

თამარ დალაქიშვილი, ზაურ ლომთათიძე, სერგო რიგვავა, მერაბ ნათიძე,
ლიკა გუბელაძე, ლეილა კვაჭაძე, დარეჯან ბოლქვაძე, მაია კერესელიძე
ანტისხეულების შესწავლა პათოგენური ფაქტორების მიმართ
სტაფილოკოკურ იმუნოგლობულინში

გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიის და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტი;
სოხუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; ევროპის უნივერსიტეტი; შპს „იმუნოგენი“; საქართველო

Doi: <https://doi.org/10.52340/jecm.2025.05.20>

*TAMAR DALAKISHVILI, ZAUR LOMTATIDZE, SERGO RIGVAVA, MERAB NATIDZE,
LIKA GUBELADZE, LEILA KVACHADZE, DAREJAN BOLKVADZE, MAIA KERESSELIDZE*

STUDY OF ANTIBODIES TO PATHOGENIC FACTORS IN STAPHYLOCOCCAL IMMUNOGLOBULIN

G. Eliava Institute of Bacteriophagy, Microbiology and Virology; Sukhumi State University;
European University; Ltd "Immunogen"; Tbilisi, Georgia

SUMMARY

F(ab') fragments of antibacterial, as well as alpha-toxin, PV-leukocidin and hyaluronidase antibodies in polyclonal staphylococcal immunoglobulin have been studied, the specific activity of which was investigated by enzyme-linked immunoassay (ELISA) and passive (indirect) hemagglutination reaction using appropriate test systems. F(ab') fragments were obtained using a new technology using immobilized pepsin. To obtain the F(ab')₂ fragment we used a special kit produced by Thermo Scientific (USA) (Pierce™ Fab Preparation Kit), which contains all the components necessary for obtaining the F(ab')₂ fragment of the antibody and is a fast and effective means of obtaining and purifying the said product. The titer of antibodies to α-toxin was determined in the Lh (limes-haemolysis) reaction, which was 150 IU/ml; the range of antibacterial antibody titers in immune serum and immunoglobulin in the passive hemagglutination test was 1:3200 - 1:12800; the titer of antileukocidin antibodies was 1:640 - 1:1280, and to hyaluronidase - 1:320 - 1:640. These indicators in normal serum ranged within 1:10-1:40. Antibodies in antistaphylococcal immunoglobulin solution were determined by the immunoassay method, the results of which were registered on an immunoassay reader (Sunostik SPR-960). The average data of normal (control) sera for staphylococcal toxin was 0.081; while the positivity index of immune serum and immunoglobulin for the said toxin was 10.08. The positivity index for antibacterial antibodies was 9.2517, the positivity index for PV-leukocidin was 4.3968, and for hyaluronidase - 0.9214.

Keywords: S.aureus, S.epidermidis, α-toxin, PV-leucocidin, hyaluronidase, immunoglobulin

შესავალი. სტაფილოკოკური ინფექცია რთული პათოლოგიური პროცესია თავისი ფართო გამოვლინებით, დაწყებული უსიმპტომო მტარებლობიდან, დამთავრებული მძიმე ინტოქსიკაციით და ჩირქოვან-ანთებითი კერების განვითარებით. სტაფილოკოკი ინვესს როგორც ჰოსპიტალურ, ისე არაჰოსპიტალურ დაავადებებს [6]. ჯანდაცვის საერთაშორისო ორგანიზაციის მონაცემებით, Staphylococcus aureus არის იმ ბაქტერიათა სიის სათავეში, რომლებიც ყველაზე ხშირად ინვესს ინფექციებს სამედიცინო დაწესებულებებში. მთლიანობაში, ჰოსპიტალში მიღებული ინფექციების ყველა შემთხვევიდან სტაფილოკოკზე მოდის 31%. ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის ზრდის გამო, სტაფილოკოკური ინფექცია იქცა თანამედროვე მედიცინის ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემად [5,1]. საქართველოში, სეფსისის საწინააღმდეგო ცენტრის მონაცემებით, სტაფილოკოკური ინფექციებით უფრო მეტი ადამიანი იღუპება, ვიდრე დიფტერიით, სალმონელოზით, ჰეპატიტით და მუცლის ტიფით ერთად აღებული [2]. სტაფილოკოკების ვირულენტობა დაკავშირებულია მათ ადჰეზიასთან მგრძნობიარე უჯრედების რეცეპტორებთან [3]. სტაფილოკოკებით გამოწვეულ პათოლოგიაში განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია PV-ლეიკოციდინის როლი, რომელიც ინვესს ნეკროზულ პნევმონიას, რა დროსაც სიკვდილიანობა აღწევს 80%-ს [9,4].

ნაშრომის მიზანია ანტისტაფილოკოკური იმუნოგლობულინიდან ფერმენტ პეპსინის ზემოქმედებით მიღებული $F(ab')_2$ - ფრაგმენტების ანტიბაქტერიული, ანტიტოქსიკური (ალფა ტოქსინის, PV-ლეიკოციდინის, ჰიალურონიდაზის) ანტისხეულების ტიტრების შესწავლა იმუნოფერმენტული ანალიზით, აგრეთვე აღნიშნული ანტისხეულების აქტივობის შეფასება პასიური (არაპირდაპირი) ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში.

მასალები და მეთოდები. პროექტის ფარგლებში, პირველ ამოცანას წარმოადგენდა ანტისტაფილოკოკური პოლიკლონური იმუნოგლობულინის პრეპარატიდან $F(ab')_2$ ფრაგმენტის მისაღებად Thermo Scientific-ის (აშშ) მიერ წარმოებული სპეციალური ნაკრების გამოყენება („Pierce™ Fab Preparation Kit, USA”), რომელიც შეიცავს ანტისხეულის $F(ab')_2$ ფრაგმენტის მისაღებად საჭირო ყველა კომპონენტს და წარმოადგენს აღნიშნული პროდუქტის მიღებისა და განმენდის სწრაფ და ეფექტურ საშუალებას.

ჩვენი ნაშრომის მეორე ამოცანა იყო მაღალმგრძნობიარე და სპეციფიკური სტაფილოკოკური სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის შემუშავება, რომელიც გამოყენებული იქნება სამედიცინო და ვეტერინარულ პრაქტიკაში პოსტვაქცინური იმუნური პასუხის შესაფასებლად და სტაფილოკოკური ინფექციის სადიაგნოსტიკოდ.

ტესტ-სისტემა გამოყენებული იქნება პასიური (არაპირდაპირი) ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში. ეს ტესტი ხშირად არის გამოყენებული სადიაგნოსტიკო პრაქტიკაში ჩვენთან და საზღვარგარეთ [10,8]. არ საჭიროებს ძვირადღირებულ აპარატურას, მარტივია გამოსაყენებლად და პასუხს იძლევა მოკლე დროში (1,5–2 სთ).

სადიაგნოსტიკო მაღალმგრძნობიარე აქტიური ტესტ-სისტემის მომზადების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ეტაპი არის ადსორბენტის (ერიტროციტები) სტაბილიზაციის მეთოდის შერჩევა. პრაქტიკაში, ძირითადად გამოყენებულია ადამიანის პირველი ჯგუფის ან ცხვრის (ყოჩის) ერიტროციტები ან ლატექსის ნაწილაკები. სტანდარტული ერიტროციტების მისაღებად გამოიყენება სხვადასხვა ალდეჰიდები. ჩვენს შემთხვევაში გამოვიყენეთ ფორმალდეჰიდი [7]. სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის მომზადებისას უნდა იქნეს გათვალისწინებული, რომ ფორმალინიზირებული ერიტროციტების 2,5%-ანი სუსპენზიის თითო მილილიტრი უნდა შეიცავდეს 500–600 ათას ერიტროციტს. ამ მიზნით ფორმალინით დამუშავებული ერიტროციტები სამჯერ ჩამოვრეცხეთ ნატრიუმის ქლორიდის 0,9%-ანი ხსნარით და მოვახდინეთ რესუსპენდირება იმავე ხსნარით (pH-7,0-7,2), მოვამზადეთ 2,5%-ანი შენაწონი და დავითვალეთ მიკროსკოპში, სათვლელ ბადეში. ჩვენს მიერ დათვლილმა ერიტროციტების რაოდენობამ შეადგინა 5.0×10^5 , რაც აკმაყოფილებს მოთხოვნებს. სადიაგნოსტიკო პრეპარატის მგრძნობელობის და სპეციფიკურობის ამალღების მიზნით (ერიტროციტების მემბრანის ზედაპირიდან ცილოვანი, პოლისაქარიდული და სხვა მინარევების მოსაცილებლად) 3 სინჯარას (თითოეულში 5 მლ 2,5% სუსპენზია) ვამატებდით ორქრომმჟავა კალიუმის ($K_2Cr_2O_7$) სხვადასხვა განზავებას (1:1000; 1:5000; 1:20000) თანაბარი მოცულობით და ვათავსებდით თერმოსტატში $37^\circ C$ 20 წუთის განმავლობაში. კალიუმის ბიქრომატით დამუშავებულ ერიტროციტებს ვრეცხავდით ნატრიუმის ქლორიდის 0,9%-ანი ხსნარით და ვამზადებდით 2,5%-ან სუსპენზიას. შენაწონის ტანინის მჟავით დამუშავების შემდეგ არსებული მეთოდის გამოყენებით ვანარმოებდით ერიტროციტების სენსიბილიზაციას განმენდილი სტაფილოკოკური ანატოქსინით. მიღებულმა შედეგებმა ცხადყო, რომ სპეციფიკური აქტივობის თვალსაზრისით ყველაზე მგრძნობიარეა ტესტ-სისტემა, რომელიც მიღებულია ერიტროციტების კალიუმის ბიქრომატის 1:5000-ზე განზავებით დამუშავების შემთხვევაში.

გარდა ამისა, ტესტ-სისტემის მგრძნობელობის გაზრდის მიზნით ერიტროციტების 2,5%-იან სუსპენზიას ვამუშავებდით ტანინის მჟავით (5 მლ შენაწონს ემატება 5 მლ ტანინი – კონცენტრაცია 2.0×10^{-4}) და ვათავსებდით თერმოსტატში $37^\circ C$ 20 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ორჯერ ვრეცხავდით

1/15 M ფოსფატის ბუფერით (pH=7,2) და ერთხელ 1/15 M ფოსფატის ბუფერით (pH=6,4). ამრიგად ჩამორეცხილ ერთთროციტებს ვაზავებდით ნატრიუმის ქლორიდის 0,9%-ანი ხსნარით 2,5%-ან სუსპენზიამდე და ვამატებდით ანტიგენს – სტაფილოკოკური ანატოქსინის ოპტიმალურ სასენსიბილიზაციო დოზას [7]. ოპტიმალური დოზის გამოყენებით დამზადებულ იქნა პრეპარატის 3 მიკროსერია ლიოფილიზირებული, თითოეული 35–40 ამპულის რაოდენობით.

შედეგები და განსჯა. როგორც ზემოთ იქნა აღნიშნული, ანტისხეულის მოლეკულის F(ab')₂ ფრაგმენტის მისაღებად გამოვიყენეთ Thermo Scientific-ის (აშშ) მიერ წარმოებული ტექნოლოგიური ნაკრები („Pierce™ Fab Preparation Kit, USA“), რომელიც შეიცავს ყველა კომპონენტს და წარმოადგენს აღნიშნული პროდუქტის მიღებისა და განმენდის სწრაფ და ეფექტურ საშუალებას. განმენდის პროცესი მოიცავდა რამდენიმე ეტაპს: პირველ, მოსამზადებელ ეტაპზე ვახდენდით იმობილიზებული ფერმენტის (პეპსინი) სვეტის დამუშავებას სპეციფიკური ბუფერებით; შემდეგ ვამზადებდით IgG-ს, რომლის შემცველობა საკვლევ ნიმუშში არ უნდა აღემატებოდეს 4 მგ/მლ-ს. ჩვენ შემთხვევაში ავიღეთ 2 მგ/მლ. კვლევის შემდგომი ეტაპი იყო ანტისხეულის ფერმენტით დაჭრა და სასურველი F(ab')₂ ფრაგმენტის მიღება, რაც მზა ნიმუშების ერთმანეთში შერევით (IgG და იმობილიზებული პეპსინი) ხორციელდება, ნარევი ინკუბირდება 37°C ნახევარი საათის განმავლობაში, რასაც მოსდევს ცენტრიფუგირება და შესაბამისი ბუფერებით გარეცხვა. ბოლო ეტაპი კი არის მიღებული F(ab')₂ ფრაგმენტის განმენდა, რომელიც თავის მხრივ მოიცავს ნიმუშის შესაბამისი ბუფერით გარეცხვის პროცედურებს.

ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა იმუნოგლობულინის ზოგიერთი ბიოქიმიური მაჩვენებლები, კერძოდ, ა) IgG კონცენტრაციის განსაზღვრა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით, ბ) პრეპარატის სტაბილურობა, ვ) პრეპარატის მოლეკულური მასის განსაზღვრა. პეპსინით დამუშავებული Ig პრეპარატის F(ab')₂ ფრაგმენტების გენერირების პროცესის ანალიზი მოვახდინეთ გელ-ელექტროფორეზით აკრილამიდის გელში (SDS-PAGE).

მაღალმგრძნობიარე სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის მომზადებას განაპირობებს სენსიტივის ოპტიმალური დოზის განსაზღვრა, რომელიც საფუძვლად უდევს პრეპარატის სერიულ დამზადებას. სენსიტივის (ანატოქსინის) ოპტიმალური დოზა წარმოადგენს ანატოქსინის ექსპერიმენტულად დადგენილ რაოდენობას, რომელიც გამოავლენს ანტიტოქსიკურ ანტისხეულებს მაქსიმალურ განზავებაში, ხოლო საკონტროლო ტესტებში გვაძლევს მკვეთრად უარყოფით რეაქციას. ყველაზე ოპტიმალურია ანატოქსინის რაოდენობა 80 მკგ/მლ, რომელიც იძლევა ანტისხეულების მაღალ ტიტრს. აღნიშნული დოზა უნდა იქნეს გამოყენებული ტესტ-სისტემის მიკროსერების დასამზადებლად.

ანატოქსინური სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემა გარდა ზემოაღნიშნულისა, შეიძლება გამოყენებულ იქნას ანტისტაფილოკოკური იმუნოგლობულინის საექსპერტო კონტროლისთვის, გაყალბებული პრეპარატის გამოსავლენად.

ნორმალურ, იმუნურ პრაქსა და იმუნოგლობულინში ანტისხეულები გამოვიკვლიეთ სეროლოგიური ტესტებით. ანტისხეულების ტიტრს α-ტოქსინის მიმართ ვსაზღვრავდით Lh (limes-haemolysis) რეაქციაში, რომელმაც შეადგინა 150 IU/ml; ანტიბაქტერიული ანტისხეულების ტიტრის დიაპაზონმა იმუნურ პრაქტი და იმუნოგლობულინში პასიური ჰემაგლუტინაციის ტესტში -1:3200 – 1:12800; ანტილეიკოციდინური ანტისხეულების ტიტრმა -1:640 – 1:1280, ხოლო ჰიალურონიდაზის მიმართ - 1:320 – 1:640 შეადგინა. აღნიშნული მაჩვენებლები ნორმალურ პრაქტი მერყეობდა 1:10-1:40-ის ფარგლებში.

ანტისტაფილოკოკური ანტისხეულები თხის ნორმალურ პრაქტი, აგრეთვე ანტისტაფილოკოკური იმუნოგლობულინის ხსნარში განვსაზღვრეთ იმუნოფერმენტული მეთოდით (immunoenzyme method), რომლის შედეგები დარეგისტრირდა იმუნოფერმენტულ რიდერზე

(Sunostik SPR-960). აღნიშნული ტესტის ჩასატარებლად გამოვიყენეთ რეაგენტი: Anti-Goat IgG (H&L) in rabbit Affinity Purified, Polysciences, Inc. exp. 10.2022. ნორმალური მაჩვენებლების მიხედვით, 50-390ნგ/მლ იმუნოფერმენტული ანალიზი ჩატარდა საერთო “Sandwich-ELISA” საფუძველზე, ტესტ-სისტემებზე თანდართული გაიდლაინების შესაბამისად.

ნორმალური (საკონტროლო) პრაქტიკის საშუალო მონაცემებმა სტაფილოკოკური ტოქსინის მიმართ 0,081 შეადგინა; ხოლო იმუნური პრაქტიკის და იმუნოგლობულინის დადებითობის ინდექსმა აღნიშნულ ტოქსინთან მიმართებაში - 10,08. ანტიბაქტერიული ანტისხეულების დადებითობის ინდექსმა 9,2517, PV-ლეიკოციტინის დადებითობის ინდექსმა - 4,3968, ხოლო ჰიალურონიდაზის მიმართ - 0,9214.

საკვლევი იმუნოგლობულინის პრეპარატებში IgG კონცენტრაცია გამოთვლილია სუსპენზიის 280 ნმ-ზე შთანთქმის, IgG ექსტინქციის კოეფიციენტის ($210000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) და მოლეკულური მასის (150000 g/mol) გამოყენებით. საკონტროლოდ ავიღეთ სტანდარტული ალბუმინი (BSA-Sigma). მიღებული მონაცემების შესაბამისად ნათიურ, განუზავებელ პრეპარატში IgG კონცენტრაცია შეადგენს 2.11 მგ/მლ-ს. გარდა აღნიშნულისა, ჩავატარეთ იმუნოგლობულინის ცილოვანი სტრუქტურის ანალიზი აკრილამიდის გელში (SDS-PAGE), რითაც გამოვლინდა პრეპარატებში კონცენტრაციათა სხვაობა.

დასკვნები:

1. ანტისტაფილოკოკური პოლიკლონური იმუნოგლობულინიდან ფერმენტ პეპსინის შემცველი გამწმენდი ნაკრების გამოყენებით მიღებულია სხვადასხვა სპეციფიკურობის მქონე ანტისხეულების $F(ab')_2$ - ფრაგმენტები,
2. შესწავლილია მიღებული $F(ab')_2$ - ფრაგმენტების ანტიბაქტერიული, ანტიტოქსიკური (აღფა ტოქსინის, PV-ლეიკოციტინის) და ფერმენტ ჰიალურონიდაზის სანინალმდეგო ანტისხეულების ტიტრები,
3. განმედილი ანტისხეულები შესწავლილია იმუნოფერმენტული ანალიზით (იფა) და პასიური (არაპირდაპირი) ჰემაგლუტინაციის ტესტ-სისტემების გამოყენებით. ცდებმა აჩვენა, რომ განმედილი ანტისხეულები ხასიათდებიან მაღალი ტიტრით და ანალოგიური მაჩვენებლებით, რაც იმუნური ანტისხეულების არაფერმენტირებული მოლეკულები. კვლევებში გამოყენებული ტესტები ხასიათდებიან სპეციფიკურობით და მაღალი მგრძნობელობით. მიზანშეწონილია პასიური ფემაგლუტინაციის ტესტ-სისტემის გამოყენება სამეცნიერო-კვლევითი სამუშაოების ჩასატარებლად და ლაბორატორიული სადიაგნოსტიკო საქმიანობაში როგორც ინფექციური, ისე არაინფექციური პათოლოგიების დროს.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Backer KA, Fahsel B, Kemper H, Mayeres J et al. Staphylococcus aureus Alpha-Toxin Disrupts Endothelial-Cell Tight Junctions via Acid Sphingomyelinase and Ceramide. Infect Immune. 2017, Dec 19;86(1).pii: e00606-17.doi: 10.1128/IAI.00606-17.
2. Bochorishvili V.G. Experience of organization and first results of the work of the Republican Anti-Sepsis Center. In the collection: “Septic diseases”, 1982,19-29.
3. Croze M. et al. Serum antibodies against Pantone-Valentine leucocidin in a normal population and during Staphylococcus aureus infection. Clin. Microbiol. Infect. 2009,15(2):144-148.
4. Falahee P.C, Anderson L.S, Reynolds M.B et al. α -Toxin Regulates Local Granulocyte Expansion from Hematopoietic Stem and Progenitor Cells in Staphylococcus aureus-Infected Wounds. J.Immunol. 2017, Sep 1;199(5): 1772-1782.
5. Gerber J, Coffin S, Smathers S., Zaoutis T. Trends in the incidence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus Infection in Children’s hospitals in the United States. Clin.Infect.Dis. 2009; 49(1):65-71.

6. Liu C, Bayer A, Cosgrove S.E, et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus In adults and Children. Clin.Infect.Dis.2011.PMID:21208910
7. Rigvava S., Gubeladze L., Natidze M., Gogiashvili D., Karumidze N., Dalakishvili T. Production of Staphylococcal anatoxin and development of a diagnostic test system. Annals of Agrarian Science.2020, Vol.18, Number 4, p.483-489. Tbilisi,Georgia
8. Scott T. Avecilla. Transfusion Medicine and Hemostasis (Third Edition), 2019
9. Tromp A.T. Van Gent M, Abrial P, Martin A, et al. Publisher Correction: Human CD45 is an F-component-specific receptor for the Staphylococcal toxin Pantone-Valentine Leukocidin. Nat.Microbiol, 2018, Sep.3 doi:10.1038/s41564-018-0247-y
10. E.Diane Williamson, Petra C.F. Oyston. Plaque Vaccines. Vaccines (Sixth Edition). 2013

თამარ დალაქიშვილი, ზაურ ლომთათიძე, სერგო რიგვავა, მერაბ ნათიძე, ლიკა გუბელაძე, ლეილა კვაჭაძე, დარეჯან ბოლქვაძე, მაია კერესელიძე
ანტისხეულების შესწავლა პათოგენური ფაქტორების მიმართ სტაფილოკოკურ იმუნოგლობულინში

გ. ელიაშვილის სახელობის ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიის და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტი; სოხუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; ევროპის უნივერსიტეტი; შპს „იმუნოგენი“; საქართველო

რეზიუმე

შესწავლილია პოლიკლონურ სტაფილოკოკურ იმუნოგლობულინში ანტიბაქტერიული, აგრეთვე ალფა-ტოქსინის, PV-ლეიკოციდინის და ჰიალურონიდაზის საწინააღმდეგო ანტისხეულების მოლეკულის F(ab')-ფრაგმენტები, რომელთა სპეციფიკური აქტივობა გამოკვლეულ იქნა იმუნოფერმენტული ანალიზით (იფა) და პასიური (არაპირდაპირი) ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში შესაბამისი ტესტ-სისტემების გამოყენებით. F(ab')-ფრაგმენტები მიღებულია ახალი ტექნოლოგიით იმობილიზებული ჰეპსინის გამოყენებით. F(ab')₂ ფრაგმენტის მისაღებად გამოვიყენეთ Thermo Scientific-ის (აშშ) მიერ წარმოებული სპეციალური ნაკრები („Pierce™ Fab Preparation Kit, USA“), რომელიც შეიცავს ანტისხეულის მოლეკულის F(ab')₂ ფრაგმენტის მისაღებად საჭირო ყველა კომპონენტს. ანტისხეულების ტიტრს α-ტოქსინის მიმართ ვსაზღვრავდით Lh (limes-haemolysis) რეაქციაში, რომელმაც შეადგინა 150 IU/ml; ანტიბაქტერიული ანტისხეულების ტიტრის დიაპაზონმა იმუნურ შრატში და იმუნოგლობულინში პასიური ჰემაგლუტინაციის ტესტში - 1:3200 – 1:12800; ანტილეიკოციდინური ანტისხეულების ტიტრმა - 1:640 – 1:1280, ხოლო ჰიალურონიდაზის მიმართ - 1:320 – 1:640 შეადგინა. აღნიშნული მაჩვენებლები ნორმალურ შრატში მერყეობდა 1:10-1:40-ის ფარგლებში. ანტისხეულები ანტისტაფილოკოკური იმუნოგლობულინის ხსნარში განვსაზღვრეთ იმუნოფერმენტული მეთოდით (immunoenzyme method), რომლის შედეგები დარეგისტრირდა იმუნოფერმენტულ რიდერზე (Sunostik SPR-960). ნორმალური (საკონტროლო) შრატების საშუალო მონაცემებმა სტაფილოკოკური ტოქსინის მიმართ 0,081 შეადგინა; ხოლო იმუნური შრატის და იმუნოგლობულინის დადებითობის ინდექსმა აღნიშნულ ტოქსინთან მიმართებაში - 10,08; ანტიბაქტერიული ანტისხეულების დადებითობის ინდექსმა 9,2517; PV-ლეიკოციდინის დადებითობის ინდექსმა - 4,3968, ხოლო ჰიალურონიდაზის მიმართ - 0,9214.

