

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.98:579.841.93]-056.43-07

Б. М. Саидова, Д. Р. Ахмедов, М. С. Саидов

АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА

ГБОУ ВПО Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала

В патогенезе бруцеллеза важную роль играет инфекционная аллергия. Для аллергодиагностики токсоплазмоза наряду с внутрикожной аллергической пробой Бюрне применяют клеточные реакции in vitro. Авторы для выявления сенсибилизации лейкоцитов крови и слюны при бруцеллезе использовали реакцию лейкоцитолита (РЛ). Реакция считается положительной при наличии лизиса лейкоцитов после инкубации с аллергеном 15% и более.

Процент лизированных лейкоцитов крови и слюны с бруцеллином при остром бруцеллезе составляет 18,4±1,2 и 16,8±0,75, при хроническом – соответственно 26,6±1,12 и 28,9±1,4 при отрицательных результатах РЛ с контрольными антигенами (токсоплазмином и средой 199). Ввиду высокой информативности РЛ с лейкоцитами крови и слюны может быть использована для аллергодиагностики бруцеллеза.

Ключевые слова: бруцеллез, реакция лейкоцитолита, аллергия, реакция агглютинации

B.M. Saidova, D.R. Akhmetov, M.S. Saidov

THE ALLERGY DIAGNOSTIC OF BRUCELLOSIS

The infectious allergy plays an important role in the pathogenesis of brucellosis. In the allergy diagnostic of toxoplasmosis the cell reactions in vivo are equally applied with the Burnet intradermal allergic test. In the present study the reaction of leukolysis was applied to detect the sensitization of leucocytes in blood and saliva under brucellosis. The reaction is considered positive in case of occurrence of lysis of 15% and more of leucocytes after incubation with allergen. The percentage of lysed leucocytes of blood and saliva makes 18.4±1.2 in case with brucellin, 16.8±0.75 in case of acute brucellosis and 26.6±1.12 in case of chronic brucellosis and 28.9±1.4 in case of negative results of reaction of leukolysis with control antigens (toxoplasmin and medium 199). The reaction of leukolysis can be applied in allergy diagnostic of brucellosis due to its higher informativity with leucocytes of blood and saliva.

Key words: brucellosis, leukolysis, allergy, agglutination reaction

Бруцеллез – зоонозная инфекция, которая по своей медицинской и социально-экономической значимости является актуальной проблемой для животноводческих регионов Российской Федерации.

В патогенезе бруцеллеза важную роль играет инфекционная аллергия. Один из известных отечественных инфекционистов Г. П. Руднев [9] в своей монографии дает следующее определение: «Бруцеллез – общее инфекционно-аллергическое заболевание токсико-бактериального характера, часто протекающее по типу хронического сепсиса, с упорной склонностью к рецидивам и обострениям».

В последующем ключевую роль гиперчувствительности замедленного типа в патогенезе бруцеллеза подчеркивают и другие авторы [1, 3, 6–8, и др].

На практике для выявления гиперчувствительности замедленного типа применяется внутрикожная аллергическая проба Бюрне, которая становится положительной через 1–2 нед после заболевания и сохраняется годами.

Для аллергической диагностики бруцеллеза предложены также клеточные реакции in vitro, в частности реакция бласттрансформации лейкоцитов, реакция торможения миграции лейкоцитов, определение показателя повреждения нейтрофилов (ППН) по Фрадкину (1965), реакция специфического лейкоцитолита и др.

Было выяснено, что реакция лейкоцитолита (РЛ) вызывает сенсибилизацию лейкоцитов in vitro в более ранние сроки, чем проба Бюрне [2, 11 и др]. Другим преим-

муществом РЛ является более высокая «объективность» полученных результатов по сравнению с определением ППН, при котором имеется «субъективный» фактор при подсчете поврежденных и неповрежденных лейкоцитов; и наконец, процесс определения ППН более трудоемок и требует больших затрат времени в процессе подготовки мазков крови и их подсчета.

В наших предыдущих исследованиях нами была изучена возможность использования РЛ с лейкоцитами крови и слюны для оценки степени сенсибилизации лейкоцитов к специфическому (бруцеллезному) антигену [4, 10].

Целью нашего исследования было определение сенсибилизации лейкоцитов крови и слюны с помощью РЛ у больных острым и хроническим бруцеллезом.

Материалы и методы. Обследованы 120 больных (у 38 больных диагностирован острый, у 82 – хронический бруцеллез) в стадии субкомпенсации. Все больные были обследованы с использованием пробы Бюрне и серологических реакций – реакции агглютинации Хеддльсона и реакции агглютинации Райта.

Для оценки степени сенсибилизации лейкоцитов к специфическому бруцеллезному антигену у обследованных нами больных была использована РЛ с лейкоцитами крови и слюны, предложенная М. Г. Кишовым и М. М. Кишовым [5].

В качестве контрольных антигенов использовали токсоплазмин и среду 199.

Суть метода заключается в способности сенсибилизированных лейкоцитов лизироваться в присутствии специфического антигена. РЛ считается положительной, если лизис лейкоцитов после инкубации со специфическим антигеном составляет 15% и более [5].

Забор проб крови и слюны проводили утром натощак, всегда одновременно. Для постановки РЛ с лейкоцитами крови в стерильную пробирку наливали 0,1 мл 5%

Для корреспонденции:

Саидова Барият Магомедовна, канд. мед. наук, ассистент каф. микробиологии

Адрес: 367012, Махачкала, пл. Ленина, 1

Телефон: 67-19-88

Таблица 1

РЛ с лейкоцитами крови и слюны у больных острым бруцеллезом ($M \pm m$)

Антиген	Лейкоциты		p	R_{xy}
	крови	слюны		
Среда 199	10,4±0,63	10,8±0,56	0,316	0,471*
Токсоплазмин	11,7±0,72	12,2±0,71	0,137	0,864*
Бруцеллин	18,4±1,2	16,8±0,75	0,044	0,538*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – статистическая значимость p для коэффициента корреляции R_{xy} между кровью и слюной достоверная ($p < 0,001$).

лимонно-кислого натрия и 0,3 мл крови, взятой микропипеткой из пальца. Кровь осторожно смешивали и разливали по 0,1 мл в 3 пробирки (или в 3 лунки планшета для титрования). В 1-ю пробирку (лунку) добавляли 0,05 мл бруцеллина, во 2-ю – 0,05 мл токсоплазмينا, в 3-ю (контрольную) – 0,05 мл среды 199. Из каждой пробирки в смеситель для лейкоцитов набирали кровь до метки 0,5 и 3% раствор уксусной кислоты до метки 11 (для подсчета количества лейкоцитов в камере Горяева), а пробирки помещали в термостат на 60 мин при 37°C. После инкубации вновь подсчитывали количество лейкоцитов.

Смешанную слюну после тщательного полоскания полости рта 0,85% раствором натрия хлорида собирали в объеме 1–2 мл в силиконированные мерные центрифужные пробирки. К собранной слюне добавляли 10 ЕД гепарина, равный объем среды 199 и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость сливали, и осадок ресуспендировали в объеме 0,5–1 мл.

Реакцию лейкоцитоллиза ставили в 3 пробирке (количество пробирок можно увеличить, если используется большее количество антигенов). В каждую пробирку вносилось по 0,05 мл взвеси лейкоцитов. В 1-ю пробирку добавляли 0,05 мл бруцеллина, во 2-ю – 0,05 мл токсоплазмينا, в 3-ю – 0,05 мл среды 199 (контроль).

После тщательного осторожного перемешивания в содержимом каждой пробирки подсчитывали количество лейкоцитов в камере Горяева и пробирки помещали в термостат при 37°C на 60 мин, периодически встряхивая каждые 15–20 мин. После инкубации вновь подсчитывали количество лейкоцитов в каждой пробирке.

Определяли процент лизиса лейкоцитов и вычисляли индекс лейкоцитоллиза для каждого антигена по формуле:

$$ИЛ = L_1 - L_2 / 100,$$

где L_1 – количество лейкоцитов до инкубации; L_2 – количество лейкоцитов после инкубации.

Результаты и обсуждение. Из 38 больных острым бруцеллезом проба Бюрне была положительной у 32 (73,7%), реакция агглютинации Хеддльсона – у 36 (94,7%), реакция агглютинации Райта – у 34 (89,5%).

Из 82 больных хроническим бруцеллезом проба Бюрне была положительной у 73 (86,8%), реакция Хеддльсона – у 75 (91,5%), реакция Райта – у 65 (79,3%).

Результаты РЛ с лейкоцитами крови и слюны больных острым бруцеллезом представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, процент лизированных лейкоцитов крови и слюны с бруцеллином у больных острым бруцеллезом составлял соответственно 18,4±1,2 и 16,8±0,75, с контрольными антигенами – токсоплазмином и средой 199 – 11,7±0,72 и 12,2±0,71 и 10,4±0,63 и 10,8±0,56.

Результаты РЛ с лейкоцитами крови и слюны у больных хроническим бруцеллезом приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, процент лизиса лейкоцитов крови и слюны с бруцеллином у больных хроническим

Таблица 2

РЛ с лейкоцитами крови и слюны у больных хроническим бруцеллезом

Антиген	Процент лизиса лейкоцитов		p	R_{xy}
	крови	слюны		
Среда 199	10,2±0,48	10,9±0,56	0,361	0,429*
Токсоплазмин	13,3±0,69	11,7±0,57	0,081	0,490*
Бруцеллин	26,6±1,17	28,9±1,36	0,236	0,659*

бруцеллезом составлял соответственно 26,6±1,17 и 28,9±1,36, с контрольными антигенами – токсоплазмином и средой 199 соответственно 13,3±0,69 и 11,7±0,57 и 10,2±0,48 и 10,9±0,56.

Таким образом, процент лизированных лейкоцитов крови и слюны с бруцеллином у больных острым и хроническим бруцеллезом были положительными. В то же время РЛ была отрицательной с контрольными антигенами – токсоплазмином и средой 199. Частота положительной РЛ у больных острым бруцеллезом с лейкоцитами крови составляла 76,3%, с лейкоцитами слюны – 73,7%, у больных хроническим бруцеллезом – 85,4 и 87,8% соответственно. В то же время результаты РЛ с контрольными антигенами – токсоплазмином и средой 199 – были отрицательными.

Таким образом, статистическая значимость p для коэффициента корреляции между лейкоцитами крови и слюны у больных острым и хроническим бруцеллезом достоверная ($p < 0,001$). Корреляционная связь РЛ с лейкоцитами крови и слюны свидетельствует о том, что при прочих равных условиях целесообразнее использовать РЛ с лейкоцитами слюны, так как преимуществом получения материала в этом случае является неинвазивный способ, которому необходимо отдать предпочтение, особенно при массовых обследованиях животноводов.

Выводы. 1. Полученные результаты свидетельствуют о высокой диагностической информативности РЛ с лейкоцитами крови и слюны у больных бруцеллезом.

2. При прочих равных условиях для аллергодиагностики бруцеллеза целесообразнее использовать РЛ с лейкоцитами слюны, учитывая безопасность и простоту получения материала и возможность применения при массовых исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беклемшев Н. Д. Иммунопатология и иммунорегуляция (при инфекциях, инвазиях, аллергиях). – М.: Медицина, 1986.
2. Белозеров Е. С. Бруцеллез. – Л.: Медицина, 1985.
3. Вершилова П. А., Чернышева М. И., Князева Э. Н. Патогенез и иммунология бруцеллеза. – М., 1974.
4. Кишов М. Г., Саидов М. С., Саидова Б. М. // Зоознозы. Актуальные вопросы в клинике и эксперименте: Сборник науч. трудов VI Республиканской науч.-практ. конф. – Махачкала: ДГМА, 2000. – С. 234–236.
5. Кишов М. Г., Кишев М. М. Способ определения бактериальной аллергии. – Пат. № 2157537. – 2001.
6. Лучив В. И. // Рос. мед. журн. – 2004. – № 1. – С. 42–46.
7. Медуницын Н. В. Вакцинология. – М.: Трида-Х, 1999.
8. Микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. В. В. Зверева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
9. Руднев Г. П. Бруцеллез. Клиника, диагностика, лечение. – М.: Медгиз, 1955.
10. Саидова Б. М. // Актуальные проблемы патофизиологии / Под ред. Н. Н. Петрищева. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2001. – С. 167–168.
11. Скавинский Ю. В. Проблема зоознозов. – Ставрополь, 1964.

Поступила 14.03.12