

## ПРИМЕНЕНИЕ CAST-ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ У ЛЮДЕЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЮ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В.,  
Логвиненко О.В., Рязанова А.Г., Аксенова Л.Ю., Буравцева Н.П.,  
Тюменцева И.С., Курчева С.А., Куличенко А.Н.

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

**Резюме.** Представлены результаты применения функционального цитометрического теста антиген-стимулированной активации базофилов для оценки специфической иммунологической реактивности у людей, больных сибирской язвой и иммунизированных сибиреязвенной вакциной. В качестве критерия наличия антигенспецифической активации базофилов измеряли экспрессию мембранного рецептора – CD63, отражающей процесс анафилактической дегрануляции базофильных гранулоцитов. Для определения спонтанной и антиген-индуцированной активации базофилов (CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>) применяли набор реагентов FlowCAST (Buhlmann laboratories AG, Швейцария). В качестве специфического антигена использовали экспериментальный сибиреязвенный аллерген – антраксин (гидролизат на основе штамма *Bacillus anthracis* СТИ-1), производства ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора. На основании клинико-экспериментальных данных в качестве лабораторного критерия наличия у человека специфической IgE-опосредованной сенсибилизации к возбудителю сибирской язвы для иммунодиагностического CAST-теста *in vitro* принято значение – 10% и более активированных антраксином базофильных гранулоцитов (CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>). Показано, что у лиц, больных сибирской язвой в период до одной недели (3-7-й день) после заболевания, в 92,3% случаев получен положительный результат CAST, значения специфической активации антраксином базофилов в среднем составил 37,9% (12,01 ÷ 78,9%). При иммунологическом обследовании лиц через три недели после вакцинации против сибирской язвы была установлена CAST-позитивность у всех вакцинированных. Значения интенсивности антраксин-индуцированной активации базофилов у привитых находились в интервале от 10,87 ÷ 30,03%, составив в среднем 17,86%. Суммарное значение спонтанной и специфической активации детектировали в интервале 12,39 ÷ 41,46%. Проведенные исследования указывают на перспективу внедрения теста антигенной активации базофилов в формате Flow CAST для диагностики сибирской язвы и выявления специфической иммунной перестройки после вакцинации у людей, как показателя «фактической привитости». Использование CAST-теста с антраксином позволяет выявлять больных сибирской язвой на ранних сроках после начала заболевания (2-4-е сут.), в том числе среди пациентов с повышенным уровнем фоновых значений CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>, проводить оценку иммунологической эффективности вакцинации контингентов риска. Вместе с тем было установлено, что существенное снижение диагностической чувствительно-

### Адрес для переписки:

Пономаренко Дмитрий Григорьевич  
ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»  
Роспотребнадзора  
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15.  
Тел.: 8 (8652) 23-01-65 (доб. 119).  
Факс: 8 (8652) 26-03-12.  
E-mail: ponomarenko.dg@gmail.com

### Address for correspondence:

Ponomarenko Dmitry G.  
Stavropol Research Anti-Plague Institute  
355035, Russian Federation, Stavropol,  
Sovetskaya str., 13-15.  
Phone: 7 (8652) 23-01-65 (add. 119).  
Fax: 7 (8652) 26-03-12.  
E-mail: ponomarenko.dg@gmail.com

### Образец цитирования:

Д.Г. Пономаренко, Е.Л. Ракитина, М.В. Костюченко,  
О.В. Логвиненко, А.Г. Рязанова, Л.Ю. Аксенова,  
Н.П. Буравцева, И.С. Тюменцева, С.А. Курчева,  
А.Н. Куличенко «Применение CAST-теста для оценки  
у людей специфической реактивности к возбудителю  
сибирской язвы» // Медицинская иммунология, 2020.  
Т. 22, № 5. С. 1017-1024.

doi: 10.15789/1563-0625-UCT-2058

© Пономаренко Д.Г. и соавт., 2020

### For citation:

D.G. Ponomarenko, E.L. Rakitina, M.V. Kostyuchenko,  
O.V. Logvinenko, A.G. Ryazanova, L.Yu. Aksenova,  
N.P. Buravtseva, I.S. Tyumentseva, S.A. Kurcheva,  
A.N. Kulichenko "Using CAST-test to investigate human  
specific hypersensitivity to the anthrax pathogen", 2020,  
Vol. 22, no. 5, pp. 1017-1024.

doi: 10.15789/1563-0625-UCT-2058

DOI: 10.15789/1563-0625-UCT-2058

сти CAST-теста возможно у иммунных к возбудителю сибирской язвы пациентов, получавших интенсивную этиотропную антибактериальную и патогенетическую терапию на ранних стадиях инфекционного процесса, включающую глюкокортикостероиды и десенсибилизирующие средства, которые ингибируют в организме интенсивность процессов формирования гиперчувствительности (иммунологической реактивности) и ее выраженность.

*Ключевые слова:* сибирская язва, лабораторная диагностика, иммунодиагностика, антиген-стимулированная активация базофилов, сибирезвенный аллерген, сенсibilизация

## USING CAST-TEST TO INVESTIGATE HUMAN SPECIFIC HYPERSENSITIVITY TO THE ANTHRAX PATHOGEN

**Ponomarenko D.G., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Logvinenko O.V., Ryazanova A.G., Aksenova L.Yu., Buravtseva N.P., Tyumentseva I.S., Kurcheva S.A., Kulichenko A.N.**

*Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation*

**Abstract.** We present the results of applying functional cytometric test of antigen-stimulated activation basophils to assess specific immunological reactivity in the people with anthrax, and immunized with anthrax vaccine. As a criterion for antigen-specific basophil activation, we measured expression of the CD63 membrane receptor, which reflects the process of anaphylactic basophil degranulation. To determine spontaneous and antigen-induced activation of basophils (CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>), a FlowCAST reagent kit (Buhlmann laboratories AG, Switzerland) was used. Anthraxin, an experimental anthrax allergen (a hydrolysate the *Bacillus anthracis* STI-1 strain), manufactured by the Stavropol Anti-Plague Institute, was used as a specific antigen. As based on clinical and experimental data, a threshold value of > 10% of anthraxin-activated (CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>) basophils was accepted for the *in vitro* immunodiagnostic CAST test, as a laboratory criterion for the subjects exhibiting specific immune response, i.e., IgE-mediated sensitization. It was shown that, in anthrax patients within one week after onset of the disease (3-7 days), a positive CAST result was obtained in 92.3% cases; the levels of specific basophil activation with anthraxin averaged 37.9% (12.01 ÷ 78.9%). Immunological examination of individuals three weeks (21 days) after vaccination against anthrax revealed CAST-positivity in all the vaccinated persons. Intensity of anthraxin-induced basophil activation the vaccinated subjects was ranged from 10.87 to 30.03%, averaging 17.86%. The overall values of spontaneous and specific activation ranged within 12.39 ÷ 41.46%. The study opens prospectives for implementation of basophil antigenic activation test in the Flow CAST format in diagnostics of anthrax and to identify specific immune rearrangements after vaccination in humans, as an index of actual vaccination rates. Usage of CAST test with anthraxin makes it possible to identify anthrax patients at the early stages (2-4 days after onset of the disease) including, among patients with an increased CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> background values, evaluation of immunological efficiency in the cohorts at risk for vaccination. At the same time, it was found that a significant decrease in diagnostic sensitivity of CAST test could be observed in the patients immune to anthrax pathogen who received intensive antibacterial and pathogenetic therapy at the early stages of infection, including glucocorticosteroids (anti-inflammatory drugs) and desensitizing agents that inhibit the degree of hypersensitivity development and its expression.

*Keywords:* anthrax, laboratory diagnostics, immunodiagnostics, antigen-stimulated activation of basophils, anthrax allergen, sensitization

### Введение

В начальный период инфекционной болезни в организме преобладают иммунологические реакции гиперчувствительности немедленного типа, большая часть которых опосредована антителами класса E (реагинами) [12].

Ввиду низкой концентрации аллергенспецифических реагинов в острую фазу болезни и отсутствия коммерчески доступных диагностиче-

ских тест-систем для их выявления, оптимальной мишенью для исследования гиперчувствительности при инфекционном процессе могут быть базофилы. На мембране этих клеток отмечается сайт-опосредованная агрегация молекул иммуноглобулинов E. Повторное взаимодействие (*in vivo, ex vivo*) специфического аллергена с комплементарными реагинами приводит к формированию иммунореактивного ответа — реакции ги-

перчувствительности немедленного типа (I тип, IgE-зависимый) [9, 24].

Кооперация аллергена с IgE и последующее перекрестное рецептор-специфическое (high-affinity Fc RI) «сшивание» с мембраной базофилов сопровождается продукцией (секрецией) клеткой веществ-медиаторов воспаления. В настоящее время выявлен целый ряд различных маркеров (рецепторов), которые могут быть использованы для цитометрической идентификации базофилов (CCR3, CD123, FcεRI, CRTN2 и др.) и количественного анализа их активации (оценка экспрессии антигенов CD203c, CD63, CD294, CD107a, CD107b, CD13, CD164 и др.). У различных рецепторов активации неодинаковые интенсивность спонтанной/индуцированной экспрессии и локализация в клетке [13, 16, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 27, 28].

К наиболее информативным и широко изученным показателям, определяющим активацию базофилов, относят рецепторы CD63, CD203c, диагностическая значимость которых эквивалентна [14, 15, 20]. Вместе с тем CD63 относится к мембранным белкам, которые непосредственно ассоциированы с компонентами мультивезикул лизосом внутренней мембраны базофилов. Индуцированная трансмембранная (экстрацеллюлярная) экспрессия рецептора CD63 теснейшим образом связана с дегрануляцией (активацией) базофилов [19].

К настоящему времени тест активации базофилов с использованием проточной цитометрии (Cellular Antigen Stimulation Test – CAST) практически полностью заменил традиционные методы исследования дегрануляции базофилов с использованием анализа высвобождения гистамина, лейкотриенов и других медиаторов иммунореактивных процессов [21].

ФКУЗ Ставропольским противочумным институтом Роспотребнадзора разработаны методические подходы для иммунодиагностики бруцеллеза и сибирской язвы, основанные на CAST-тесте [5, 7, 8].

Предложенный подход для лабораторной диагностики сибирской язвы применяется в работе Референс-центра по мониторингу за возбудителем сибирской язвы при исследовании материала от людей, подозрительных на заболевание сибирской язвой. Тест применялся при исследовании масштабной вспышки сибиреязвенной инфекции в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г. [4].

Интеграция в практику иммунологического теста CAST с сибиреязвенным аллергеном, позволит усовершенствовать существующий алгоритм лабораторной диагностики сибирской язвы и предложить эффективный способ оценки фактической привитости контингента после вакцинации против сибирской язвы.

**Цель исследований** – анализ применения CAST-теста для оценки специфической реактивности у людей, больных сибирской язвой и привитых сибиреязвенной вакциной.

## Материалы и методы

Всего в исследовании участвовали 80 человек: 50 – больных сибирской язвой, 10 – привитых сибиреязвенной вакциной (производства ФГБУ 48 ЦНИИ Минобороны России, г. Киров), обследованных на 21-й день после иммунизации. Контрольную группу (лица неиммунные к *Bacillus anthracis*) составили 20 здоровых добровольцев.

Все обследуемые предоставили в установленном порядке [11] согласие на участие в исследованиях.

Для постановки CAST-теста использовали тест-систему Flow CAST (Buhlmann laboratories AG, Швейцария). Измерение интенсивности спонтанной и индуцированной аллергеном экспрессии CD63 на мембране базофилов проводили в цельной крови, стабилизированной этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) без предварительного выделения популяции лейкоцитов.

Выделение зоны интересов проводили в координатах прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния (BD Cell Quest™), селекцию базофилов выполняли по CCR3<sub>pos</sub>/SSC<sub>low</sub>, учитывали не менее 500 клеток. Детекцию базофилов осуществляли с помощью МКАТ анти-CCR3-PE, маркеров дегрануляции – анти-CD63-FITC. Процедура постановки теста активации базофилов соответствовала протоколу «BAT FlowCAST». Цитометрический анализ проводили с использованием цитофлуориметра FACS Calibur (BD, США).

По результатам ранее проведенных нами исследований [5] был определен в соответствии с ГОСТ Р 53022.3-2008 [2] порог клинического решения для данного иммунотеста – числовое значение, принятое на основании экспериментов в качестве лабораторного критерия наличия (или отсутствия) специфической иммунной реактивности к возбудителю сибирской язвы. Было установлено, что количество CD63<sup>+</sup>базофилов, активированных сибиреязвенным аллергеном от 0 до 10% – отрицательный результат CAST-теста, более 10% – положительный. Положительный результат CAST-теста (CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> > 10%) свидетельствует о наличии в организме специфической сенсibilизации к антигенам сибиреязвенного микроба, которая возникает при инфекционном процессе или формировании поствакцинального иммунитета.

При математической обработке результатов рассчитывали среднее арифметическое ( $x_{cp}$ ), интервал значений ( $\min \div \max$ ) и доли в процентном отношении [10].

В качестве аллергена использовали антраксин — гидролизат на основе штамма *Bacillus anthracis* СТИ-1 (экспериментальные серии препарата производства ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора).

Диагностические исследования на сибирскую язву проводили согласно методическим указаниям МУК 4.2.2413-08 [6]. Оценку наличия специфических антител к возбудителю сибирской язвы в сыворотках крови осуществляли методом нМФА с использованием экспериментальной тест-системы (производства ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора). Для постановки ПЦР применяли набор реагентов «АмплиСенс® *Bacillus anthracis*-FRT» производства ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Россия).

Работа с биоматериалом проводилась в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53079.4-2008 [3], СП 1.3.31.18-13 [9].

## Результаты

При разработке подхода к иммунодиагностике сибирской язвы, основанного на тесте активации базофилов *in vitro*, опытным путем было определено количество аллергена — антраксина, необходимое для исключительно специфической стимуляции клеток. С учетом ранее проведенных опытов [5], стабильно воспроизводимый резуль-

тат у лиц неиммунных к возбудителю сибирской язвы (контрольная группа), а также больных сибирской язвой и привитых вакциной против сибирской язвы, получен при использовании антраксина в дозе 20 мкг белка в 50 мкл препарата.

Значения интенсивности антраксин-индуцированной активации базофилов —  $CCR3^+CD63^+$  (%) у лиц из контрольной группы находились в интервале  $0,36 \div 9,83\%$  ( $x_{cp} - 5,86\%$ ).

При иммунологическом обследовании больных кожной формой сибирской язвы (13 пациентов, на 3-7-й день заболевания) положительный результат был получен в 92,3% случаев (у 12 человек). Уровень специфической активации антраксином базофилов в среднем составил 37,9% ( $12,01 \div 78,9\%$ ), фоновые значения интенсивности экспрессии маркера дегрануляции находились в интервале —  $0 \div 21,0\%$ .

У четырех больных сибирской язвой выявлены повышенные (более 10%) фоновые значения экспрессии базофилами CD63 ( $CCR3^+CD63^+$ ) — 12,02, 14,7, 20,4 и 21,0%. При этом, вне зависимости от достаточно высоких фоновых значений  $CCR3^+CD63^+$ , после стимуляции антраксином уровень активации базофилов имел статистически значимую разницу значений показателей — 66,0; 49,2; 32,5 и 40,0%, превышающую исходные в 1,6-5,4 раза (рис. 1).

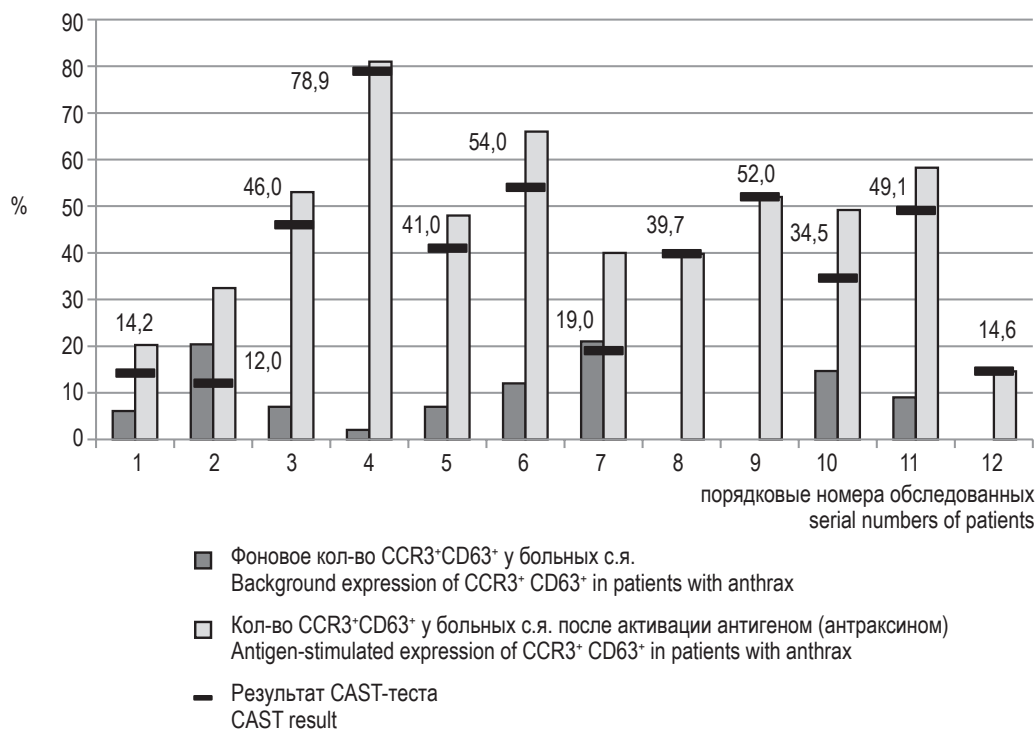


Рисунок 1. Значения фоновой и антиген-стимулированной экспрессии базофилами рецептора CD63 у больных сибирской язвой на 3-7-й день после заболевания

Figure 1. Background and antigen-stimulated expression of CD63 receptor basophils in patients with anthrax on days 3-7 after disease

При анализе результатов бактериологических, молекулярно-генетических (ПЦР) и серологических (нМФА) исследований клинического материала от CAST-положительных больных сибирской язвой ( $n = 12$ ), установлено, что среди обследованных у двух больных выделена культура сибиреязвенного микроба (16,7%), у девяти выявлена ДНК *B. anthracis* (75,0%), восьми (66,7%) больных обнаружены антитела к возбудителю сибирской язвы в титрах от 1:40 до 1:320.

У одного обследованного с отрицательными CAST-реакциями выявлены специфические противосибиреязвенные антитела в диагностическом титре – 1:40.

Анализ результатов исследования материала от 34 заболевших сибирской язвой в процессе вспышки в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г., отобранного для иммунологического исследования (нМФА, CAST) через 2-3 недели от начала заболевания, показал, что только у 7 (20,6%) заболевших результаты иммунологических тестов положительные: у 3 (8,8%) в сыворотке крови выявлены специфические антитела и у 6 (17,6%) отмечались положительные результаты CAST-теста. Уровень специфической активации базофилов у CAST-положительных был в среднем 18,8% ( $11,1 \div 38,5\%$ ). Среди CAST-положительных больных, у двух (33,3%) выявлены специфические противосибиреязвенные антитела в титрах 1:40, пяти – ранее (на 4-7 день заболевания) была установлена положительная ПЦР (83,3%) (рис. 2).

У обследованных больных сибирской язвой с отрицательными результатами CAST-теста (28 чел.) уровень антиген-индуцированной экспрессии базофилами маркера CD63 составил в среднем 3,96% ( $0,26 \div 9,37\%$ ).

Отрицательные результаты CAST-тестирования у заболевших сибирской язвой в очаге инфекции в ЯНАО связаны с тем, что больные уже на ранних сроках заболевания получали интенсивную этиотропную антибактериальную и патогенетическую терапию, включающую глюкокортикостероиды, которые ингибируют в организме интенсивность процессов формирования гиперчувствительности (иммунологической реактивности) и ее выраженность.

При иммунологическом обследовании лиц через три недели после вакцинации против сибирской язвы была установлена CAST-положительность у всех вакцинированных. Значения интенсивности антраксин-индуцированной активации базофилов у привитых находились в интервале от 10,87  $\div$  30,03% ( $x_{cp} = 17,86\%$ ). Суммарное значение спонтанной и специфической активации детектировали в интервале 12,39  $\div$  41,46% (рис. 3).

Анализ результатов исследования показал, что при обследовании неиммунных к возбудителю сибирской язвы добровольцев с использованием

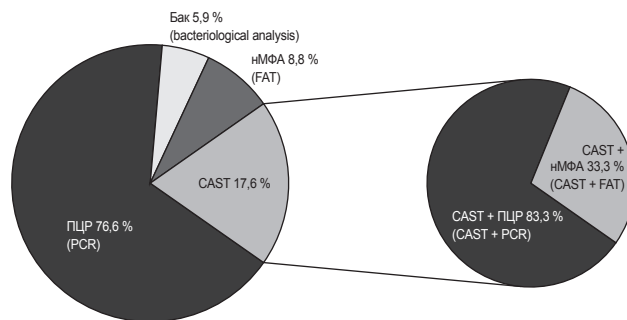


Рисунок 2. Доля положительных результатов лабораторного обследования у больных сибирской язвой, в том числе среди CAST-положительных больных

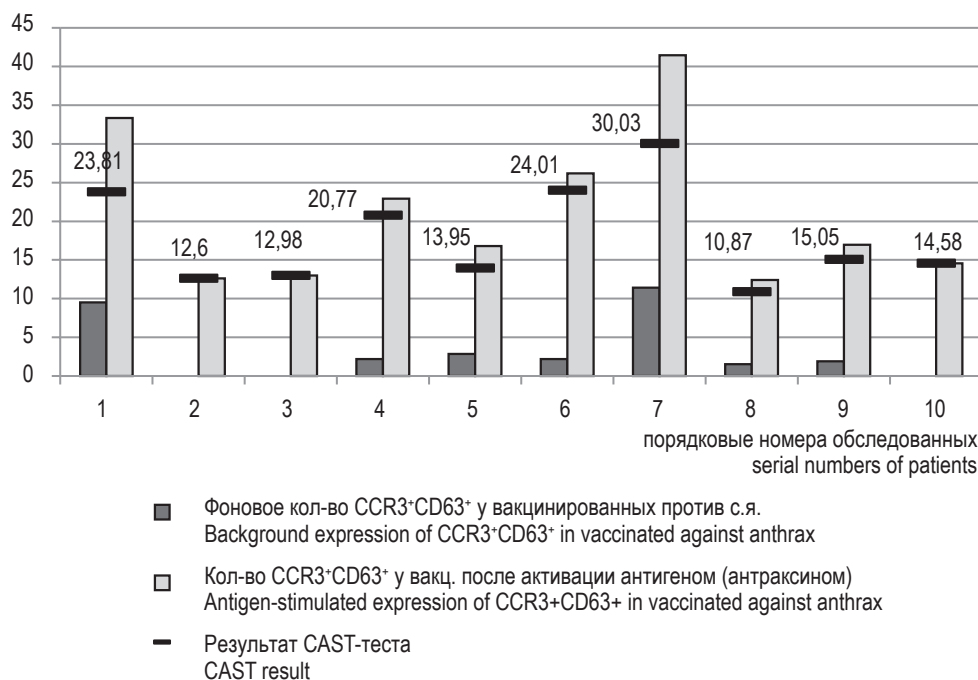
Figure 2. Proportion of positive laboratory examination results in patients with anthrax, including among CAST-positive patients

теста антигенной активации базофилов и технологии проточной цитометрии, у всех получены отрицательные результаты CAST-теста, что может указывать на достаточно высокую диагностическую специфичность (информативность) метода.

На основании клинко-экспериментальных данных в качестве лабораторного критерия наличия у человека специфической IgE-опосредованной сенсибилизации к возбудителю сибирской язвы (порог клинического решения по ГОСТ Р 53022.3-2008 [2]), для предложенного иммунодиагностического теста *in vitro*, принято значение – 10% и более активированных антраксином базофилов (CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>). Возможно, в перспективе, при обследовании лиц иммунных и неиммунных к *B. anthracis*, в целях более точной интерпретации CAST-теста могут быть выделены несколько порогов принятия клинического решения, например – «слабоположительный», «положительный» и «резко положительный».

Таким образом, при обследовании лиц, больных сибирской язвой на 3-7-й день после заболевания, в 92,3% случаев получен положительный результат тестирования методом CAST в цитометрическом формате.

В результате исследований клинического материала от больных сибирской язвой из очага инфекции в ЯНАО в 2016 г. положительный ответ теста антигенной активации базофилов получены только в 17,6% случаев. Низкий уровень CAST-положительности, очевидно, связан с тем, что материал для исследования был взят через 2-3 недели после заболевания, у пациентов, получавших с первых дней болезни интенсивное лечение, включающее глюкокортикостероиды, ингибирующие реакции гиперчувствительности. Этот факт должен учитываться при оценке результатов иммунологических методов лабораторной диагностики сибирской язвы.



**Рисунок 3. Значения фоновой и стимулированной антигеном экспрессии базофилами маркера CD63 у вакцинированных против сибирской язвы**

Figure 3. Background and antigen-stimulated expression of CD63 receptor basophils in vaccinated against anthrax

Проведенные исследования указывают на перспективу внедрения теста антигенной активации базофилов в формате Flow CAST для диагностики сибирской язвы и выявления специфической иммунной перестройки после вакцинации у людей, как показателя «фактической привитости». Использование CAST-теста с антраксином позволяет выявлять больных сибирской язвой на ранних сроках после на-

чала заболевания (2-4-е сут.), в том числе среди пациентов с повышенным уровнем фоновых значений CCR3<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup>, проводить оценку иммунологической эффективности вакцинации контингентов риска. Исследования так же показали, что существенное снижение диагностической чувствительности CAST-теста возможно у пациентов, получавших гормональную терапию.

## Список литературы / References

1. Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности): санитарно-эпидемиологические правила. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014. 195 с. [Safety of work with microorganisms of I-II pathogenicity (danger) groups: sanitary and epidemiological rules]. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2014. 195 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 technologies. Requirements for quality of clinical laboratory tests. Part 3. Assessment of laboratory tests clinical significance].
3. ГОСТ Р 53079.4-2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа [GOST R 53079.4-2008 Clinical laboratory technologies. Quality assurance of clinical laboratory tests. Part 4. Rules for conducting of preanalytical stage].
4. Демина Ю.В., Рязанова А.Г., Аксенова Л.Ю., Кузнецова И.В., Котенев Е.С., Головинская Т.М., Буравцева Н.П., Еременко Е.И., Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Цыганкова О.И., Котенева Е.А., Дятлов И.А., Тимофеев В.С., Бахтеева И.В., Картавая С.А., Нечепуренко Л.А., Харьков В.В., Косарева Л.Э., Эрдни-Горяева Г.В., Ашенов А.М., Леонтьева С.А., Таджидинов В.О. Организация лабораторных исследований клинического материала и проб из объектов окружающей среды во время вспышки сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г. // Проблемы особо опасных инфекций, 2017. № 1. С. 44-48. [Demina Yu.V., Riazanova A.G., Aksenova L.Yu., Kuznetsova I.V., Kotenev E.S., Golovinskaya T.M., Buravtseva N.P., Eremenko E.I., Ponomarenko D.G., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Tsygankova O.I., Koteneva E.A., Dyatlov I.A.,

Timofeev V.S., Bakhteeva I.V., Kartavaya S.A., Nechepurenko L.A., Kharkiv V.V., Kosareva L.E., Erdni-Goryaeva G.V., ashenov a.m., Leontieva S. A., tadjidinov V. O. Organization of laboratory research of clinical Material And samples From Environmental Objects during the outbreak of anthrax In the Yamalo-Nenets Autonomous district in 2016 . *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2017, no. 1, pp. 44-48. (In Russ.)]

5. Куличенко А.Н., Ракитина Е.Л., Пономаренко Д.Г., Логвиненко О.В., Рязанова А.Г. Использование теста активации базофилов с антраксином для лабораторной (*in vitro*) диагностики сибирской язвы // Проблемы особо опасных инфекций, 2012. № 3 (113). С. 86-88. [Kulichenko A.N., Rakitina E.L., Ponomarenko D.G., Logvinenko O.V., Ryazanova A.G. Use of the basophil activation test with anthraxin for laboratory (*in vitro*) diagnostics of anthrax. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2012, no. 3 (113), pp. 86-88. (In Russ.)]

6. Методические МУК 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы» [Электронный ресурс]: сайт. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200075231>. [Methodical MUK 4.2.2413-08 "Laboratory diagnostics and detection of anthrax causative agent" [Electronic resource]. Access mode: <http://docs.cntd.ru/document/1200075231>.

7. Пономаренко Д.Г. Новый подход к комплексной оценке иммуно-биологической реактивности контингента, подлежащего вакцинации (ревакцинации) против бруцеллеза // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы, 2015. № 3. С. 28-31. [Ponomarenko D.G. a New approach to the comprehensive assessment of immunobiological reactivity of the population subject to vaccination (revaccination) against brucellosis. *Epidemiologiya i infektsionnyye bolezni. Aktualnye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Issues*, 2015, no. 3, pp. 28-31. (In Russ.)]

8. Пономаренко Д.Г., Логвиненко О.В., Саркисян Н.С., Ракитина Е.Л., Голубь О.Г., Куличенко А.Н. Новый подход к аллергодиагностике бруцеллеза // Инфекция и иммунитет, 2013. Т. 3, № 1. С. 89-92. [Ponomarenko D.G., Logvinenko O.V., Sarkisyan N.S., Rakitina E.L., Golub O.G., Kulichenko A.N. a New approach to the allergodiagnosis of brucellosis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, Vol. 3, no. 1, pp. 89-92. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2013-89-92.

9. Романова И.В. Гончаров А.Е. Тест активации базофилов: технология метода и его применение в клинической практике // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2018. № 1. С. 26-34. [Romanova I.V. Goncharov A.E. Basophil activation Test: method technology and its application in clinical practice. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2018, no. 1, pp. 26-34. (In Russ.)]

10. Урбах В.Ю. Биометрические методы. М.: Наука, 1964. 410 с. [Urbach V.Yu. Biometric methods]. Moscow: Nauka, 1964. 410 p.

11. Федеральный закон от 21.11.2011 N 323-ФЗ (ред. от 01.04.2020) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». [Federal Law of November 21, 2011 N 323-ФЗ (as amended on April 1, 2020) "On the Basics of Protecting the Health of Citizens in the Russian Federation"].

12. Шейх М.М. Роль инфекционной аллергии при пневмониях у детей // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2002. № 2. С. 106-110. [Sheikh M.M. The role of infectious allergy in children with pneumonia. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2002, no. 2, pp. 106-110. (In Russ.)]

13. Arai T., Sakurai D., Iinuma T., Nakagawa T., Yonekura S., Okamoto Y. Basophils from allergic rhinitis patients show allergen-specific upregulation of thymic stromal lymphopoietin receptor. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2018, Vol. 120, no. 2, pp. 155-163.

14. Boumiza R., Debard A.L., Monneret G. The basophil activation test by flow cytometry: recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives. *Clin. Mol. Allergy*, 2005, Vol. 3, 9. doi:10.1186/1476-7961-3-9.

15. Chirumbolo S., Vella A., Ortolani R., De Gironcoli, M., Solero, P., Tridente, G., Bellavite, P. Differential response of human basophil activation markers: a multi-parameter flow cytometry approach. *Clin. Mol. Allergy*, 2008, no. 6, pp. 12-16.

16. Ducrest S., Meier F., Tschopp C., Pavlovic R., Dahinden C.A. Flowcytometric analysis of basophil counts in human blood and inaccuracy of hematology analyzers. *Allergy*, 2005, Vol. 60, no. 11, pp. 1446-1450.

17. Eberlein B., Hann R., Eyerich S., Pennino D., Ring J., Schmidt-Weber C.B., Buters J. Optimizing of the basophil activation test: comparison of different basophil identification markers. *Cytometry B Clin. Cytom.*, 2015, Vol. 88, no. 3, pp. 183-189.

18. Hausmann O.V., Gentinetta T., Fux M., Ducrest S., Pichler W.J., Dahinden C.A. Robust expression of CCR3 as a single basophil selection marker in flow cytometry. *Allergy*, 2011, Vol. 66, no. 1, pp. 85-91.

19. Hemmings O., Kwok M., McKendry R., Santos A.F. Basophil activation test: old and new applications in allergy. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2018; Vol. 18, no. 12, 77. doi:10.1007/s11882-018-0831-5.

20. Mikkelsen S., Bibby B.M., Dolberg M.K., Dahl R., Hoffmann H.J. Basophil sensitivity through CD63 or CD203c is a functional measure for specific immunotherapy. *Clin. Mol. Allergy*, 2010, Vol. 8, no. 1, 2. doi:10.1186/1476-7961-8-2.

21. Mommert S., Kleiner S., Gehring M., Eiz-Vesper B., Stark H., Gutzmer R., Werfel T., Raap U. Human basophil chemotaxis and activation are regulated via the histamine H4 receptor. *Allergy*, 2016, Vol. 71, no. 9, pp. 1264-1273.

22. Monneret G. Is this time for CRT2/DP2 in a flow cytometric basophil activation test? *Clin. Exp. Allergy*, 2008, Vol. 38, no. 7, pp. 1239-1240.

23. Monneret G. CCR3 for basophil activation test: a necessary but insufficient step. *Clin. Exp. Allergy*, 2010, Vol. 40, no. 6, 953. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03516.x.
24. Prussin C., Metcalfe D.D. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006, Vol. 117, no. 2, pp. 450-456.
25. Sabato V., Boita M., Shubber S., Bridts C.H., Shibuya A., de Clerck L.S., Falcone F.H., Ebo D.G. Mechanism of phosphatidylserine inhibition of IgE/FcεRI-dependent anaphylactic human basophil degranulation via CD300a. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, Vol. 134, no. 3, pp. 734-737.
26. Santos A.F., Shreffler W.G. Road map for the clinical application of the basophil activation test in food allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 2017, Vol. 47, no. 9, pp. 1115-1124.
27. Witting Christensen S.K., Kortekaas Krohn I., Thuraiayah J., Skjold T., Schmid J.M., Hoffmann H.J. Sequential allergen desensitization of basophils is non-specific and may involve p38 MAPK. *Allergy*, 2014, Vol. 69, no. 10, pp. 1343-1349.
28. Zaidi A.K., Saini S.S., Macglashan D.W. Jr. Regulation of Syk kinase and FcRβ expression in human basophils during treatment with omalizumab. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 125, no. 4, pp. 902-908.

**Авторы:**

**Пономаренко Д.Г.** — к.б.н., заведующий лабораторией бруцеллеза ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Ракитина Е.Л.** — к.м.н., врач КЛД сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Костюченко М.В.** — биолог сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Логвиненко О.В.** — к.б.н., заведующий сектором иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Рязанова А.Г.** — к.м.н., заведующая лабораторией сибирской язвы ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Аксенова Л.Ю.** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории сибирской язвы ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Буравцева Н.П.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории сибирской язвы ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Тюменцева И.С.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Курчева С.А.** — к.б.н., заведующая научно-производственной лабораторией препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

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

**Authors:**

**Ponomarenko D.G.**, PhD (Biology), Head, Brucellosis Laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Rakitina E.L.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Sector of Immunology and Pathomorphology of Especially Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Kostyuchenko M.V.**, Biologist, Sector of Immunology and Pathomorphology of Especially Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Logvinenko O.V.**, PhD (Biology), Head, Sector of Immunology and Pathomorphology of Especially Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Ryazanova A.G.**, PhD (Medicine), Head, Anthrax Laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Aksenova L.Yu.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Anthrax Laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Buravtseva N.P.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Anthrax Laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Tyumentseva I. S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Laboratory for Research and Production of Preparations for Diagnostics of Especially Dangerous and other Infections, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Kurcheva S.A.**, PhD (Biology), Head, Laboratory for Research and Production of Preparations for Diagnostics of Especially Dangerous and other Infections, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

**Kulichenko A.N.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Director, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Поступила 22.05.2020  
Принята к печати 26.05.2020

Received 22.05.2020  
Accepted 26.05.2020