

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической иммунологии, и может быть использовано в серологической диагностике аденовирусной инфекции у детей.

Наиболее близким по технической сущности является способ диагностики аденовирусной инфекции путем индикации антител с использованием реакции непрямой гемагглютинации.

В три ряда лунок титрационной пластины микротитратора вносят двукратные разведения обработанного осадком нативных эритроцитов барана 0,025 мл секрета из полости носа, добавляют равный объем 1% взвеси эритроцитов сенсibilизированных антигеном аденовируса, выдерживают при 37°C в течение одного часа и производят учет. Из лунок, с осевшими эритроцитами в виде "диска" (отрицательный результат) удаляют надосадочную жидкость, вносят (1:25) нормальную кроличью сыворотку (10-кратный объем), встряхивают и центрифугируют 5 мин при 1500 об/мин. Перерастворение осадков и центрифугирование повторяют не менее 3 раз. В каждый ряд лунок с отмытыми осадками эритроцитов добавляют 0,05 мл рабочего разведения антисывороток к иммуноглобулинам человека только одного класса У, М или А. После 1,5 часовой инкубации при 37°C производят учет результатов по увеличению титра антител в лунках любого ряда по сравнению с титрами, выявленными на первом этапе. Нарастание титра антител обычно происходит в лунках с антисывороткой к иммуноглобулину А. Если в контроле выявлена агглютинация ("зонтик эритроцитов") в присутствии какой-либо антииммуноглобулиновой сыворотки У, М или А, то опыт не учитывают.

В основу изобретения поставлена задача усовершенствования способа диагностики аденовирусной инфекции у детей, в котором путем пользования и реакции пассивной гемагглютинации, обеспечивалось бы выявление противоаденовирусных секреторных антител, и за счет этого повышалась бы точность и информативность в постановке диагноза у детей с заболеваниями органов дыхания.

Поставленная задача решается тем, что в способе диагностики аденовирусной инфекции у детей, включающем забор материала, его разведения, инкубацию и выявление антител по агглютинации, согласно изобретению вводится в использование в качестве материала слюну, из которой удаляют иммуноглобулины G, а оставшиеся иммуноглобулины А смешивают с гомологичным антигеном, инкубируют и добавляют специфические антитела, а также сенсibilизированные тем же антигеном эритроциты и по наличию гемагглютинации диагностируют аденовирусную инфекцию.

Способ диагностики осуществляют следующим образом. Испытуемую слюну соединяют с 10% суспензией стафилококка в 1/15 М фосфатно-буферном растворе pH 7,2 и оставляют на 30 мин при комнатной температуре, периодически перемешивая. По истечении указанного времени пробу центрифугируют 20 мин при 10000 об/мин и отбирают надосадок. Постановку реакции проводят микрометодом, то есть в малых дозах. В лунки панели микротитратора Такачи (Венгерского производства) с помощью капельной пипетки вносят двукратное разведение слюны, обработанной суспензией стафилококка, и равный объем 0,025 мл рабочего раствора вирусосодержащего материала. Смеси оставляют на холоде до следующего дня, затем в каждую из них добавляют оттитрованную противовирусную сыворотку, выдерживают при 37°C, в течение 90 мин, затем 0,025 мл 1% взвеси сенсibilизированных эритроцитов крупного рогатого скота, приготовленной на буферном физиологическом растворе, добавляют к смеси и инкубируют при комнатной температуре 120 мин. При последовательном осуществлении всех этапов реакции агглютинация эритроцитов в разведениях слюны 1:2-1:4 указывает на наличие противоаденовирусных антител, гомологичных добавленному антигену. В контроле при замене слюны буфером эритроциты оседают в виде "диска", что свидетельствует об отсутствии этих антител.

Сущность заявляемого способа поясняется следующими примерами.

Пример 1. Больной Р., 5 лет, поступил с клиническим диагнозом бронхопневмония средней тяжести. Проводилось серологическое обследование больного. Слюну ребенка соединяют с 10% суспензией стафилококка в 1/15 М фосфатно-буферном растворе pH 7,2 и оставляют на 30 мин при комнатной температуре, периодически перемешивая. По истечении указанного времени пробу центрифугируют 20 мин при 10000 об/мин и отбирают надосадок. Постановку реакции проводят микрометодом. В лунки микротитратора вносят двукратные разведения слюны, обработанной суспензией стафилококка, и равный объем 0,025 мл рабочего раствора вирусосодержащего материала. Смеси оставляют на холоде до следующего дня, затем в каждую из них добавляют оттитрованную противовирусную сыворотку, выдерживают при 37°C в течение 90 мин и 0,025 мл 1% взвеси сенсibilизированных эритроцитов крупного рогатого скота, приготовленной на буферном физиологическом растворе, затем добавляют к смеси и инкубируют при комнатной температуре 120 мин. Полученные титры реакции составили 1 : 2, то есть получено серологическое подтверждение аденовирусной инфекции.

Пример 2. Ребенок Б., 8 лет, поступил в клинику с проявлениями ОРВИ (острой респираторной вирусной инфекцией), бронхит. Проводилось серологическое обследование ребенка аналогично примеру 1. Титр противовирусных антител в этом случае составил 1 : 4. Диагноз аденовирусной инфекции подтвержден и обнаружением аденовирусного антигена в клетках цилиндрического эпителия иммунофлуоресцентным методом.

Пример 3. Ребенок Л., 9 лет. Клинический диагноз обострение хронического бронхита. Проводилось серологическое обследование ребенка аналогично примеру 1 с предварительной обработкой слюны суспензией стафилококка. Титр противовирусных антител составил 1 : 2, что указывает на наличие аденовирусной инфекции у ребенка.

Предлагаемым способом было обследовано 48 больных детей. У 12 детей титр противовирусных антител составил 1:2-1: 4, что позволяет диагностировать аденовирусную инфекцию при сходной клинической картине и сходных данных анамнеза.

Таким образом, использование предлагаемого способа позволяет упростить постановку реакции по сравнению с прототипом, повысить точность диагностики, а также осуществлять массовые обследования детей.