

616-078.734

PŘÍSPĚVEK K NEPŘÍMÉ IDENTIFIKACI NĚKTERÝCH BAKTERIÁLNÍCH ANTIGENŮ

Kapitán MUDr. Miroslav ŠPLIŇO, plukovník doc. MUDr. František KYNTERA, CSc.
Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEP v Hradci Králové

Aglutinace jako sérologická reakce, v níž korpuskulární antigen (aglutinogen) se sráží specifickou protilátkou (aglutininem) v přítomnosti elektrolytu (NaCl fyziologického roztoku), má široké užití v mikrobiologické diagnostice.

Identifikace neznámého antigenu pomocí sér se známými specifickými aglutininy je velmi významná pro polní podmínky, kde je indikována pokud možno rychlá, byť i orientační diagnóza. Odtud také pramení snaha právě tyto metody poznávat a umožňovat jejich využití v jmenovaných podmínkách. Je snaha o zjednodušení vlastního provedení, o urychlení diagnostického procesu a také o zvýraznění vizuálního efektu reakcí.

Právě tento požadavek byl středem našeho tříletého výzkumného zájmu, z něhož vyjímáme jen stručný závěr. Metodické podrobnosti jsou publikovány v příslušné závěrečné zprávě, částečně ve Sbornících vědeckých prací VLVDŮ.

Povrchově aktivních částic (polystyrén, alizarín, bentonit, kaolín, uhlové prachy, antrachinon aj.) lze použít k fixaci specifických protilátek (1, 2, 3, 4, 6, 7, 12, 13). Protilátky fixované na povrch částic si zachovávají specifitu a schopnost reagovat s homologním antigenem (1, 2, 3, 4, 5, 7, 12, 13). Takto senzibilizovaných částic možno s výhodou použít ke zcitlivění reakce antigen — protilátka. V praxi se nabízí využití reakce k nepřímé diagnostice bakteriálních zárodků v suspenzi nebo v orgánech zvířat i kadaverů (1, 5, 6).

V práci jsme použili tři druhy povrchově aktivních látek: uhlové prachy o velikosti částic 1 — 2 μ ; částice sazí GTG a HAF o velikosti částic 25 — 40 μ ; polystyrénové částice 0,80 a 0,81 μ . Na povrch částic jsme fixovali specifické protilátky některých pasteurel (*Pasteurella pestis* EV, *P. tularensis*, *P. multocida*, *P. haemolytica* a *P. pseudotuberculosis*) i jiných mikrobu. Sus-

penze takto senzibilizovaných částic jsme používali do aglutinační (koaglutinační, aglomerální) reakce s korpuskulárními antigeny pasteurel. Pozitivní reakce je charakterizována shlukováním částic a vyčerením suspenze.

Při použití čistých kultur pasteurel jako antigenů jsme prokazovali pasteurely v aglutinační reakci s citlivostí 10^6 zárodků ve vlastní reakci (10^7 zárodků/1ml suspenze). Stejných výsledků jsme docílili při detekci pasteurel i jiných mikrobů (šigely, salmonely) ve smíšených kulturách s *E. coli* a *P. vulgaris* v poměru 1:1 až 1:5, pokud k vysycení povrchově aktivních částic bylo použito hyperimunních globulínů. S přibývajícím množstvím heterologního kmene v suspenzi citlivost reakce klesá.

Ve slezinách myšek uhynulých 12. až 17. den po aplikaci čistých i smíšených kultur pasteurel s *E. coli* a *P. vulgaris* v poměru 1:1 až 1:3 jsme pasteurely detekovali ve 100 % (částice vysyceny hyperimunními globulíny). V játrech se dařil průkaz ve 45 — 63 %. Pasteurely bylo možno prokázat také v plicích, ledvinách, lymfatických uzlinách i v hemorrahickém exsudátu.

Ve skupinách myšek, které přežily po dobu 30 — 50 dnů po aplikaci čistých a smíšených kultur pasteurel s *E. coli* a *P. vulgaris* (v poměru 1:1 až 1:3), byly ve slezinách identifikovány pasteurely ve 49 — 90 %, v játrech ve 24 — 63 %.

V zahnívajících kadaverech myšek (slezina, játra) lze rovněž úspěšně prokazovat antigeny pasteurel a jiných mikrobů. Při používání globulínů vázaných na částice byly identifikovány antigeny pasteurel téměř ve 100 % ve slezinách. Výsledky se vztahují na myšky a morčata, které uhynuly 15. — 20. den po aplikaci čistých a smíšených kultur. U skupin přežívajících zvířat po dobu 50 dnů po aplikaci pasteurel byly identifikovány antigeny pasteurel ve slezinách ve 45 — 84 %

Souhrn

Vysoká specifická a práh citlivosti aglutinačních sklíčkových reakcí jsou podmíněny fyzikálně chemickými vlastnostmi částic a titrem specifických protilátek. V aglutinační reakci lze identifikovat antigen pasteurel a jiné mikroby v čistých i smíšených kulturách, přesahuje-li množství heterologního kmene několikrát celkové množství prokazovaného kmene. Metody lze rovněž využít k identifikaci antigenu pasteurel v orgánech uhynulých, dokonce v zahnívajících kadaverech zvířat, především ve slezinách.

Metoda sklíčkové aglutinace využívající princip fixace specifických protilátek na povrchově aktivní částice je jednoduchá co do rychlosti provedení, odečítání a vyhodnocování výsledků. Lze ji vhodně využít v polních podmínkách, v terénní veterinární praxi i při práci v ohniscích nákaz.

Literatura

1. Adamov, A. K.: Svojstva antitel fixirovaných na částicích i perspektivy ich primeneniya v mikrobiologii. *Ž. Mikrobiol.* 41, 1964, 11:3—7.
2. Adamov, A. K.: Reakcija aglomerací alizarinových suspenzných aglutinínov kak metod bystrogo obnaruženija identifikacij patogenných mikrobů. *Ž. Mikrobiol.* 40, 1963, 3:84—91.
3. Adamov, A. K.: Bystryj metod indentifikacij brucel s pomoščiu alizarinových suspenzných aglutinínov. *Ž. Mikrobiol.* 42, 1965, 1:98—103.
4. Houba, V.: Několik připomínek k použití latexových částic v serologii. *Čs. Epidem.* 14, 1965, 2:120—124.
5. Jafájev, R. Ch.: Vyjavlenije čumnoj i tularemijnoj infekcii u gryzunov. *Ž. Mikrobiol.* 40, 1963, 9:93—96.
6. Jafájev, R. Ch.: Adsorbcionaja reakcija ugoľnoj aglomeracij. *Ž. Mikrobiol.* 40, 1963, 10:33—38.
7. Jafájev, R. Ch.: Diferencijacija čumy i pseudotuberkuleza gryzunov. *Ž. Mikrobiol.* 40, 1963, 5:23—26.
8. Kinsely, R., Swaney, L. M., Friedlander, H.: Selective media for the isolation of *Pasteurella pestis*. *J. Bact.* 88, 1964, 2:491.
9. Markenson, J., Shlomo Ben-Efraim: Oshall medium for identification of *Pasteurella pestis*. *J. Bact.* 85, 1963, 6:1443—1445.
10. Milner, L. V.: A technique which increases the sensitivity of antigen — antibody reaction. *Amer. J. of Clin. Path.* 45, 1966, 2:211.
11. Muraschi, T. F., Bloomfield, N., Newman, R. B.: A slide latex — particle agglutination test for trichinosis. *Amer. J. Clin. Pathol.* 1962, 37:227—231.
12. Wiedermann, G.: Zur mechanismus des Latex—testes mit bakteriellen Antigenen. *Zentbl. f. Bact. I. Orig.* 184, 1961:555—559.
13. Wiedermann, G., Reinhardt, F.: Eine neue serologische Methode zur Diagnose der Tularämie. *Zentbl. f. Bact. I. Orig.* 182, 1961: 80—85.
14. Wiedermann, G.: Anwendung des Latextestes zur serologischen Diagnostik bakterieller Infektionen. *Zentbl. f. Bact. I. Orig.* 182, 1961:108—112.