

ВИЯВЛЕННЯ СТАФІЛОКОКОВИХ ЕНТЕРОТОКСИНІВ ЗА ДОПОМОГОЮ РЕАКЦІЙ ГАЛЬМУВАННЯ НЕПРЯМОЇ ГЕМАГЛЮТИНАЦІЇ

Петросова В.І.

Ужгородський державний університет, м.Ужгород

Однією з найбільш складних питань у вивченні біології стафілококів є велика різноманітність показників ферментативної і токсигенної активності цих мікроорганізмів. Вивчення ролі ентеротоксинів в етіології стафілококових захворювань і на сьогодні є важливою проблемою інфекційної патології. В останні роки, з'ясовано, здатність стафілококів, поряд з іншими токсичними субстанціями, продукувати специфічні речовини ентеротропної дії – ентеротоксини. На сьогодні відомо 5 серотипів стафілококових ентеротоксинів (СЕ) А, В, С, Д, в і пірогенного фактору F [3]. З'ясовано, що ентеротоксини мають певне значення при різноманітних патологічних процесах, однак наголос на роль стафілококів ентеротоксинів у виникненні харчових отруєнь займає основне місце у більшості наукових повідомлень [4]. Однак до цього часу нема ефективних методів виявлення стафілококів ентеротоксинів як у екстрактах харчових отруєнь, так і у культуральній рідині.

Метою наших досліджень було винайдення найбільш простих і ефективних методів ідентифікації стафілококових ентеротоксинів різних серотипів, що конче необхідно для діагностики інфекційних захворювань стаф. Етіології і особливо при фісбактеріозах стаф. Етіології, які у більшості випадків закінчуються летально при умові несвоєчасної діагностики не-раціональної антибіотикотерапії [2].

Матеріали і методи. Еталонні етеротоксигенні штами були нами отримані із лабораторії професора Бергдолл (США). Для отримання стафілококових ентеротоксинів готували бульйон

Хоттінгера, з вмістом амінного азоту 180 мг%. Змиви добової культури в об'ємі 1 мл вносили у целофанові мішечки і культивували на протязі 18-36 годин. Специфічні імунні моновалентні кролячі сироватки отримували шляхом імунізації очищеними препаратами ентеротоксинів за схемами представленими в попередніх повідомленнях. Ідентифікація стафілококових ентеротоксинів (СЕ) відбувалася за допомогою реакції непрямой гемаглютинації (РНГА) і реакції гальмування непрямой гемаглютинації (РГНГА). Контролем служили комерційні препарати (СЕ) і антитоксичних сироваток фірми "Serva".

Результати та їх обговорення. Еритроцитарні діагностикуми сенсibilізовані (СЕ) готували безпосередньо перед проведенням наукових досліджень. Фіксацію і сенсibilізацію баранячих еритроцитів проводили за загальноприйнятими методиками [1]. Для підвищення адсорбції еритроцитів останні обробляли розчином таніну в розведеній 1: 20000. Попередньо визначали робочу сенсibilізуючу дозу антигену, яка у наших дослідах дорівнювала 40 мкг/мл. Контрольні випробування різних доз комерційних препаратів (СЕ) різних серотипів специфічно реагували в реакції гемаглютинації з еритроцитарними діагностикумами які були сенсibilізовані монозональними антиентеротоксичними антитілами. Попередні дослідження які були проведені з використанням РНГА дозволили встановити, що гемаглютинуючий титор реакції дорівнює 1: 160000 СЕВ і 1: 320000 СЕА. Результати проведених досліджень представлені в Таблиці 1.

Таблиця 1

Мінімальні дози токсинів виявлені в РГНГА

Препарати СЕ	Мінімальна доза	Розведення сироватки
А	0,0045 мкг/мл	1:260000 1: 320000
В	0,0085 мкг/мл	1:80000 1: 160000

Аналіз результатів з'ясував, що 0,0045 мкг/мл СЕ серотипу А реагує з моновалентною сироваткою в межах титрів 1: 260000 - 1: 320000 і СЕВ в межах 1: 80000 - 1: 160000 з відповідною монозональною сироваткою, що складало 0,0085 мкг/мл. Реакція гальмування пасивної гемаглютинації ставиться з метою виявлення антигену у матеріалі дослідження з відомою імунною сироваткою з використанням полістиролових планшеток. В лунки вносили 0,25 мл імунної сироватки і послідовно різні розведення СЕ у дозі від 1.0 мкг/мл до 0,01 мкг/мл. Планшетки з інгредієнтами інкубували на протязі 30 хв. при кімнатній температурі після чого додавали 0,25 мл еритроцитарних діагностикумів навантажених гомологічними СЕ. Відсутність реакції гальмування гемаглютинації спостерігалася у луночках з концентрацією СЕА

0,035 мкг/мл і 0,075 мкг/мл з концентрацією СЕВ. Отримані нами еритроцитарні діагностикуми, як антитільні так і ентеротоксичні, були використані нами для визначення різних серотипів СЕ в екстрактах харчових продуктів.

Аналіз результатів отриманих при використанні РГНГА для ідентифікацій СЕ дозволив констатувати її високу чутливість і можливість виявлення незначних концентрацій ентеротоксинів. Враховуючи те, що продукування токсичних субстанцій притаманне не тільки для представників роду *Staphylococcus* вище згадано реакцію ймовірно можна рекомендувати і для ідентифікації інших білкових бактеріальних токсинів при умові наявності очищених токсичних препаратів і специфічних антитоксичних сироваток.

ЛІТЕРАТУРА

1. Армуїзаева Е.Г., Бейлбаева М.Л., Рамазанова Б.А. Использование стафилококковых энтеротоксинов и антисывороток к ним для приготовления эритроцитарных диалогностикомов // Бактериальные токсины, Москва, 1987,- с.6.
2. Дамуг М.В., Фиш Н.П. Бактериальные токсины – 1987.- с. 6
3. Езепчук Ю.В. Патогенность как функция биомолекул. М. Медицина- 1985.- с. 191.
4. Постовит В.А. Пищевые токсикоинфекции. Ленинград,- Медицина, 1984.- с. 183.

РЕЗЮМЕ

Обнаружение стафилококковых энтеротоксинов при помощи реакций торможения непрямої гемаглютинации

Петросова В.И.

Показана высокая чувствительность реакции торможения непрямої гемаглютинации для идентификации стафилококковых энтеротоксинов. Эритроцитарные диагностикомы, как антительные, так и антигенные, могут быть рекомендованы в качестве тест-систем выявлением белковых стафилококковых токсинов в пищевых продуктах.

SUMMARY

Detection of staphylococcus enterotoxins by means of the reaction of inhibition of indirect hemoglutination

Petrosova V.I.

The use of the indirect hemoagglutination inhibitory reaction for identification of staphylococcus enterotoxins enables to reveal the presence of minimal concentrations of toxins both in the liquid of the culture and in the extracts of food stuffs. The level of sensitivity of this reaction ranges within 0,35 mg/ml.