

вышены.

**Заключение.** Для работников данного химического предприятия, имеющих контакты с производственным фактором, с достоверностью 82-90% можно утверждать, что повышенные значения показателей CD16%, CD16abs, IgE, s-IgA-sal являются маркерами повышенного риска ежегодного заболевания ОРВИ. С помощью этих маркеров на данном предприятии было выявлено 90,3% всех ежегодно болеющих ОРВИ лиц. Рассмотренный подход может быть рекомендован для дополнительного анализа результатов иммуноэпидемиологического скрининга работников промышленного объекта.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. А.Г. Чучалин. Пульмонология: национальное руководство / Под ред. А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009, 960 с.
2. Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, Х.И. Истамов. Экологическая иммунология. М.: Изд-во ВНИРО, 1995, 219 с.
3. Т.В. Феофанова, А.И. Мартынов, Т.Г. Федоскова. Использование таблиц сопряженности 2x2 для анализа количественных данных иммуноэкологического исследования. Труды XII Всероссийского совещания по проблемам управления. ВСПУ-2014. Москва, 16-19 июня 2014 г. М.: Изд-во Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова РАН, 2014, с.6538-6545.
4. М. Кендалл, А. Стьюарт. Статистические выводы и связи: / Под ред. А.Н. Колмогорова. Пер. с англ. Л.И. Гальчука и А.Т.Терехина. М.: Издательство «Наука», главная редакция физико-математической литературы, 1973, 899 с.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АЛЛЕРГЕНА ИЗ ЯДА ПЧЕЛЫ МЕДОНОСНОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛГОРИТМА ПОШАГОВОЙ ОЦЕНКИ

Федоскова Т.Г., Федосеева В.Н., Мартынов А.И., Шабанов Д.В., Миславский О.В., Маковецкая А.К.

ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

### THE RESEARCH OF SPECIFIC ACTIVITY OF ALLERGEN FROM HONEY BEE VENOM WITH USE OF ALGORITHM OF A STEP-BY-STEP ESTIMATION

Fedoskova T.G., Fedoseeva V.N., Martynov A.I., Shabanov D.V., Mislavsky O.V., Makovetskaya A.K.

NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow

**В**о врачебной практике чаще встречаются аллергические реакции на ужаление пчелой, осой, шершнем – насекомыми, относящимися к отряду перепончатокрылых (Hymenoptera). Аллергические реакции на ужаление характеризуются тяжестью симптомов, бурным течением и возможностью летального исхода [1].

Распространённость инсектной аллергии к перепончатокрылым насекомым в России составляет 0,4–8% [2]. Выраженные местные реакции на ужаления перепончатокрылых насекомых встречаются в 2,4–26,4% общей популяции населения. Системные реакции выявлены у 0,5–3,3%

обследованных жителей в США. Среди взрослого населения Европы сенсibilизацию к жалящим насекомым выявляют в 9,2-28,7% случаев, а пре-валирование системных реакций колеблется от 0,3 до 7,5% [3,4]. В России системные реакции отмечены у 6,4% обследованных пациентов на гиперчувствительность к ужалению перепончатокрылыми насекомыми [5].

Смертность от анафилактических реакций на яд жалящих насекомых составляет 0,03-0,48% случая на миллион населения ежегодно [6]. К группе риска относятся пчеловоды, так как у 15-43% возникает аллергия к яду пчёл. Атопические

заболевания зарегистрированы у 31-35% больных аллергией к ужалению перепончатокрылым насекомым [1]. Следует обратить внимание, что проведение специфической аллергодиагностики у пациентов с аллергией к ужалению перепончатокрылыми насекомыми с использованием метода кожного тестирования, может привести к обострению аллергического заболевания, вплоть до провокации реакций анафилактического типа. Из этого следует необходимость применения лабораторных тестов позволяющих исключить контакт пациента с инсектным аллергеном. Существующая система клиноко-лабораторной диагностики инсектой аллергии (анализ анамнеза болезни, оценка специфических IgE) не охватывает все механизмы реакций гиперчувствительности к жалящим насекомым. В этом случае постановка тестов с использованием клеток-мишеней аллергических реакций позволит выявить наличие сенсибилизации у пациента к конкретному насекомому и обеспечит прогнозирование развития у пациента анафилактического шока. Разработанный в институте иммунологии алгоритм представляет собой последовательность методических исследований для изучения специфической активности инсектных аллергенов в системе «in vitro» на модели клеток-мишеней аллергических реакций.

Алгоритм включает следующие методические исследования:

1) Определение специфических IgE-антител в сыворотках крови пациентов к инсектным аллергенам.

2) Определение уровня выделения гистамина при воздействии инсектными аллергенами на клетки-мишени (базофилы). В работе нами было показано необходимость использования контроля на специфическое IgE связывания с высокоаффинным Fc рецептором базофилов.

3) Клеточный аллерген, стимуляционный тест для количественного определения уровня выделения сульфидолекотриенов из базофилов [7].

4) Базофильный активационный тест для определения процента активированных базофилов на поверхности, которых появляется маркер CD63 [8].

5) Тест «для диагностики in vitro» для обнаружения активированных базофилов. Этот

тест позволяет чётко гейтировать базофилы в образцах цельной крови по фенотипу (CRTH2<sup>pos</sup>CD203<sup>cpos</sup>CD3<sup>neg</sup>) [9].

Использование, указанных в алгоритме методов оценки специфической активности инсектных аллергенов обеспечило проведение исследований в соответствии со спецификой патофизиологических процессов, определяющих аллергореактивность суммарной аллергенной фракции (САФ) из яда пчелы медоносной – препарата отечественной разработки [10]. Провели исследование 175 сывороток больных различными атопическими заболеваниями, имеющими в анамнезе гиперчувствительность на укусы пчелами (диагнозы устанавливались на основании данных сбора анамнеза и общепринятых методов аллергологического обследования в клинике ГНЦ-Института Иммунологии ФМБА России). При этом было выявлено 26 пациентов с высокими показателями специфических IgE, сыворотки которых составили основной диагностический банк сывороток. Общий IgE в интервале 400-800 МЕ/мл (3-4 класс ИФА). У 14 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (3 класс ИФА) уровень гистаминолиберации составил  $38,7\% \pm 4,7$  при постановке теста с аллергеном из яда пчелы (АЯП), в тесте использованием специфического контроля –  $45,4\% \pm 5,2$  (антитела против IgE-связывающего FcεR1 рецептора базофилов). При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (4 класс) уровень гистаминолиберации составил  $52,6\% \pm 5,4$  при использовании АЯП, при использовании специфического контроля –  $58,4\% \pm 4,9$ . Отрицательным считали результат, когда уровень гистаминолиберации был менее 10%. Для 14 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (3 класс) уровень сульфидолекотриенов (sLT) в супернатанте лейкоцитарной взвеси составил  $539,8 \text{ пг/мл} \pm 24,7$  при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля –  $585,4 \text{ пг/мл} \pm 28,2$ . При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (4 класс) уровень sLT составил  $665,6 \text{ пг/мл} \pm 29,5$  при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля –  $694,8 \text{ пг/мл} \pm 34,7$ . У 14 пациентов с гиперчувствитель-

ностью на укусы пчелами (3 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 63+ составил  $42,7\% \pm 5,8$  при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля –  $47,4\% \pm 4,8$ . При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (4 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 63+ составил  $55,6\% \pm 4,7$  при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля –  $59,4\% \pm 5,1$ . Для 14 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (3 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 203+ составил  $53,7\% \pm 6,1$  при использовании аллергена яда пчелы, при использовании положительного контроля –  $69,4\% \pm 5,8$ . При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (4 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 203+ составил  $63,7\% \pm 6,5$  при использовании аллергена яда пчелы, при использовании положительного контроля –  $75,4\% \pm 5,6$ . Показатели активации клеток-мишеней выше  $10\% \pm 1,2$  свидетельствовали о позитивном результате при оценке специфической активности САФ полученной из яда пчелы медоносной. За 100% брали общее количество базофилов в пробе (600 клеток) при измерении на проточном цитометре. Разработан алгоритм для пошаговой оценки специфической активности инсектных аллергенов с использованием маркеров активации (CD63, CD203) клеток-мишеней аллергических реакций (базофилов), количественного определения медиаторов аллергических реакций (гистамина, сульфидолекотриенов) и IgE-специфического критерия в системе «in vitro». Использование данного алгоритма в клинической лабораторной диагностике позволит прогнозировать интенсивность формирования аллергических реакций, выявлять состояние «готовности» клеток-мишеней (базофилов) к дегрануляции и медиаторному ответу на специфический аллерген. Проведенное изучение специфической активности инсектных аллергенов в системе «in vitro» на модели клеток-мишеней аллергических реакций, с использованием представленного в нашей работе алгоритма исследования, показало специфическую активность полученного аллергена из яда пчелы.

## ЛИТЕРАТУРА:

- 1 Гушин И.С., Читаева В.Г.//Аллергия к насекомым – М. – 2003. – С.7-48.
- 2 Швец С.М. Аллергические реакции на яд жалящих насекомых // Российский аллергологический журнал – 2004. – №3. С. 9–18.
- 3 Antonicelli L., Bilo M.B., Bonifazi F. Epidemiology of hyme-noptera allergy.// Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. –2002 – V. 2 – P. 341–346.
- 4 Bilo M.B., Bonifazi F. Epidemiology of insect-venom anaphylaxis // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. –2008 – V. 8 – P. 330–337.
- 5 Шабанов Д.В., Мартынов А.И., Федоскова Т.Г., Федосеева В.Н., Гришина Т.И. Проблема аллергии к жалящим насекомым в условиях мегаполиса: Распространенность, Патогенетическое лечение // Сборник материалов IX-ого Международного симпозиума «Экология человека и медико-биологическая безопасность населения» – Франтишковы Лазне, 25 октября-01 ноября 2014 г. – С. 141-144.
- 6 Bilo M., Bonifazi F. The natural history and epidemiology of insect venom allergy.// J. Clin. Exp. Allergy –2009. –V.39 –P. 1467–1476.
- 7 De Weck, A.L. Cellular allergen stimulation test (CAST) – A new dimension in allergy diagnostics/ A.L. De Weck et al.// Allergy Clin. Immunol. News. – 1993. – V. 5. – P. 9-14.
- 8 DeWeck, A.L. Flow cytometric cellular allergen stimulation Test (FAST/Flow-CAST): technical and clinical evaluation of a new diagnostic test in allergy and pseudo-allergy/ A.L. DeWeck A.L., M.L. Sanz// ACI International. – 2002. – V.14. – P. 204-215.
- 9 Kahlert, H., Cromwell, O., Fiebig, H., Measurement of basophil-activating capacity of grass pollen allergens, allergoids and hypoallergenic recombinant derivatives by flow cytometry using anti-CD203c/H. Kahlert, O. Cromwell, H. Fiebig// Clin. Exp. Allergy. – 2003. – V.33, № 9. – P.1266-1272.
- 10 Федосеева В.Н., Орлова И.А., Мартынов А.И., Федоскова Т.Г. Патент №2279888 на изобретение “Аллергоид из яда пчел для аллерген-специфической иммунотерапии больных с аллергическими реакциями на укусы пчелами и способ его получения”, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений РФ 20.07.2006