

УДК 616-056.3+612.112.93:571.27

DOI: 10.14427/jipai.2018.1.26

## Тест активации базофилов: технология метода и его применение в клинической практике

И.В. Романова, А.Е. Гончаров

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

## The Basophil activation test: technology of the method and its application in clinical practice

I.U. Ramanava, A.Y. Hancharou

The Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

### Аннотация

Тест активации базофилов (Basophil Activation Test – BAT) представляет собой современный клеточный метод диагностики аллергии, который благодаря своей высокой эффективности прочно занял место в диагностическом алгоритме пищевой, пыльцевой и лекарственной аллергии, а также хронической крапивницы. Перспективным направлением является использование BAT для оценки эффективности специфической иммунотерапии, лечения с использованием анти-IgE-препаратов, а также естественного разрешения аллергии со временем. В представленном обзоре изложены принципиальные аспекты постановки BAT, эффективность использования для диагностики различных видов аллергии, а также правила оценки результатов тестирования.

### Ключевые слова

Базофилы, тест активации, аллергия, диагностика.

### Summary

The Basophil Activation Test (BAT) is a modern cellular method of allergy diagnosis, which due to its high efficiency has firmly taken its place in the diagnostic algorithm of food, pollen and drug allergy, and chronic urticaria. A promising direction of the BAT is to evaluate the effectiveness of specific immunotherapy, treatment with anti-IgE drugs, and the natural resolution of allergy. The current review presents the main approach of the BAT procedure and the efficacy of the use for the diagnosis for various types of allergies, as well as the rules for evaluating the diagnostic results.

### Keywords

Basophils, activation test, allergy, diagnosis.

### **История теста активации базофилов.**

#### **Принципиальная схема постановки BAT**

Базофилы и тучные клетки являются ключевыми клетками в патогенезе немедленных реакций гиперчувствительности. Ранее базофилы считались минорной или избыточной популяцией клеток крови, предшественниками тканевых тучных клеток. Кроме того, вследствие крайне низкого количества базофилов в периферической крови, данная популяция крови долгое время оставалась без внимания исследователей. С внедрением проточной цитометрии, которая в настоящее время является ведущим методом в иммунологии, появилась возможность исследо-

вать самые немногочисленные популяции клеток крови, в том числе базофилы [1].

В 1991 году E. Knol обнаружил, что базофилы под действием анти-IgE значительно усиливают на своей поверхности экспрессию молекулы CD63 [2]. В 1994 году J. Sainte-Laudy впервые продемонстрировал практическое использование регистрации активации базофилов с помощью CD63 для диагностики гиперчувствительности к сульфитам, что послужило началом использования BAT как метода диагностики аллергии [3].

Принцип метода BAT построен на том, что базофилы экспрессируют полную тетрамерную форму высокоаффинного рецептора к IgE – FcεRI.

При повторном попадании аллергена в организм происходит его связывание со специфическим IgE, находящимся на поверхности базофилов. Перекрестное связывание аллергеном специфического IgE запускает процесс активации базофилов, который, помимо высвобождения вазоактивных медиаторов, сопровождается усилением экспрессии молекул на поверхности клетки, а также появлением новых молекул, которые ранее были включены в мембрану базофильных гранул. Схема постановки метода включает инкубацию базофилов со специфическими (аллергеном) и неспецифическими (положительный контроль) веществами, добавление моноклональных антител для идентификации базофилов и оценки процесса их активации, лизирование эритроцитов с последующей отмывкой и учетом на проточном цитометре.

### Технические аспекты проведения ВАТ

Показанием для выполнения исследования методом ВАТ является наличие у пациента реакции гиперчувствительности немедленного типа в анамнезе. Базофилы способны к активации специфическим фактором только при наличии соответствующего IgE на их поверхности. В отличие от кожных проб, прием антигистаминных препаратов не влияет на результат [4]. В тоже время системные ГКС и циклоспорин А могут несколько снизить реактивность базофилов, что следует учитывать при проведении ВАТ [4, 5].

Исследование рекомендуется проводить после возникновения реакции гиперчувствительности в течение 12-18 месяцев, что особенно актуально для лекарственной аллергии (ЛА). Содержание специфического IgE может снижаться со временем, что было показано для бета-лактамовых антибиотиков, некоторых НПВС [6, 7].

Процедура забора крови производится из периферической вены в пробирку, содержащую гепарин в качестве антикоагулянта. ЭДТА или цитрат декстрозы блокируют активацию базофилов. Использование ЭДТА как антикоагулянта для ВАТ не рекомендуется, но возможно при добавлении в кровь перед постановкой теста ионов кальция [9]. Кровь перед исследованием должна храниться не более 4 часов при комнатной температуре. Нестабильность базофилов и их активация под действием различных внешних факторов (например, интенсивном встряхивании), обуславливает повышенные требования к аккуратному обращению с образцами крови, а также выполнению минимального числа манипуляций и постановкой исследования непосредственно в

день забора крови. Длительное хранение (больше суток), воздействие высоких или низких температур также может оказать негативное влияние на результаты теста [9].

В качестве аллергена в теории может использоваться любое подозреваемое вещество, не оказывающее токсического или ингибирующего влияния на базофилы. Однако по возможности следует использовать коммерчески доступные аллергены, стандартизированные для *in vitro* или *in vivo* (кожные пробы) исследований. Для диагностики лекарственной аллергии предпочтительно использовать инъекционные формы. Кроме того, таблетированные формы содержат ряд стабилизирующих компонентов, которые могут влиять на активность базофилов и конечный результат диагностики, а также непосредственно служить причиной реакции гиперчувствительности. Как правило, используют до трех растворов исследуемого аллергена в разведении от 5 до 25 раз и концентрации для лекарственных средств (ЛС) в мг/мл, а для белковых аллергенов – мкг/мл. В случае, если данный аллерген ранее не использовался, обязательным этапом будет оценка специфичности его действия на базофилы несенситивизированных пациентов, чтобы исключить ложноположительные результаты.

С целью оценки качества базофилов в образце крови, а также правильности выполнения всех этапов забора крови и ее хранения, базофилы стимулируют неспецифическими активаторами (положительный контроль, ПК), например, ФМА или fMLP [10]. Базофилы в некоторых случаях (6–17%) не способны отвечать на активацию через рецептор FcεRI, так называемые «не отвечающие базофилы», при этом пациенты имеют положительные кожные пробы на клинически значимые аллергены. Причиной феномена «не отвечающих базофилов» считают дефицит экспрессии протеина Syc базофилами [11, 12]. В таких случаях существует высокий риск получения ложноотрицательных результатов, поэтому обязательным условием проведения ВАТ является использование второго положительного контроля с использованием анти-IgE или анти-FcεRI.

Одним из ключевых этапов при проведении ВАТ является выбор способа идентификации базофилов. Базофилы по параметрам бокового и прямого светорассеяния располагаются среди мононуклеаров периферической крови. Поэтому идентификацию базофилов производят с помощью различных способов (CD123<sup>hi</sup>/HLA-DR<sup>neg</sup>, CD3-CD193<sup>+</sup>, CD193<sup>+</sup>, CD45<sup>dim</sup>IgEbright, IgE<sup>hi</sup>, CD3-CD294<sup>+</sup>, CD203c<sup>+</sup>), причем каждый из них

имеет свои преимущества и недостатки. Следует отметить, что гейтирование по популяционному для базофилов маркеру CD203c является наименее оптимальным ввиду низкой интенсивности экспрессии на покоящихся базофилах и усиления экспрессии в процессе активации, что может приводить к получению недостоверных результатов. Проведенные нами исследования показали, что гейтирование базофилов способом CD123<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> позволяет выделить наиболее чистую популяцию базофилов [13].

Маркеры базофилов, отражающие процесс специфического ответа на антигены, связывающиеся с IgE, можно разделить на две большие группы: маркеры активации (CD203c, CD164, CD13, CD300a и др.) и маркеры дегрануляции (CD107a, CD63). Маркеры активации базофилов отличаются тем, что экспрессируются в невысоком уровне на нативных базофилах, а при активации базофилов многократно усиливается количество и интенсивность экспрессии [14]. Маркеры дегрануляции отражают процесс анафилактической дегрануляции базофилов, сопровождающийся слиянием мембраны цитоплазматических гранул с внешней мембраной базофилов, что приводит к появлению новых молекул на поверхности клеток, прежде всего CD107a и CD63 [15].

### Место ВАТ в диагностическом алгоритме

Первым и ключевым этапом диагностики аллергической реакции является подробный анамнез пациента, который указывает на ревалентный аллерген и определяет дальнейший диагностический поиск.

Лабораторные методы диагностики аллергии, направленные на установление причины, включают, прежде всего, обнаружение специфического IgE. Однако, если для диагностики пыльцевой аллергии существует широкий спектр высокочувствительных диагностических наборов, то для ЛА определение специфического IgE значительно ограничено. Это связано непосредственно с техническими сложностями создания тест-систем для низкомолекулярных соединений, каковыми являются большинство ЛС (трудности в связывании с твердой подложкой тест-системы, отсутствие положительных контролей), а также, главным образом, крайне низким содержанием специфического IgE в сыворотке крови пациента. При этом высокий уровень общего IgE у пациента может приводить к ложноположительным результатам вследствие неспецифического реагирования с аллергеном. Все это с учетом

вероятности не IgE-опосредованного механизма реакций приводит к неудовлетворительной чувствительности определения IgE для лекарственной аллергии (<20–50%) [16].

In vivo методы диагностики аллергии подразумевают выполнение кожных проб в виде прик-тестов, а в случае с лекарственной и инсектной аллергией, проводятся также внутрикожные пробы. Считается, что кожные пробы несут потенциальный риск развития системного осложнения с частотой 3:10 000 случаев [17, 18]. Однако, как определение специфического IgE, так и результаты кожных проб, показывают лишь наличие сенсibilизации у пациента, но не всегда клиническую значимость диагностируемого аллергена. В тоже время, ВАТ является функциональным тестом, который представляет собой провокационную пробу, но выполненную *ex vivo*, в пробирке.

Определение IgE и ВАТ могут служить предварительным этапом перед проведением провокационных проб, которые зачастую несут потенциальный жизнеугрожающий риск, и технически сложнее проводимы, как для пациента (стрессовая реакция), так и для медперсонала (готовность к оказанию неотложной помощи). Провокационная проба сопровождается дополнительным риском в случае приема пациентом ингибиторов АПФ, которые увеличивают риск анафилактической реакции, или бета-адреноблокаторов, которые затрудняют оказание медицинской помощи при анафилактическом шоке [19].

### ВАТ в диагностике лекарственной аллергии (ЛА)

Диагностика ЛА помимо подробного анамнеза реакции включает определение специфического IgE, выполнение кожных и провокационной проб. Определение специфического IgE в настоящее время доступно для небольшого числа ЛС. Например, управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) США определение специфического IgE одобрено лишь для амоксициллоила, ампициллоила, желатина (бычий), инсулина (чел), пенициллоила G, пенициллоила A. Из группы цефалоспоринов возможно определение специфического IgE лишь для цефаклора. В Беларуси исследователями также выполняются следующие *in vitro* методы: реакция аллерген-специфического повреждения лейкоцитов (РАПЛ), реакция выброса миелопероксидазы (РВМ), тест угнетения аллергеном люминол-за-

висимой хемилюминесценции сенсibilизированных лейкоцитов, реакция выброса калия из сенсibilизированных лейкоцитов, диагностика аллергии по изменению экспрессии активационных рецепторов нейтрофилов и другие [20].

ВАТ обладает высокой положительной прогностической значимостью. Именно поэтому при положительном результате ВАТ в выполнении *in vivo* исследований, сопровождающихся высоким риском, нет необходимости. Отрицательный результат не исключает наличия у пациента гиперчувствительности на ЛС и требует осторожности [21].

Неоспоримым преимуществом ВАТ перед другими методами диагностики является возможность использования практически любого ЛС или доступного метаболита, что зачастую делает этот метод ЛА единственно доступным. Так, показана эффективность метода для диагностики ЛА на бета-лактамы антибиотики, фторхинолоны, НПВС, радиоcontrastные средства, миорелаксанты, а также на отдельные лекарственные средства (карбоплатин, хлоргексидин, атропин, глатирамер ацетат, метилпреднизолон, желатины, карбоксиметилцеллюлоза, опиаты, бычий сывороточный альбумин) [22].

### **ВАТ в диагностике хронической спонтанной крапивницы (ХСК)**

Причины развития ХСК до конца не изучены, однако у 50% пациентов регистрируются аутоантитела к FcεRI или к IgE, что указывает на аутоиммунную природу ХСК [23]. Еще одной причиной ХСК могут быть аутоантитела IgE или IgG к тиреопероксидазе, определение которых может также помочь в установлении причины заболевания [24].

Для диагностики хронической крапивницы используют два лабораторных теста: тест с использованием аутосыворотки, ASST (autologous serum skin test) и непрямой ВАТ. Тест с применением аутологичной сыворотки является неспецифическим скрининговым методом, который оценивает наличие сывороточных гистамин-релизинг факторов [25].

ВАТ для диагностики ХСК проводится несколько иначе, чем стандартная методика, при этом используются базофилы не пациента, а здорового донора, так называемый непрямой ВАТ. Это обусловлено частой базопенией у пациентов с ХСК и низкой отвечаемостью базофилов на специфические стимулы [26]. Для стандартизации непрямого ВАТ донорские базофилы инкубируют с ИЛ-3 [27]. ВАТ является безопасным

для пациента методом с высокой специфичностью и чувствительностью при использовании маркера CD63 [28]. В ряде случаев для диагностики также эффективно используется маркер активации базофилов CD203c [29]. В отличие от теста с аутосывороткой, ВАТ не требует перерыва в лечении антигистаминными средствами.

### **ВАТ в диагностике пищевой аллергии**

Золотым стандартом диагностики пищевой аллергии является двойной слепой рандомизированный провокационный метод. С целью максимально исключить необходимость проведения провокации необходимы другие эффективные методы диагностики [30]. ВАТ используется для диагностики как истинной пищевой аллергии, так и в случае синдрома пищевой оральной аллергии. Метод обладает высокой чувствительностью 77–98% и специфичностью 75–100%, что позволяет его использовать наряду с кожными пробами и определением специфического IgE [31]. Именно высокая специфичность ВАТ позволяет сократить частоту проведения провокации, так как положительный результат указывает на высокую вероятность наличия специфической реактивности у пациента на исследуемый пищевой аллерген. Кроме того, ВАТ может использоваться в качестве прогностического критерия тяжести аллергической реакции, так как с приобретением толерантности, например, к арахису, отвечаемость базофилов снижается [32].

Для пищевой аллергии у детей характерно приобретение естественной толерантности с возрастом. Приблизительные сроки формирования толерантности установлены для многих пищевых продуктов, однако критерии, по которым можно было бы безопасно вводить заново продукты, отсутствуют. Тест активации базофилов является эффективным методом для этой цели, например, при аллергии на коровье молоко [33].

### **ВАТ в диагностике аллергии на яды перепончатокрылых**

От 4 до 6 % пациентов, в анамнезе которых наблюдалась аллергическая реакция на укус перепончатокрылых имеют отрицательный специфический IgE и отрицательные кожные пробы, что подвергает этих людей высокому риску при повторном укусе фатальной реакции гиперчувствительности. Провокационные пробы используются крайне редко в виде неэтичности исследования. ВАТ позволяет установить верный диагноз по меньшей мере у двух трети таких пациентов [34,35].



Недостатком определения специфического IgE является низкая специфичность, примерно 60% имеют положительный IgE как к яду пчелы, так и к яду осы. Определение конкретного аллергена крайне важно для проведения АСИТ у таких пациентов [36]. Показано, что с помощью ВАТ возможно выявить первичный сенсibilизатор у трети таких пациентов. У пациентов с положительным результатом ВАТ на оба яда насекомых различается степень активации базофилов на разные яды, что может указывать на первичную сенсibilизацию, то есть на тот аллерген, где наблюдается более высокая активация базофилов [35].

### **ВАТ для оценки эффективности специфической иммунотерапии, лечения омализумабом**

Проведение АСИТ занимает довольно длительный промежуток времени, от 3 до 5 лет. Самым трудным остается вопрос о ревалентных маркерах, которые указывали бы на возможность прекращения лечения при формировании толерантности или отсутствии клинического эффекта.

Снижение отвечаемости базофилов при проведении АСИТ было показано при аллергии на арахис [37], куриное яйцо [38]. Прием омализумаба также сопровождался снижением отвечаемости базофилов, как было показано в исследовании при аллергии на арахис, однако после прекращения приема отвечаемость базофилов быстро возвращалась на прежний уровень [39]. В тоже время лечение омализумабом детей с пищевой аллергией на коровье молоко приводила к стойкому снижению активации базофилов и служила предвестником формирующейся толерантности [40].

Достоверное уменьшение процента активированных базофилов при постановке ВАТ также наблюдалось после 4 лет АСИТ для лечения аллергии на яды перепончатокрылых, при этом реактивность базофилов оставалась на прежнем уровне [41]. Таким образом, отвечаемость базофилов – это стабильный воспроизводимый показатель, который может использоваться для оценки эффективности АСИТ.

Ряд исследований показали, что снижение отвечаемости базофилов при проведении АСИТ происходит вследствие аллерген-блокирующих факторов в сыворотке, которые конкурируют за связывание специфического IgE с рецептором. Таковым является, главным образом, IgG4 [42].

### **ВАТ в диагностике пыльцевой аллергии (поллиноза)**

Диагностика поллиноза в большинстве случаев не составляет затруднений, учитывая высокую чувствительность кожных проб и специфического IgE. Однако показано, что ВАТ эффективен в предсказывании тяжести аллергической реакции при проведении провокационных проб, интраназального или интрабронхиального введения аллергена, учитывая высокую корреляцию между чувствительностью базофилов и клиническими симптомами [43, 44]. ВАТ обладает уникальной способностью к мониторингу чувствительности пациента к пыльцевым аллергенам и оценке прогрессирования аллергии.

### **Критерии диагностической значимости ВАТ (интерпретация результатов)**

Бланк результатов ВАТ должен включать несколько ключевых параметров, которые прежде всего показывают качество проведенного исследования.

В первую очередь, следует обратить внимание на количество учтенных базофилов. Считается, что минимальное количество базофилов для учета результатов должно быть не менее 250-500 клеток [15]. Причинами резкого снижения числа базофилов в периферической крови могут служить различные клинические состояния пациента, например, анафилактическая реакция (забор крови можно проводить по истечении не менее 3 дней после возникновения реакции), хроническая спонтанная крапивница [25]. В случае базопении при отсутствии срочности в исследовании рекомендуется повторить тест через месяц.

Отрицательный и положительный контроли должны отражать уровень спонтанной и стимулированной дегрануляции соответственно при использовании одного из маркера дегрануляции CD63 или CD107a. Маркеры активации базофилов не могут быть использованы для этой цели ввиду высокой вариабельности значений у разных пациентов на неактивированных базофилах.

Положительный контроль может включать оценку неспецифической реакции базофилов. Обычно используют такие активаторы, как ФМА, fMLP, анафилатоксин C5. Этот этап необходим для того, чтобы исключить нарушение процессов забора крови, ее хранения или транспортировки в лабораторию. При несоответствии данного положительного контроля рекомендуется повторить забор крови с соблюдением всех требований техники.

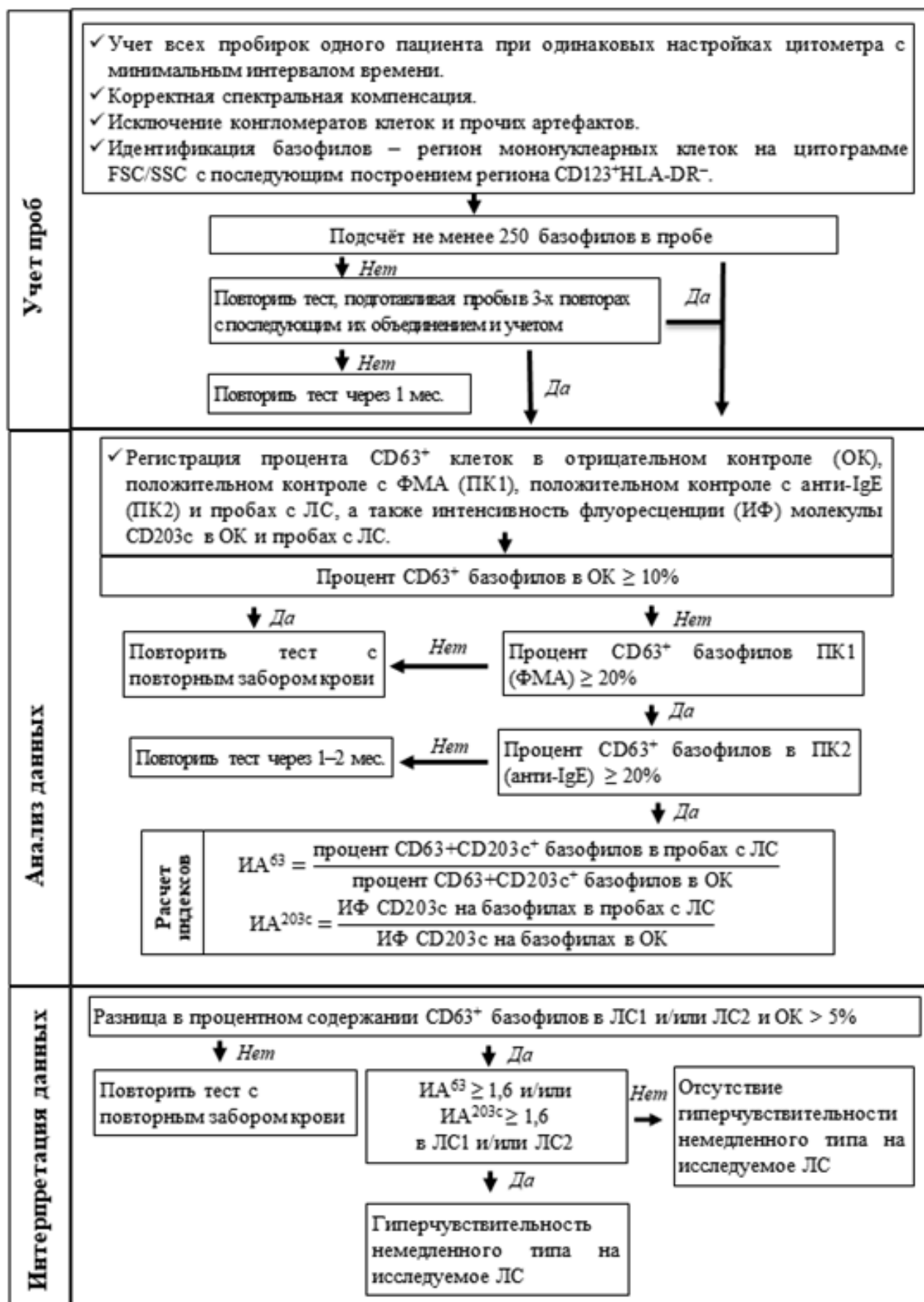


Рис. 1. Алгоритм учета, анализа и интерпретации проб при проведении ВАТ

Ключевым моментом дальнейшего проведения исследования является оценка специфической активации базофилов на положительный контроль анти-IgE или анти-FcεRI, что исключает «не отвечающие базофилы» и ложноотрицательные результаты. Причины этого феномена до конца не изучены и пока нет достоверного ответа о восстановлении этой функции у базофилов с течением времени.

Непосредственное исследование реакции базофилов на аллерген должно включать не менее двух нетоксических концентраций/разведений аллергена. Обычно используют концентрации, отличающиеся между собой на порядок. Наличие специфической активации базофилов хотя бы к одной из двух концентраций аллергена говорит о реакции гиперчувствительности у пациента. В идеале ВАТ проводится с обязательным использованием маркера дегрануляции (CD63 или CD107a) и одного или нескольких маркеров активации базофилов, что имеет клиническое значение при тестировании изначально «слабых» аллергенов, отличающихся невысокой антигенностью (ЛС, ядов насекомых). Расчетной единицей оценки маркера является индекс активации (ИА), который представляет собой отношение значения маркера, полученного с использованием аллергена, к значению этого же маркера в отрицательном контроле. Критерий диагностической значимости ИА, который предварительно рассчитывается в лаборатории с использованием ROC-кривых, как правило, имеет значение от 1,4 до 2,5.

Для маркеров дегрануляции базофилов важно не только значение ИА, но и разница между пробой с аллергеном и отрицательным контролем, которая обычно составляет не менее 5–10%. То есть, если ИА указывает на наличие гиперчув-

ствительности, то обязательным условием для заключения является разница между значениями и при несоответствии, то есть менее 5-10%, результат считается отрицательным.

Еще один вопрос, который может встать перед клиницистом: можно ли считать положительным тот результат, когда базофилы среагировали по одному из маркеров, только по маркеру активации или только по маркеру дегрануляции. В таких случаях нужно обращать внимание на исследуемый аллерген. Если проводится диагностика крупномолекулярных аллергенов пыльцы или пищевых аллергенов, то базофилы как правило реагируют анафилактической дегрануляцией, поэтому маркеры CD63 и CD107a будут обязательно появляться при активации базофилов, и положительный результат считается диагностически значимым. Если же проводится диагностика ЛА, то, учитывая высокую специфичность базофилов, при частичной дегрануляции возможно будет наблюдаться только реакция со стороны маркеров активации и результат следует также считать положительным.

Проведенные нами исследования позволили составить алгоритм учета, анализа и интерпретации проб при проведении ВАТ (рис.1) для диагностики аллергии на системные антибактериальные средства [45].

## Заключение

Благодаря тесту активации базофилов у практикующего врача появились новые возможности диагностики различных видов аллергии, в том числе лекарственной аллергии. Важно помнить, что ВАТ как и любой другой метод диагностики аллергии имеет значение только при наличии соответствующей клинической картины в совокупности с обследованием.

## Литература

1. Miyake K., Karasuyama H. Emerging roles of basophils in allergic inflammation. *Allergol. Int.* 2017; Vol. 66(3):382-391. doi: 10.1016/j.alit.2017.04.007. Epub 2017 May 11.
2. Knol E.F., Mul F.P., Jansen H., et al. Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1991; Vol. 88(3 Pt 1):328-338.
3. Sainte-Laudy J., Vallon C., Guérin J.C. Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis. *Allerg. Immunol. (Paris)*. 1994; Vol. 26(6):211-214.
4. Sturm G.J., Kranzelbinder B., Sturm E.M., et al. The basophil activation test in the diagnosis of allergy: technical issues and critical factors. *Allergy*. 2009; Vol. 64(9):1319-1326. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02004.x. Epub 2009 Feb 20.
5. Kamran I., Kapil B., Per Stahl S., et al. A positive serum basophil histamine release assay is a marker for ciclosporin-responsiveness in patients with chronic spontaneous urticarial. *Clin. Transl. Allergy*. 2012; Vol. 2:19. doi: 10.1186/2045-7022-2-19.
6. Fernández T.D., Torres M.J., Blanca-López N., et al. Negativization rates of IgE radioimmunoassay and basophil activation test in immediate reactions to penicillins. *Allergy*. 2009; Vol. 64(2):242-8. doi: 10.1111/j.1398-9995.2008.01713.x.
7. Gómez E., Blanca-Lopez N., Torres M.J., et al. Immunoglobulin E-mediated immediate allergic reactions to dipyrone: value of basophil activation test in the identification of patients. *Clin. Exp. Allergy*. 2009; Vol. 39(8):1217-1224. doi: 10.1111/j.1365-2222.2009.03237.x. Epub 2009 Apr 7.

8. Sousa N., Martínez-Aranguren R., Fernández-Benitez M., et al. Comparison of basophil activation test results in blood preserved in acid citrate dextrose and EDTA. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2010;20(6):535-536.
9. Романова И.В., Гончаров А.Е. Оптимизация условий проведения теста активации базофилов. *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук.* 2017; № 4: 48-59.
10. MacGlashan D.Jr. Expression of CD203c and CD63 in human basophils: relationship to differential regulation of piecemeal and anaphylactic degranulation processes. *Clin. Exp. Allergy.* 2010; Vol. 40(9):1365-1377. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03572.x. Epub 2010 Jul 13.
11. Christopher L.K., Lama Y., Ronald P.A., et al. Multiple Defects in FcεRI Signaling in Syk-Deficient Nonreleaser Basophils and IL-3-Induced Recovery of Syk Expression and Secretion. *J. Immunol.* 2000; Vol. 165:5913-5920. doi: 10.4049/jimmunol.165.10.5913.
12. Kepley C.L., Youssef L., Andrews R.P., et al. Syk deficiency in nonreleaser basophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999; Vol. 104(2 Pt 1):279-84.
13. Романова И.В. Гончаров А.Е., Дударева Н.И. Оптимизация алгоритма гейтирования базофилов на проточном цитометре: многоцветный анализ *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук.* 2016; № 4: 15-24.
14. Bühring H.J., Streble A., Valent P. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004; Vol. 133(4):317-329. Epub 2004 Mar 17.
15. Sanz M.L., Sánchez G., Gamboa P.M., et al. Allergen-induced basophil activation: CD63 cell expression detected by flow cytometry in patients allergic to *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Lolium perenne*. *Clin. Exp. Allergy.* 2001; Vol. 31(7):1007-1013.
16. Mayorga C., Sanz M.L., Gamboa P.M., et al. In Vitro Diagnosis of Immediate Allergic Reactions to Drugs: An Update. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2010; Vol. 20(2):103-109.
17. Valyasevi M.A., Maddox D.E., Li J.T. Systemic reactions to allergy skin tests. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1999; Vol. 83(2):132-136.
18. Pitsios C., Dimitriou A., Stefanaki E.C., Kontou-Fili K. Anaphylaxis during skin testing with food allergens in children. *Eur. J. Pediatr.* 2010; Vol. 169(5):613-615. doi: 10.1007/s00431-009-1070-5. Epub 2009 Sep 23.
19. Nassiri M., Babina M., Dölle S., et al. Ramipril and metoprolol intake aggravate human and murine anaphylaxis: evidence for direct mast cell priming. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; Vol. 135(2):491-469. doi: 10.1016/j.jaci.2014.09.004. Epub 2014 Oct 16.
20. Новиков П.Д., Новиков Д.К., Титова Н.Д. Диагностика аллергии и гиперчувствительности: ведущее значение клеточных методов. *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2016; № 4: 25-39.
21. Steiner M., Harrer A., Himly M. Basophil reactivity as biomarker in immediate drug hypersensitivity reactions – potential and limitations. *Front Pharmacol.* 2016; Vol.7: 171. doi: 10.3389/fphar.2016.00171.
22. Song W.-J., Chang Y.-S. Recent applications of basophil activation tests in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Asia Pac. Allergy.* 2013; Vol. 3(4): 266–280. doi: 10.5415/apallergy.2013.3.4.266.
23. Hide M., Francis D.M., Grattan C.E., et al. Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticarial. *N. Engl. J. Med.* 1993; Vol. 328(22):1599-15604.
24. Maurer M., Altrichter S., Bieber T., et al. Efficacy and safety of omalizumab in patients with chronic urticaria who exhibit IgE against thyroperoxidase. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; Vol. 128(1):202-209.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2011.04.038. Epub 2011 Jun 2.
25. Zuberbier T., Aberer W., Asero R., et al. The EAACI/GA<sup>2</sup>LEN/EDF/WAO Guideline for the Definition, Classification, Diagnosis and Management of Urticaria. The 2017 Revision and Update. *Allergy.* 2018; Jan. 15. doi: 10.1111/all.13397.
26. Luquin E., Kaplan A.P., Ferrer M. Increased responsiveness of basophils of patients with chronic urticaria to sera but hyporesponsiveness to other stimuli. *Clin. Exp. Allergy.* 2005; Vol. 35(4):456-460.
27. Gentinetta T., Pecaric-Petkovic T., Wan D., et al. Individual IL-3 priming is crucial for consistent in vitro activation of donor basophils in patients with chronic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; Vol.128(6):1227-1234.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2011.07.021. Epub 2011 Sep 8.
28. Wedi B., Novacovic V., Koerner M., Kapp A. Chronic urticaria serum induces histamine release, leukotriene production, and basophil CD63 surface expression–inhibitory effects of anti-inflammatory drugs. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; Vol. 105(3):552-560.
29. Yasnowsky K.M., Dreskin S.C., Efav B., et al. Chronic urticaria sera increase basophil CD203c expression. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006; Vol. 117(6):1430-1434. Epub 2006 Apr 27.
30. Santos A.F., Douiri A., Bécares N., et al. Basophil activation test discriminates between allergy and tolerance in peanut-sensitized children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; Vol. 134(3):645-652. doi: 10.1016/j.jaci.2014.04.039. Epub 2014 Jul 25.
31. Ocmant A., Mulier S., Hanssens L., et al. Basophil activation tests for the diagnosis of food allergy in children. *Clin. Exp. Allergy.* 2009; Vol. 39(8):1234-1245. doi: 10.1111/j.1365-2222.2009.03292.x. Epub 2009 Jun 22.
32. Santos A.F., Toit G.D., Douiri A., et al. Distinct parameters of the basophil activation test reflect the severity and threshold of allergic reactions to peanut. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; Vol. 135(1): 179–186. doi: 10.1016/j.jaci.2014.09.001.
33. Rubio A., Vivinus-Nébot M., Bourrier T., et al. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children. *Allergy.* 2011; Vol. 66(1):92-100. doi: 10.1111/j.1398-9995.2010.02432.x.
34. Korosec P., Erzen R., Silar M., et al. Basophil responsiveness in patients with insect sting allergies and negative venom-specific immunoglobulin E and skin prick test results. *Clin. Exp. Allergy.* 2009; Vol. 39(11):1730-1737. doi: 10.1111/j.1365-2222.2009.03347.x. Epub 2009 Aug 18.
35. Korosec P., Šilar M., Erzen R., et al. Clinical routine utility of basophil activation testing for diagnosis of hymenoptera-allergic patients with emphasis on individuals with negative venom-specific IgE antibodies. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2013; Vol. 161(4):363-368. doi: 10.1159/000348500. Epub 2013 May 14.
36. Eberlein B., Krischan L., Darsow U., et al. Double positivity to bee and wasp venom: improved diagnostic procedure by recombinant allergen-based IgE testing and basophil activation test including data about cross-reactive carbohydrate determinants. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012; Vol. 130(1):155-161. doi: 10.1016/j.jaci.2012.02.008. Epub 2012 Mar 14.
37. Thyagarajan A., Jones S.M., Calatroni A., et al. Evidence of pathway-specific basophil anergy induced by peanut oral immunotherapy in peanut-allergic children. *Clin. Exp. Allergy.* 2012; Vol. 42(8):1197-1205. doi: 10.1111/j.1365-2222.2012.04028.x.
38. Burks A.W., Jones S.M., Wood R.A., Oral immunotherapy for treatment of egg allergy in children. *N. Engl. J. Med.* 2012; Vol. 367(3): 233–243. doi: 10.1056/NEJMoa1200435.
39. Gernez Y., Tirouvanziam R., Yu G., et al. Basophil CD203c levels are increased at baseline and can be used to monitor omalizumab treatment in subjects with nut allergy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011; Vol. 154(4):318-37. doi: 10.1159/000321824. Epub 2010 Oct 25.
40. Nilsson C., Nordvall L., Johansson S.G., Nopp A. Successful management of severe cow's milk allergy with omalizumab treatment and CD-sens monitoring. *Asia Pac. Allergy.* 2014;



Vol. 4(4):257-260. doi: 10.5415/apallergy.2014.4.4.257. Epub 2014 Oct 29.

41. Eržen R., Košnik M., Silar M., Korošec P. Basophil response and the induction of a tolerance in venom immunotherapy: a longterm sting challenge study. *Allergy*. 2012; Vol. 67(6):822-830. doi: 10.1111/j.1398-9995.2012.02817.x. Epub 2012 Apr 3.

42. Lalek N., Kosnik M., Silar M., Korosec P. Immunoglobulin G-dependent changes in basophil allergen threshold sensitivity during birch pollen immunotherapy. *Clin. Exp. Allergy*. 2010; Vol. 40(8):1186-1193. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03524.x. Epub 2010 May 31.

43. Konradsen J.R., Nordlund B., Nilsson O.B., et al. High basophil allergen sensitivity (CD-sens) is associated with severe

allergic asthma in children. *Pediatr. Allergy Immunol*. 2012; Vol. 23(4):376-384. doi: 10.1111/j.1399-3038.2011.01260.x. Epub 2012 Mar 21.

44. Dahlén B., Nopp A., Johansson S.G., Basophil allergen threshold sensitivity, CDsens, is a measure of allergen sensitivity in asthma. *Clin. Exp. Allergy*. 2011; Vol. 41(8):1091-1097. doi: 10.1111/j.1365-2222.2011.03763.x. Epub 2011 Apr 25.

45. Романова И.В., Гончаров А.Е. Метод диагностики заболеваний и патологических состояний, обусловленных реакциями гиперчувствительности немедленного типа на лекарственные средства из группы противомикробных препаратов для системного применения. Инструкция по применению. Минск, 2017. Регистрационный № 093-1117. 01.12.2017 г. [http://www.belriem.by/images/093-1117\\_01.12.2017.pdf](http://www.belriem.by/images/093-1117_01.12.2017.pdf)

#### Сведения об авторах:

Романова Ирина Владимировна – научный сотрудник РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, romanovairavlad@gmail.com, моб. тел.: 8044-766-09-47 (Vel)

Гончаров Андрей Евгеньевич – заведующий лабораторией иммунологии и клеточной биотехнологии РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, кандидат медицинских наук, andreihancharou@gmail.com, моб. тел.: 8044-624-89-72 (Vel). 220114 г. Минск, ул. Филимонова, 23.

Поступила 25.01.2018 г.