

И. Я. ХАЧАТУРОВА, Ю. Н. ЗУБЖИЦКИЙ

МАТЕРИАЛЫ К ИЗУЧЕНИЮ АНТИГЕНОВ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ СТРЕПТОККОКОВ, ОБЩИХ С ТКАНЬЮ СЕРДЦА

2. Определение содержания перекрестно-реагирующих антигенов методом флуориметрии в объеме пробы в стрептококковых культурах разного происхождения

Целью настоящей работы явилось изучение и применение флуориметрического метода в объеме пробы для количественного определения перекрестно-реагирующих антигенов (ПР-антигенов) в стрептококковых культурах, выделенных от больных и здоровых людей.

Содержание проведенного исследования по разработке флуориметрического метода заключалось в следующем: подбор оптимальных условий возбуждения люминесценции проб, обработанных люминесцирующей сывороткой, и ее регистрации; определение оптимальной концентрации исследуемых культур, иммунной и нормальной промежуточных сывороток и люминесцирующей сыворотки; установление роли отмывания микробной взвеси, необходимого для удаления неспецифических белков иммунной сыворотки и избытка люминесцирующей сыворотки; определение оптимальной продолжительности и температуры инкубирования исследуемых культур с иммунной и люминесцирующей сыворотками.

Общая схема опыта заключалась в том, что испытываемые культуры обрабатывались сывороткой кролика против сердца человека, причем специфическое связывание последней выявляли с помощью непрямого метода люминесцирующих антител, используя стандартную люминесцирующую сыворотку против глобулинов кролика. На основании автоматически записанных спектров люминесценции пробы «опыт», где к взвеси высушенных клеток добавляли в качестве промежуточного звена иммунную сыворотку, и пробы «контроль», где к такой же взвеси добавляли нормальную кроличью сыворотку, вычисляли величину отношения интенсивности свечения пробы «опыт» (I_0) к интенсивности свечения пробы «контроль» (I_k) — I_0/I_k при $\lambda_{\max} = 520$ нм, представляющей собой максимальную длину волны света люминесценции контрольной и опытной проб.

На основании проведенных модельных опытов была выработана следующая методика. К взвеси высушенных микробных клеток, суспендированных в 3 мл физиологического раствора, добавляли 0,3 мл антисердечной сыворотки (опыт), разведенной 1/100, а к другой такой же взвеси вы-

сушенных клеток—0,3 мл нормальной кроличьей сыворотки (контроль) в том же разведении. Смеси инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин, после чего дважды отмывали физиологическим раствором от белков добавленной сыворотки. Отмытые клетки опытной и контрольной проб суспендировали в 3 мл физиологического раствора и добавляли по 0,3 мл люминесцирующей сыворотки, разведенной 1/6. Пробы инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин, центрифугировали, и осадки дважды отмывали от избытка люминесцирующей сыворотки. Для измерения интенсивности люминесценции взвесь микробных клеток доводили физиологическим раствором до 3 мл. По данным статистических расчетов, доверительный интервал для определения отношения $I_0/I_k = 1$ составляет $\pm 0,17$.

Флуориметрическим методом исследовали 103 культуры гемолитического стрептококка, выделенные от больных ревматизмом и ангиной, и 45 культур, полученных от здоровых людей. Для контрольных исследований использовали 23 культуры кишечной палочки и золотистого стафилококка, которые, как было предварительно установлено, не реагировали с антисердечной сывороткой. Результаты опытов показали, что культуры, способные извлекать антитела из антисердечной сыворотки, так называемые «родственные» культуры ($I_0/I_k > 1,17$), в преобладающем большинстве обнаруживались среди культур, выделенных от больных ревматизмом и ангиной, а «неродственные» ($I_0/I_k \leq 1,17$)—среди культур, выделенных от здоровых людей (в обоих случаях более 70%). Культуры с максимальным содержанием ПР-антигенов, так называемые «максимально родственные» ($I_0/I_k > 1,3$), встречались чаще среди культур, полученных от больных ревматизмом и ангиной (в 51,4 и 66,7% случаев соответственно); реже такие штаммы обнаруживались в посевах от здоровых людей (20,1%).

В результате исследований флуориметрическим методом получены результаты, позволяющие делать выводы о возможности использования его для качественной оценки содержания ПР-антигенов, а также для их сравнительной количественной оценки. Разработанный флуориметрический метод является экономичным, так как предполагает использование иммунной сыворотки в разведении 1/100; применение данного метода в непрямой модификации позволяет использовать стандартную меченую сыворотку против глобулинов кролика; техника постановки эксперимента относительно проста.

Опыт работы по определению ПР-антигенов с помощью количественного флуориметрического метода, показавшего большую эффективность при относительной простоте постановки эксперимента, позволяет проводить в дальнейшем, с целью более глубокого изучения поставленного вопроса, исследование культур в массовом масштабе.

Институт экспериментальной
медицины АМН СССР, Ленинград

Поступило 15.I 1972 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ