

## ТИТРЫ АНТИТЕЛ К БАКТЕРИАЛЬНЫМ АНТИГЕНАМ ПРИ ДИСБИОЗЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА

**Машарипов В.У., Сримбетова Н.А.**

**Ташкентская медицинская академия**

**кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии**

**Цель.** Изучить и оценить значение уровня сывороточных антител к антигенам условно-патогенных энтеробактерий, фагоцитарную активность нейтрофилов и уровень сенсибилизации к антигенам условно-патогенных энтеробактерий у лиц с дисбиозом кишечника.

**Материалы и методы исследования** Объектом служили 120 детей с дисбиозами толстого кишечника III-IV степени, 92 детей с диарейными заболеваниями, 50 практически здоровых детей. Предметом исследований было изучение нормальной микрофлоры толстого кишечника, изучение титра антител в сыворотке крови и копрофильтратах, антиэндотоксических антител в сыворотке крови.

В процессе выполнения научной работы были использованы бактериологические, бактериоскопические, серологические, иммунологические, ИФА и статистические методы.

**Результаты исследования.** Для достижения поставленных задач нами были исследованы дети в возрасте от 4 месяцев до 14 лет. Среди обследованных детей дисбиоз толстого кишечника III - IV степени были обнаружены у 120 детей. Они были включены в основную группу. Первую контрольную группу составили 50 практически здоровых детей. Для сравнения всех показателей основной группы были изучены дети с различными диарейными заболеваниями (2 контрольная группа): бактериальной дизентерией - 11 детей; сальмонеллезом - 57 детей; гастроинтеритами вызванными условно-патогенными энтеробактериями (*E.coli*, *Proteus sp.*, *Klebsiellae sp.*) - 52 детей. Половозрастной состав всех обследованных детей основной и обеих контрольных групп были идентичны.

Клинический диагноз диарейных заболеваний был поставлен по анамнезу жизни и болезни, клиническим симптомам и лабораторным исследованиям. Этиологический диагноз подтвержден бактериологически.

Материалом для исследования послужила сыворотка крови больных и здоровых детей. Для исследований с копрофильтратами кал брали по общепринятой методике, затем проводили разведения с физиологическим раствором. Разведенный в пробирке кал фильтровали, а копрофильтрат использовали для определения антител против УПЭ в ИФА.

Для индикации антител к антигенам УПЭ использовали ИФА. В основу метода положен принцип непрямого твердофазного иммуноферментного теста на полистероле (indirect ELISA). Результаты учитывали спектрофотометрически при длине волны 492 нм.

Приготовленные комплексные бактериальные антигены доводили до концентрации 40 мкг/мл. Эту концентрацию применяли для сенсibilизации твердой фазы - полистироловых планшетов, производства «Медполимер», РФ. После промывки сенсibilизированных антигенами иммунологических планшетов промывающим раствором и высушивания в лунки вносили исследуемые сыворотки крови, предварительно раститрованные в забуференном физиологическом растворе от 1:25 до 1:6400. Инкубировали 60 минут, промывали, вносили коммерческий реагент антитела против IgG человеческий, меченный пероксидазой хрена (конъюгат), тщательно промывали и вносили в лунки проявляющие растворы – коммерческий ОФД и пергидроль. Учет проводили визуально по окрашиванию раствора в лунках. За титр принимали последнее разведение сыворотки, дающий окраску раствора в лунке интенсивнее, чем в контрольных лунках панели (отрицательный контроль).

Результаты реакции учитывали, условно разделив их на следующие предложенные нами группы: резко положительные (титр от 1:1600 и более); положительные (титр от 1:400 до 1:800); слабopоложительные (титр от 1:100 до 1:200); сомнительные (титр от 1:25 до 1:50) и отрицательные (титр 0).

**Выводы:** 1. Установлены различия по частоте встречаемости сывороточных антител в крови у обследованных практически здоровых детей. Выявленные титры антител к антигенам УПМ (*E.coli*, *P.vulgaris*, *S.freundii*, *K.pneumoniae*, *E.aerogenes*, *E.cloacae*, *P.aeruginosae*) имели широкий диапазон разброса в среднем от 13 до 29%. Проведенное разделение групп обследованных на 5 показателей (резко положительные, положительные, слабо положительные,

сомнительные, отрицательные), в зависимости от величин титра антител крови здоровых позволяет проводить относительное нормирование.

2. Специфические антитела к антигенам УПЭ были обнаружены у 80,3% изученных детей с дисбиозом кишечника III-IV степени, ответная иммунная реакция организма с высокой частотой обнаружена у детей с ассоциацией УПЭ. Выявлено, что серонегативных показателей в 2,5-3 раза меньше, чем серопозитивных сывороток со всеми изученными антигенами УПЭ, причем для *P.aeruginosa* серопозитивных сывороток было несколько выше по отношению к антигенам УПЭ ( $p < 0,05$ ). С увеличением возраста изученных детей уровень специфического иммунитета в виде антимикробных антител достоверно возрастает ( $p < 0,05$ ).

3. Предлагаемая экспериментальная тест-система из антигенов коллекционных штаммов *E.coli* для метода ИФА отличается чувствительностью и специфичностью с разными условно-патогенными энтеробактериями.

4. У всех обследованных детей – с дисбиозом толстого кишечника, гастроэнтеритами вызванными УПЭ и практически здоровых детей – обнаружены антитела против энтеротоксина УПЭ (кроме здоровых детей до 3 лет). С увеличением возраста детей выявляемость антител повышается, показатели сомнительных и отрицательных результатов снижаются. Интенсивность образования противэнтеротоксических антител в сыворотке крови было достоверно выше у детей с дисбиозами толстого кишечника ( $p < 0,05$ ), чем у практически здоровых и больных детей гастроэнтеритами, вызванными УПЭ.

5. У детей с дисбиозом толстого кишечника появляются штаммы микрофлоры толстого кишечника, вырабатывающие протеазы иммуноглобулин разрушающей активности. Особенно это характерно для общей и тиоловой активности протеаз. Метод определения иммуноглобулин протеазной активности копрофильтратов может быть использован как дополнительный диагностический тест для диагностики дисбиоза толстого кишечника у детей.

6. Введение в курс лечения биологического препарата нормализует состав нормальной микрофлоры толстого кишечника, положительное влияние биокоррекции наблюдается и при изучении sIgA в сыворотке крови и

копрофильтратах ( $p < 0,05$ ), а также на концентрации сывороточных иммуноглобулинов - IgM, IgG и IgM ( $p < 0,005$ ).

7. При анализе результатов ИФА обнаружено, что процент серопозитивных сывороток с антигенами из УПЭ снизились от 1,9 раза до 2,7 раза. Наравне с процентом серопозитивных сывороток снизилась и интенсивность образования антител против антигенов из УПЭ.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Багрянцев В. И., Шубин Ф. Н., Цветков В. С. Опыт применения иммуноферментного анализа для диагностики псевдотуберкулеза // Вопросы микробиологии, патогенеза и лабораторной диагностики иерсиниозов: Сб. научн. тр. — Новосибирск, 2018. — С. 53 - 56.
2. Беленький Б. Г., Балтабаева М. А., Малов И. В. Оценка специфичности некоторых антигенных препаратов в иммуноферментном анализе // Иерсиниозы (микробиология, эпидемиология, клиника, патогенез, лабораторная диагностика): Тез. докл. Всесоюзн. науч.-практ. конф. — Владивосток, 2017. — С. 83 — 84.
3. Беляков И.М. Иммунная система слизистых //Иммунология. – 2017. - №4. - С.7-13.
4. Бондаренко А.В., Бондаренко Вл.М., Бондаренко В.М. Пути совершенствования этиопатогенетической терапии дисбиозов //Жур. м  
й. Валенкович Л.Н., Яхонтова О.Н. О функциональном состоянии тонкого кишечника у больных сахарным диабетом. Казан мед журн 2011; 5:  
р
6. Воробьев А.А., Абрамов Н.А., Бондаренко В.М., Шендеров Б.А. Дисбактериозы - актуальная проблема медицины //Вестник Росс. акад. мед.наук. – 2007. - №3. – С.4-7.
7. Высокочувствительный иммунохимический метод определения аутоантител к антигену эндометриальной ткани и его использование в диагностике гинекологических заболеваний /Хохлов П.П., Михнина Е.А., Калинина Н.М. и соавт. //Медицинская иммунология. – 2007. – Т.9. - №2-3. – С.268-269.
8. Гариб Ф.Ю., Шамсиев А.М., Елисеева М.Р. Иммунозависимые болезни //Ташкент, 2010.- 72 с.

9. Гвасалия М.М. Определение иммуноглобулинов с целью прогнозирования течения сахарного диабета //Метод.рек. – Тбилиси. - 2011.
10. Дарсалия И.А., Цывкина Г.И. Иммунодефицитные состояния у детей и дисбактериоз. Возможности иммунокоррекции //Материалы Дальневосточной региональной научно-практической конференции, Владивосток. - 2010. – С.11-14.
11. Иммуноферментный анализ антител к инсулину в сыворотке крови человека /Сорокина Н.В., Гаврилова Е.М., Егоров А.М. и соавт. // Лабораторное дело. – 2000. - №2. – С.25-27.
12. Иммуноферментная тест-система для определения стафилококкового энтеротоксина типа С /Флуер Ф.С., Прохоров В.Я., Веснина А.Ф., Акатов А.К. //Журнал микробиологии. – 2002. - №6. – С.65-68.
13. Иммуноферментный метод определения специфических антител в слюне больных поллинозом /Манжос М.В., Шкадов С.А., Никишин А.В. и соавт. //Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. - №5. – С.44-45.
14. Йегер Л. Клиническая иммунология и аллергология //М.: Медицина;
15. Касаткина Э.П., Воронин А.А., Тараненко Л.А. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника у детей, больных сахарным диабетом //Метод. рек. - М. - 1996.
16. Касаткина Э.П., Воронин А.А., Тараненко Л.А. Особенности микробиоценоза кишечника у детей, больных сахарным диабетом //Журн  
м  
№7. Ким К.В., Дерябин П.Н., Коральник Б.В. Эритроцитарные иммунореагенты для диагностики аутоиммунных повреждений поджелудочной железы //Лабораторное дело. – М., Медицина. – 1991. - №11. и С.44-47.
- оКоклюшный токсин и перекрестно реагирующие антигены в динамике культивирования Bordetella pertussis /Баснакьян И.А., Алексахина Н.Н., Сюндюкова С.А. и соавт. // ЖМЭИ. – М., 2007. – 6. - С.54-57.
- . Костинов М.П., Тарасова А.А., Зайцев Е.М. Содержание антител к антигенам Bordetella pertussis у пациентов с ревматическими заболеваниями

//ЖМЭИ. – М., 2007. – 6. С.61-64.

. Ковальчук Л.Р., Чередеев А.Н. Актуальные проблемы оценки иммунной системы человека на современном этапе //Иммунология. – 2000. – №5. – С.4-7.

. Куваева И.Б., Ладодо К.С. Микроэкологические и иммунные нарушения у детей //М.: Медицина. - 1991.

. Куляш Г. Ю., Ляпин М. Н., Головкин Е. М., Лучникова Е. А. Варианты иммуноферментного анализа антител. Клини. лаб. диагн., 2002, 7 — 8. — С. 58

. Лебедев К.С., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике //М.: Медицина; 2000.

. Ляшенко В.А. «Распознавание опасности повреждения» как универсальное определение функций иммунной системы //Медицинская иммунология. – 2007. – Т.9. - №2-3. – С.152-153.

. Микрофлора кишечника и иммунологические показатели крови у детей, перенесших острый инфекционный энтероколит /Чащина С.Е., Карпова Н.В., Калугина Т.В., Малявина Т.Е., Ахметова Л.И. //Жур. микробиол. – 1997. - №1. – С.87-89.

. Юлдашева М.Д., Рахманова С.С., Машарипов В.У. Уровень циркулирующих антител к условно-патогенным микроорганизмам у 66 практически здоровых лиц //Инфекция, иммунитет и фармакология. - Ташкент, 2008, №3. - С.90-93.

. Нуралиев Н.А., Рахманова С.С., Машарипов В.У. Выявляемость антител к энтеробактериям у детей с дисбиозом кишечника //Тезисы докладов IV съезда микробиологов Узбекистана. - Ташкент, 2008. – С.180-181.

. Рахманова С.С., Машарипов В.У. Содержание антител к условнопатогенным бактериям в сыворотке крови здоровых лиц //Тезисы докладов IV съезда микробиологов Узбекистана. - Ташкент, 2008. – С.189-190.

. Нуралиев Н.А., Рахманова С.С., Бектимиров А.М-Т., Машарипов О.О., Машарипов В.У. Методические основы разработки иммуноферментной тест-системы на основе бактериальных антигенов //Методические рекомендации. – Урганч, 2009. – 15 с.

. Рахманова С.С., Машарипов В.У. Бектимиров А.М-Т. Показатели

выявляемости антител к условно-патогенным энтеробактериям у детей с дисбиозом толстого кишечника //Материалы V-Международной научнопрактической конференции “Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний”. - Ташкент, 2009. – С.30.

. Машарипов В.У., Машарипов О.О., Рахманова С.С., Бектимиров А.МТ. Технология оптимизации получения растворимого микробного антигена //Материалы V-Международной научно-практической конференции “Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний”. - Ташкент, 2009. – С.134.

. Машарипов В.У. Изучение состояния антител к условно-патогенным бактериям в сыворотке крови здоровых взрослых людей //Материалы научнопрактической конференции «Актуальные вопросы клинической, санитарной микробиологии и эпидемиологии». - Ташкент, 2009. – С.23-24.

. Нуралиев Н.А., Рахманова С.С., Машарипов В.У., Бектимиров А.МТ. Основы выделения растворимого микробного антигена для определения сывороточных противомикробных антител //Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы клинической, санитарной микробиологии и эпидемиологии». - Ташкент, 2009. – С.27-28. 67

. Рахманова С.С., Нуралиев Н.А., Машарипов В.У. Сравнительное изучение циркулирующих в крови антител к условно-патогенным энтеробактериям у здоровых детей и взрослых //Журнал «Вестник научных достижений». - Тернополь, Украина. – 2009. - №3. – С.43-45.

. Машарипов В.У., Рахманова С.С., Нуралиев Н.А. Уровень антител к условно-патогенным энтеробактериям у здоровых взрослых и детей //Научнопрактическая конференция посвященная 25-летию Института Иммунологии АН РУз. – Ташкент, 2010. – С.72.

Research Science and  
Innovation House

