

## Тема: Применение иммунологических реакций в медицинской практике.

### План лекции:

1. Понятие о серологических реакциях и их практическое применение;
2. Фазы серологических реакций;
3. Реакции агглютинации;
4. Реакции преципитации;
5. Реакции с участием комплемента.

***Серологические реакции*** - реакции взаимодействия между антигеном и антителом

Протекает в две фазы: 1 фаза – ***Специфическая*** – образование комплекса антигена и соответствующего ему антитела. Видимого изменения в этой фазе не происходит, но образовавшийся комплекс становится чувствительным к неспецифическим факторам, находящимся в среде (электролиты, комплемент).

2 фаза – ***Неспецифическая*** – в этой фазе специфический комплекс антиген-антитело взаимодействует с неспецифическими факторами среды, в которой происходит реакция. Результат их взаимодействия может быть видим невооружённым глазом (склеивание, растворение и т.д.) Различают реакции РА, РНГА, РП, реакции с участием комплемента.

Применение серологической реакции – для лабораторной диагностики инфекций. Их используют: 1) для выявления антител в сыворотке больного, т.е. для серодиагностики; 2) для определения вида или типа антигена, например выделенного от больного микроорганизма, т.е. для его идентификации.

При этом неизвестный компонент определяют по известному. Например, для обнаружения антител в сыворотке больного, берут известную лабораторную культуру микроорганизма (антиген). Если сыворотка реагирует с ним, значит, она содержит соответствующие антитела и можно думать, что данный микроб является возбудителем болезни у обследуемого больного.

Если нужно определить, какой микроорганизм выделен, его испытывают в реакции с известной диагностической (иммунной) сывороткой. Положительный результат реакции говорит о том, что данный микроорганизм идентичен тому, которым иммунизировали животное для получения сыворотки.

***1. Реакция агглютинации (РА)*** - простая по постановке реакция, при которой происходит связывание антигенов (агглютиногенов) антителами (агглютинидами) с образованием агглютината. Антигенами в РА являются бактерии, эритроциты и др. клетки (корпускулярный антиген.) РА

происходят в присутствии электролита (изотонического р-ра NaCl).  
Агглютинат виден глазом в виде хлопьев, или осадка.

Два направления использования РА: 1. для определения антител в сыворотке крови больных (при бруцеллезе, брюшном тифе, паратифах) – серодиагностика.  
2. для идентификации возбудителя, выделенного от больного – сероиндикация.

Варианты РА: развёрнутая, ориентировочная, непрямая.

Развернутая РА – ставится для определения уровня антител в сыворотке крови больного. Готовят разведения сыворотки крови в электролите, добавляют к ним взвесь убитых микробов (диагностикума) и помещают в термостат при  $t\ 37^\circ$ .

Через несколько часов отмечают изменения в пробирках в виде осадка и определяют титр реакции. Это наибольшее разведение сыворотки, при котором ещё есть агглютинация, т.е. образовался осадок.

Ориентировочная РА – ставится для идентификации возбудителя, выделенного от больного, т.е. определяют серотип возбудителя. Для этого применяют диагностические антитела, т.е. диагностическую иммунную сыворотку. Проводится на предметном столе: к капле диагностической иммунной сыворотки добавляется чистая культура возбудителя (антиген). Учёт реакции через 1-5 минут, изменяется прозрачность, т.к. образуются хлопья (антиген + антитело) Обязательное условие при РА: наличие контроля антигенов и антител, т.е. вместо одного из компонентов реакции добавляют физ. раствор. Если в контроле нет агглютинации (реакция отрицательная), то проводят учёт реакции.

РНГА (РПГА) – на эритроцитах адсорбируют антиген, или антитело. Если адсорбированы антигены, то называется эритроцитный диагностикум, → определяют антиген в сыворотке. Эритроцитные диагностикумы с адсорбированным антителом используются для выявления антигена в исследуемом материале.

При (+) РНГА: склеивание и выпадение эритроцитов на дно пробирки в виде фестончатого осадка. При (-) реакции осадок плотный с ровными краями. РА используется для определения групп крови, выявление антирезусных антигенов.

**2. Реакция преципитации** - это формирование и осаждение (выпадение в осадок) комплекса растворимого молекулярного антигена со специфическими антителами (преципитинами) в присутствии электролита.

Осадок комплекса антиген-антитело называется преципитат. Реакция проводится в пробирках. Сначала вносится иммунная сыворотка, затем наслаивают растворённый в электролите антиген. При оптимальных соотношениях антигена и антитела на границе двух растворов образуется непрозрачное кольцо преципитата (реакция кольцепреципитации). Её

разновидность – реакция термопреципитация (реакция Асколи при Сибирской язве) – антиген представляет собой прокипячённый водный экстракт органов. Следующая разновидность РП: в геле агара – иммуноэлектрофорез и др.

**3. Реакция нейтрализации** - основана на способности антитела иммунной сыворотки нейтрализовать повреждающее действие микробов или их токсинов на чувствительные клетки или ткани. То есть, микробные антигены нейтрализуются антителами.

РН проводится путём введения смеси «антиген-антитело» животным или в культуру клеток. Если у животных или в клетках отсутствуют повреждения, то РН считается положительной.

РН проводится также в пробирке: токсины нейтрализуют антитоксином – проявляется помутнением и выпадением осадка. Применяется для определения активности антитоксических сывороток.

**4. Реакции с участием комплемента** - основаны на активации (связывании) комплемента комплексом антиген-антитело.

Реакция лизиса – это растворение бактерий, эритроцитов и других клеток под действием антител (лизинов) в присутствии комплемента. Лизины, растворяющие бактерии, называются бактериолизинами, растворяющие эритроциты, – гемолизинами. В качестве комплемента используют сыворотку крови морской свинки.

#### **Реакция связывания комплемента (РСК).**

Комплемент – это комплекс белков, который присоединяется к комплексу «антиген-антитело». Если в реакции комплекс «антиген-антитело» не образуется, то комплемент остаётся свободным.

Две фазы в постановке РСК: 1) антиген + антитело + комплемент → инкубация смеси

2) выявление в смеси свободного комплемента путём добавления к ней гемолитической системы, состоящей также из антигена (эритроциты барана) и антител к ним (гемолитическая сыворотка, содержащая гемолизины).

Если в первой фазе при образовании комплекса антиген-антитело происходит связывание им комплемента, то во второй фазе гемолиза не произойдёт (реакция «+»). Если в первой фазе антиген и антитело не соответствуют друг другу, комплемент останется свободным, тогда во второй фазе он присоединится к комплексу «эритроцит-гемолизин» и вызовет гемолиз эритроцитов (реакция «-»).

РСК используют для диагностики инфекционных заболеваний, вызванных спирохетами, риккетсиями и вирусами (RW).

## **5. Реакции с использованием меченых антигенов или антител.**

**Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)** - основана на свечении в УФ лучах антигенов тканей или микробов, обработанных иммунными сыворотками с антителом, мечеными флюорохромами.

В люминесцентном микроскопе бактерии, обработанные такой сывороткой, светятся по периферии клетки зеленым цветом. Эта реакция является методом экспресс диагностики для выявления антигенов микробов или антител.

**ИФА** - выявление антигенов или антител с помощью известных антигенов или антител, меченого ферментом (пероксидой хрена, щёлочной фосфатазой).

Твердофазный ИФА – когда один из компонентов иммунной реакции (антиген или антитело) сорбирован на твёрдом носителе (в лунках полистероловых микропанелей). Применяется для диагностики бактерий, вирусных и паразитарных инфекций (ВИЧ, гепатита), определения гормонов, ферментов, др. БАВ.

**Радиоиммунологический анализ (РИА)** - высокочувствительный метод, антиген или антитело мечены радионуклидами ( $J^{125}$ ,  $C^{14}$ ,  $Cr^{14}$ ).

**ИБ** – высокочувствительный метод, основан на сочетании электрофореза и иммунологического метода ИФА. Используется для диагностики ВИЧ инфекции.