

УДК 612.1+612.178.2

М. Е. БАСМАДЖЯН, А. М. ХЗАРДЖЯН

НЕКОТОРЫЕ УСЛОВИЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ ХЛОРИДА ХРОМА В РЕАКЦИИ ПАССИВНОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ

Установлено, что хлорид хрома является эффективным препаратом для сенсibilизации эритроцитов и может быть с успехом использован в реакции пассивной гемагглютинации в концентрации 0,008% при времени контакта 5 минут.

В последние годы в иммунологии широко применяется один из чувствительных серологических тестов—реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) [1]. Однако вопрос об обработке эритроцитов для насадки различных антигенов в реакции РПГА все еще является дискуссионным. В настоящее время нет единой общепринятой методики в постановке данной реакции [2]. Для присоединения антигенов к эритроцитам использовали карбодиимид, сульфон, диизоцианат, танин, соли тетразолия. Конъюгация антигена с антителом при помощи хлорида хрома привлекла внимание технической простотой метода [4].

В дальнейшем хлорид хрома был использован для сенсibilизации эритроцитов различными антигенами: вирусами, белками, липопroteидами, полисахаридами и др. [3, 5, 6]. Однако данные литературы относительно оптимальных концентраций хлорида хрома и времени контакта антигена с обработанными этим препаратом эритроцитами разноречивы. Поэтому в настоящей работе нами преследовалась цель разработать наиболее эффективные условия сенсibilизации эритроцитов хлоридом хрома (CrCl_3).

Методика

Для отработки метода в качестве антигена использовали бычий сывороточный альбумин (БСА), в качестве антител—сыворотку кроликов, иммунизированных БСА. Накануне опыта испытуемые сыворотки инактивировали при 56° в течение 30 мин для устранения неспецифической гемагглютинации. Инактивированные сыворотки и раствор антигена адсорбировали взвесью эритроцитов в течение получаса, после чего взвесь центрифугировали и отсасывали надосадочную жидкость.

В предварительных опытах выбирали рабочую дозу антигена, за

которую принимали разведение антигена, обеспечивающее наибольший титр антител в РПГА.

В опытах были использованы эритроциты барана и эритроциты человека (1) 0 группы. В день опыта эритроциты отмывали три раза физиологическим раствором.

Постановка РПГА: 2,5—3% суспензию эритроцитов, раствор CrCl_3 и раствор антигена в равных объемах смешивали быстро в указанной последовательности и ставили на инкубацию. Затем смесь центрифугировали, супернатант удаляли, осадок дважды отмывали 2% раствором нормальной кроличьей сыворотки. Ко всем разведениям испытуемых сывороток прибавляли рабочую дозу антигена, нагруженного эритроцитами, при помощи CrCl_3 . Панели встряхивали и оставляли при комнатной температуре. При положительной реакции на дне лунки сенсibilизированные эритроциты образовывали перевернутый зонтик, что свидетельствовало о наличии в испытуемой сыворотке антител, гомологичных добавленному антигену.

Контролями реакции служили: 1) контроль антигена—эритроциты, нагруженные антигеном с нормальной кроличьей сывороткой и 2) контроль сыворотки—несенсibilизированные эритроциты с иммунной сывороткой.

Результаты

1. Зависимость результатов РПГА от концентрации CrCl_3 .

В связи с тем, что данные литературы об оптимальной концентрации CrCl_3 весьма разноречивы [3, 5, 6], нами для насадки использованы следующие концентрации CrCl_3 —0,008, 0,1, 1 и 2%.

Были получены приблизительно одинаковые титры в РПГА как с 0,008%, так и с 0,1% растворами CrCl_3 , однако при использовании 1% раствора CrCl_3 чувствительность реакции снижалась и часто наблюдалась неспецифическая агглютинация. При большей концентрации наблюдался полный гемолиз эритроцитов.

В связи с полученными данными мы рекомендуем использование 0,008% раствора CrCl_3 .

2. Зависимость реакции РПГА от вида использованных эритроцитов. Как известно, способность эритроцитов различных видов к адсорбции антигенов может быть неодинаковой. В связи с этим мы исследовали сравнительную способность хлорида хрома адсорбировать антиген на эритроцитах человека (1) 0 группы и барана. Опыты ставили не менее трех раз с различными сериями эритроцитов барана и человека. Результаты опытов показали, что в РПГА с успехом можно использовать не только эритроциты барана, но и эритроциты человека.

3. Влияние длительности контакта и температуры на процесс сенсibilизации эритроцитов CrCl_3 .

В литературе существуют разногласия по поводу температурного оптимума и длительности контакта используемых в реакции ингредиентов—эритроцитов, CrCl_3 и антигенов. С этой целью нами была изу-

чена возможность сенсibilизации бараньих эритроцитов и эритроцитов человека (1) 0 группы при 37° и 22° в течение 5, 10 и 30 минут. Титр антигена в РПГА не зависел от температурного режима и был одинаков в условиях 37° и 22°. Сенсibilизация эритроцитов наблюдалась при всех использованных экспозициях, что позволяет рекомендовать наименьший срок контакта—5 минут.

Необходимо отметить, что основной раствор CrCl_3 (1,58%) может храниться в течение двух недель, при этом цветовой спектр меняется от темно- до серо-зеленого. Сенсibilизированные эритроциты можно хранить в холодильнике при температуре 4° в течение двух дней.

Таким образом, проведенное нами изучение некоторых условий сенсibilизации эритроцитов при помощи CrCl_3 позволило прийти к следующему заключению: CrCl_3 является эффективным препаратом для сенсibilизации эритроцитов и может быть с успехом использован в РПГА в концентрации 0,008% при времени контакта 5 минут. В РПГА могут быть использованы эритроциты человека (1) 0 группы.

Филлал ВНИИК и ЭХ
МЗ СССР в г. Ереване

Поступила 30/III 1978 г.

Մ. Ե. ԲԱՍՄԱՋՅԱՆ, Ա. Մ. ԽԶԱՐՋՅԱՆ

ՔՐՈՄ ՔԼՈՐԻԴԻ ՄԻՋՈՑՈՎ ԷՐԻԹՐՈՑԻՏՆԵՐԻ ՍԵՆՍԻԲԻԼԻԶԱՑԻԱՅԻ
ՈՐՈՇ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐԸ ՊԱՍԻՎ ՀԵՄՈԱԳԼՈՒՏԻՆԱՑԻԱՅԻ
ՌԵԱԿՑԻԱՅԻՆ

Պարզված է, որ քրոմ-քլորիդը հանդիսանում է արդյունավետ նյութ էրիթրոցիտների սենսիբիլիզացիայի համար և կարող է հաջողությամբ օգտագործվել պասիվ հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայում (0,008% կոնցենտրացիայով և 5 րոպե էքսպոզիցիայով):

M. E. BASMAJIAN, A. M. KHZARJIAN

SOME CONDITIONS OF SENSITIZATION OF ERYTHROCYTES
WITH THE HELP OF CHLORIDE CHROME IN THE REACTION
OF PASSIVE HEMAGGLUTINATION

It is shown, that chloride chrome is an efficient drug for sensitization of erythrocytes and may be used in the reaction of passive hemagglutination in 0,008% concentration and 5 min. contact duration.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Эссель А. Е. В кн.: Реакция непрямой геммагглютинации. Л., 1965.
2. Fulk W. P., Houba J. Immunol. Met., 1973, 3, 1, 87.
3. Habicht G. S., Miller F. J. Immunol. Met., 1976, II, 1, 117.
4. Kishimoto S., Tsuyguchi J., Jamamara J. Inter. Arch. Allergy, 1968, 34, 544.
5. Mithell R. J., Welgle W. O. et al. J. Immunol., 1968, 100, 133.
6. Wellorn F. J. Kansas, 1970.