

нейтрализации токсина в культуре клеток почки зеленой мартышки (предоставлена институтом БелНИИЭМ).

С помощью тест-системы на уровень АТ к дифтерийному токсину обследовано 82 человека (38 мужчин и 46 женщин) в возрасте от 17 до 78 лет. Результаты исследования представлены в таблице.

При сравнении средних значений концентрации антител против дифтерийного токсина в исследованных группах достоверных различий не обнаружено ($P>0,05$). При сравнении частот встречаемости лиц с уровнем $AT \geq 0,03$ (защищающий титр) в группах достоверно определен более низкий процент защищенных от дифтерии в возрасте 17-25 лет ($P<0,01$) и в возрасте старше 50 ($P<0,05$) лет в сравнении с группой лиц в возрасте 36-40 лет.

Данные возрастные группы с низкой иммунной пролонгацией нуждаются в углубленном исследовании и при подтверждении выявленной тенденции в иммунизации дифтерийным анатоксином.

ТАБЛИЦА

Возрастная градация	N	$M \pm m$	Число обследованных с концом $AT > 0,03$ МЕ		P
			N	$P \pm m$	
17-20	8	0,0213+0,015	1	12,5%+12,5%	PA-E<0,01
21-25	6	0,0983+0,085	4	66,6%+21,08 %	PB-E<0,05
26-30	14	0,0853+0,117	9	64,3%+13,29 %	PC-E>0,05
31-35	14	0,0735+0,083	10	71,4%+12,53 %	PD-E>0,05
36-40	17	0,0986+0,123	12	70,6%+11,4%	
41-45	8	0,0485+0,087	3	37,5%+18,3%	PF-E>0,05
46-50	5	0,0661+0,1027	2	40%+24,49%	PG-E>0,05
> 50	10	0,0339+0,0127	3	30%+15,28%	PH-E<0,05

Литература:

1. Акимкин В.Г. Эпидемиологическая и иммунологическая эффективность ревакцинации против дифтерии. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии-1995г. №6, С.49.
2. Дворников В.С. Опыт применения ИФА для оценки носительства HBs-антитела вируса гепатита В и поствакцинального иммунитета в отношении коклюша, дифтерии и столбняка у населения Северной Осетии. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии-1995г, №6-С77.
3. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М. 1991.
4. Зубрицкий П.К., Блатун Е.М., Иванова М.А., Бабурина М.П. Клинико-эпидемиологические аспекты дифтерии у взрослых. Статья и тезисы докладов I итоговой научно-практической конференции г. Минск, 8-9 апреля 1998. - С.135.
5. Капитулец С.П., Якуба А.И., Дрозд Н.В., Фидаров Ф.М., Колодкина В.Л., Бурденко Т.В., Костепевич А.В. Напряженность коллективного иммунитета населения Смолевичского района к дифтерии и столбняку. Современные проблемы инфекционной патологии человека (эпидемиология, клиника,

микробиология, вирусология и иммунология): Статья и тезисы докладов I итоговой научно-практической конференции г. Минск, 8-9 апреля 1998. - С.133.

6. Кретова С.В. Белова Г.Ю., Римжа М.И. К анализу заболеваемости дифтерией в г. Минске. Статья и тезисы докладов I итоговой научно-практической конференции г. Минск, 8-9 апреля 1998. - С.137.

7. Prospero E, Raffo M, Bagnoli M, Appignanesi R, D'Errico M.M. Diphtheria: Epidemiological update and review of prevention and control strategies. // Eur G. Epidemiol. 1997; №5-P.527-534.

*II Клиническая эпидемиология и иммунология, диагностика и лечение -
дифференциальная диагностика системных заболеваний соединительной ткани с использованием
МЕТОДА НЕПРЯМОЙ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ*

Н.Ф. Сорока, С.А. Дубень, Ю.М. Досин, В.Е. Ягор
Республика Беларусь, Минск, медицинский институт

БДАКИ/

Шинце-

Биссок,

1998-С.

205-207

Системные заболевания соединительной ткани (СЗСТ) - группа ревматических болезней, характеризующихся появлением в крови широкого спектра аутоантител и иммунных комплексов, и, как следствие, сопровождающихся развитием вторичных васкулитов и поражением жизненно важных органов и систем. Дифференциальная диагностика внутри группы СЗСТ на ранних этапах заболевания представляется весьма сложной в связи с полиморфностью и схожестью клинических проявлений данной патологии.

Цель работы. Разработка лабораторных критериев диагностики и дифференциальной диагностики СЗСТ, основанная на использовании метода непрямой иммунофлюoresценции. Задачи исследования:

1) выявление в сыворотке больных СЗСТ антинуклеарных антител (ANA), антител к ds DNA, антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA), которые связываясь со структурными компонентами клетки (мишениями) дают при использовании метода непрямой иммунофлюoresценции определенный тип свечения;

2) определение частоты выявления аутоантител при различных нозологических формах СЗСТ.

Материал и методы. Обследовано 65 больных, лечившихся в Белорусском центре ревматологии (9-ая клиническая больница). Из них - 38 больных с системной красной волчанкой (СКВ), 3 - системной склеродермией (ССД), 4 - смешанным заболеванием соединительной ткани (СмЗСТ).

Диагноз системного васкулита (СВ) доказан у четырех больных (узелковый периартериит - 2, грануломатоз Бегенера - 1, болезнь Бехчета - 1).

У двух больных был установлен диагноз ревматоидного артрита (РА), клиника которого характеризовалась отчетливыми системными проявлениями и требовала проведения дифференциальной диагностики с другими СЗСТ. У 14 больных диагноз СЗСТ был предположительным.

При выполнении исследований использованы наборы фирмы "The Binding Site LTD": 1) Нер2-cell ANA kits, включающие слайды на основе эпителиальных клеток карциномы горла, применяющиеся для выявления ANA и их титра в сыворотке больных; 2) Cptidia Luciliae ds DNA kits с критидиями, как субстратом для определения антител к двуспиральной DNA и их титра в сыворотке крови; 3) антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA) kits: этанолфиксированные нейтрофилы, являющиеся субстратом для определения ANCA, маркеров СВ.

Слайды обрабатывались, согласно методическим указаниям, сывороткой больных и моноклональными антителами к иммуноглобулину G человека, меченным флюoresценцизионатом. Оценка результатов исследования осуществлялась с помощью микроскопии в люминесцентном режиме.

Результаты и обсуждение. Характер иммунофлюoresцентного свечения анти-нуклеарных факторов, отражающий их связывание с определенным антигеном, у больных с различными нозологическими формами представлен в табл. 1.

Из представленных данных видно, что гомогенный и периферический типы свечения высокоспецифичны для СКВ. В тоже время при других нозологических

формах он выявлен только у 1 больного РА с системными проявлениями заболевания. По литературным данным [1] такой тип свечения обусловлен связыванием антинуклеарных антител с ДНК и гистонами. Мелкоокрепчатый тип свечения встречался при СКВ и смешанном заболевании соединительной ткани (СмЗСТ), клиническая картина которого имела отдельные признаки СКВ. При СКВ он ассоциируется с наличием Sm антигена, а при СмЗСТ с SS-A и SS-B антигенов. Как видно из табл. 1, для СмЗСТ характерен также крупнокрепчатый тип свечения наблюдавшийся также у больного с РА. Он свидетельствует о связывании ANA с рибонуклеопротеидом. Нуклеарный характер свечения выявлен только у больных с ССД.

Таблица 1. Типы иммунофлюоресценции ANA в обследованной группе больных

Тип свечения и антиген, с которыми он ассоциируется	СКВ	ССД	СмЗСТ	РА с системными проявлениями
гомогенный (ss-DNA, ds-DNA, гистоны)	27	—	—	1
периферический (ss-DNA, ds-DNA, гистоны)	4	—	—	—
мелкоокрепчатый (Sm, SSA)	7	—	2	1
крупнокрепчатый (RNP)	—	—	2	1
нуклеарный (нуклеолы)	—	3	—	—

У всех больных контрольной группы ($n=14$) ANA не были выявлены. В 10-ти случаях на основании клинических данных и углубленного иммунологического обследования диагноз СЗСТ был исключен. В 4-х случаях результаты клиническо-лабораторного обследования позволили поставить диагноз РА и вторичного панникулита.

В сыворотках 40 больных были определены антитела к ds DNA и ANCA. Результаты представлены в табл. 2.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что ANA определяется в 100 % случаев у больных с СЗСТ, a-ds DNA определялись у 60 % больных СКВ. У 55 % больных определялись p-ANCA, свидетельствующие о развивающихся при СЗСТ вторичных васкулитах. В трех случаях СВ выявлены типичные c-ANCA.

Таблица 2 Характеристика частоты выявления аутоантител при различных нозологических формах системных заболеваний соединительной ткани

Системное заболевание соединительной ткани	ANA	a-ds DNA	p-ANCA
СКВ	38	25	20
ССД	3	—	—
СмЗСТ	1	1	1
РА с системными проявлениями	2	1	1

Выходы:

1. Определение антинуклеарных антител и антител к ds DNA методом непрямой иммунофлюоресценции является надежным и чувствительным методом ранней дифференциальной диагностики системной красной волчанки и других системных заболеваний соединительной ткани.

2. Различные заболевания группы системных заболеваний соединительной ткани отличаются по характеру свечения антинуклеарных антител, что улучшает диагностику.

3. Определение антинейтрофильных цитоплазматических антител методом непрямой иммунофлюоресценции позволяет выявить вторичные васкулиты, развивающиеся у больных, что способствует правильной постановке диагноза и своевременной терапии.

Литература:

- Carlson A. von Muhlen, E.M.Tan. Autoantibodies in the Diagnosis of Systemic

Diseases// Arthritis and Rheumatism.- 1995.- Vol.24,N5.-p. 323-358.

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ И РЕАКЦИЯ ИММУНОДИФФУЗИИ В ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА

Л.К. Суркова, А.П. Лысенко, Т.П. Агеева, Н.С. Шпаковская
НИИ пульмонологии и фтизиатрии, БелНИИЭВ им. С.Н. Вышегорского,
Минск

В условиях ухудшения эпидемической ситуации по туберкулезу в республике и радиоэкологического неблагополучия расширение спектра нелучевых методов диагностики туберкулеза является актуальной задачей. Из числа наиболее чувствительных серологических методов все большее применение находит иммуноферментный анализ (ИФА). Его результативность зависит от используемых диагностикумов и в значительной степени от клинической формы туберкулеза, активности процесса и индивидуальных особенностей иммунного ответа. Известно, что при туберкулезе достаточно часто в крови отмечается антигенемия и циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), влияющие на результаты ИФА (М.М. Авербах, Р.Ю. Романова с соавт., 1984; Н.В. Демьяненко, А.Э. Эргешов с соавт., 1995). Считается, что обнаружение антигенов микобактерий и определение уровня ЦИК дает ценную информацию для постановки диагноза, прогнозирования течения болезни и оценки эффективности лечения.

Целью исследования явилось изучение диагностической эффективности разработанной нами иммуноферментной тест-системы «ИФА-ТУБ» для определения специфических антител и возможности использования реакции иммунодиффузии (РИД) для определения иммунного спектра сывороток крови больных различными формами туберкулеза.

Чувствительность обычных методов РИД при туберкулезе относительно не велика. (Kaplan, Chase, 1980), однако использование приема чередования лунок при постановке реакции с исследуемыми сыворотками и достаточно сильной антисывороткой к неденатурированным антигенам возбудителя туберкулеза существенно повышает чувствительность метода за счет взаимодействия в ходе иммунодиффузии антител с растворимыми иммунными комплексами и антигенами, присутствующими в исследуемой сыворотке (А.П. Лысенко, 1994).

Материал и методы исследований.

В работе использовали тест-систему «ИФА-ТУБ» ТУ РБ 60050924.001-95, реакцию ставили в соответствии с наставлением по применению. Антиген для РИД готовили ультразвуковой дезинтеграцией инактивированной фенолом бактерии *M.tuberculosis H37Rv* в культуральной жидкости.

Для получения антисыворотки бычка 7-кратно гипериммунизировали дезинтегратом бактерии в смеси с неполным адьювантом Фрейнда.

РИД ставили на стеклах 9x12 см в 1% агаре Difco с добавлением 2,5% полистиленгликоля - 115 (ПЭГ). В агаре вырезали лунки диаметром 5 мм и таким же расстоянием между центральной лункой для антигена и периферическими, в которые, чередуя заливали исследуемые пробы и антисыворотку. Реакцию учитывали через 96 ч. после промывания пластинок в 6% растворе NaCl с добавлением 2% фенола.

Материалом для исследований служили 47 сывороток крови больных различными формами туберкулеза легких и 20 сывороток крови клинически здоровых доноров.

Результаты исследований представлены в табл. 1. Чувствительность ИФА была наименьшей при очаговом ($50,0 \pm 18,8\%$) и инфильтративном туберкулезе легких ($60,7 \pm 9,4\%$). Вместе с тем, отмечалась достаточно высокая частота образования преципитатов, в том числе сыворотками, дававшими отрицательный результат ИФА ($25,0 \pm 8,3\%$).

Чувствительность ИФА повышалась в группах с более тяжелым течением туберкулеза (85,7-100%). Число сывороток, реагирующих в РИД было меньшим ($75,0-87,5\%$), чем в ИФА, однако в среднем 21,3% сывороток реагировали только в РИД, что увеличивало суммарную чувствительность до 75-100%.

Обращает внимание и тот факт, что часть сывороток образовывали преципитаты с изгибом между лункой с исследуемой сывороткой и