

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LI

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 18.

Urednik

PAVEL STERN,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine



SARAJEVO
1974.

MIRA NADAŽDIN i ERNEST I. GRIN*

UPLIV SORBIRAJUĆIH MATERIJALA NA GRUPNO-SPECIFIČNA ANTITIJELA I SPECIFIČNI ANTIGEN (T. PALLIDUM) U FLUORESCENTNOM APSORPCIONOM TESTU (FTA-ABS)

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 27. XII 1973. god.)

Pokušaji da se postigne veća specifičnost FTA reakcije, uklanjanjem grupno-specifičnih antitijela, doveli su do zavođenja FTA-ABS metode. Eliminisanje grupno-specifičnih antitijela vršeno je prvo intaktnim Reiter treponemama (Deacon i Hunter (1962), zatim ultrazvukom razorenim Reiter treponemama (»sonicate«) (Hunter, Deacon i Meyer (1964), koji su kasnije zamijenjeni termostabilnom antigenom komponentom Reiter treponeme »sorbent« (Stout i saradnici (1967). Međutim, prema ispitivanjima Cannefaxa i saradnika (1968), Rathlev-ove (1968), Wilkinsona i Fergusona (1968) veoma različite materije (pepton, ekstrakt kvasca, Na-tioglikolat, tioglikolatna podloga i druge) mogu poslužiti za apsorbovanje grupno-specifičnih antitijela, iz čega bi proizišlo da ovaj fenomen nije vezan samo za antigene komponente Reiter treponeme.

S obzirom da pri izvođenju FTA-ABS reakcije sorbirajuća materija dolazi u kontakt kako sa serumom tako i sa antigenom (T. pallidum) nije moguće razlučiti da li sorbent djeluje na grupno-specifična antitijela u serumu, ili u kontaktu sa antigenom (T. pallidum) stvara izvjesnu barijeru za pristup antitijela. S tim u vezi izvršili smo ispitivanja da rasvijetlimo na koji način različite sorbirajuće materije mijenjaju konačan rezultat FTA-ABS i FTA_s testa.

MATERIJAL I METODE

U našim ispitivanjima upotrijebili smo dva treponemna sorbenta, jedan od njih je termostabilna u vodi topiva antigena komponenta Reiter treponeme (standardni FTA-ABS sorbent), pripremljen u našem laboratoriju prema metodi koju je opisala Stout i saradnici (1967). Drugi treponemni sorbent su ultrazvukom razorene Reiter

* Adresa: Zavod za kožne i venerične bolesti »S. Milošević«, 71000 Sarajevo

treponeme (»sonicate«) koje smo pripremili prema metodi Huntera, Deacona i Meyera (1964). Pored treponemnih sorbenata, kao nespecifičnu sorbirajuću materiju upotrijebili smo čistu tioglikolatnu podlogu.

FTA-ABS test je izvršen uobičajenim postupkom, samo je standardni sorbent zamijenjen drugom sorbirajućom materijom. Uporedo sa FTA-ABS testom serumu su obrađeni i modifikacijom FTA₅ testa u kojoj se sorbent odvojeno dodaje na antigen (T. pallidum) i poslije inkubacije od pola sata potpuno ukloni, prije dodavanja seruma na antigen. Na ovaj način je bilo moguće ispitivati reagovanje sorbirajućih materija sa antigenom (T. pallidum) neovisno od seruma.

Nadalje smo ispitivanim sorbirajućim materijama apsorbovali grupno-specifična antitijela iz deset seruma. Apsorbovane serume smo razdvojili od sorbirajućih materija postupkom precipitacije globulina i dijalizom u fosfatnom puferu. Nakon odvajanja sorbirajućih materija testiranje apsorbovanih seruma izvršili smo FTA₅ metodom.

FTA₅ i FTA-ABS reakcije su izvršene sa 54 seruma koji su odabrani na osnovu reaktivnosti u FTA₅ testu i nereaktivnosti u FTA₂₀₀ i TPHA testu, što govori da su odabrani serumu reagovali nespecifično u FTA₅ testu i da se ocjena sorbirajućih materija bazirala na stvarno nespecifičnoj reaktivnosti seruma u FTA₅ testu.

REZULTATI I DISKUSIJA

Da bismo utvrdili djelovanje sorbirajućih materija u fluorescentnom treponemnom testu, izvršili smo komparativna ispitivanja njihove aktivnosti sa antigenom (T. pallidum) i sa grupno-specifičnim antitijelima iz seruma.

Najbolji sorbirajući efekat postignut je ultra-zvukom razorenim Reiter treponemama (»sonicate«) i nespecifična reaktivnost je svedena na 13.7% u FTA-ABS reakciji. Ako je »sonicate« dodat na antigen bez prethodnog kontakta sa serumom, rezultati su gotovo isti (22.7%) kao oni dobijeni upotrebom sorbenta u FTA-ABS testu. Slični rezultati su postignuti i čistom tioglikolatnom podlogom, što je prikazano na tabeli 1.

Tabela 1.

REZULTATI DJELOVANJA SORBIRAJUĆIH MATERIJU NA GRUPNO-SPECIFIČNA ANTITIJELA U IZVOĐENJU FTA-ABS TESTA U POREĐENJU SA DJELOVANJEM ISTIH SORBENATA NA ANTIGEN (T. PALLIDUM) U FTA₅ TESTU.

test sorbirajuća materija	FTA — ABS				FTA ₅			
	broj pozit.	% pozitiv.	broj negativ.	% negativ.	broj pozit.	% pozit.	broj negat.	% negat.
sonicate	6	13.7	38	86.3	10	22.7	34	77.3
sorbent	9	20.5	35	79.5	14	31.9	30	68.1
tioglikolatna podloga	10	22.7	34	77.3	15	34.1	29	65.9

U pogledu prisustva antigena u ispitivanim sorbirajućim materijama, naši rezultati pokazuju da standardni sorbent i tioglikolatna podloga ne sadrže antigene koji apsorbuju grupno-specifična antitijela, jer je poslije odvajanja ovih sorbirajućih materija fluorescentni test ostao pozitivan sa prethodno apsorbovanim serumima. Međutim, ultrazvukom razorenim treponemama («sonicate») u svih deset ispitivanih seruma, postignuta je apsorpcija antitijela koja su uzrokovala nespecifično pozitivnu reakciju. Na osnovu ovoga može se zaključiti da je specifična antigena komponenta Reiter treponeme termolabilna, što znači da se standardnim sorbentom, koji predstavlja termostabilnu antigenu komponentu Reiter treponeme, ne može postići specifična reakcija i da se ovim sorbentom rezultat u FTA-ABS testu mijenja djelovanjem sorbenta na antigen, a ne apsorbovanjem grupno-specifičnih antitijela. Otuda proizilazi da su za veću specifičnost FTA-ABS testa značajne promjene koje nastaju u antigenu, a ne reakcija sorbenta sa grupno-specifičnim antitijelima.

S obzirom da se radi o djelovanju raznih sorbirajućih materija na antigen (*T. pallidum*), a ne na grupno-specifična antitijela iz seruma, kako se do sada pretpostavljalo, razumljivo je da vrlo raznolike materije mogu da uplivišu rezultat FTA-ABS metode. To govori u prilog pretpostavci da aktivnost sorbirajuće materije nije imunološki specifična, osim sonicata koji djeluju i na grupno specifična antitijela.

Treponema pallidum kao antigen i njena antigena reaktivnost u FTA-ABS testu zanemarena je u ranijim istraživanjima, jer se za sorbent od početka pretpostavljalo da povećava specifičnost FTA-ABS metode eliminisanjem grupno-specifičnih antitijela. Ali ispitivanja Hardy-a i Nell (1972) su pokazala da je djelovanje sorbenta reverzibilno, što ne odgovara reakciji antigen + antitijelo, te upućuje na pretpostavku da je u pitanju nespecifična reakcija što je u skladu sa rezultatima naših ispitivanja.

Rezultati ovih ispitivanja pokazuju da razne sorbirajuće materije djeluju na antigenu reaktivnost *T. pallidum* u FTA testu, ali mehanizam djelovanja sorbirajućih materija na antigen (*T. pallidum*) nije još potpuno jasan. Vjerovatno se radi o nespecifičnoj reakciji, odnosno samo o mehaničkom prekrivanju određenih antigenih receptora *T. pallidum* koji su specifični za grupno-specifična antitijela. Ova barijera se u nekim slučajevima ukloni prilikom sapiranja fosfatnim puferom. Stoga su vjerovatno i postignuti nešto bolji rezultati FTA-ABS testom u kojem se sorbent i serum istovremeno dodaju na antigen.

INFLUENCE OF SORBING AGENTS ON GROUP-SPECIFIC ANTIBODIES AND SPECIFIC ANTIGEN (T. PALLIDUM) IN THE FLUORESCENT TREPONEMAL ANTIBODY-ABSORPTION TEST

SUMMARY

Comparative investigations have been carried out to elucidate the mechanism of reactivity in the FTA_s and FTA-ABS test of different sorbing agents (sonicate, sorbent and pure thioglycolate medium) with specific antigen (T. pallidum) on one side, and the group-specific antibodies on the other side.

It could be demonstrated that antigen (T. pallidum) alone combined with the investigated sorbing agents in the FTA_s is actually producing the more specific results and not the bindings of the respective sorbents with the group specific antibodies.

From the investigated agents only the sonicate had the ability to absorb also the group specific antibodies.

Consequently the specific antigenic components of Reiter treponemes appear to be termolabile and this part of the sorbent is in fact responsible for the increased FTA-ABS specificity.

LITERATURA

- Cannefax, C. R., Hanson, A. W., Skaggs, R., *An investigation of sorbing substances in the FTA-ABS test for syphilis. A preliminary study*, U.S. Public Health Rep. 83: 411—416 (1968).
- Deacon, W. E. and Hunter, F. E., *Treponemal antigens as related to identification and syphilis serology*. Proc. Soc. Eap. Biol. Med. 110: 352—356 (1962)
- Hardy, P. H. and Nell, E. E., *A study of the properties of sorbent the reagent employed in the fluorescent treponemal antibody absorption test*. Am. J. of epidemiology. 96: 141—152 (1972).
- Hunter, E. F., Deacon, W. E. and Meyer, P., *An improved FTA test for syphilis, the absorption procedure (FTA-ABS)*. U. S. Public Health Rep. 79: 410—412 (1964).
- Rathlev, T., *Evaluation of the sorbents used in the FTA-ABS test*. Brit. J. Venereal Dis. 44: 259—298. (1968).
- Stout, G. W. et al., *Preparation and standardization of the sorbent used in the fluorescent treponemal antibody — absorption (FTA—ABS) test*. Health Lab. Sci. 4: 5—8 (1967).
- Wilkinson, A. E. and Ferguson, H. G., *Some observations on the sorbing agent used in the absorbed fluorescent treponemal antibody test*. Brit. J. Venereal Dis. 44: 291—294 (1968).