

Винахід відноситься до галузі медицини та імунології, зокрема, до серологічних методів діагностики інфекційних хвороб стафілококової етіології.

Відомий спосіб діагностики захворювань стафілококової етіології, такий як висів гнійного ексудату на поживне середовище, з подальшим інкубуванням та ідентифікацією виділених мікроорганізмів, що займає кілька днів і є достатньо трудомістким [2].

Більш близьким до запропонованого винаходу є спосіб діагностики з використанням корпускул стафілококу та сироватки хворих - реакція аглютинації [3]. Але реакція аглютинації триває не протязі 18 - 24 годин. Крім того, вона лише орієнтовно може дати відповідь про наявність стафілококової інфекції і потребує подальшого підтвердження іншими методами.

Завданням винаходу є здійснення способу серологічної діагностики інфекцій стафілококової етіології шляхом введення розчину пептидоглікану стафілококу як антигену, що приводить до скорочення часу ідентифікації та можливість експресної візуальної ідентифікації.

Діагностичний наслідок поставленого завдання досягається тим, що при здійсненні способу діагностики локалізованих інфекцій стафілококової етіології спочатку одержують розчинний імунний комплекс пептидоглікан-специфічні антитіла, який потім виявляється після додавання стафілококового реагенту, що містить білок А, який неспецифічно взаємодіє з Fc фрагментом імуноглобулінів класу G, внаслідок його аглютинації [1, 4].

Технічний результат досягається тим, що в способі серологічної діагностики інфекцій стафілококової етіології згідно винаходу використовується досліджувана сироватка крові хворого, яку змішують з 0,01% розчином пептидоглікану *Staphylococcus aureus* у співвідношенні 1:1 (табл. 1, 3). Вибір співвідношення сироватки та розчину пептидоглікану обумовлений аліквотами взаємодіючих факторів (пептидоглікану та антитіл сироватки). Потім інкубують при 37 - 40°C 15 - 30 хвилин. Вибір температурних меж та часу обумовлено можливістю проходження реакції антиген-антитіло (табл.2).

Потім добавляють 10%-ну суспензію клітин *Staphylococcus aureus* штаму Wood-46 у співвідношенні 1:1 та знову інкубують при 37 - 40°C 15 - 30 хвилин, що обумовлено проходженням реакції зв'язування антистафілококових антитіл з корпускулярними *Staphylococcus aureus* штаму Wood-46. Після інкубування клітини стафілокока осаджують центрифугуванням, а надосадову речовину використовують для проведення реакції на скельці, змішуючи її у кількостях 0,02 - 0,05мл з 0,02 - 0,05мл стафілококового реагенту, що обумовлено аліквотами взаємодіючих факторів та проводять облік реакції на протязі 1 - 15 хвилин.

Введення розчину пептидоглікану *Staphylococcus aureus* до сироватки крові хворого, та подальше змішування та інкубування дає можливість провести з'єднання пептидоглікану з специфічними антитілами.

Введення штаму *Staphylococcus aureus* Wood-46 з подальшим інкубуванням дозволяє відібрати антистафілококові але ні антипептидогліканові антитіла з досліджуваної системи.

Введення стафілококового реагенту дозволяє зробити систему візуально помітною.

У відомих технічних рішеннях використання пептидоглікану стафілокока як антигена для серологічної експрес-діагностики інфекцій стафілококової етіології нами не знайдено.

Таблиця 1

Залежність результату реакції від концентрації пептидоглікану при дослідженні сироваток хворих та здорових людей

| Концентрація пептидоглікану | % позитивних реакцій з сироватками хворих | % позитивних реакцій з сироватками здорових |
|-----------------------------|---|---|
| 0,0001 | 55 + 3,4 | 0 + 0 |
| 0,001 | 100 + 5,1 | 10 + 0,43 |
| 0,01 | 100 + 4,3 | 32 + 0,21 |
| 0,5 | - | 42 + 0,33 |

Таблиця 2

Залежність результату реакції від часу інкубування розчину пептидоглікану з сироватками крові хворих

| Час інкубування (хвилини) | % позитивних реакцій |
|---------------------------|----------------------|
| 5 | 15 + 2,1 |
| 10 | 36 + 2,9 |
| 15 | 87 + 4,6 |
| 20 | 100 + 9,2 |
| 25 | 100 + 7,8 |
| 30 | 100 + 6,3 |
| 35 | 100 + 7,8 |
| 40 | 100 + 7,5 |

Таблиця 3

Залежність результату реакції від співвідношення розчину пептидоглікану та сироваток крові хворих на стафілококову інфекцію

| Співвідношення сироватки та пептидоглікану | % позитивних реакцій |
|--|----------------------|
| 1:1 | 100 + 7,8 |
| 1:2 | 87 + 3,2 |
| 2:1 | 89 + 4,1 |

У даній сукупності ознак з використанням стафілококового реагенту, штаму *Staphylococcus aureus* Wood-46 та сироватки крові хворого пептидоглікан виступає в ролі специфічного діагностикума. Ця сукупність ознак дає можливість досягнути візуальної експрес-ідентифікації. Відомі технологічні рішення дають можливість проводити ідентифікацію стафілококових інфекцій на протязі 18 - 24 годин й більше. Спосіб, що пропонується є експресним і дозволяє проводити ідентифікацію на протязі 1 - 2 годин, з моменту одержання сироватки хворого.

Приклад конкретного виконання способу:

0,1мл сироватки крові хворого змішували в пробірці з 0,1мл 0,01% розчину пептидоглікану стафілокока (табл.1). Інкубували в термостаті при 37°C 20 хвилин, потім додавали 10%-ну суспензію клітин *Staphylococcus aureus* штаму Wood-46 у співвідношенні 1:1 та знову інкубували при 37°C 15 - 30 хвилин. Потім клітини стафілокока осаджували центрифугуванням при 6 тис. об/хв., а надосадову рідину використовували для проведення реакції. Для цього на обезжирене етиловим спиртом скельце наносили 0,03мл надосадової рідини та 0,03мл стафілококового реагенту, змішували погойдуванням скельця, та проводили облік реакції через 5 хвилин. Результат реакції - відмічені аглютинанти.

Одночасно реакція супроводжувалася 2 контролями:

1) Контроль сироватки - брали сироватку здорової людини і реакцію ставили за таких же умов.

2) Контроль реагенту - брали фізіологічний розчин замість сироватки і проводили такі самі операції, що і з сироватками.

В обох контролях реакція аглютинації негативна, тобто аглютинанти не утворювались.

Використання запропонованого способу діагностики інфекцій стафілококової етіології забезпечує такі переваги в порівнянні з відомими способами: суттєво прискорюється постановка та облік реакції, не потребується складна апаратура, спосіб дозволяє виявляти антитіла до пептидоглікану стафілокока

Джерела інформації:

1. Глинн А., Стьюард М. Структура и функции антител // М.: Мир, 1983. — С. 198.
2. Кузьминский С.Н., Знаменский В.А., Чайковская В.Л. и др. Идентификация коагулазоотрицательных стафилококков при ведении диагностических исследований // Лабор. дело, — 1981, № 8, — С. 498 - 501.
3. Тимофеева Г.А., Кротова Т.А., Смирнова А.И. и др. Применение антистафилококкового γ -глобулина, антистафилококковой плазмы и иммунной крови доноров в комплексной терапии стафилококковой инфекции у детей первого года жизни // Педиатрия. — 1978. № 10. — С. 18 - 22.
4. Kronvall G. Interactions between staph. Protein A and γ -globulins. — Lund, 1971, — 41p.