

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ТЕСТА АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ В ВЫЯВЛЕНИИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ЯДАМ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ

ЛЕЙСЕН ФАРИТОВНА САФИНА, врач-аллерголог ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Россия, тел. 8-843-236-67-21, e-mail: safina-doc@mail.ru

РУСТЭМ САЛАХОВИЧ ФАССАХОВ, докт. мед. наук, профессор, главный внештатный аллерголог ПФО и МЗ РТ, директор ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Россия, тел. 8-843-236-67-21, e-mail: farrus@mail.ru

ЕЛЕНА ВАЛЕНТИНОВНА АГАФОНОВА, канд. мед. наук, ассистент кафедры пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии с курсом детских болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, зав. лабораторией ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Россия, тел. 8-843-236-67-21, e-mail: agafono@mail.ru

Реферат. Цель работы — оценить клинико-диагностическую значимость методов лабораторной диагностики в выявлении сенсibilизации к ядам перепончатокрылых насекомых. *Материал и методы.* Обследованы 102 пациента с системными аллергическими реакциями на ужаление перепончатокрылых насекомых, которые проходили стационарное лечение в аллергологическом отделении ГАУЗ ГKB № 7 г. Казани. Сформированы две группы больных с системными аллергическими реакциями и анафилактическим шоком. В структуре групп выделены подгруппы с положительным анамнезом на ужаление пчелы, осы и группа с анамнезом на ужалением неизвестного насекомого. Контрольную группу составили 30 человек. Всем пациентам выполнено определение специфических IgE-АТ (ИФА), уровень активации базофилов к аллергенам пчелы, осы, шершня. *Заключение.* Выявлена высокая чувствительность и специфичность теста активации базофилов по сравнению с ИФА-диагностикой в выявлении сенсibilизации к ядам перепончатокрылых насекомых.

Ключевые слова: системные аллергические реакции, ужаление перепончатокрылыми насекомыми, специфические IgE, тест активации базофилов.

POSSIBILITIES OF BASOPHIL ACTIVATION TEST IN DIAGNOSTIC OF HYMENOPTERA SENSITIZATION

LEYSSEN F. SAFINA, allergologist of Kazan Scientific and Research institute of epidemiology and microbiology, Kazan, Russia, tel. 8-843-236-67-21, e-mail: safina-doc@mail.ru

RUSTEM S. FASSAKHOV, M.D., Professor, Principal allergologist-immunologist at Ministry of Healthcare and Social Development of Tatarstan Republic, Head of Kazan Scientific and Research institute of epidemiology and microbiology, Kazan, Russia, tel. 8-843-236-67-21, e-mail: farrus@mail.ru

ELENA V. AGAFONOVA, Ph.D., assistant of Professor of Department of pediatry chair of SBEI HPE «Kazan State Medical University», Head of the clinical laboratory of Kazan Scientific and Research institute of epidemiology and microbiology, Kazan, Russia, tel. 8-843-236-67-21, e-mail: agafono@mail.ru

Abstract. Aim. To compare clinical and diagnostic significance of laboratory methods for Hymenoptera sensitization detection. *Material and methods.* 102 patients with systemic allergic reactions to Hymenoptera sting were involved. All of them were treated in allergy department of Kazan Clinical Hospital №7. There were 2 groups of patients formed, both of them with systemic allergic reactions and anaphylactic shock. The structure of groups shows 2 subgroups: first — with positive anamnesis to wasp and bee sting, second — with anamnesis to unknown insect sting. The controlled group was forms of 30 persons. Measurement of specific IgE levels (ELISA test) and Basophil activation test for bees, wasps and hornets' allergens were performed for these patients. *Conclusion.* Basophil activation test was more sensitive and specific compared to ELISA test in diagnostic of Hymenoptera sensitization.

Key word: systemic allergic reactions, hymenoptera sting, ELISA test, Basophil activation test.

Введение. Аллергические реакции на ужаление перепончатокрылыми насекомыми по внезапности возникновения, остроте развития и тяжести состояния больного являются одной из актуальных проблем практической аллергологии. В Европе частота встречаемости тяжелых системных аллергических реакций (САР) на яд жалящих насекомых составляет 0,3—8,9% в популяции, в США — 0,5—3,3%, в России по различным регионам встречается у 0,1—0,4% населения [1—5].

Одной из важных задач современной диагностики инсектной аллергии является выявление виновного аллергена с последующим проведением

специфической иммунотерапии. При САР на ужаление перепончатокрылых насекомых специфические IgE-АТ (sIgE-АТ) обнаруживают в 70—80% случаев, а при местных реакциях — в 52%. При этом у 10—20% пациентов с клиникой САР на ужаление насекомыми sIgE-АТ к яду насекомых выявить не удается [6, 7]. Достаточно часто у пациентов выявляются sIgE-АТ одновременно к разным насекомым (перекрестные реакции или наличие двойной сенсibilизации при повторных ужалениях разных насекомых). Помимо этого, достаточно часто врачи не могут идентифицировать жалящее насекомое, в связи с чем возникает необходимость поиска новых

подходов в диагностике инсектной аллергии. Одним из перспективных методов является тест активации базофилов (ТАБ). Сенсибилизированные к яду перепончатокрылых насекомых клетки активируют специфическим аллергеном, об активации судят по экспрессии CD₆₃-антигенов на поверхности базофилов, определяемых методом проточной цитометрии. Определение экспрессии антигена активации CD₆₃ на базофилах дает возможность выявить 1-й тип реакций гиперчувствительности к аллергену, даже если в периферической крови не присутствуют IgE-АТ [8]. В ряде работ исследователей тест показал высокую чувствительность и специфичность [9—12]. По мнению авторов, внедрение ТАБ в рутинную практику врача открывает новые возможности для первичной диагностики инсектной аллергии [13].

Целью работы является оценка клинико-диагностической значимости методов лабораторной диагностики в выявлении сенсибилизации к ядам перепончатокрылых насекомых.

Материал и методы. Обследованы 102 пациента, из них 43 женщины (42%) и 59 мужчин (57%) с САР на ужаление перепончатокрылыми насекомыми; пациенты проходили стационарное лечение в аллергологическом отделении ГАУЗ ГKB № 7 г. Казани. В соответствии с задачами исследования были сформированы 2 группы больных с САР и анафилактическим шоком (АШ). В структуре групп как с САР, так и с АШ были сформированы группы с положительным анамнезом на ужаление пчелы, осы и группа с анамнезом на ужаление неизвестного насекомого. В качестве контроля обследована группа здоровых добровольцев ($n = 30$), сопоставимая по возрасту и полу.

Программа лабораторного обследования пациентов включала:

1) определение уровня IgE-АТ к ядам пчелы, осы, шершня [диагностические набо-

ры для ИФА «АлкорБио» (Санкт-Петербург), «Radim»(Италия)];

2) определение уровня активации базофилов с использованием аллергенов яда пчел, осы, шершня (BUENLMANN, Flou-CAST-Allergens) с помощью диагностического набора BASOTEST™ (Glicotope Biotechnology, Germany). Оценку активации базофилов по повышению экспрессии CD₆₃ проводили на проточном цитометре «FacsCalibur» (BD, USA).

Полученные данные были обработаны с использованием пакета программ SPSS v.13.0 и Statistica 7.0.

Результаты и их обсуждение. Из 102 пациентов, включенных в исследование, у 50 пациентов был диагностирован АШ (49%), у 52 — САР, из них в 12 случаях — САР 1-й степени (11%), в 23 случаях — САР 2-й степени (22%), САР 3-й степени — в 17 случаях (16%).

В соответствии с дизайном исследования была проведена оценка значимости тестов в выявлении сенсибилизации к ядам перепончатокрылых насекомых. К важнейшим характеристикам лабораторных тестов относится их специфичность и чувствительность. Чувствительность мы определили как процент положительных результатов пациентов в соответствии с их анамнезом, специфичность — как процент отрицательных тестов в группе контроля [10].

Чувствительность определения IgE-АТ к яду пчелы в группе пациентов с положительными данными аллергоанамнеза на ужаление пчелы составила 84,6%, специфичность теста — 83,3% ($p < 0,001$) (табл. 1).

Чувствительность определения IgE-АТ к яду осы в группе пациентов с положительным анамнезом на ужаление осы составила 62,8%, специфичность — 90,0% ($p < 0,001$) (табл. 2).

Таблица 1

Чувствительность и специфичность IgE-АТ (аллерген яда пчелы)

Результат			Контроль	Насекомое		
				Пчела	Оса	Неизвестно
IgE-АТ, пчела	Отрицательно	Абс. число	25	5	35	13
		%	83,3	15,4	76,0	68,4
	Положительно	Абс. число	5	34	9	6
		%	16,7	84,6	21,0	31,6
Всего		Абс. число	30	39	44	19

Таблица 2

Чувствительность и специфичность IgE-АТ (аллерген яда осы)

Результат			Контроль	Насекомое		
				Пчела	Оса	Неизвестно
IgE-АТ, оса	Отрицательно	Абс. число	27	27	8	9
		%	90,0	61,3	43,2	47,4
	Положительно	Абс. число	3	12	36	10
		%	10,0	38,7	62,8	52,6
Всего		Абс. число	30	39	44	9

При исследовании уровня IgE-АТ к яду шершня наибольшее количество положительных результатов выявлено в подгруппе пациентов с анамнезом на ужаление неизвестного насекомого (34,8%), что дает основание предположить, что в большинстве случаев в данной подгруппе аллергическая реакция развилась на ужаление шершня. Специфичность теста составила 93,3% ($p < 0,001$) (табл. 3).

Чувствительность BASO TEST (ВАТ) с аллергеном пчелы была сопоставима с определением IgE-АТ в группе пациентов с положительным аллергоанамнезом на ужаление пчелы (91,3 и 84,6% соответственно) (табл. 4).

ВАТ с аллергеном осы была выше по сравнению с результатами ИФА (73,7 и 62,8% соответственно), но при этом она была ниже по сравнению с чувствительностью ВАТ к аллергену пчелы (73,7 и 91,3%; $p = 0,031$) (табл. 5).

Наибольшее количество положительных результатов с аллергеном шершня было получено при исследовании активации базофилов в подгруппе пациентов на ужаление неизвестного насекомого (42,1%), чуть меньше в подгруппе на ужаление осы (27,3%) (табл. 6). Данные по специфичности определения ВАТ были сопоставимы к аллергену пчелы, осы и шершня: 96,7, 96,6, 96,7% соответственно.

Таблица 3

Чувствительность и специфичность IgE-АТ (аллерген яда шершня)

Результат			Контроль	Насекомое		
				Пчела	Оса	Неизвестно
IgE-АТ, шершень	Отрицательно	Абс. число	28	30	34	13
		%	93,3	92,3	68,2	63,2
	Положительно	Абс. число	2	6	10	6
		%	6,7	9,3	25,8	34,8
Всего		Абс. число	30	39	44	19

Таблица 4

Чувствительность и специфичность ВАТ (аллерген пчела)

Результат			Контроль	Насекомое		
				Пчела	Оса	Неизвестно
BASO TEST, пчела	Отрицательно	Абс. число	29	6	35	15
		%	96,7	7,7	83,1	78,9
	Положительно	Абс. число	1	33	9	4
		%	3,3	91,3	14,9	21,1
Всего		Абс. число	30	39	44	19

Таблица 5

Чувствительность и специфичность ВАТ (аллерген оса)

Результат			Контроль	Насекомое		
				Пчела	Оса	Неизвестно
BASO TEST, оса	Отрицательно	Абс. число	28	24	10	11
		%	96,6	53,8	24,3	57,9
	Положительно	Абс. число	2	15	34	8
		%	3,4	42,2	73,7	42,1
Всего		Абс. число	30	39	44	19

Таблица 6

Чувствительность и специфичность ВАТ (аллерген шершень)

Результаты			Контроль	Насекомое		
				Пчела	Оса	Неизвестно
BASO TEST, шершень	Отрицательно	Абс. число	29	37	32	11
		%	96,7	94,9	72,7	57,9
	Положительно	Абс. число	1	2	12	8
		%	3,3	5,1	27,3	42,1
Всего		Абс. число	30	39	44	19

В сыворотке крови пациентов контрольной группы в 5 (16%) случаях регистрировался повышенный уровень sIgE-АТ к яду пчелы, в 3 (10%) случаях — к яду осы и в 2 (6%) — к яду шершня. Положительные данные ВАТ с аллергеном пчелы выявлены у 1 (3%) пациента, с аллергенами осы — у 2 (6%) и шершня — у 1(3%) здорового добровольца.

Заключение. Анализ полученных результатов исследования показал, что BASOTEST по чувствительности и специфичности превосходит диагностические возможности ИФА, основанной на выявлении sIgE-АТ к ядам перепончатокрылых насекомых. BASOTEST может быть рекомендован для использования в алгоритме диагностики как для первичной идентификации причинно-значимого насекомого, так и при наличии сочетанной сенсibilизации как минимум к двум аллергенам по данным определения sIgE-АТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гущин, И.С.* Аллергия к насекомым. Клиника, диагностика и лечение / И.С. Гущин, В.Г. Читаева. — М., ФармарусПринт, 2003. — 328 с.
2. *Bilò, B.M.* EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy / B.M. Bilò, F. Rueff, H. Mosbech [et al.] // *Allergy*. — 2005. — Vol. 60. — P.1339—1349.
3. *Bilò, B.M.* Epidemiology of insect-venom anaphylaxis / B.M. Bilò, F. Bonifazi // *Curr. Opin. Allergy. Clin. Immunol.* — 2008. — Vol. 8. — P.330—337.
4. *Hausmann, O.* Insektengiftallergie — wichtiger Auslöser sind Wespen- und Bienengiftstiche / O. Hausmann, P. Jandus, G. Haeberli [et al.] // *Schweiz. Med. Forum*. — 2010. — Vol. 10. — P.698—704.
5. *Johnson, T.* Management of stinging insect hypersensitivity: a 5-year retrospective medical record review / T. Johnson, J. Dietrich, L. Hagan // *Ann. Allergy. Asthma. Immunol.* — 2006. — Vol. 97(2). — P.223—225.
6. *Zidarn, M.* Anaphylaxis after Hymenoptera sting without detectable specific IgE / M. Zidarn, M. Kosnik, I. Drinovec // *Acta Dermatovenerol. Alp. Panonica. Adriat.* — 2007. — Vol. 16. — P.31—33.
7. *Sainte-Laudy, J.* Diagnosis of venom allergy by flow cytometry. Correlation with clinical history, skin tests, specific IgE, histamine and leukotriene C4 release / J. Sainte-Laudy, A. Sabbah, M. Drouet [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. — 2000. — Vol. 30. — P.1166—1171.
8. *Ebo, D.G.* Basophil activation test by flow cytometer: present and future applications in allergology. Cytometry B / D.G. Ebo, C.H. Bridts, M.M. Hagendorens [et al.] // *Clin. Cytom.* — 2008. — Vol. 74. — P.201—210.
9. *Peternelj, A.* Basophil activation test (BAT) in «in vitro» diagnosis of hymenoptera venom hypersensitivity / A. Peternelj, M. Šilar, R. Eržen [et al.] // *Zdravn. Vest.* 2008. — Vol. 77. — P.183—187.
10. *Sturm, G.J.* The CD63 basophil activation test in Hymenoptera venom allergy: a prospective study / G.J. Sturm, E. Bohm, M. Trummer [et al.] // *Allergy*. — 2004. — Vol. 59. — P.1110—1117.
11. *Peternelj, A.* Diagnostic value of the basophil activation test in evaluating Hymenoptera venom sensitization / A. Peternelj, M. Šilar, N. Bajrovic [et al.] // *Wien. Klin. Wochenschr.* — 2009. — Vol. 121(9—10). — P.344.
12. *Erdmann, S.M.* The basophil activation test in wasp venom allergy: sensitivity, specificity and monitoring specific immunotherapy / S.M. Erdmann, B. Sachs, R. Kwicien [et al.] // *Allergy*. — 2004. — Vol. 59. — P.1102—1109.
13. *Gober, L.M.* Expression of activation markers on basophils in a controlled model of anaphylaxis / L.M. Gober, J.A. Eckman, P.M. Sterba [et al.] // *J. Allergy. Clin. Immunol.* — 2007. — Vol. 119(5). — P.1181—1188.

Принята 27.10.2014