



ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТОДИКИ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА С КОРЕВЫМ АНТИГЕНОМ

Маматова М.Н., профессор СамГМУ
Рахматова М.Е., врач лаборант
Рахматова Д.С., врач лаборант
Жураев А.А., врач лаборант
Узбекистан, Самарканд.

Аннотация. По нашему опыту, значительные преимущества имеет методика РСК с коревым антигеном, при которой вместо 3% взвеси бараньих эритроцитов употребляется 0,4-0,5% взвесь и применяется капельная дозировка ингредиентов [2-5], что благодаря экономии сыворотки, а также значительно меньшей трудоемкости методики позволяет ставить реакцию с несколькими разведениями комплемента.

Ключевые слова: метод РСК, антиген, эритроцит, ингредиент, реконвалесцент.

INTENSITY OF THE COMPLEMENT FIXATION TEST (CFT) WITH MEASLES ANTIGEN

Mamatova M.N., Professor, SamSMU
Rakhmatova M.E., Laboratory Physician
Rakhmatova D.S., Laboratory Physician
Juraev A.A., Laboratory Physician
Uzbekistan, Samarkand

Abstract. In our experience, the method of RSC with measles antigen has significant advantages, in which instead of a 3% suspension of sheep erythrocytes, a 0.4-0.5% suspension is used and a drop-by-drop dosage of ingredients is applied [2-5], which, due to the savings in serum, as well as the significantly less labor-intensive nature of the method, allows for the reaction to be carried out with several dilutions of complement.

Keywords: method of RSC, antigen, erythrocytes, ingredients, convalescent.

QIZAMIQ ANTIGENI BILAN KOMPLEMENTNI BOG‘LASH REAKSIYASI (KBR) INTENSIVLIGI

Mamatova M.N., professor, SamDTU
Raxmatova M.E., laboratoriya shifokori
Raxmatova D.S., laboratoriya shifokori
Juraev A.A., laboratoriya shifokori
O‘zbekiston, Samarqand

Annotatsiya. Bizning tajribamizga ko‘ra, qizamiq antigeni bilan komplementni bog‘lash reaksiyasi (KBR) usuli muhim afzalliklarga ega bo‘lib, unda an‘anaviy 3% qo‘y eritrotsitlari suspenziyasi o‘rniga 0,4–0,5% suspenziya qo‘llaniladi hamda komponentlar tomchilab dozalash usulida kiritiladi [2–5]. Bu esa zardob sarfini tejashga, shuningdek, usulning mehnat talabchanligini sezilarli darajada kamaytirishga imkon beradi va natijada reaksiyani komplementning bir nechta suyultirish darajalarida o‘tkazishni ta‘minlaydi.

Kalit so‘zlar: KBR usuli, antigen, eritrotsitlar, komponentlar, rekonvalesent.

Введение. До введения в 1960-е годы вакцинации против кори, практически каждый человек болел корью, как правило, в детском возрасте. В результате число случаев заболевания ежегодно достигало 130 миллионов, и более 2,5 миллионов из них заканчивались летально (преимущественно среди детей) [6, 9, 10]. Несмотря на существование уже более 40 лет безопасной, эффективной и относительно недорогой вакцины, в настоящее время от кори погибает больше детей, чем от какой-либо другой вакциноуправляемой инфекции, особенно в развивающихся странах.

Получаемый в лаборатории коревой антиген обычно обладает небольшой комплементсвязывающей активностью. Поэтому методика РСК с этим антигеном должна обеспечить особо высокую ее чувствительность. В отечественной литературе мы не встречали работ, посвященных РСК с коревым антигеном. Наиболее часто реакцию ставят с 1,2 дозы комплемента и 3% взвесью эритроцитов в объеме 0,5 мл. Результат учитывают, как только в контрольных пробирках произошел полный гемолиз, т. е. примерно через 20-30 мин. Таким образом, чувствительность реакции при этой методике достигается благодаря учету связывания относительно небольшой дозы комплемента и в ряде случаев временной задержки гемолиза.

Цель исследования. Для усиления интенсивности связывания комплемента мы в некоторых случаях попытались увеличить объем антигена при неизменных объемах других ингредиентов. Работая по этой методике, мы, однако, отметили ряд ее недостатков. Указанная доза комплемента не обеспечивает надежного выбора рабочей дозы, пригодной для всех испытуемых в главном опыте сывороток. При раннем учете результат реакции весьма лабилен, он нередко меняется по истечении дальнейших 5-15 минут или при повторном испытании одной и той же сыворотки. Как известно, при кори положительное значение имеют и низкие титры антител - 1:5 - 1:2 [5,10], достаточные для обеспечения иммунитета против заболевания, что сопряжено с большим расходом сыворотки при РСК. У маленьких детей кровь обычно берут из пальца в небольшом количестве. При пробирочной же методике сыворотка расходуется неэкономно. По нашему опыту, значительные преимущества имеет методика РСК с коревым антигеном, при которой вместо 3% взвеси бараньих эритроцитов употребляется 0,4-0,5% взвесь и применяется капельная дозировка ингредиентов [2-5], что благодаря экономии сыворотки, а также значительно меньшей трудоемкости методики позволяет ставить реакцию с несколькими разведениями комплемента.

Как известно, доза комплемента, выраженная в 50% гемолитических единиц, прямо пропорциональна количеству эритроцитов в единице объема [3, 8]. Подобные же данные мы получили при определении гемолитических доз комплемента, титруемого при наличии антигенов. Применяя большие разведения эритроцитов, мы пропорционально уменьшаем «точную» дозу комплемента, что, однако, не меняет количества комплемента, связываемого при специфической реакции антигена с антителами, поскольку эта первая фаза реакции проходит в отсутствие гемолитической системы.

Табл.1

Результаты РСК с коревым антигеном В и сывороткой реконвалесцента 217-Ш при разных разведениях эритроцитов и различных объемах антигена

Разведения эритроцитов (в %)	Антиген		
	1 капля	2 капля	3 капля
	В специфической реакции антигена с антителами связано доз комплемента		
0,50	1,5	2,3	1,5
0,75	1,4	1,5	1,5
1,00	Отрицательная	Отрицательная	1,0

1,50	>	1,3	Отрицательная
------	---	-----	---------------

В результате получаем более выгодное соотношение между количеством специфически связываемого комплемента и его «точной» дозой. Это позволяет относительно увеличить рабочую дозу комплемента (выраженную в количестве «точных» доз), т. е. повысить чувствительность реакции.

Для усиления интенсивности связывания комплемента мы в некоторых случаях попытались увеличить объем антигена при неизменных объемах других ингредиентов [1, 2, 4].

В таблице отражен результат одного из опытов по установлению оптимального разведения эритроцитов и, кроме того, выбора дозы антигена. Как видно из таблицы, при применении 1,5 и 1% взвесей эритроцитов не получили удовлетворительного результата из-за того, что «точная» доза комплемента была относительно высока - специфически связанная доза комплемента оказалась равной 1 «точной» дозе или лишь немного больше ее. Наилучшие результаты получены при применении 0,5% взвеси эритроцитов и 2 капель антигена (остальные ингредиенты вводили по 1 капле). При этом соотношении в специфической реакции антиген - антитело было связано более 2 точных доз комплемента.

Для реакции мы применяем пластинки микротитратора Такачи. Ингредиенты вносят по 1 капле (антиген может быть внесен и по 2 капли) посредством приложенных к микротитратору пипеток. Объем капли 0,025 мл. Можно применять и туберкулиновый шприц с надетой иглой. На капельницу или шприц (верхний конец которого отрезают) надевают резиновый баллончик. Чтобы капли всегда были одного объема, капельницу надо держать вертикально. Чтение реакции следует проводить, просматривая пластинки снизу против окна (обязательно при дневном свете). Разведения сывороток и комплемента производим в пробирках, из которых ингредиенты вносят в лунки микротитратора. Специальными спиралями микротитратора, предназначенными для разведения ингредиентов, не пользуемся, так как, по нашим измерениям, они не переносят из лунки в лунку одинаковые количества жидкости. Пластинки в закрытой посуде (с кусочком влажной ваты для предупреждения высыхания) ставят на 18-20 часов в холодильник. В термостат (во второй фазе реакции) не рекомендуется ставить пластинки одну на другую из-за образования капель воды; их надо располагать рядом также в закрытой, увлажненной посуде.

Повышение чувствительности реакция, достигаемое применением больших разведений взвеси эритроцитов, позволяет отказаться от раннего чтения реакции. Мы оставляем пластинки в термостате на 1¹/₂-2 часа и затем на 15-30 минут при комнатной температуре. После этого результат реакции больше не меняется и ее чтение можно производить не спеша в удобное время.

Ингредиенты рекомендуется разводить не в физиологическом растворе, а в вероналовом буфере [3, 7, 8], что, по литературным данным, способствует повышению активности и стандартизации действия комплемента. Эритроциты также отмывают в буфере.

Новый или давно не бывший в употреблении коревой антиген следует предварительно проверить на антикомплементажность и комплементсвязывающую активность. Предварительное титрование комплемента и определение активности антигена можно осуществлять в двух отдельных опытах или в одном. В последнем случае реакцию рекомендуется ставить с 15 разведениями комплемента при коэффициенте разведения 1,15-1,2.

Результаты исследования. По нашему опыту, значительные преимущества имеет методика РСК с коревым антигеном, при которой вместо 3% взвеси бараньих эритроцитов употребляется 0,4-0,5% взвесь и применяется капельная дозировка ингредиентов [2-5], что благодаря экономии сыворотки, а также значительно меньшей трудоемкости методики позволяет ставить реакцию с несколькими разведениями комплемента.

Выводы. Как уже сказано, малый объем ингредиентов и небольшая трудоемкость капельного метода РСК позволяют ставить и главный опыт с несколькими разведениями

комплемента, что увеличивает достоверность результатов. Обычно мы работаем с 3-4 (до 6) разведениями; 0,6, 1, 1,5 и 2 дозы комплемента.

Список литературы.

1. Бердиярова Ш.Ш., Нажмиддинова Н.К. Важность лабораторного анализа в ПЦР. Журнал. Tadqiqotlar. UZ. - 2024. Т. 48 (1), 68-75.
2. Кадыров Ж.Ф., Ризаев Ж.А., Маматова М.Н. и др. Влияние полиморфизма полиморфизма RS8084 гена HLA-DRA на течение ВИЧ1 инфекции // Журнал теоретической и клинической медицины. Ташкент, - 2025, С. 11-17.
3. Кадыров Ж.Ф., Маматова М.Н. К морфологическому изучению базофильных гранулоцитов крови // Журнал. Tadqiqotlar. UZ. - 2024. 49 (5), 25-31.
4. Маматова М.Н. Гистологическая диагностика неэффективного эритропоэза // Ж. Бухоро Т.И. Тиббиётда янги кун. 2024, 7 (69).
5. Раев М.Б., Храмов П.В., Бочкова М.С. и др. Диагностика кори: современные подходы, проблемы // Российский иммунологический журнал. - 2017. -№ 3.- С. 474–476.
6. ВОЗ. Корь. Информационный бюллетень ВОЗ. - 2017.
7. Цвиркун О.В., Тихонова Н.Т., Ющенко Г.В., Герасимова А.Г. Эпидемический процесс кори в разные периоды ее вакцинопрофилактики // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2015. - № 2 (81).- С. 80–87.
8. Шайкулов Х.Ш., Исокулова М.М., Маматова М.Н. Степень бактериоциногенности антибиотикорезистентных штаммов стафилококков, выделенных в Самарканде // Eurasian journal of medical and natural sciences. -2023, № 3(1).
9. Всемирная Организация Здравоохранения. Руководство по лабораторной диагностике кори и краснухи // Progress in reducing global measles deaths: 1999-2004. Wkly Epidemiol Rec, 2006. 81(10): p. 90- 94.
10. WHO-recommended standards for surveillance of selected vaccine-preventable diseases. 2003, World Health Organisation, WHO/V&B/03.01.