеллезом с высокой степенью специфической сенсибилизации по реакиновому типу на фоне компенсаторных процессов (повышение переваривающей способности фагоцитов крови, содержания уровня IgA и IgG, ЦИК и комплементарной активности сыворотки крови) выражены явные дисфункциональные изменения, имеющие иммуносупрессивный характер: снижение Т-клеток  $CD3^+$ , Т-хелперов –  $CD3^+CD4^+$ , натуральных киллеров, фагоцитарной активности нейтрофилов.

**ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ С НИЗКОЙ (группа № 1) И ВЫСОКОЙ (группа № 3) СТЕПЕНЬЮ РЕАГИН-ОПОСРЕДОВАННОЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ( $M \pm m$ )**

Показатели, ед. измерения	Группа № 1 (n = 32)	Группа № 3 (n = 39)	P, уровень достоверности межгрупповых различий
Т-лимфоциты ( $CD3^+$ ), %	68,87±1,25	51,0±1,15	$p \leq 0,001$
Т-хелперы ( $CD3^+CD4^+$ ), %	39,1±2,38	25,8±1,7	$p \leq 0,001$
Т-цитотоксические ( $CD3^+CD8^+$ ), %	24,18±2,24	39,6±0,24	$p \leq 0,001$
НК-клетки ( $CD16^+CD56^+$ ), %	10,19±1,15	5,8±0,37	$p \leq 0,01$
В-лимфоциты ( $CD19^+$ ), %	12,17±1,32	12,5±1,2	$p \geq 0,1$
ИРИ, у.е.	1,61±0,06	0,65±0,86	$p \geq 0,1$
Фагоцитарная активность нейтрофилов крови, %	76,3±3,76	50,5±2,3	$p \leq 0,001$
Функциональная активность (НСТ-тест), %	6,98±1,3	19,1±1,3	$p \leq 0,001$
IgA, мг/мл	2,02±0,24	4,03±0,17	$p \leq 0,001$
IgM, мг/мл	1,37±0,09	1,51±0,15	$p \leq 0,05$
IgG, мг/мл	10,30±0,92	15,5±0,73	$p \leq 0,001$
ЦИК, Ед	12,3±1,02	69,8±3,4	$p \leq 0,001$
Комплементарная активность сыворотки крови, Ед	30,23±2,25	69,7±2,1	$p \leq 0,001$

При проведении корреляционного анализа степени взаимосвязи интенсивности IgE-зависимой специфической сенсибилизации с компенсаторными и патологическими изменениями в иммунном статусе больных группы № 3 установлено, что степень специфической сенсибилизации в значительной степени связана с изменениями в иммунном статусе. Использование корреляционного анализа позволило выявить силу и достоверности анной зависимости. Анализ данных корреляции выявил прямую пропорциональную взаимосвязь высокой степени специфической сенсибилизации со снижением относительного количества CD3<sup>+</sup> клеток ( $r = 0,914$ ), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов ( $r = 0,957$ ), CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> клеток ( $r = 0,725$ ), повышением уровня IgA ( $r = 1,01$ ;  $p \leq 0,01$ ), увеличением уровня циркулирующих иммунных комплексов ( $r = 0,725$ ;  $p \leq 0,01$ ), в меньшей степени со снижением иммунорегуляторного индекса ( $r = 0,215$ ;  $p \geq 0,1$ ), комплементарной активности сыворотки крови ( $r = 0,246$ ;  $p \leq 0,01$ ), количества CD19<sup>+</sup> клеток ( $r = 0,162$ ;  $p \geq 0,1$ ) и уровня иммуноглобулина G ( $r = 0,264$ ;  $p \leq 0,01$ ) и IgM ( $r = 0,164$ ;  $p \leq 0,01$ ). Анализ данных выявил прямую зависимость высокой степени специфической сенсибилизации со снижением фагоцитарной активности нейтрофилов крови ( $r = 0,291$ ), относительным содержанием субпопуляций CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> лимфоцитов ( $r = 0,213$ ;  $p \leq 0,01$ ), а также обратно-пропорциональную зависимость ( $r = - 0,482$ ) с повышением функциональной активности нейтрофилов крови ( $p \leq 0,01$ ).

Сравнительный анализ результатов иммунологического обследования больных со средней (умеренной) и высокой степенью реакин-обусловленной специфической сенсибилизации представлен в таблице 3.

При сравнении показателей иммунного статуса больных бруцеллезом со средней и высокой степенью реакин-опосредованной специфической сенсибилизацией наблюдаются дисфункциональные изменения, имеющие иммуносупрессивный характер: снижение Т-клеток CD3<sup>+</sup>, Т-хелперов – CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, натуральных киллеров, фагоцитарной активности нейтрофилов.

Корреляционный анализ данных сравнения средней и высокой степени специфической сенсибилизации с иммунологическими показателями показал наличие достоверности ( $p \leq 0,01$ ) прямой пропорциональной взаимосвязи показателя со снижением количества CD3<sup>+</sup> клеток ( $r = 0,895$ ), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов ( $r = 0,500$ ), популяции натуральных киллеров CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> ( $r = 0,425$ ) и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> клеток ( $r = 0,628$ ). В ходе исследования выявлена обратно-пропорциональная связь относительно увеличения циркулирующих иммунных комплексов ( $r = - 0,757$ ) и уровня иммуноглобулина G ( $r = - 0,475$ ) в обследуемых группах ( $p \geq 0,1$ ). У больных бруцеллезом выявлена прямая взаимосвязь интенсивности IgE-обусловленной сенсибилизации с комплементарной активностью сыворотки крови ( $r = 0,244$ ;  $p \geq 0,1$ ), повышением CD19<sup>+</sup> клеток ( $r = 0,262$ ) и уровнем иммуноглобулина A ( $p \leq 0,01$ ). Анализ данных в группах сравнения

**ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ СО СРЕДНЕЙ (группа № 2) И ВЫСОКОЙ (группа № 3) СТЕПЕНЬЮ РЕАГИН-ОПОСРЕДОВАННОЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ( $M \pm m$ )**

Показатели, ед. измерения	Группа № 2 (n = 56)	Группа № 3 (n = 39)	P, уровень достоверности межгрупповых различий
Т-лимфоциты (CD3 <sup>+</sup> ), %	82,9±1,16	51,0±1,15	$p \leq 0,001$
Т-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ), %	55,6±0,94	25,8±1,7	$p \leq 0,01$
Т-цитотоксические (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> ), %	43,6±0,88	39,6±0,24	$p \leq 0,05$
НК-клетки (CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> ), %	6,65±0,37	5,8±0,37	$p \geq 0,05$
В-лимфоциты (CD19 <sup>+</sup> ), %	8,54±0,27	12,5±1,2	$p \geq 0,05$
ИРИ, у.е.	1,27±0,05	0,65±0,86	$p \geq 0,1$
Фагоцитарная активность нейтрофилов крови, %	50,0±1,26	50,5 ± 2,3	$p \geq 0,1$
Функциональная активность (НСТ-тест), %	18,42±0,97	19,1±1,3	$p \geq 0,1$
IgA, мг/мл	18,42±0,97	19,1±1,3	$p \geq 0,1$
IgM, мг/мл	1,42±0,06	1,51±0,15	$p \leq 0,05$
IgG, мг/мл	15,5±0,81	15,5±0,73	$p \geq 0,1$
ЦИК, Ед	64,0±0,92	69,8±3,4	$p \geq 0,1$
Комплементарная активность сыворотки крови, Ед	68,75±1,9	69,7±2,1	$p \geq 0,1$

выявил прямую зависимость снижения фагоцитарной ( $r = 0,384$ ) и функциональной активности нейтрофилов крови ( $r = 0,440$ ;  $p \leq 0,01$ ), со степенью интенсивности инфекционной аллергии при бруцеллезе.

Вышеизложенное указывает на то, что интенсивность реакин-опосредованной специфической сенсибилизации у больных бруцеллезом имеет прямую связь с формированием иммуносупрессивного состояния.

Учитывая, что применение проточно-цитометрического анализа позволяет количественно учесть уровень гиперчувствительности организма к возбудителю бруцеллеза, метод антигенной активации лейкоцитов *in vitro* можно использовать для изучения интенсивности алергизации.

Можно предположить, что одним из неблагоприятных прогностических факторов при остром бруцеллезе, с точки зрения генерализации инфекции с переходом в хронический процесс, является высокая степень реакин-зависимой специфической сенсибилизации. Соответственно, больным бруцеллезом с выраженной IgE-обусловленной алергизацией необходима более

длительная антибактериальная терапия с включением в схему лечения десенсибилизирующих средств, стимуляторов клеточного иммунитета и естественной резистентности, в частности фагоцитарной активности.

## Выводы

— предложена методика количественной оценки степени интенсивности специфической сенсибилизации при бруцеллезе;

— установлена прямая связь повышения интенсивности специфической IgE-зависимой сенсибилизации (более чем на 10%) с формированием у больных бруцеллезом иммуносупрессивного состояния;

— у больных бруцеллезом с высокой степенью интенсивности специфической IgE-зависимой сенсибилизации (более 25% активированных базофилов) наблюдаются супрессивные изменения в иммунном статусе: снижение общего количества  $CD3^+$  клеток в среднем на 17,9%,  $CD3^+CD4^+$  — на 13,3%,  $CD16^+CD56^+$  — на 4,39%, фагоцитарной активности нейтрофилов крови в среднем — на 25,8%.

## Список литературы / References

1. Вершилова П.А., Чернышова М.И., Князева Э.Н. Патогенез и иммунология бруцеллеза. М.: Медицина, 1974. 272 с. [Vershilova P.A., Chernyshova M.I., Knyazeva E.N. Pathogenesis and immunology of brucellosis]. Moscow: Medicine, 1974. 272 p.
2. ГОСТ Р 53022.3-2008 «Технологии лабораторные клинические». Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов». [GOST R 53022.3-2008 "clinical laboratory Technology". Requirements for the quality of clinical laboratory studies. Part 3. The rules of evaluation of clinical informative value of laboratory tests]. (In Russ.)]
3. Кишкун А.А. Иммунологические исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике. М.: Медицинское информационное агентство, 2009. 712 с. [Kishkun A.A. the Immunological research and methods of diagnostics of infectious diseases in clinical practice]. Moscow: Medical information Agency, 2009. 712 p.
4. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. М.: Физматлит, 2006. С. 626-628. [Kobzar A.I. Applied mathematical statistics]. Moscow: Fizmatlit, 2006, pp. 626-628.
5. Лямкин Г.И., Пономаренко Д.Г., Худолеев А.А., Вилинская С.В., Зайцев А.А., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в Российской Федерации и государствах - участниках Содружества Независимых Государств // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение, 2016. № 1. С. 68-74. [Lyamkin G.I., Ponomarenko, D.G., Khudoleev A.A. Vilinskaya S.V., Zaitsev A.A., Kulichenko A.N. Epidemiological situation on brucellosis in the Russian Federation and the States – participants of the Commonwealth of Independent States. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* = *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2016, no. 1, pp. 68-74. (In Russ.)]
6. Патент № 2574207 Российской Федерации, МПК G01N33/48. Способ дифференциации поствакцинного и инфекционного бруцеллезного процессов по степени повышенной чувствительности организма к бруцеллам в условиях *in vitro* / Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Саркисян Н.С., Костюченко М.В., Куличенко А.Н., Лямкин Г.И., Голубь О.Г., Бердникова Т.В.; заявитель и патентообладатель Федеральное казенное учреждение здравоохранения Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, опубл. 10.02.2016. [Patent no. 2574207 of the Russian Federation, IPC G01N33/48. Method postvaccinale differentiation and infectious processes in brucellosis degree of hypersensitivity to Brucella in vitro/ Ponomarenko, D.G., Rakitin, E.L., Logvinenko O.V., Sarkisyan N.S., Kostyuchenko M.V., Kulichenko A.N., Lyamkin G.I., Dove, G.O., Berdnikova T.V.; applicant and patentee Federal state institution of health Stavropol research antiplague Institute of Federal service for supervision of consumer rights protection and human welfare, publ. 10.02.2016. (In Russ.)]

7. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология: [пер. с англ.]. М.: Мир, 2000. 592 с. [Roit A., Brostoff J., Mail D. Immunology: [Engl. Transl.]. Moscow: Mir, 2000. 592 p.]
8. Уханова О. П. Изучение влияния моноклональных антител к IgE на активацию базофилов периферической крови больных сезонным аллергическим ринитом // Аллергология и иммунология, 2010. Т. 11, № 1. С. 54-56. [Ukhanova, O.P. Study of the effect of monoclonal antibodies to IgE on the activation of basophils in the peripheral blood of patients with seasonal allergic rhinitis. *Allergologiya i immunologiya = Allergology and Immunology*, 2010, Vol. 11, no. 1, pp. 54-56. (In Russ.)]
9. De Weck A.L., Sanz M.L., Gamboa P.M., Jermann J.M., Kowalski M., Medrala W., Sainte-Laudy J., Schneider M.S., Weber J.M., Wolanczyk-Medrala A. Nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity syndrome: a multicenter study. II. Basophil activation by nonsteroidal anti-inflammatory drugs and its impact on pathogenesis. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 20, no. 1, pp. 39-57.
10. Galinska E.M., Zagorski J. Brucellosis in humans – etiology, diagnostics, clinical forms. *Ann Agric. Environ. Med.*, 2013, Vol. 20, no. 2, pp. 233-238.
11. Pignatti P., Patrizia P., Giselda C., Mona-Rita Y., Gianni P., Gianna M. Basophil activation test is food adverse reactions. *J. Clin. Transl. Allergy*, 2011, no. 2, Suppl. 1, p. 92.
12. Sainte-Laudy J., Vallon C., Guerin J.C. Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis. *Allerg. Immunol.*, 1994, Vol. 26, no. 6, pp. 211-214.
13. Sato S., Tackimoto M., Shukuya A., Kurosaka N., Yanagida N., Utsunomiya T., Iguchi M., Komata T., Imai T., Tomikawa M., Ebisawa M. Basophil activation marker CD203C is useful in the diagnosis of hen's egg and cow's milk allergies in children. *J. Allergy Immunol.*, 2010, Vol. 152, no. 1, pp. 54-61.
14. Schroeder J. T. Basophils: emerging roles in the pathogenesis of allergic disease. *J. Immunol. Rev.*, 2011, Vol. 242, no. 1, pp. 144-160.
15. Skendros P., Boura P. Immunity to brucellosis. *J. Rev. Sci. Tech.*, 2013, Vol. 32, no. 1, pp. 137-147.

**Авторы:**

**Саркисян Н.С.** — врач клинической лабораторной диагностики научно-профилактической клинко-диагностической лаборатории ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Пономаренко Д.Г.** — к.б.н., заведующий лабораторией бруцеллеза и сектором иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Логвиненко О.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник, зав. сектором иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекций лаборатории бруцеллеза ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Ракитина Е.Л.** — к.м.н., ведущий научный сотрудник сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекций лаборатории бруцеллеза ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Костюченко М.В.** — научный сотрудник сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекций лаборатории бруцеллеза ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Куличенко А.Н.** — д.м.н., профессор, директор ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Authors:**

**Sarkisyan N.S.**, Laboratory Physician, Clinical Research & Prevention Diagnostic Laboratory, Stavropol Antiplague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Ponomarenko D.G.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Brucellosis and Division of Immunology and Pathomorphology for Special Danger Infections, Stavropol Antiplague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Logvinenko V.O.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Head, Division of Immunology and Pathomorphology for Special Danger Infections, Stavropol Antiplague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Rakitina E.L.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Division of Immunology and Pathomorphology for Special Danger Infections, Stavropol Antiplague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Kostyuchenko M.V.**, Research Associate, Division of Immunology and Pathomorphology for Special Danger Infections, Stavropol Antiplague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Kulichenko A.N.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Stavropol Antiplague Institute, Stavropol, Russian Federation

Поступила 11.05.2016

Отправлена на доработку 31.05.2016

Принята к печати 14.06.2016

Received 11.05.2016

Revision received 31.05.2016

Accepted 14.06.2016