

**ВЫЯВЛЕНИЕ
ПРОТИВОШИГЕЛЛЕЗНЫХ АНТИТЕЛ В СЛЮНЕ
В ЦЕЛЯХ РАСШИФРОВКИ
ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
НЕУСТАНОВЛЕННОЙ ПРИРОДЫ
И ДИАГНОСТИКИ ДИЗЕНТЕРИИ
У ДЕТЕЙ СТАРШЕ ТРЕХ ЛЕТ И ВЗРОСЛЫХ
МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР

Ленинградский ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
МЗ РСФСР

"УТВЕРЖДАЮ"

Зам.министра

Н.Т.Трубилин

17 января 1983

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОТИВОШИГЕЛЛЕЗНЫХ АНТИТЕЛ В СЛЮНЕ
В ЦЕЛЯХ РАСШИФРОВКИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВА-
НИЙ НЕУСТАНОВЛЕННОЙ ПРИРОДЫ И ДИАГНОСТИКИ ДИ-
ЗЕНТЕРИИ У ДЕТЕЙ СТАРШЕ ТРЕХ ЛЕТ И ВЗРОСЛЫХ

Методические рекомендации

Ленинград 1983

Методические рекомендации составлены в Ленинградском ордена Трудового Красного Знамени институте эпидемиологии и микробиологии им. Пастера МЗ РСФСР

(Директор института - Т.В.Перадзе)

УДК 576.851.49:616.935

Составители: кандидат медицинских наук Е.Н.Колесникова,
кандидат медицинских наук Т.Я.Геннадьева,
доктор медицинских наук, профессор Л.Б.Хазенсон.

А Н Н О Т А Ц И Я

В методических рекомендациях описан способ иммунологической диагностики и эпидемиологического анализа дизентерии, в основу которого положено определение наличия и классового состава противоишгемезных антител в слюне больных, переболевших дизентерией, и контактных лиц в реакции непрямой гемагглютинации, модифицированной по типу антиглобулиновой пробы Кумбса с применением моноспецифических антисывороток к иммуноглобулинам человека. Эффективность иммунологического исследования слюны и сыворотки крови практически одинакова. Описанный метод позволяет исключить взятие крови, что связано с нарушением целостности кожного покрова и опасностью парентерального инфицирования.

Метод может быть использован в научно-исследовательских институтах, а также практических лабораториях больниц и санитарно-эпидемиологических станций, занимающихся иммунологической диагностикой дизентерии и ее эпидемиологическим анализом.

Дизентерия часто протекает в виде легких, стертых, атипичных и бессимптомных форм. Это затрудняет ее выявление и дифференцировку от других острых кишечных заболеваний (ОКИ). Лабораторная диагностика данной инфекции основывается прежде всего на бактериологическом исследовании. Однако оно в ряде случаев, особенно на поздних сроках заболевания, мало результативно.

Это побуждает к разработке других методов диагностики, в частности, к определению специфических антител в биологических жидкостях обследуемых лиц. Чаще всего с этой целью используют реакцию непрямой геммагглютинации (РНГА). Как правило, испытанию подвергают сыворотку крови (1,5,6). В то же время наличие противоишгеллезных антител документировано в экстрактах фекалий, смывах со стенок толстой кишки и слюны (2,3,4,7). Из перечисленных биологических жидкостей наиболее удобна для иммунологического анализа слюна. Это тем более оправдано, что по специфичности и частоте регистрации антительного сдвига слюна не уступает сыворотке крови (3). Установлено, что титры противоишгеллезных антител в слюне достоверно отличаются от уровня здоровых с 4-5-го дней болезни. Пик обычно регистрируют на 2-й неделе, затем титры постепенно снижаются, но в ряде случаев сохраняются у переболевших в течение нескольких месяцев. Максимального уровня в слюне достигают антитела класса $Ig A$. Уровень и частота в выявления $Ig G$ - антител ниже, а $Ig M$ - антитела встречаются очень редко.

ются очень редко.

Простота взятия и обработки слюны, совпадающие результаты ее иммунологического исследования на противошигеллезные антитела с испытанием в обычной и модифицированной РНГА сыворотки крови, делает упомянутый внешний секрет удобным материалом для диагностики и расшифровки ОКИ не установленной природы. Иммунологическое исследование слюны на антитела к шигеллам целесообразно проводить у больных острой клинической дизентерией и больных прочими ОКИ, а также у контактных из очагов дизентерии в динамике с интервалом 6-7 дней.

МАТЕРИАЛЫ И АППАРАТУРА

1. Микротитратор Такачи.
2. Рефрижераторная центрифуга ЦДР-1.
3. Центрифуга ЦДС-2.
4. Подвески к центрифуге ЦДС-2.
5. Насос водоструйный или электростасыватель хирургический переносной.
6. Термостат.
7. Замораживающий холодильник на -20°C или бытовой холодильник с морозильной камерой.
8. Пробирки стеклянные емкостью 20 мл и центрифужные емкостью 10 мл.
9. Пробирки из синтетических материалов емкостью 5 и 10 мл к ротору углового типа скоростной насадки

центрифуги ЦДР-1.

10. Пипетки пастеровские.
11. Пипетки мерные емкостью 1 мл, 2 мл и 10 мл.
12. Забуференный изотонический раствор хлорида натрия рН 7,2-7,4.
13. Человеческие эритроциты 0 группы или бараньи эритроциты.
14. Раствор Олсевра или 2,5% раствор лимоннокислого натрия.
15. Антигены шигеллезные лиофилизированные.
16. Моноспецифические антисыворотки к иммуноглобулинам А и G человека.
17. Стандартные пластины полистироловые с лунками.

М Е Т О Д И К А

Взятие и обработка слюны. Слюну собирают без стимуляции из ротовой полости в стерильные стеклянные пробирки в количестве 3-5 мл (натощак или спустя 1,5-2 ч. после еды). Пробы после взятия центрифугируют 1 ч. при 4°C и 5000 об/мин. (При центрифугировании слюны следует соблюдать указанный температурный режим, так как обработка в обычных условиях приводит к потере антительной активности слюны. Описанную процедуру можно заменить замораживанием слюны после взятия; перед анализом пробу размораживают при комнатной температуре - при этом осадок отделяется спонтанно, а надосадочную жидкость испытывают на

антитела). Надосадочную жидкость отделяют и хранят при -20°C , либо в морозильной камере бытового холодильника. Перед опытом пробы размораживают при комнатной температуре и прогревают 30 мин. при 56°C .

При транспортировке пробирки со слюной помещают в термос со льдом.

Сенсибилизация эритроцитов. В качестве антигенов используют свежеприготовленные эритроцитарные диагностикумы. Можно использовать также коммерческие эритроцитарные диагностикумы производства Московского и Ленинградского НИИВС. Для сенсибилизации эритроцитов применяют неочищенные или химические (очищенные) антигены. В качестве неочищенных антигенов используют надосадочную жидкость кипяченных в течение 2 ч. взвесей (40-50 млрд. бактерий в 1 мл) соответствующих шигелл в изотоническом растворе (для сенсибилизации эритроцитов надосадочную жидкость разводят 1:5). Химические антигены получают по методу Вестфала воднофеноловым способом. Для получения рабочего разведения антигена 100-200 мкг препарата разводят в 10 мл изотонического раствора, полученную смесь кипятят 2 ч. на водяной бане.

Для сенсибилизации используют бараньи или человеческие эритроциты 0 группы. Кровь берут в стерильную пробирку, содержащую равный объем раствора Олсевера или 2,5% раствор цитрата натрия. В этой смеси эритроциты сохраняют жизнеспособность при 4°C в течение 2-3 нед. Эритроци-

ты перед сенсобилизацией трижды отмывают десятикратным объемом изотонического раствора центрифугирование 5 мин, при 1000-1500 об/мин. Из отмытых эритроцитов готовят 10% взвесь, смешивают с антигенами в рабочем разведении в соотношении 1:1, инкубируют 45 мин. при 37⁰С, после чего сенсобилизированные эритроциты трижды отмывают изотоническим раствором от избытка антигена. Затем готовят 10% взвесь, которая может храниться 2 нед. при 4⁰С.

Если диагностикум готовят из бараньих эритроцитов, то слюну необходимо ими предварительно адсорбировать. Для этого прогревают слюну на водяной бане 20 мин. при 56⁰С, добавляют осадок трижды отмытых изотоническим раствором нативных бараньих эритроцитов (0,1 мл осадка эритроцитов на 1 мл слюны), тщательно перемешивают и инкубируют 30 мин. при 37⁰С. После этого смесь центрифугируют, надосадочную жидкость отделяют и испытывают на антители.

Обычно слюну исследуют по крайней мере с тремя антигенами, полученными из шигелл Зонне, Флексиера и ЭПКП OIII.

Постановка обычной РНГА. Эритроциты, сенсобилизированные тем или иным антигеном, агглютинируются в солевой среде, если в испытуемой биологической жидкости содержится гомологичный антители. Образующийся комплекс антиген-антители выпадает в осадок. Испытуемые пробы слюны разводят с коэффициентом 2 в изотоническом растворе в 4 образных лунках пластин прибора Такачи в объеме 0,025 мл. В первую лунку помещают цельную слюну. Для постановки

опыта с каждым антигеном необходимо приготовить не менее двух одинаковых рядов разведений слюны, так как после учета результатов обычной РНГА в обоих рядах, один из них обрабатывают антисывороткой к IgA, второй - к IgG (антисыворотку к IgM при испытании слюны использовать нецелесообразно из-за крайне редкого обнаружения IgM - антител). При постановке опыта с двумя и более антигенами для экономии времени и получения воспроизводимых результатов испытываемую слюну разводят с коэффициентом 2 в лунках больших полистироловых пластин в объеме 0,2-0,4 мл. Отсюда капельной пипеткой из прибора Такачи переносят жидкость в микропластины в объеме 0,025 мл (начиная с максимального разведения). Затем в каждую лунку добавляют равный объем 1,5% суспензии эритроцитарных диагностических кумов. Полученную смесь инкубируют 45 мин. при 37°C, после чего учитывают результаты.

Каждый опыт сопровождали следующими контролями:

1) контроль несенсибилизированных эритроцитов - 0,025 мл 1,5% суспензии несенсибилизированных эритроцитов + 0,025 мл изотонического раствора;

2) контроль сенсибилизированных эритроцитов - 0,025 мл 1,5% суспензии сенсибилизированных эритроцитов + 0,025 мл изотонического раствора;

3) контроль на отсутствие спонтанной агглютинации несенсибилизированных эритроцитов исследуемым материалом: 0,025 мл исходного разведения слюны + 0,025 мл 1,5% сус-

цензии несенсибилизированных эритроцитов. При наличии гем-агглютинации в одном из контролей результаты опыта не учитывались.

Постановка модифицированной РНГА. Модифицированная РНГА ставится на основе теста Кумбса. При этом комплекс антиген (эритроцитарный диагностикум) - антитело, не выявленный визуально в обычной РНГА, обрабатывают сывороткой против антительного компонента комплекса. Для этого используют антисыворотки к тяжелым цепям отдельных иммуноглобулинов (М, G, A). В случае, если на эритроцитарном диагностикуме адсорбировались малые количества гомологичных антител, не давших видимой агглютинации, обработка указанными антисыворотками способствует выявлению этих антител (укрупнение комплекса антиген-антитело и выпадение его в осадок). В результате чувствительность РНГА повышается. Одновременно определяют иммунологический класс антител, для чего учитывают наличие гемагглютинации после добавления антисывороток в разведениях, где обычная РНГА дала отрицательный результат. Увеличение титров в 4 раза и более после добавления антисывороток к иммуноглобулинам G, M и A дает требуемую информацию.

Из лунок, где не отмечено агглютинации эритроцитарного диагностикума, удаляют надосадочную жидкость и к осадку эритроцитов приливают десятикратный объем изотонического раствора (до объема 3/4 лунки). Для этого используют пастеровские пипетки, концы которых тонко оттянуты в

виде капилляра и загнуты под углом 90° . Струю изотонического раствора направляют под давлением в середину осадка эритроцитов, чем достигается их промывка. Затем пластины прибора Такачи помещают в подвеску, которую прикрепляют к ротору центрифуги ЦДС-2 (8); центрифугируют 3-4 мин. при 1000-1500 об/мин. (при отсутствии подвесок осаждение эритроцитов можно проводить, оставляя пластины на столе при комнатной температуре на 35-45 минут; после спонтанного оседания эритроцитов надосадочную жидкость удаляют и отмывание повторяют еще раз). Надосадочную жидкость удаляют и отмывание осадка эритроцитов повторяют дважды. К отмытым осадкам пастеровской пипеткой с оттянутым и загнутым концом добавляют по 0,05 мл антисывороток к IgA и IgG в рабочем разведении, (антисыворотки к IgA и IgG выпускают Горьковский НИИЭМ и Московский НИИВС им.И.И. Мечникова, ИЭМ им.Гамалеи). Результат учитывают после 45-минутной экспозиции при 37°C . Класс антител определяют по наличию достоверного 4-кратного и более выраженного по сравнению с результатом обычной РНГА прироста антител к исследуемому антигену после досавления антиглобулиновых сывороток.

Все контроли, которыми сопровождалась постановка обычной РНГА, дважды отмывали изотоническим раствором и заливали 0,05 мл антисывороток к IgA и IgG в рабочем разведении. При наличии гемагглютинации в контроле опыт не учитывают. Наличие гемагглютинации в контроле (изотонический раствор + эритроцитарный диатеникум + антисыво-

ротка к IgA или IgG) показывает, что антисыворотка в рабочем разведении содержит антитела к исследуемому антигену и ее необходимо истощить соответствующим диагностикумом.

Учет результатов РНГА. Реакция положительная (+) - эритроциты покрывают дно лунки ровным слоем ("зонтик"); реакция отрицательная (-) - эритроциты скапливаются в центре лунки, образуя компактную "пуговицу" с четко очерченными краями; реакция сомнительная (+) - "пуговицу" окружает узкая область агглютинированных эритроцитов. Учитывают только положительные результаты.

Сопоставляют титры антител, обнаруженных в обычной и модифицированной РНГА в парных пробах слюны. Достоверным считают изменение титра антител к одному из антигенов в 4 раза и более по сравнению с исходным. Нарастание титра противощигеллезных антител отмечается, главным образом, в течение первых двух недель болезни, на более поздних сроках регистрируется снижение титра.

Примеры постановки диагноза на основе иммунологического анализа слюны у больных ОКИ.

Пример I. Иммунологический диагноз основан на данных обычной и модифицированной РНГА

| Проба слюны | День бо- лез- ни | Титры антител к антигенам | | | | | | | | |
|----------------|---------------------------|---------------------------|----|----|-------------|---|---|-------|-----|------|
| | | ЭПКП OIII | | | Ш и г е л л | | | | | |
| | | | | | Флекснера | | | Зонне | | |
| | | РНГА | г | А | РНГА | г | А | РНГА | г | А |
| 1 | 8 | 32 | 32 | 64 | 2 | 2 | 2 | 128 | 256 | 1024 |
| 2 | 17 | 32 | 32 | 64 | 2 | 2 | 2 | 16 | 32 | 64 |
| 3 | 28 | 16 | 16 | 32 | 2 | 2 | 2 | 8 | 8 | 16 |

В обычной РНГА отмечена динамика антител к шигеллам Зонне: с титра 1:128 до 1:16 и 1:8. В модифицированной РНГА зафиксирован максимальный сдвиг IgA-антител: с 1:1024 до 1:64 и 1:16. Диагноз: дизентерия Зонне (от больного выделены шигеллы Зонне, клинически - острая дизентерия, среднетяжелая форма).

Пример 2. Иммунологический диагноз поставлен по данным обычной РНГА

| Проба слюны | День бо- лез- ни | Титры антител к антигенам | | | | | | | | |
|----------------|---------------------------|---------------------------|---|---|-------------|---|---|-------|----|----|
| | | ЭПКП OIII | | | Ш и г е л л | | | | | |
| | | | | | Флекснера | | | Зонне | | |
| | | РНГА | г | А | РНГА | г | А | РНГА | г | А |
| 1 | 13 | 4 | 8 | 8 | 2 | 2 | 8 | 2 | 2 | 2 |
| 2 | 19 | 8 | 8 | 8 | 2 | 2 | 8 | 16 | 32 | 16 |

В обычной РНГА отмечено достоверное (16-кратное) нарастание титра антител к шигеллам Зонне. В модифицированной РНГА выявить природу антител не удалось. Диагноз: дизентерия Зонне (от больного выделены шигеллы Зонне, клинически - острая дизентерия, легкая форма).

Пример 3. Иммунологический диагноз основан на результатах модифицированной РНГА

| Проба слюны | День бо- лез- ни | Титры антител к антигенам | | | | | | | | |
|----------------|---------------------------|---------------------------|---|---|-------------|----|---|-------|----|----|
| | | ЭПКИ ОIII | | | Ш и г е л л | | | | | |
| | | РНГА | g | A | Флекснера | | | Зонне | | |
| | | | | | РНГА | g | A | РНГА | g | A |
| 1 | 5 | 4 | 4 | 8 | 2 | 8 | 2 | 4 | 16 | 16 |
| 2 | 9 | 4 | 4 | 4 | 2 | 32 | 8 | 4 | 8 | 8 |

Зафиксировано достоверное нарастание титра IgA и IgG антител к шигеллам Флекснера (от больного выделены шигеллы Флекснера, клинически - острая дизентерия, среднетяжелая форма).

Иммунологическое испытание слюны позволяет также распознавать субклинические формы дизентерии.

Таким образом, при иммунологическом испытании слюны сдвиг в уровнях противошигеллезных антител фиксируется учетом результатов обычной и модифицированной РНГА. Однако возможны ситуации, когда положительный ответ может быть

получен лишь при постановке одного из упомянутых тестов,

Интерпретация результатов. Иммунологический диагноз при исследовании слюны может быть основан: 1) на обнаружении достоверных изменений титров противоишгеллезных антител, что выявляется анализом парных проб слюны в динамике; 2) на констатации так называемого диагностического титра при однократном анализе слюны.

При исследовании в динамике (парные пробы) диагноз не представляет затруднения, если регистрируют 4-кратные и более выраженные изменения титра антител к одному из антигенов. Однако могут быть и иные ситуации. Так, возможно нарастание титра антител не к одному, а к двум и даже к трем и более взятым в реакцию антигенам. В этом случае диагностическим считают максимальный сдвиг.

Пример 4.

| Проба слюны | День бо- лез- ни | Титры антител к антигенам | | | | | | | | |
|----------------|---------------------------|---------------------------|---|---|-------------|---|----|-------|----|-----|
| | | ЭПКП ОIII | | | Ш и г е л л | | | | | |
| | | | | | Флекснера | | | Зонне | | |
| | | РНГА | г | А | РНГА | г | А | РНГА | г | А |
| I | 5 | 8 | 8 | 8 | 2 | 2 | 4 | 2 | 4 | 4 |
| 2 | 10 | 8 | 8 | 8 | 2 | 4 | 16 | 8 | 16 | 128 |

В данном случае четырехкратное изменение титра антител к шигеллам Флекснера значительно уступает 32-

кратному нарастанию титра IgA- антител к шигеллам Зонне. Кроме того, произошел 4-кратный сдвиг титра антител, выявляемых в обычной РНГА с антигеном Зонне. Диагноз: дизентерия Зонне.

Когда же нарастание титра антител к двум антигенам и более выражено в равной мере, диагноз на основании иммунологических данных не правомерен без дополнительного исследования (анализ новой пробы слюны через 4-5 дней).

Пример 5.

| Проба слюны | День болезни | Титры антител к антигенам | | | | | | | | |
|-------------|--------------|---------------------------|----|----|-------------|---|----|-------|---|---|
| | | ЭПКП OIII | | | Ш и г е л л | | | | | |
| | | | | | Флекснера | | | Зонне | | |
| | | РНГА | G | A | РНГА | G | A | РНГА | G | A |
| 1 | 5 | 8 | 8 | 16 | 2 | 2 | 4 | 2 | 2 | 4 |
| 2 | 10 | 8 | 16 | 16 | 2 | 2 | 8 | 2 | 2 | 2 |
| 3 | 15 | 8 | 16 | 16 | 4 | 8 | 32 | 2 | 2 | 4 |

В первых двух пробах слюны достоверных сдвигов в уровнях антител нет, однако на 15-й день болезни зарегистрировано достоверное нарастание титров антител к шигеллам Флекснера. Диагноз: дизентерия Флекснера.

При диагностике на основе однократного анализа слюны необходимо иметь сведения о титре противошигеллезных антител у здоровых людей, не подвергавшихся риску заражения шигеллами, живущих на данной территории и обследованных в

тот же период времени, что и больные (известно, что уровень антител здоровых варьирует в зависимости от конкретной эпидемиологической ситуации). Диагностическим титром считают максимальный титр антител у здоровых людей, зарегистрированный не более чем у 5% обследованных лиц.

Пример 6.

IgA-антитела к шигеллам Зонне в титре 1:8 и выше выявлены в слюне здоровых с частотой $13,1 \pm 3,0\%$, в титре 1:16 - $2,6 \pm 1,8\%$, в титре 1:32 не выявлены. Диагностическим является титр 1:16, который у здоровых практически не обнаруживается ($P < 0,05$).

Полученные в настоящее время данные свидетельствуют, что испытание парных проб слюны в обычной РНГА документально подтверждает диагноз менее чем у 20% больных с бактериологически подтвержденной дизентерией и менее чем у 10% больных с нерасшифрованными ОКИ. В модифицированной РНГА эффективность иммунологической диагностики повышается. При суммарном учете результатов обычной и модифицированной РНГА диагноз совпадает примерно в 70% бактериологически подтвержденных случаев дизентерии. У больных, где прямые поиски возбудителя не дали результатов, испытание слюны в обычной и модифицированной РНГА позволяет поставить диагноз у одной трети обследованных. Однократный анализ слюны лиц из очагов дизентерии Зонне и учет диагностического титра дает возможность установить инфицирование шигеллами в 10-20%, по данным обычной РНГА, а по результатам модифициро-

ванной - у половины обследованных, где инфекция передавалась пищевым путем (высокая вероятность риска заражения), и у одной пятой - из контактно-бытовых очагов дизентерии Зоне (низкая вероятность риска заражения).

П Р И Л О Ж Е Н И Я

Определение рабочего разведения антисывороток к иммуноглобулинам. Для постановки модифицированной РНГА используют коммерческие моноспецифические антисыворотки к иммуноглобулинам человека. До начала опыта необходимо оттитровать антисыворотки на наличие в них антител к антигенам исследуемых микроорганизмов. Титры этих антител должны быть ниже рабочего разведения соответствующей антисыворотки не менее, чем в 4 раза. При значительном уровне указанных антител следует адсорбировать антисыворотки гомологичным антигеном. Для этого антисыворотку, подлежащую адсорбции, прогревают 20 мин. при 56°С и добавляют осадок эритроцитов, сенсibilизированных соответствующим антигеном из расчета 0,1 мл осадка на 1 мл антисыворотки (1:10). После тщательного перемешивания смесь инкубируют 30 мин. при 37°С, затем удаляют эритроциты центрифугированием. Рабочее разведение антисыворотки устанавливают опытным путем при титровании стандартного субстрата (слина, молоко, сыворотка крови), заведомо содержащего антитела к исследуемым антигенам. Для этого в указанных субстратах титруют антитела к изучаемым антигенам в обыч-

ной и модифицированной РНГА с использованием антисывороток к иммуноглобулинам в разных разведениях. Наибольшее разведение антисыворотки, давшее максимальный прирост титров антител, считают рабочим. Для ориентировочной оценки рабочего разведения антисывороток, используемых при постановке модифицированной РНГА, можно исходить из указанного на упаковке предельного разведения антисывороток для радиальной иммунодиффузии, которое обычно в 10-20 раз ниже рабочего разведения, применяемого для постановки модифицированной РНГА. Например, сыворотки против IgA и IgG с предельным разведением для иммунодиффузии 1:25 имеют рабочее разведение в модифицированной РНГА соответственно 1:200 и 1:500. Для выбора оптимальной дозы антисыворотки следует поставить опыт не с одним, а с двумя-тремя ее разведениями.

Обеспечение воспроизводимости метода. Воспроизводимость результатов обычной и модифицированной РНГА зависит от стандартности эритроцитарных диагностикумов и антисывороток к иммуноглобулинам. Поэтому каждую партию диагностикумов следует испытывать с одной и той же гомологичной иммунной кроличьей сывороткой (т.е. с сывороткой против ЭШКП OIII, шигелл Зонне и Флекснера). Для РНГА можно брать только такие серии диагностикума, которые дают не более двукратного колебания конечного титра антител со стандартной гомологичной антисывороткой. При длительном применении одной и той же серии диагностикума контроль с агглю-

тинирующей сывороткой необходимо ставить не реже одного раза в неделю.

При работе с новыми сериями антиглобулиновых сывороток необходимо проверять их рабочее разведение. Антисыворотки в рабочем разведении, хранящиеся при 4°C, можно использовать в течение месяца. Контроль разведения антисывороток производить не реже одного раза в неделю.

Растворы, используемые при постановке РНГА, модифицированной по типу теста Кумбса.

Раствор Олсевера: глюкоза - 2,05 г; цитрат натрия - 0,83 г; хлорид натрия - 0,42 г; растворить в 100 мл дистиллированной воды, рН довести до 6,4 добавлением 10% раствора лимонной кислоты; стерилизовать 15 мин. при 0,5 атм.

Забуференный изотонический раствор рН 7,2-7,4: хлорид натрия - 43,5 г, фосфат натрия двузамещенный - 5,67 г, фосфат калия однозамещенный - 2,04 г; растворить в 5 л дистиллированной воды.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Беликова-Алдакова В.Д., Ылмелъ Н.Ф., Жерикова А.Д. и др. - Ж. Микробиол., 1972, № 3, с.46-51.
2. Гольдерман С.И., Чернохвостова В.В., Субботина Ю.Л. и др. - Ж. Микробиол., 1977, № 1, с.26-29.
3. Колесникова Е.Н., Геннадьева Т.Я., Хазенсон Л.Б. - Ж. Микробиол., 1978, № 5, с.20-25.
4. Кузьмин С.Н., Белая М.А., Кульберг А.Я. и др. - Ж. Микробиол., 1978, № 6, с.66-71.
5. Дулуу А.В., Геннадьева Т.Я., Хазенсон Л.Б. - Тр.НИИМ им.Пастера, Л., 1968, т.33, с.288-292.
6. Солодовников Ю.П., Калашникова Т.К., Субботина Ю.Л., Бобкина С.В. - Ж. Микробиол., 1971, № 1, с.13-19.
7. Хазенсон Л.Б., Шолудько Г.С., Николаева Т.А., Геннадьева Т.Я. - Сб. Эпидемиология, диагностика и профилактика кишечных, респираторных и природноочаговых инфекций. - Л., 1975, с.35-36.
8. Хазенсон Л.Б., Кукайн Э.М., Матвеев В.А. и др. - Лаб. дело, 1977, № 9, с.507-511.

О Г Л А В Л Е Н И Е

| | Стр. |
|---|------|
| МАТЕРИАЛЫ И АППАРАТУРА..... | 5 |
| МЕТОДИКА..... | 6 |
| Взятие и обработка слюны для серологического исследования..... | 6 |
| Сенсибилизация эритроцитов..... | 7 |
| Постановка обычной РНГА..... | 8 |
| Постановка модифицированной РНГА..... | 10 |
| Учет результатов РНГА..... | 12 |
| Интерпретация результатов..... | 15 |
| ПРИЛОЖЕНИЯ..... | 18 |
| Определение рабочего разведения антисывороток к иммуноглобулинам..... | 18 |
| Обеспечение воспроизводимости результатов обыч- ной и модифицированной РНГА..... | 19 |
| Прописи растворов, используемых при постановке модифицированной по типу теста Кумбса РНГА..... | 20 |
| ЛИТЕРАТУРА..... | 21 |

ОТРЫВНОЙ ЛИСТ

учета эффективности использования методических рекомендаций по применению сляны для иммунологической диагностики и эпидемиологического анализа дизентерии

Направить в Оргметодотдел Ленинградского НИИЭМ им.Пастера (197101, ул. Мира, 14).

Утверждена заместителем министра Здравоохранения РСФСР тов.Н.Т.Трубилин

Результаты применения методических рекомендаций:

положительные _____
(количество наблюдений)

неопределенные _____
(количество наблюдений)

отрицательные _____
(количество наблюдений)

Общее количество наблюдений _____

Наблюдения проводились с _____ 198__г.

по _____ 198__г.

Подпись _____
(должность, ФИО лица, заполнившего анкету)

Подписано к печати: 25.03.83. М-34577. I к.л.
Тираж 250 экз. Зак. 44Г. Бесплатно.

РТП. Тип. ВМР. г.Павловск.