

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ВЫЯВЛЕНИЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К АЛЛЕРГЕНАМ КЛЕЩЕЙ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ В ТЕСТЕ АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

Бычкова Н.В.^{1,2}, Крутикова И.В.¹, Чернышова А.В.³,
Калинина Н.М.^{1,2}

¹ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Респираторная аллергия занимает значимое место в структуре аллергических заболеваний. Схожие клинические проявления возникают у сенсibilизированных пациентов в ответ на различные аэроаллергены. Соответственно, для выявления причинно-значимого аллергена необходимо проведение аллергологического обследования с привлечением тестов *in vivo* и *in vitro*. Основным лабораторным методом оценки сенсibilизации к аэроаллергенам является оценка специфических иммуноглобулинов Е (sIgE), но не всегда клинические проявления можно подтвердить в этом тесте. Целью настоящей работы стало оценить возможности теста активации базофилов (БАТ) методом проточной цитометрии для подтверждения сенсibilизации к аллергенам клещей домашней пыли. БАТ с аллергенами клещей рода *Dermatofagoides* был проведен 130 пациентам (33 человека с бытовой и 97 лиц с полисенсibilизацией) ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, 34 волонтерам и 10 пациентам с аллергией к клещам домашней пыли, подтвержденной результатами кожного тестирования. Наличие сенсibilизации оценивали двумя наборами реактивов Allergenkit и BD FastImmune. Определяли концентрацию общего IgE, sIgE к клещам домашней пыли, а также эозинофильно-катионного белка. Специфичность метода для определения сенсibilизации к клещам домашней пыли в тесте активации базофилов с использованием Allergenkit составила 94%. У пациентов с бытовой сенсibilизацией чувствительность составила 88%, что сопоставимо с результатами кожного тестирования, имеющимися в литературе. Выявлена абсолютная корреляция положительных результатов кожного тестирования и БАТ. У пациентов с бытовой сенсibilизацией sIgE выше 0,35 МЕ/мл определены в

Адрес для переписки:

Бычкова Наталья Владимировна
ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной
медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России
198216, Россия, Санкт-Петербург, Ленинский пр., 129,
корп. 5, кв. 66.
Тел.: 8 (921) 320-12-62.
E-mail: BNV19692007@yandex.ru

Address for correspondence:

Nataliya V. Bychkova
A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation
Medicine
198216, Russian Federation, St. Petersburg, Leninskiy ave.,
129, bldg 5, apt 66.
Phone: +7 (921) 320-12-62.
E-mail: BNV19692007@yandex.ru

Образец цитирования:

Н.В. Бычкова, И.В. Крутикова, А.В. Чернышова,
Н.М. Калинина «Клиническая значимость выявления
сенсibilизации к аллергенам клещей домашней пыли
в тесте активации базофилов методом проточной
цитометрии» // Медицинская иммунология, 2022.
Т. 24, № 6. С. 1179-1188.
doi: 10.15789/1563-0625-CSO-2541

© Бычкова Н.В. и соавт., 2022

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.V. Bychkova, I.V. Krutikova, A.V. Chernyshova,
N.M. Kalinina "Clinical significance of sensitization to house
dust mite allergens using flow cytometry-based basophil
activation test", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya*, 2022, Vol. 24, no. 6, pp. 1179-1188.
doi: 10.15789/1563-0625-CSO-2541

© Bychkova N.V. et al., 2022

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-CSO-2541

39% случаев. Показана прямая зависимость между индексами активации базофилов в ответ на аллергены клещей и концентрацией общего иммуноглобулина Е и sIgE. Выявлена высокая корреляционная зависимость между результатами определения сенсибилизации к клещам рода *Dermatofagoides* с использованием двух различных наборов реактивов для оценки активации базофилов. Показано, что применение блокаторов H1-гистаминовых рецепторов не влияло на результаты БАТ. Наблюдалось снижение чувствительности метода для подтверждения сенсибилизации к аэроаллергенам на фоне приема глюкокортикостероидных препаратов. Ввиду доказанной высокой клинической значимости теста активации базофилов для диагностики сенсибилизации к ингаляционным аллергенам в перспективе необходимо дополнить спектр разрешенных в отечественных Клинических рекомендациях методов для подтверждения сенсибилизации у пациентов с аллергическим ринитом и бронхиальной астмой этим тестом, что будет способствовать улучшению диагностики причинно-значимого аллергена и, соответственно, назначению корректной терапии.

Ключевые слова: тест активации базофилов, аллергены клещей домашней пыли, специфические IgE, кожное тестирование

CLINICAL SIGNIFICANCE OF SENSITIZATION TO HOUSE DUST MITE ALLERGENS USING FLOW CYTOMETRY-BASED BASOPHIL ACTIVATION TEST

Bychkova N.V.^{a, b}, Krutikova I.V.^a, Chernyshova A.V.^c, Kalinina N.M.^{a, b}

^a A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^b First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^c St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Respiratory allergy takes a significant place among allergic diseases. Similar clinical manifestations occur in sensitized patients in response to various airborne allergens. Accordingly, the allergen testing by means of *in vivo* and *in vitro* techniques is necessary to identify a causally significant allergen. The main laboratory assay to estimate sensitization to the airborne allergens is based on detection of specific immunoglobulin E (sIgE). However, clinical manifestations cannot be always confirmed by this test. The aim of this work was to evaluate the potential of basophil activation test (BAT) using flow cytometry, in order to confirm sensitization to house dust mite allergens. The BAT was carried out with allergens from *Dermatofagoides* in 34 volunteers, 130 patients were examined at the Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine (33 people with household and 97 people with polysensitization), and 10 patients with allergy to house dust mites confirmed by skin testing. The sensitization was assessed using two laboratory kits (AllergenCity and BD FastImmune). The total IgE and sIgE to house dust mites, as well as concentrations of eosinophilic cationic protein, were determined. Specificity of the BAT with AllergenCity kit for the house dust mites was 94%. The sensitivity was 88% in the patients with household sensitization, thus being comparable with skin testing results available from the literature. An absolute correlation was found between positive results of skin testing and the BAT. In patients with household sensitization, sIgE levels > 0.35 UA/mL were detected in 39% of cases. A positive correlation was shown between the indices of basophil activation in response to testing allergens, and total immunoglobulin E and sIgE concentrations. High degree of correlation was found between the results of *Dermatofagoides* sensitization testing with both BAT kits. It was shown that the use of H1 histamine receptor blockers had no effect on BAT results. A decrease in sensitivity assay for airborne allergens was revealed upon therapy with glucocorticosteroids. Due to the proven clinical significance of the basophil activation test for diagnosing sensitization to inhaled allergens, one may require to supplement the range of approved assays in Russian Clinical Guidelines with BAT testing to prove sensitization in patients with allergic rhinitis and bronchial asthma, thus contributing to better diagnosis of causally significant allergens and, accordingly, administration of proper therapy.

Keywords: basophil activation test (BAT), dust mite allergens, specific IgE, skin tests

Введение

В настоящее время повсеместно наблюдается повышение встречаемости аллергической патологии. Респираторная аллергия занимает значимое место в структуре этих заболеваний,

например, аллергическим ринитом страдает от 10 до 40% населения [16]. Одними из самых распространенных ингаляционных аллергенов являются клещи домашней пыли. Это отмечают как отечественные [3], так и зарубежные авторы [21].

Клинические проявления аллергии к ингаляционным аллергенам разнообразны и могут проявляться в виде ринита, конъюнктивита, дерматита, а также симптомов бронхиальной астмы. Следует отметить, что схожие проявления возникают у сенсibilизированных пациентов в ответ на различные аэроаллергены. Таким образом, для выявления причинно-значимого аллергена необходимо проведение аллергологического обследования с привлечением тестов *in vivo* и *in vitro*. Корректная диагностика сенсibilизации будет способствовать адекватной терапии с учетом выявленного спектра аллергенов [5].

Существует устойчивая тенденция расширения спектра сенсibilизации со временем с утяжелением симптоматики [2]. Для оказания своевременной и квалифицированной медицинской помощи необходимо раннее выявление причинно-значимого аллергена и проведение патогенетического лечения, что сможет предотвратить развитие atopического марша.

Согласно Клиническим рекомендациям по диагностике и лечению аллергического ринита [6], конъюнктивита [7] и бронхиальной астмы [10] для выявления причинно-значимого аллергена и направления пациента на аллерген-специфическую иммунотерапию (АСИТ) необходимо использовать кожное тестирование с аллергеном либо оценку результатов специфических иммуноглобулинов Е. Известны противопоказания к проведению prick-тестов, в некоторых случаях пациенты отказываются от их применения, а результаты лабораторных тестов для выявления специфических IgE не всегда показательны, что, возможно, обусловлено местным синтезом этих иммуноглобулинов [12].

Целью настоящей работы стало оценить возможности теста активации базофилов методом проточной цитометрии для подтверждения сенсibilизации к аллергенам клещей домашней пыли.

Материалы и методы

В комплексное обследование включены 130 пациентов, проходивших обследование и лечение во ВЦЭРМ им. А.М. Никитина МЧС РФ с жалобами на слезотечение, зуд век, кашель, дыхательный дискомфорт, а также заложенность носа, затруднение носового дыхания, чихание, насморк. Среди них было 37 мужчин и 93 женщины в возрасте от 18 до 71 года ($40,9 \pm 0,7$ г.). Пациенты с риноконъюнктивальными симптомами и/или патологией верхних и средних дыхательных путей были разделены на 2 группы. 1-ю группу составили пациенты с бытовой сенсibilизацией ($n = 33$), 2-ю группу — пациенты с полисенсibilизацией к бытовым, пищевым, эпидермальным,

пылевым аллергенам в различных сочетаниях ($n = 97$). Осуществление кожного тестирования было невозможно по разным причинам. Пациентам проводили определение в сыворотке крови концентрации общего иммуноглобулина Е, специфических иммуноглобулинов Е (sIgE) к различным аллергенам с учетом анамнеза, в том числе к клещам домашней пыли (КДП) *D. pteronissinus* и *D. farinae*, эозинофильно-катионного белка (Immulate 2000 XPI, Siemens). Всем обследованным осуществляли постановку теста активации базофилов (БАТ) с аллергенами КДП (Siemens) в разведении 1:25 в течение не более 2 часов от момента забора крови в вакутейнеры с гепарином лития с использованием набора реактивов Allergenicity kit (Beckman Coulter, США) методом проточной цитометрии (FC500, Beckman Coulter, США). Популяцию базофилов выявляли в многоцветном протоколе с использованием моноклональных антител к CD3/CD294/CD203c, а их активацию оценивали на основании возрастания экспрессии CD203c после стимуляции аллергенами *in vitro* в соответствии с инструкцией к коммерческой тест-системе Allergenicity kit, как подробно описано ранее [1]. Наличие/отсутствие сенсibilизации к аллергенам КДП в БАТ определяли на основании индекса активации базофилов с пороговым значением 1,1. Индекс активации базофилов — отношение количества активированных базофилов в пробе с аллергеном к количеству этих клеток в пробе с буферным раствором. 32 пациентам сенсibilизация к клещам домашней пыли была оценена также с применением реактивов BD FastImmune (Becton Dickinson). При их использовании идентификацию базофилов осуществляли в многоцветном протоколе с применением моноклональных антител к CD123/HLA DR/CD63, а их активацию оценивали на основании экспрессии CD63 после стимуляции *in vitro*. Среди лиц с сенсibilизацией, а чаще в группе сравнения, встречались пациенты с полным отсутствием спонтанно активированных базофилов. Ввиду выявленных особенностей экспрессии CD63 использовать индекс активации базофилов для оценки позитивности теста не представилось возможным. В качестве порогового значения для оценки позитивности теста при применении реактивов BD FastImmune вместо индекса активации было использовано относительное количество активированных базофилов в пробе с аллергеном более 1,4%.

Основная группа сравнения ($n = 34$) состояла из условно здоровых лиц того же возраста с отсутствием острых воспалительных процессов любой этиологии.

Вторая группа сравнения состояла из 10 пациентов с аллергией к клещам домашней пыли, подтвержденной положительными результатами кожного тестирования с аллергеном *D. pteronissinus* (АО «Биомед» им. И.И. Мечникова, Россия). Среди них был 1 мужчина и 9 женщин в возрасте от 21 года до 54 лет ($35,7 \pm 3,8$ г.). Результаты кожного тестирования выражали в плюсах от 1 до 4, отрицательным контролем был стандартный тест-контроль, в качестве положительного контроля использовали раствор гистамина в разведении 1:1000.

Пакет Statistica 12.0 (StatSoft, США) с определением описательных статистик (средних значений, стандартной ошибки) использовали для статистической обработки результатов. Значимость различий в группах оценивали при помощи непараметрического U-критерия Манна–Уитни для независимых переменных. Частотный анализ проводили с использованием четырехпольных таблиц сопряженности на основании критерия χ^2 Пирсона. Для выявления связи между количественными признаками использовали непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. Статистически значимыми различия сравниваемых показателей считали при $p < 0,05$.

Результаты

Специфические IgE к КДП у всех лиц основной группы сравнения в нашем исследовании были менее 0,1 МЕ/мл. Наличие сенсibilизации к клещам домашней пыли в тесте активации базофилов было определено у 1 человека (2,9%) из основной группы сравнения. Ввиду отсутствия явных клинических проявлений аллергии данный результат можно трактовать как латентную сенсibilизацию. Специфичность метода клеточного анализа для определения сенсibilиза-

ции к клещам домашней пыли в тесте активации базофилов составила 94%.

Среди 10 человек второй группы сравнения у 3 лиц при проведении кожного тестирования результат был оценен на один плюс, у 6 — на два и у 1 — на четыре плюса. У всех 10 пациентов с положительными кожными пробами на аллерген *D. pteronissinus* была выявлена сенсibilизация к этому аллергену в тесте активации базофилов. Индекс активации базофилов у 3 человек был достаточно низкий и находился в интервале 1,2–2, в среднем $1,4 \pm 0,1$, у остальных 7 пациентов составил от 2 до 56, в среднем $27,8 \pm 8,2$. Значимой корреляции между интенсивностью кожной реакции на аллерген и индексом активации базофилов *in vitro* не наблюдалось.

Согласно нашим данным, сенсibilизация к аллергенам клещей домашней пыли не зависела от половой и возрастной принадлежности пациентов. При проведении корреляционного анализа по Спирмену не было выявлено значимой связи между наличием сенсibilизации к аллергенам клещей домашней пыли, а также возрастом и полом ($R = 0,07$, $R = 0,12$ соответственно).

Пациенты с полисенсibilизацией отличались значимо более высокой концентрацией общего иммуноглобулина Е и имели тенденцию к повышению уровня эозинофильно-катионного белка (табл. 1), что сочеталось со значимым увеличением частоты эозинофилии в этой группе (46% и 16% соответственно, $p < 0,01$, критерий χ^2).

В нашем исследовании у пациентов с бытовой сенсibilизацией причинно-значимый аллерген клещей рода *Dermatofagoides* был подтвержден в тесте активации базофилов с использованием Allergenicity kit у 29 человек, чувствительность метода составила 88%. В то же время в этой группе больных частота выявления специфических IgE к

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ОБЩЕГО И СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ Е К АЛЛЕРГЕНАМ КЛЕЩЕЙ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ (МЕ/мл) И ЭОЗИНОФИЛЬНО-КАТИОННОГО БЕЛКА (пкг/мл)

TABLE 1. CONCENTRATION OF TOTAL AND SPECIFIC IMMUNOGLOBULINS E TO HOUSE DUST MITE ALLERGENS (IU/mL) AND EOSINOPHILIC CATIONIC PROTEIN (pg/mL)

Параметры Parameters	Пациенты с бытовой сенсibilизацией Patients with household sensitization n = 33	Пациенты с полисенсibilизацией Patients with polysensitization n = 97
IgE	237±95*	367±54*
sIgE (<i>D. pteronissinus</i>)	0,72±0,30	0,31±0,10
sIgE (<i>D. farina</i>)	0,26±0,07	0,32±0,04
ЭКБ ECP	32,3±3,8	56,2±22,2

Примечание. * – $p < 0,05$.

Note. *, $p < 0.05$.

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ СЕНСIBILИЗАЦИЯ *IN VITRO* К АЛЛЕРГЕНАМ КЛЕЩЕЙ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ В ТЕСТЕ АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ (ALLERGENICITY KIT) И ПО ДАННЫМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgE, n (%)

TABLE 2. FREQUENCY OF DETECTION OF *IN VITRO* SENSITIZATION TO HOUSE DUST MITE ALLERGENS IN THE BASOPHIL ACTIVATION TEST (ALLERGENICITY KIT) AND ACCORDING TO THE DETERMINATION OF SPECIFIC IgE, n (%)

Метод Method	Бытовая сенсibilизация Household sensitization n = 33	Полисенсibilизация Polysensitization n = 97
Тест активации базофилов Basophil activation test	29 (88)*	65 (67)**
Определение sIgE Definition sIgE	13 (39)*	40 (41)**

Примечание. * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,05$.

Note. *, $p < 0.01$; **, $p < 0.05$.

КДП была статистически значимо меньше – 39% (табл. 2). В группе пациентов с полисенсibilизацией в 67% случаев был определен повышенный индекс активации базофилов на клещевые аллергены, у 40 пациентов (41%) были выявлены специфические IgE к КДП (табл. 2). При доказанной сенсibilизации к различным эпидермальным и пылевым аллергенам у этих больных достаточно часто была выявлена и сенсibilизация к бытовым аллергенам.

В тесте активации базофилов у пациентов было выявлено сочетание сенсibilизации к аллергенам *D. pteronissinus* и *D. farinae* ($R = 0,75$ по Спирмену, $p < 0,05$).

На основании корреляционного анализа показана прямая зависимость между индексами активации базофилов в ответ на аллерген *D. pteronissinus* и *D. farinae* и концентрацией общего иммуноглобулина E ($R = 0,36$ и $R = 0,39$, $p < 0,05$ соответственно), а также концентрацией sIgE к КДП ($R = 0,47$ и $R = 0,54$, $p < 0,05$ соответственно).

На рисунке 1 сопоставлены данные выявления сенсibilизации к клещам домашней пыли в обеих группах пациентов, полученные двумя методами. Совпадения данных наблюдались в 42% случаев при бытовой (рис. 1А) и в 69% при полисенсibilизации (рис. 1Б). Положительные результаты совпадали в 36-40% случаев. При полисенсibilизации большая частота совпадений объяснялась более высоким количеством дважды отрицательных результатов – 29% против 6% при бытовой сенсibilизации. При наличии бытовой сенсibilизации подтвердить аллерген можно было только в тесте активации базофилов в половине случаев (52%), при полисенсibilизации – у трети пациентов (29%). У 2 пациентов при обоих типах сенсibilизации при повышенном уровне специфических IgE к КДП индекс активации базофилов на аллергены был в норме.

У 32 человек проведено исследование по сопоставлению данных о клещевой сенсibilизации, полученных с помощью реактивов Allergenicity kit (Beckman-Coulter) и BD FastImmune (Beckton Dickinson).

Несмотря на использование различных стратегий гейтирования популяции базофилов и активационных маркеров выявлена высокая статистически значимая корреляционная зависимость между определением сенсibilизации к клещам рода *Dermatofagoides*, полученных обоими методами ($R = 0,71$ для *D. pteronissinus*, $R = 0,78$ для *D. farinae*, $p < 0,05$). Совпадение результатов наблюдалось в 63% случаев – в 47% результаты были положительными, в 16% – отрицательными. Практически у трети пациентов (28%) причинно-значимый аллерген был подтвержден только в тесте активации базофилов при использовании тест-системы Allergenicity kit. В 3 случаях (9%) сенсibilизация к КДП определена только в тесте BD FastImmune. Несовпадение результатов, как правило, наблюдали при невысокой степени активации базофилов – $2,2 \pm 0,5$ против $20,1 \pm 3,1$ у пациентов с подтвержденной сенсibilизацией обоими тест-системами.

Среди всех обследованных пациентов у 60 человек была необходимость в использовании интраназальных и комбинированных ингаляционных глюкокортикостероидных препаратов (мометазона фуруат, флутиказона фуруат, будесонид, бекламетазон, флутиказон и др.). Частота подтверждения сенсibilизации к пылевым клещам в тесте активации базофилов в группе пациентов с полисенсibilизацией, не применявших на момент обследования глюкокортикостероидные препараты, в нашем исследовании была значимо выше, чем в другой группе (78% и 57% $p < 0,05$, критерий χ^2). У пациентов с бытовой сенсibilизацией, не использовавших глюкокортикостероиды, в 100% случаев был подтвержден

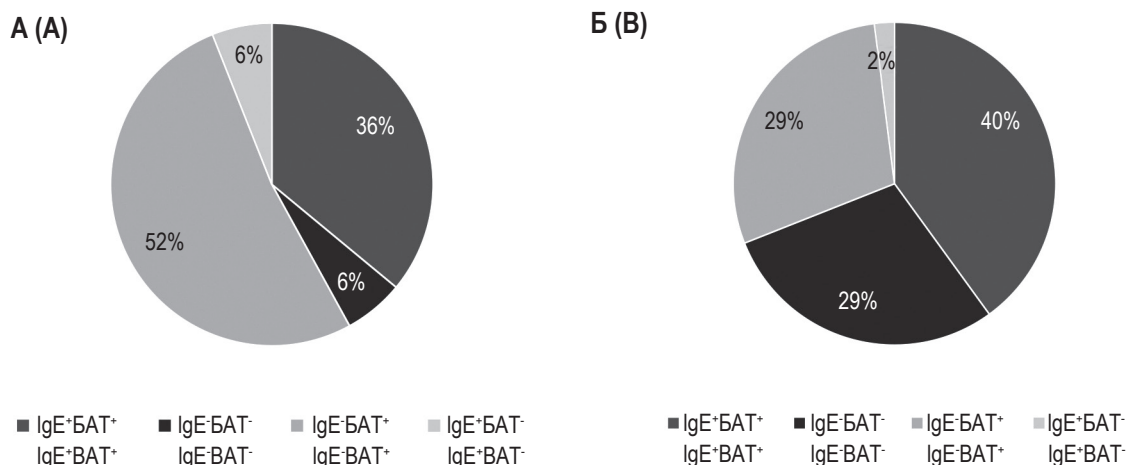


Рисунок 1. Сопоставление данных подтверждения сенсibilизации к клещам домашней пыли с использованием теста активации базофилов (БАТ) и определения специфических IgE в группе пациентов с бытовой сенсibilизацией (А) и полисенсibilизацией (Б)

Figure 1. Comparison of data on confirmation of sensitization to house dust mites using the basophil activation test (BAT) and the determination of specific IgE in the group of patients with household sensitization (A) and polysensitization (B)

клещевой аллерген против 72% у пациентов, находящихся на терапии ($p < 0,05$, критерий χ^2).

44 обследованных пациента постоянно использовали блокаторы H1-гистаминовых рецепторов (лоратадин, дезлоратадин, цетиризин, левоцетиризин, эбастин, биластин др.). В отличие от приема глюкокортикостероидных препаратов использование антигистаминных средств не оказало выраженного негативного влияния на чувствительность выявления сенсibilизации к КДП. Частота подтверждения сенсibilизации к пылевым клещам у пациентов с полисенсibilизацией в тесте активации базофилов в зависимости от приема блокаторов H1-гистаминовых рецепторов была сопоставима – 67% и 70%. Пациенты с бытовой сенсibilизацией в отсутствие приема препаратов показали несколько более высокую частоту сенсibilизации – 91% по сравнению с 82% на фоне использования антигистаминных средств, статистически значимой разницы не выявлено.

У сенсibilизированных к КДП пациентов в среднем индексы активации базофилов на аллергены *D. pteronissinus* и *D. farinae* были сопоставимы, а именно $14,2 \pm 1,1$ и $13,6 \pm 1,1$ соответственно.

Индекс активации базофилов у пациентов со средней тяжестью аллергического ринита и/или бронхиальной астмы был выше по сравнению с группой пациентов с легким течением заболевания – $17,3 \pm 1,1$ и $12,7 \pm 1,1$ соответственно, $p < 0,05$.

Выявлена тенденция ($p = 0,05$) увеличения индекса активации базофилов у пациентов с полисенсibilизацией по сравнению с больными

из группы с бытовой сенсibilизацией ($15,8 \pm 1,1$ и $10,8 \pm 1,1$ соответственно).

После комплексного обследования и подтверждения причинно-значимого аллергена 50 человек были направлены на проведение аллергенспецифической терапии с аллергенами клещей домашней пыли. У 32 пациентов причинно-значимый клещевой аллерген был подтвержден обоими методами, а у 18 больных определение сенсibilизации было возможно исключительно в тесте активации базофилов, специфические IgE к пылевым клещам были менее 0,1 МЕ/мл.

К настоящему времени 5 пациентов прошли полный курс АСИТ с клещевыми аллергенами, выявлена высокая клиническая эффективность терапии.

Обсуждение

Тест активации базофилов для подтверждения сенсibilизации к ингаляционным клещевым аллергенам показал как высокую специфичность – 94%, так и достаточно высокую чувствительность. У пациентов с бытовой сенсibilизацией этот показатель составил 88%, а в отсутствие приема глюкокортикостероидных препаратов у всех 15 человек была подтверждена сенсibilизация к аллергенам пылевых клещей. В то же время подтвердить аллерген с помощью оценки специфических IgE к КДП было возможно лишь в 39% случаев.

Показана высокая значимая корреляционная зависимость между результатами, полученными с помощью наборов Allergenicity kit и BD FastImmune, которые используют разные марке-

ры для идентификации и оценки активации базофилов. Наши данные согласуются с результатами исследования Eberlein-König В. и соавт. [13], которые на модели инсектной аллергии показали, что CD203c, используемый в наборе AllergenCity kit, обладает более высокой чувствительностью и вызывает больший антиген-зависимый ответ базофилов, чем CD63, хотя CD63 обладает более высокой специфичностью. В целом паттерн экспрессии этих маркеров сходен [15] и, таким образом, результаты тестов с использованием этих маркеров сопоставимы. Выявленная корреляционная зависимость свидетельствует об общих методологических подходах к использованию теста активации базофилов для подтверждения сенсibilизации к аэроаллергенам независимо от частных методических особенностей вариантов тест-систем.

Наши результаты о чувствительности и специфичности теста активации базофилов сопоставимы с полученными несколькими группами зарубежных исследователей. В исследовании Gomes R.M. и соавт. [14] у пациентов с местным аллергическим ринитом для определения сенсibilизации к пылевым клещам чувствительность метода составила 85% и специфичность 93%. Несколько большая чувствительность (90%) и меньшая специфичность (73%) БАТ была продемонстрирована Ogulur I. и соавт. для тех же аллергенов у детей с аллергическим ринитом [18]. Li Y. и соавт. [17] показали, что для теста активации базофилов определена большая площадь под кривой AUC, чем для специфических IgE к КДП при значимой прямой корреляционной зависимости между этими лабораторными тестами у детей с ринитом и астмой. В работе Testera-Montes A. и соавт. [23] при местном аллергическом рините тест активации базофилов был позитивен у 33% пациентов, в то время как при классическом аллергическом рините с системными проявлениями атопии все пациенты имели положительный результат в БАТ. В то же время в работе Ren H.L. и соавт. [19] указано, что чувствительность подтверждения сенсibilизации по выявлению специфических IgE к КДП была выше, чем у теста активации базофилов, что противоречит нашим и большинству литературных данных.

Наше исследование показало, что метод клеточного анализа с целью лабораторной диагностики сенсibilизации к аэроаллергенам обладает лучшими возможностями для более точного подтверждения причинно-значимого аллергена, чем определение sIgE. Высокая чувствительность подтверждения сенсibilизации в тесте активации базофилов сопоставима с результатами кожного тестирования. В исследовании Traiyan S. и соавт. [24] в группе детей с ринитом чувствительность prick-теста с аллергенами клещей домаш-

ней пыли составила 89,6% при специфичности 88%. Для подтверждения сенсibilизации к пылевым клещам чувствительность модифицированного эпикутанного patch-теста составила 93,85% при специфичности 94,87% [20].

В нашем исследовании была абсолютная корреляция положительных результатов кожного тестирования и теста активации базофилов. Известно много противопоказаний к проведению кожных проб [5]. Это исследование не проводят при обострении аллергических и инфекционных заболеваний, декомпенсации психических болезней, а также при наличии в анамнезе анафилактического шока. Известны относительные противопоказаниями, к которым относятся терапия антигистаминными и глюкокортикостероидами, ранний и пожилой возраст, выраженные изменения кожи и др. Для пациентов с неубедительными результатами кожного тестирования, при невозможности их проведения, с наличием противопоказаний корректной альтернативой может стать определение сенсibilизации в тесте активации базофилов ввиду выявленной высокой чувствительности и специфичности метода.

В нашем исследовании показано, что высокий индекс активации базофилов на аллергены клещей домашней пыли коррелировал с более выраженной тяжестью аллергической патологии, что предполагает его использование для комплексной оценки состояния пациента.

Показано, что применение блокаторов H1-гистаминовых рецепторов не влияло на результаты теста, в то же время наблюдалось снижение чувствительности теста активации базофилов для подтверждения сенсibilизации к аэроаллергенам на фоне приема глюкокортикостероидных препаратов. Схожие данные об отсутствии влияния антигистаминных препаратов на результаты теста были получены Sturm G.J. и соавт. [22] на небольшой группе пациентов до и после приема дезлоратадина. Эти же авторы в эксперименте выявили снижение активации базофилов на анти-IgE антитела при культивировании крови в присутствии высоких доз преднизолона. Антигистаминные препараты блокируют эффект гистамина по механизму конкурентного ингибирования, но не влияют на его высвобождение из гранул базофилов при активации. Описаны различные механизмы противоаллергического и иммуносупрессивного действия глюкокортикостероидных препаратов, которые включают модулирование экспрессии генов с про- и противовоспалительной активностью, ингибирование фосфолипазы A2, опосредующей снижение синтеза простагландинов и лейкотриенов, снижение возможности связывания иммуноглобулинов с их рецепторами на поверхности клеток и др. [4].

Таким образом, при подготовке пациента к диагностике сенсibilизации с применением теста активации базофилов не требуется исключение блокаторов H1-гистаминовых рецепторов, а временная отмена глюкокортикостероидной терапии приведет к более корректному выявлению аллергена.

В настоящее время тест активации базофилов разрешен к применению в России согласно Федеральным клиническим рекомендациям Российской Ассоциации клинических иммунологов и аллергологов для диагностики пищевой [9] и лекарственной [8] сенсibilизации. Этот метод лабораторной диагностики получил признание на мировом уровне. Ввиду хорошей сопоставимости результатов теста активации базофилов и назального провокационного теста [16] у пациентов с аллергическим ринитом для установления профиля сенсibilизации с целью назначения АСИТ он предлагается авторами как альтернативный метод при невозможности проведения провокационного тестирования. Согласно позиционному документу Word Allergy Organization [11] рекомендовано использование теста активации базофилов в диагностике IgE-опосредованной аллергии в сложных случаях и при наличии противоречивых данных других методов.

Заключение

В нашем исследовании тест активации базофилов показал как высокую специфичность

(94%), так и достаточно высокую чувствительность (88%) для подтверждения сенсibilизации к аллергенам клещей домашней пыли. Эти показатели сопоставимы с параметрами, характерными для результатов кожного тестирования. Высокий индекс активации базофилов на аллерген выявлен у пациентов с тяжелым течением аллергопатологии. Показана высокая корреляционная зависимость между результатами, полученными с помощью наборов Allergenicity kit и BD FastImmune, которые используют разные маркеры для идентификации и оценки активации базофилов. Терапия глюкокортикостероидными препаратами снизила чувствительность выявления сенсibilизации в тесте активации базофилов. Применение блокаторов H1-гистаминовых рецепторов не повлияло на результат тестирования. Ввиду доказанной высокой клинической значимости теста активации базофилов для диагностики сенсibilизации к ингаляционным аллергенам в перспективе необходимо дополнить спектр разрешенных в отечественных Клинических рекомендациях методов для подтверждения сенсibilизации у пациентов с аллергическим ринитом и бронхиальной астмой этим тестом. Применение чувствительного лабораторного метода будет способствовать улучшению диагностики причинно-значимого аллергена и, соответственно, назначению корректной терапии.

Список литературы / References

1. Бычкова Н.В., Селиванов П.А., Калинина Н.М. Клиническая значимость выявления сенсibilизации к йодсодержащим рентгеноконтрастным веществам в тесте активации базофилов методом проточной цитометрии // Клиническая лабораторная диагностика, 2021. Т. 66, № 12. С. 747-754. [Bychkova N.V., Selivanov P.A., Kalinina N.M. Clinical significance of detecting sensitization to iodine-containing radiopaque substances in the basophil activation test by flow cytometry. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2021, Vol. 66, no. 12, pp. 747-754. (In Russ.)]
2. Воронцова И.М., Коровкина Е.С. Стратегия и тактика аллергенспецифической иммунотерапии у полисенсибилизированных пациентов // Педиатрия, 2016. Т. 95, № 6. С. 139-144. [Vorontsova I.M., Korovkina E.S. Strategy and tactics of allergen-specific immunotherapy in polysensitized patients. *Pediatrriya = Pediatrics*, 2016, Vol. 95, no. 6, pp. 139-144. (In Russ.)]
3. Коровкина Е.С., Мокроносова М.А. Аллергия к клещам домашней пыли с позиций молекулярной аллергологии // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 4-5. С. 279-288. [Korovkina E.S., Mokronosova M.A. Allergy to house dust mites from the standpoint of molecular allergology. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 4-5, pp. 279-288. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-4-5-279-288.
4. Ландышев Ю.С. Механизмы действия и основные терапевтические эффекты глюкокортикоидов // Амурский медицинский журнал, 2014. Т. 1, № 5. С. 10-29. [Landyshev Yu.S. Mechanisms of action and main therapeutic effects of glucocorticoids. *Amurskiy meditsinskiy zhurnal = Amur Medical Journal*, 2014, Vol. 1, no. 5, pp. 10-29. (In Russ.)]
5. Федеральные клинические рекомендации по диагностике аллергических заболеваний // Клинические рекомендации. Аллергология и клиническая иммунология / Под ред. Хаитова Р.М., Ильиной Н.И. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. С. 170-189. [Federal clinical guidelines for the diagnosis of allergy diseases [Clinical guidelines. Allergology and clinical immunology. Ed. Khaitov R.M., Ilyina N.I.]. Moscow: GEOTAR-Media, 2019, pp. 170-189.
6. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению аллергического ринита // Клинические рекомендации. Аллергология и клиническая иммунология / Под ред. Хаитова Р.М., Ильиной Н.И.

М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. С. 34-51. [Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of allergic rhinitis [Clinical guidelines. Allergology and clinical immunology. Ed. Khaitov R.M., Ilyina N.I.]. Moscow: GEOTAR-Media, 2019, pp. 34-51.

7. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению аллергического конъюнктивита // Клинические рекомендации. Аллергология и клиническая иммунология / Под ред. Хаитова Р.М., Ильиной Н.И. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. С. 22-33. [Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of allergic conjunctivitis [Clinical guidelines. Allergology and clinical immunology. Ed. Khaitov R.M., Ilyina N.I.] Moscow: GEOTAR-Media, 2019, pp. 22-33.

8. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению лекарственной аллергии // Клинические рекомендации. Аллергология и клиническая иммунология / Под ред. Хаитова Р.М., Ильиной Н.И. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. С. 190-213. [Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of drug allergy [Clinical guidelines. Allergology and clinical immunology. Ed. Khaitov R.M., Ilyina N.I.]. Moscow: GEOTAR-Media, 2019, pp. 190-213.

9. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с пищевой аллергией, 2015 [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://nrcii.ru/docs/Klinicheskie_rekomendacii_po_diagnostike_AZ.pdf. [Federal clinical guidelines for the provision of medical care to children with food allergy, 2015. [Electronic resource]. Access mode: http://nrcii.ru/docs/Klinicheskie_rekomendacii_po_diagnostike_AZ.pdf.

10. Федеральные клинические рекомендации. Атопическая бронхиальная астма // Клинические рекомендации. Аллергология и клиническая иммунология / Под ред. Хаитова Р.М., Ильиной Н.И. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. С. 90-136. [Federal clinical guidelines. Atopic bronchial asthma [Clinical guidelines. Allergology and clinical immunology. Ed. Khaitov R.M., Ilyina N.I.] Moscow: GEOTAR-Media, 2019, pp. 90-136.

11. Ansotegui I.J., Melioli G., Canonica G.W., Caraballo L., Villa E., Ebisawa M., Passalacqua G., Savi E., Ebo D., Gómez R.M., Luengo Sánchez O., Oppenheimer J.J., Jensen-Jarolim E., Fischer D.A., Haahtela T., Antila M., Bousquet J.J., Cardona V., Chiang W.C., Demoly P.M., DuBuske L.M., Ferrer Puga M., van Wijk R.G., González Díaz S.N., Gonzalez-Estrada A., Jares E., Kalpaklioglu A.F., Kase Tanno L., Kowalski M.L., Ledford D.K., Monge Ortega O.P., Morais Almeida M., Pfaar O., Poulsen L.K., Pawankar R., Renz H.E., Romano A.G., Rosário Filho N.A., Rosenwasser L., Sánchez Borges M.A., Scala E., Senna G.E., Sisul J.C., Tang M.L.K., Thong B.Y., Valenta R., Wood R.A., Zuberbier T. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organ. J.*, 2020, Vol. 13, no. 2, 100080. doi: 10.1016/j.waojou.2019.100080.

12. Campo P., Eguluz-Gracia I., Bogas G., Salas M., Plaza Serón C., Pérez N., Mayorga C., Torres M.J., Shamji M.H., Rondon C. Local allergic rhinitis: Implications for management. *Clin. Exp. Allergy*, 2019, Vol. 49, no. 1, pp. 6-16.

13. Eberlein-König B., Varga R., Mempel M., Darsow U., Behrendt H., Ring J. Comparison of basophil activation tests using CD63 or CD203c expression in patients with insect venom allergy. *Allergy*, 2006, Vol. 61, no. 9, pp. 1084-1085.

14. Gómez E., Campo P., Rondón C., Barrionuevo E., Blanca-López N., Torres M.J., Herrera R., Galindo L., Mayorga C., Blanca M. Role of the basophil activation test in the diagnosis of local allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013, Vol. 132, no. 4, pp. 975-976.e1-5.

15. Imamura S., Washio K., Mizuno M., Oda Y., Fukunaga A., Nishigori C. Activated steady status and distinctive FcεRI-mediated responsiveness in basophils of atopic dermatitis. *Allergol. Int.*, 2021, Vol. 70, no. 3, pp. 327-334.

16. Leśniak M., Dyga W., Rusinek B., Mazur M., Czarnobilska E. Comparison of the basophil activation test versus the nasal provocation test in establishing eligibility for specific immunotherapy. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2016, Vol. 126, no. 7-8, pp. 521-529.

17. Li Y., Liu C., Li H., Wang X. Exploring the role of basophil activation test in diagnosis of *Dermatophagoides farinae* sensitization and evaluation of therapeutic efficacy of subcutaneous immunotherapy in children. *Scand. J. Immunol.*, 2022, e13168. doi: 10.1111/sji.13168.

18. Ogulur I., Kiykim A., Baris S., Ozen A., Yuce E.G., Karakoc-Aydiner E. Basophil activation test for inhalant allergens in pediatric patients with allergic rhinitis. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, 2017, Vol. 97, pp. 197-201.

19. Ren H.L., Li J.D., Miao Y.H., Xu T. Clinical investigation of basophil activation test as a complementary test for house dust mite allergen. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2018, Vol. 32, no. 5, pp. 365-368. (In Chinese).

20. Rosales A., López-García A.I., Rivero-Yeverino D., Arana-Muñoz O., Papaqui-Tapia J.S., Caballero-López C.G., Ortega-López L., Cruz-Hernández A., Ruiz-Márquez I.P., Valle-Rodríguez F. Sensibilidad y especificidad de la prueba epicutánea modificada en el diagnóstico de alergia respiratoria a *Dermatophagoides pteronyssinus* [Sensitivity and specificity of the modified epicutaneous patch test in the diagnosis of respiratory allergy to *Dermatophagoides pteronyssinus*]. *Rev. Alerg. Mex.*, 2019, Vol. 66, no. 1, pp. 38-43. (In Spanish).

21. Stemeseder T., Schweidler B., Doppler P., Klinglmayr E., Moser S., Lueftenegger L., Himly M., Lang R., Zumbach J., Oostingh G.J., Hawranek T., Bathke A.C., Gadermaier G. Exposure to Indoor Allergens in Different Residential Settings and Its Influence on IgE Sensitization in a Geographically Confined Austrian Cohort. *PLoS One*, 2017, Vol. 12, no. 1, e0168686. doi: 10.1371/journal.pone.0168686.

22. Sturm G.J., Kranzelbinder B., Sturm E.M., Heinemann A., Groselj-Strele A., Aberer W. The basophil activation test in the diagnosis of allergy: technical issues and critical factors. *Allergy*, 2009, Vol. 64, no. 9, pp. 1319-1326.

23. Testera-Montes A., Palomares F., Jurado-Escobar R., Fernandez-Santamaria R., Ariza A., Verge J., Salas M., Campo P., Mayorga C., Torres M.J., Rondon C., Eguiluz-Gracia I. Sequential class switch recombination to IgE and allergen-induced accumulation of IgE⁺ plasmablasts occur in the nasal mucosa of local allergic rhinitis patients. *Allergy*, 2022. doi: 10.1111/all.15292.

24. Traiyan S., Manuyakorn W., Kanchongkittiphon W., Sasisakulporn C., Jotikasthira W., Kiewngam P., Kamchaisatian W., Benjaponpitak S. Skin prick test versus phadiatop as a tool for diagnosis of allergic rhinitis in children. *Am. J. Rhinol. Allergy*, 2021, Vol. 35, no. 1, pp. 98-106.

Авторы:

Бычкова Н.В. — к.б.н., ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Крутикова И.В. — врач — аллерголог-иммунолог высшей категории терапевтического отделения поликлиники ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

Чернышова А.В. — к.м.н., врач — аллерголог-иммунолог ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Калинина Н.М. — д.м.н., главный научный сотрудник научно-исследовательского отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Bychkova N.V., PhD (Biology), Leading Research Associate, Research Department of Laboratory Diagnostics, A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine; Associate Professor, Department of Immunology, St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Krutikova I.V., Clinical Allergologist/Immunologist, Therapeutic Polyclinic Department, A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Chernyshova A.V., PhD (Medicine), Clinical Allergologist/Immunologist, St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Kalinina N.M., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Research Department of Laboratory Diagnostics, A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine; Professor, Department of Immunology, St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation