

УДК 616.248-053.8-056.3:(615.331:579.8)

ТЕСТ АКТИВАЦИИ БАЗОФИЛОВ IN VITRO В ДИАГНОСТИКЕ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

С.М.Копейкина, Ю.С.Ландышев

*Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95***РЕЗЮМЕ**

С помощью метода проточной цитометрии произведена оценка спектра и распространенности сенсибилизации к бета-лактамам антибиотикам у 76 больных бронхиальной астмой с аллергической, неаллергической и смешанной формой заболевания и определена частота перекрестных реакций к пенициллину. У 38 пациентов на момент исследования было диагностировано среднетяжелое течение бронхиальной астмы и у 38 больных тяжелое течение заболевания. Лекарственная непереносимость в анамнезе наблюдалась у пациентов со смешанной и аллергической формой заболевания. Показано, что сенсибилизация у больных бронхиальной астмой была достоверно выше ($p < 0,05$), чем у здоровых лиц контрольной группы и значима для пенициллинов, цефалоспоринов I и II поколения и карбапенемов. Достоверно чаще ($p < 0,05$) она встречалась в группе со смешанной бронхиальной астмой. Сенсибилизация к пенициллину была определена у 12 больных бронхиальной астмой. Из них у 3 пациентов была выявлена моносенсибилизация к пенициллину, а у 9 больных кроме пенициллина еще имелась сенсибилизация и к другим группам бета-лактамов антибиотиков. Наиболее часто перекрестные реакции отмечены у пенициллина с карбапенемами (50%), а также с цефалоспорином I поколения (25%).

Ключевые слова: бронхиальная астма, сенсибилизация, бета-лактамы антибиотиков.

SUMMARY**BASOPHIL ACTIVATION TEST IN VITRO DIAGNOSIS OF HYPERSENSITIVITY TO BETA-LACTAM ANTIBIOTICS IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA**

S.M.Kopeikina, Yu.S.Landyshv

*Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str.,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

Using flow cytometry the spectrum and prevalence of sensitization to beta-lactam antibiotics in 76 patients with bronchial asthma of allergic, not allergic and mixed type were estimated and the frequency of cross-responses to penicillin was found out. In 38 patients at the time of the study moderate bronchial asthma was diagnosed and in 38 patients there was a severe course of the disease. Dosage history intolerance was observed in patients with mixed and allergic type of the disease. It was shown that the sensitization of patients with asthma was significantly higher ($p < 0.05$) than in healthy people in the control group and was identified

for penicillins, cephalosporins of I and II generation and carbapenems. Significantly more frequent it was in the group with mixed asthma ($p < 0.05$). Sensitization to penicillin was found in 12 patients with bronchial asthma. Three patients were identified to have monosensitization to penicillin, and 9 patients had besides penicillin sensitization to other groups of beta-lactam antibiotics. Cross reactions of penicillin with carbapenems (50%) and with cephalosporins of I generation (25%) were identified most often.

Key words: asthma, sensitization, beta-lactam antibiotics.

Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных заболеваний человечества, которому подвержены люди всех возрастов. В настоящее время число больных астмой во всем мире достигло 300 млн человек [2, 8].

Пенициллин и другие бета-лактамы антибиотиков наиболее часто вызывают аллергические реакции – в 0,7-8% случаев среди пациентов, получающих лечение этими препаратами [4].

БА способствует более тяжелым реакциям на лекарства [1]. В настоящее время считают: если у пациента с атопией возникает сенсибилизация, то именно у этой группы больных возрастает риск развития серьезной анафилаксии [1, 4, 9].

Несмотря на определяющую роль аллергологического анамнеза в диагностике лекарственной аллергии в целом и на антибиотики пенициллинового ряда в частности, полностью полагаться на анамнез нельзя, поскольку именно в этой группе антибиотиков высок процент скрытой сенсибилизации, и довольно часто пациент не помнит названия препаратов, на которые у него была реакция [6].

Кожное тестирование в России не получило широкого распространения для диагностики лекарственной аллергии в отличие от зарубежной практики [10]. Кроме того, в нашей стране разрешенных к применению, специально разработанных аллергенов для диагностики аллергии на препараты пенициллинового ряда не зарегистрировано. Кожные тесты с цефалоспоринами и другими бета-лактамами антибиотиками не стандартизованы [4, 7]. Учитывая это, распознаванию аллергического состояния с помощью лабораторных методов уделяется особое внимание ввиду их специфичности и стандартности [3]. Проточная цитометрия сегодня является одним из наиболее перспективных направлений иммунодиагностики *in vitro*. Так, компанией Bühlmann Laboratories был разработан не только иммуноферментный (CAST-тест), но и цитометрический вариант теста стимуляции базофилов – FLOW-CAST (FAST). Этапы выделения лимфоцитов и стимуляции

аллергенами для обоих вариантов идентичны. Но вместо сульфидолейкотриенов (LTC₄, LTD₄, LTE₄), секретруемых премированными IL-3 базофилами под воздействием аллергенов *in vitro*, в третьем этапе определяется количество активированных аллергеном базофилов, экспрессирующих на поверхности антиген CD63, который появляется при их дегрануляции [1, 11, 12, 13]. Метод позволяет выявлять механизмы патогенеза аллергии, не связанные со специфическим IgE-ответом, диагностировать и дифференцировать псевдоаллергические реакции [3, 7, 14]. В настоящее время не существует сведений о распространенности и характере лекарственной непереносимости бета-лактамов антибиотиков у больных БА и частоте перекрестных реакций внутри этой группы антибиотиков, что послужило целью исследования в данной статье.

Материалы и методы исследования

Всего обследовано 76 больных БА. Пациенты проходили курс обследования и лечения в Амурской областной клинической больнице г. Благовещенска в 2013-2014 гг.

Критериями включения в исследование явились: анамнез заболевания БА до 10 лет, возраст пациентов от 18 до 60 лет, отсутствие инфекционных осложнений и аллергических реакций за 1,5 месяца до проводимого исследования.

Диагноз астмы ставился согласно Международной классификации болезней X пересмотра (МКБ-10) и GINA (2011) с учетом типичной клинической картины заболевания, данных аллергологического анамнеза, наследственной предрасположенности, результатов клинических, функциональных и аллергологических методов исследования. Для определения контроля над заболеванием использовался тест, в соответствии с рекомендациями GINA (2011). При поступлении в стационар больным проводилось комплексное обследование с применением клинических, рентгенологических, функциональных и лабораторных методов исследования. Особое внимание [5] у больных БА уделялось данным анамнеза жизни (место жительства, место работы, профессия, профессиональные вредности, курение, санитарно-гигиенические условия жизни) и заболевания (давность начала заболевания, частота и длительность обострений, длительность ремиссий, ранее проводимое лечение, применение базисной терапии, сопутствующие заболевания), а также жалобам больного (частота приступов удушья за сутки, частота ночных эпизодов диспноэ, наличие или отсутствие кашля, характер кашля и мокроты, триггеры, наличие или отсутствие симптомов интоксикации).

Объективное исследование включало данные осмотра, перкуссии и аускультации сердца и легких, определение артериального давления, частоты сердечных сокращений и дыхательных движений.

Больные были разделены на три группы в зависимости от формы заболевания: 1 группа – больные смешанной БА (n=49); 2 группа – пациенты с аллергической БА (n=16); 3 группа – больные неаллергической БА (n=11). Для сравнительного анализа ре-

зультатов в исследовании приняли участие 21 здоровый донор (9 мужчин и 12 женщин), сопоставимые по полу и возрасту.

Пациенты и здоровые доноры были включены на основании их информированного согласия в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (2008) и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом МЗ РФ от 19.06.2003 г. №266.

В качестве материала исследования была использована сыворотка крови больных и здоровых доноров. Лекарственную непереносимость к бета-лактамам антибиотикам определяли методом проточной цитофлуориметрии (Basotest CD 63+HLA-). Оценка дегрануляции базофилов производилась с помощью набора Allergenicity Kit (Beckman Coulter). Марка аппарата «BD FACSCanto II». Из бета-лактамов антибиотиков использовались следующие группы: пенициллины, цефалоспорины I поколения (цефазолин), цефалоспорины II поколения (цефуроксим), цефалоспорины III поколения (цефотаксим), карбапенемы (меропенем).

Результаты исследования подвергались статистической обработке методом факторного анализа с определением критерия Фишера и t-критерия для долей и процентов в среде лицензированного пакета программ Statistica 6.0. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ клинического состояния пациентов выявил у 38 больных среднетяжелое течение БА и у 38 пациентов тяжелое течение заболевания (табл. 1). Среди участников исследования преобладали женщины – 54 (71%), мужчин было 22 (29%).

Возраст больных варьировал от 23 до 60 лет (средний возраст составил $45,7 \pm 3,4$ лет). Длительность заболевания до 5 лет была у 46 (61%) пациентов, более 5 лет у 30 (39%) больных. Курили 39% мужчин и 17% женщин.

Лекарственная непереносимость в анамнезе отмечалась у 7 (54%) мужчин и у 24 (67%) женщин 1 группы ($p < 0,05$ по отношению к пациентам 3 группы), и у 1 (50%) мужчины и 9 (64%) женщин 2 группы. В 3 группе у пациентов не встречалось лекарственной непереносимости. У женщин лекарственная непереносимость чаще всего отмечалась к антибактериальным препаратам (пенициллины, цефалоспорины) – в 22% случаев, к местным анестетикам (новокаин, лидокаин) и витаминам (группы B, никотиновой кислоте) – по 20%, к препаратам кальция (кальция хлорид) – в 13% случаев. У мужчин чаще всего лекарственная непереносимость была к нестероидным противовоспалительным препаратам (аспирин, кеторол) и анальгетикам (анальгин, баралгин) – по 14% случаев, к эуфиллину в 9% случаев.

Результаты оценки сенсibilизации к бета-лактамам антибиотикам у больных БА представлены в таблице 2.

Таблица 1

Степень тяжести БА у больных сравниваемых групп (в абс. значениях и процентах)

Группы	Формы БА	Средняя степень тяжести БА (n=38)		Тяжелая степень тяжести БА (n=38)	
		мужчины	женщины	мужчины	женщины
1	Смешанная	5 (10%)	18 (37%)	8 (16%)	18 (37%)
2	Аллергическая	2 (13%)	9 (56%)	0	5 (31%)
3	Неаллергическая	3 (27%)	1 (9%)	4 (37%)	3 (27%)

Таблица 2

Показатели сенсибилизации к бета-лактамам антибиотикам у больных сравниваемых групп (в абс. значениях)

Группы	Формы БА	Пенициллин	Цефалоспорины			Карбапенемы
			I поколения	II поколения	III поколения	
1	Смешанная	9*	13*	12*	7	16*
2	Аллергическая	3*	3*	3	0	6*
3	Неаллергическая	1*	4	3*	1	3*
Контрольная группа		5	6	0	1	0

Примечание: * – статистически достоверные различия по сравнению с данными у здоровых доноров (контрольная группа).

Установлено, что сенсибилизация к бета-лактамам антибиотикам (определяемая в 50% базофилов и более) имела у 28 (57%) пациентов 1 группы ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой). Из них 9 мужчин и 19 женщин. У 10 (63%) больных 2 группы (1 мужчина и 9 женщин) и у 4 (36%) пациентов 3 группы (3 мужчин и 1 женщина).

Так, у пациентов 1 группы самая высокая частота сенсибилизации отмечалась к карбапенемам (57%) и к цефалоспорином I поколения (46%). У больных 2 группы наиболее часто сенсибилизация выявлялась к карбапенемам (60%), а также к пенициллину, цефалоспорином I и II поколений (по 30%). В 3 группе сенсибилизация установлена к цефалоспорином I поколения (100%), а также к цефалоспорином II поколения и карбапенемам (по 75%). В контрольной группе сенсибилизация наблюдалась у 6 человек (29%) и была к цефалоспорином I поколения (100%), пенициллином (83%) и цефалоспорином III поколения (17%).

У пациентов 1 группы показатели сенсибилизации к пенициллину, цефалоспорином I и II поколения, карбапенемам были достоверно выше по сравнению с лицами контрольной группы ($p < 0,05$). Среди больных 2 группы установлена более высокая частота встречаемости сенсибилизации к пенициллину, цефалоспорином I поколения, карбапенемам. У пациентов 3 группы – к пенициллину, цефалоспорином II поколения, карбапенемам.

Сенсибилизация к пенициллину была определена у 12 больных БА. Из них у 3 пациентов выявлена моно-сенсибилизация к пенициллину, а у 9 больных, кроме пенициллина, сенсибилизация еще имела и к другим

группам бета-лактамов антибиотиков: к карбапенемам в 6 случаях, к цефалоспорином I поколения в 3 случаях, II поколения – в 2 случаях, III поколения – в 1 случае.

Во всех группах у мужчин чаще выявлялась моно-сенсибилизация, а у женщин полисенсибилизация ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что сенсибилизация к бета-лактамам антибиотикам у больных БА была достоверно выше ($p < 0,05$), чем у лиц контрольной группы, и значима для пенициллинов, цефалоспоринов I и II поколения, карбапенемов, хотя также имела и к цефалоспорином III поколения. Достоверно чаще она встречалась в группе больных смешанной БА.

Как известно, серьезной проблемой является риск развития у больного перекрестных реакций на разные представители бета-лактамов антибиотиков (прежде всего пенициллины с цефалоспорином и карбапенемами) [11]. Перекрестная аллергическая реакция может стать причиной развития повторной аллергической реакции, которая может повлечь тяжелые последствия (вплоть до летального исхода) [4].

В нашем исследовании наиболее часто перекрестные реакции отмечены у пенициллина с карбапенемами (50%), а также с цефалоспорином I поколения (25%).

Таким образом, проведенное исследование позволило оценить спектр и распространенность сенсибилизации к бета-лактамам антибиотикам у больных БА и определить частоту перекрестных реакций к пенициллину внутри этой группы антибиотиков.

Выводы

1. Лекарственная непереносимость в анамнезе отмечалась у больных смешанной и аллергической формой БА, у пациентов с неаллергической астмой лекарственной непереносимости не встречалось.
2. У женщин лекарственная непереносимость в анамнезе чаще всего отмечалась к антибактериальным препаратам, местным анестетикам, витаминам и препаратам кальция. У мужчин – к нестероидным противовоспалительным препаратам, анальгетикам и эуфиллину.
3. Сенсibilизация к бета-лактамам антибиотикам статистически достоверно чаще встречалась в группе больных смешанной формой БА.
4. Сенсibilизация к бета-лактамам антибиотикам у больных БА была статистически достоверно выше, чем у лиц контрольной группы. Среди больных смешанной формой БА установлена более высокая частота встречаемости сенсibilизации к пенициллинам, цефалоспорином I и II поколения, карбапенемам; в группе пациентов с аллергической формой астмы – к пенициллинам, цефалоспорином I поколения, карбапенемам; в группе больных неаллергической БА – к пенициллинам, цефалоспорином II поколения, карбапенемам.
5. Во всех группах у мужчин статистически достоверно чаще выявлялась моносенсibilизация, а у женщин – полисенсibilизация.
6. Наиболее часто перекрестные реакции отмечены у пенициллина с карбапенемами (50%), а также с цефалоспорином I поколения (25%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Лекарственная гиперчувствительность при оперативных вмешательствах / Н.Г.Астафьева, Д.Ю.Кобзев, Е.Н.Удовиченко, И.В.Гамова, И.А.Перфилова // Леч. врач. 2011. №4. С.6–12
2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы. Пересмотр 2011 г. / под ред. А.С.Белевского. М.: Российское респираторное общество, 2012. 108 с.
3. Проточная цитометрия в медицине и биологии / А.В.Зурочка, С.В.Хайдуков, И.В.Кудрявцев, В.А.Черешнев. Екатеринбург: УрО РАН, 2013. 552 с.
4. Лекарственная аллергия. Методические рекомендации для врачей (часть 2) / Н.И.Ильина, Т.В.Латышева, Т.Н.Мясникова, Л.В.Луисс, О.М.Курбачева, С.М.Ерохина // Рос. аллергол. журн. 2013. №6. С.25–40.
5. Колосов В.П., Манаков Л.Г., Перельман Ю.М. Скрининговая оценка хронических респираторных заболеваний: итоги реализации I этапа проекта ВОЗ-GARD на территории Амурской области // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып.46. С.8–18.
6. Ландышев Ю.С., Доровских В.А., Чапленко Т.Н. Лекарственная аллергия. СПб.: Нордмедиздат, 2010. 192 с.
7. Митин Ю.А. Лабораторная диагностика аллергических заболеваний. Методические рекомендации.

Санкт-Петербург: Светлица, 2010. 144 с.

8. Ненашева Н.М. Бронхиальная астма: карманное руководство для практических врачей. М.: Атмосфера, 2011. 96 с.
9. Скороходкина О.В., Лунцов А.В. Лекарственная аллергия при проведении антибиотикотерапии // Вестн. соврем. клин. медицины. 2013. Т.6, №3. С.60–67.
10. Степанова Е.В. Современные аспекты диагностики и лечения лекарственной аллергии // Леч. врач. 2009. №4. с.8–15.
11. Фассахов Р.С. Аллергические заболевания: что нового в терапии? // Пульмонолог. и аллергол. 2011. №1. С.52–54.
12. Diagnosis of immediate-type beta-lactam allergy in vitro by flow-cytometric basophil activation test and sulfidoleukotriene production: a multicenter study. / A.L.De Week [et al.] // J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. 2009. Vol.19, №2. P.91–109.
13. The basophil activation test in immediate-type drug allergy / O.V.Hausmann [et al.] // J. Immunol. Allergy Clin. North Am. 2009. Vol.29, №3. P.555–566.
14. Sanz M.L., Gamboa P.M., De Week A.L. Cellular tests in the diagnosis of drug hypersensitivity // J. Curr. Pharm. Des. 2008. Vol.14, №27. P.2803–2808.

REFERENCES

1. Astaf'eva N.G., Gamova I.V., Kobzev D.Yu., Udovichenko E.N., Perfilova I.A. *Lechashchiy vrach* 2011; 4:6–12.
2. Belevskiy A.S., editor. Global strategy for asthma management and prevention. Updated 2011. Moscow: Rossiyskoe respiratornoe obshchestvo; 2012 (in russian).
3. Zurochka A.V., Khaydukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A. Flow cytometry in medicine and biology. Ekaterinburg: UrO RAN; 2013 (in russian).
4. Il'ina N.I., Latsysheva T.V., Myasnikova T.N., Luss L.V., Kurbacheva O.M., Erokhina S.M. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal* 2013; 6:25–40.
5. Kolosov V.P., Manakov L.G., Perelman J.M. Screening estimation of chronic respiratory diseases: the results of realization of World Health Organization project first stage – GARD on the territory of the Amur region. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2012; 46:8–18 (in russian).
6. Landyshev Yu.S., Dorovskikh V.A., Chaplenko T.N. Drug allergy. St. Petersburg: Nordmedizdat; 2010 (in russian).
7. Mitin Yu.A. Laboratory diagnosis of allergic diseases. Guidelines. St. Petersburg: Svetlitsa; 2010 (in russian).
8. Nenasheva N.M. Asthma: Pocket guide for practitioners. Moscow: Atmosfera; 2011 (in russian).
9. Skorokhodkina O.V., Luntsov A.V. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny* 2013; 3:60–67.
10. Stepanova E.V. *Lechashchiy vrach* 2009; 4:8–15
11. Fassakhov R.S. *Pul'monologiya i allergologiya* 2011; 1:52–54.
12. De Week A.L., Sanz M.L., Gamboa P.M., Aberer

W., Sturm G., Bilo M.B., Montroni M., Blanca M., Torres M.J., Mayorga L., Campi P., Manfredi M., Drouet M., Sainte-Laudy J., Romano A., Merk H., Weber J.M., Jeremann T.M. Diagnosis of immediate-type beta-lactam allergy in vitro by flow-cytometric basophil activation test and sulfidoleukotriene production: a multicenter study. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2009; 19(2):91–109.

13. Hausmann O.V., Gentinetta T., Bridts C.H., Ebo D.G. The basophil activation test in immediate-type drug allergy. *J. Immunol. Allergy Clin. North Am.* 2009; 29(3):555–566.

14. Sanz M.L., Gamboa P.M., De Week A.L. Cellular tests in the diagnosis of drug hypersensitivity. *J. Curr. Pharm. Des.* 2008;14(27):2803–2808.

Поступила 16.03.2015

Контактная информация

*Светлана Михайловна Копейкина,
аспирант кафедры госпитальной терапии,
Амурская государственная медицинская академия,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.
E-mail: sveta944102921@rambler.ru*

Correspondence should be addressed to

*Svetlana M. Kopeikina,
MD, Postgraduate student of Department of Hospital Therapy,
Amur State Medical Academy,
95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.
E-mail: sveta944102921@rambler.ru*