

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің 60 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары– 13: дәстүрлерді сақтай отырып, болашақты құру» атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 13: сохраняя традиции, создавая будущее», посвященная 60-летию Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина. - 2017. - Т.1, Ч.6. - С.183-186

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АФФИННОСТИ АНТИТЕЛ К АНТИГЕНУ ТОКСОПЛАЗМОЗА

Наржизитов У.М.

Токсоплазмоз – протозооз, характеризующийся разнообразием вариантов течения и полиморфизмом клинических проявлений, который в настоящее время, прежде всего, рассматривается как оппортунистическая инфекция и представляет собой актуальную медико-социальную проблему [1, 7].

Лабораторная диагностика токсоплазмоза включает комплекс лабораторных тестов [2]: прямых, направленных на выявление возбудителя, его антигенов или ДНК (паразитологический метод, реакция иммунофлюоресценции – РИФ, полимеразная цепная реакция (ПЦР)); непрямых (серологических), направленных на выявление специфических антител классов IgM и IgG в иммуноферментном анализе и антител к отдельным белкам паразита в иммуноблоте с целью подтверждения специфичности и установления фазы инфекционного процесса. В лабораторной практике приоритет в диагностике отдается серологическим методам исследования [3, 8]. Методом выбора на первой линии диагностического процесса является иммуноферментный анализ (ИФА). Стандартный подход направлен на выявление в сыворотке крови антител классов IgM и IgG к *T. gondii*. Определение точных иммунологических показателей осложняется тем, что в период течения инвазии образуются антитела различного класса, и динамика их может быть различной и несинхронной [4].

Во многих ситуациях объективность результатов диагностических тест-систем предопределяют специфичность и аффинность антител [5].

Аффинность антител – прочность связывания активных центров молекулы антитела с детерминантными (реакционноспособными) группами антигена, основная характеристика специфичности антител. Аффинность/авидность характеризует с количественной стороны специфическое сродство антител к антигену [6].

Целью наших исследований явилось подбор эффективного метода определения аффинности антител.

Для определения аффинности вместо токсоплазменного антигена в качестве модели использовали бычий сывороточный альбумин (БСА). Для иммунизации использовались 3-месячные беспородные кролики со средней массой тела $\pm 3,5$ кг. В качестве антигена для иммунизации кроликов

использовали разведение БСА с PBS*¹ (1мг/мл) как пробный антиген, для получения дальнейших результатов. Для получения иммунных сывороток кролика использовали схему 90-дневной иммунизации. В первый день иммунизации вводили подкожно разведение 0,5 мл антигена (БСА/PBS*¹ 1мг/мл) с 0,5 мл полного адьюванта Фрейнда (*Sigma*, США), на 7 день – 0,5 мл антигена с 0,5 мл неполного адьюванта Фрейнда (*Sigma*, США). На 14, 28, 42, 58, 75, 90 дни иммунизации инъецировали разведение 0,5 мл антигена на 0,5 мл однократного фосфатно-солевого буфера.

Дальнейшая работа была посвящена определению авидности антител в непрямом варианте ИФА.

Индекс авидности (ИА) антител испытуемых сывороток рассчитывают (в %) по формуле:

$$\text{ИА} = \text{ОП}_1 \times 100 / \text{ОП}_2$$

где: ОП₁ – ОП в лунках с антигенами после обработки раствором, удаляющим низкоавидные IgG;

ОП₂ – ОП в лунках с той же сывороткой, не обработанных раствором.

При определении авидности антител кролика, иммунизированного антигеном, в ИФА использовали 4,5М, 5,0М и 6,0М мочевины в двух экспозиционных временных режимах (10 мин. и 30 мин.).

Анализ полученных данных показал, что наилучшие условия для определения динамики авидности антител достигаются при обработке комплекса «антиген+антитело» 6,0 М мочевиной в течение 30 мин. экспозиции (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние 6,0 М мочевины на avidность антител кролика в ИФА при 30 мин.экспозиции

Разв е- ден ие сыв о- ротк и	Оптическая плотность реакционной среды, 492 нм											
	до иммуниза ции		7-ой день иммуниза ции		14-ый день иммуниза ции		28-ой день иммуниза ции		42-ой день иммуниза ции		58-ой день иммуниза ции	
	БМ	СМ	БМ	СМ	БМ	СМ	БМ	СМ	БМ	СМ	БМ	С М
1:10 0	0,23 1	0,1 29	0,20 6	0,28 2	1,80 8	0,73 8	2,17 9	1,23 4	2,6 14	2,16 2	2,85 9	2,1 87
1:20 0	0,11 7	0,1 12	0,29 6	0,08 0	1,35 1	0,46 3	1,64 6	0,75 6	2,7 24	1,82 4	2,51 4	2,1 59
1:40 0	0,09 5	0,0 54	0,18 8	0,05 1	1,05 0	0,26 9	1,27 2	0,41 0	2,5 11	1,80 8	2,66 6	2,0 58
1:80 0	0,08 0	0,0 49	0,11 8	0,05 0	0,74 9	0,16 5	0,92 8	0,25 2	2,3 32	1,63 2	2,57 7	1,8 11
1:16 00	0,06 4	0,0 54	0,09 0	0,05 6	0,46 7	0,15 4	0,55 1	0,16 5	2,0 97	1,27 4	2,10 3	1,3 59
1:32 00	0,05 7	0,0 53	0,06 4	0,04 6	0,25 2	0,10 8	0,32 7	0,11 3	1,7 02	0,84 4	1,68 9	0,8 47
1:64 00	0,05 3	0,0 45	0,07 1	0,04 2	0,16 9	0,08 0	0,19 9	0,10 7	1,2 27	0,50 1	1,07 2	0,5 62
1:12 800	0,05 4	0,0 61	0,06 4	0,03 6	0,11 2	0,07 3	0,12 6	0,08 2	0,6 77	0,37 4	0,66 7	0,4 23

Примечание: БМ – без мочевины; СМ – с мочевиной;

Из таблицы – 1 можно заметить, что на 14 день иммунизации показатели ОП в разведениях сыворотки крови 1:100 и 1:200 после воздействия 6М мочевины снизились от 1,808 до 0,738 и от 1,351 до 0,463, то в конце эксперимента (58 день) эти различия были менее существенными: от 2,859 до 2,187 и от 2,514 до 2,159, соответственно.

Данные полученные в ходе исследовательских работ свидетельствуют о том, что на ранней стадии болезни аффинность у иммуноглобулинов низкая, тем самым данная методика дает возможность определить период заболевания организма.

Список литературы

1. Авдеева М.Г., Кончакова А.А. Цитохимическая активность клеток лимфоцитарно- макрофагальной системы у больных хроническим приобретенным токсоплазмозом // Клин. лаб. диагностика. - 2008. - №7. - С. 32-34.
2. Андреев В.П. Токсоплазмоз: этиология эпидемиология, принципы диагностики и профилактики // Журнал ГрГМУ. 2007. № 3. С. 112-116.
Грачева Л.И. Проблема токсоплазмоза // Педиатрия. - 1999. - № 4. - С. 83-86.
NegabS.M., Al-MutawaS.A. Immunopathogenesisoftoxoplasmosis // Clin.Exp.Med. - 2003. - Vol. 3(2). - P. 84-105.
3. Перегрудова А.Б., Шахгильдян В.И., Гончаров Д.Б. Церебральный токсоплазмоз у больных ВИЧ-инфекцией //Терапевтический архив. - 2007. - Т. 79, №11,- С. 36 - 39.
4. Hitzler W.E. Screening of blood donation by hepatitis C virus polimerase chain reaction (HCV-PCR) improves safety of blood products by window period reduction / Hitzler W.E., Runkel S. // Clin.Lab. 2001. - v.47. - N5-6. -P.219-222.
5. Калачева Г.А., Тюменцев А.Т., Довгополюк Е.С. и др. Аналитический обзор эпидемии ВИЧ-инфекции в Сибирском федеральном округе в 2014 г. - Омск, 2015. - 31 с.
6. Karush F.//Ann. N. Y. Asad. Sci. – 1970. – 169. – p.56
7. Долгих Т.И. Лабораторная диагностика — основа информационного обеспечения диагностического процесса при оппортунистических инфекциях// Клин.лаб. диагностика. - 2008. - № 1. - С. 49-51.
8. Иванова Л.П., Дзуцева Ф.К., Борисенко Ю.В. Токсоплазмоз - клиника, диагностика и лечение/ / Дальневосточный Журнал Инфекционной патологии. - № 12,- С. 212-213.