

**Лекция № 14.**  
**СЕРОЛОГИЧЕСКИ**  
**Е РЕАКЦИИ**  
**(практика №16)**

**СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ (от лат. serum - сыворотка) РЕАКЦИИ** — реакции взаимодействия антигена и антитела, при которых один из ингредиентов неизвестен, протекают в две фазы:

**1-я фаза - специфическая** — образование комплекса антиген - антитело, видимого изменения нет;

**2-я фаза — неспецифическая** - комплекс антиген — антитело взаимодействует с неспецифическими факторами среды (электролиты - вещества, проводящие электрический ток [растворы солей]; комплемент - набор иммунных белков, содержащихся в сыворотке крови [кровь без форменных элементов], фагоцит. Результат взаимодействия виден невооруженным глазом (склеивание, растворение, помутнение).

## Виды серологических реакций:

1. агглютинации,
2. преципитации,
3. нейтрализации,
4. связывания комплемента,
5. РИФ,
6. ИФА (иммуноферментный анализ).

# Применение серологических реакций:

## 1. Лабораторная диагностика инфекций:

1) для выявления антител в сыворотке больного (серодиагностика);

2) для определения вида антигена – выделенный микроорганизм (идентификация).

# РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ

**РА** — склеивание антителами антигенов (бактерии, эритроциты) в присутствии электролита (изотонического раствора натрия хлорида). При положительной РА образуются хлопья (на предметном стекле) или осадок (в пробирке).

**РА** используют для серодиагностики брюшного тифа, бруцеллёза (реакция Райта).

Для идентификации кишечных инфекций, коклюша.

**Два метода** проведения РА: реакция агглютинации на стекле (ориентировочная) и развёрнутая (в пробирках).

## Реакция агглютинации на стекле.

На предметном стекле к капле иммунной диагностической сыворотки (взята на второй неделе болезни людей или у выздоровевших, т.к. в ней достаточно АТ или у гипериммунизированных лошадей) добавляют чистую культуру возбудителя, выделенного от больного. Через 1-5 мин в ранее прозрачной капле образуются хлопья, которые состоят из комплексов «АГ - АТ».



## Реакция агглютинации в пробирках.

К разведениям сыворотки крови больного в электролите добавляют взвесь убитых м/о. После инкубации, при 37<sup>0</sup>С, отмечают наибольшее разведение (титр) сыворотки, при которой произошла агглютинация (образовался осадок).

## Схема реакции агглютинации:

**АТ (иммунная диагностическая сыворотка) + АГ (м/о или эритроциты) + изотонический раствор = хлопья**



# РЕАКЦИЯ ПРЕЦИПИТАЦИИ

Проводят в пробирках, наслаивая растворённый в электролите АГ на иммунную сыворотку. При оптимальном соотношении АГ и АТ на границе двух растворов образуется непрозрачное кольцо – преципитат. Отличие РП от РА - размер частиц антигена.

**РП применяют для определения антигена при диагностике инфекций (сибирская язва, менингит); в судебной медицине — для определения видовой принадлежности крови, спермы; в санитарно - гигиенических исследованиях — при установлении фальсификации продуктов; с её помощью определяют филогенетическое родство животных и растений.**

### Схема реакции приципитации:

**АТ (иммунная диагностическая сыворотка) + АГ (растворённый АГ или гаптен в изотоническом растворе) + = мутное кольцо (приципитат)**

### РЕАКЦИЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ.

РН основана на способности АТ иммунной сыворотки нейтрализовать действие микробов и их токсинов на клетки. РН проводят путём введения смеси АГ – АТ животным. При отсутствии у животных повреждающего действия говорят о нейтрализующем действии сыворотки. РН **применяют для приготовления антитоксических сывороток.**

Схема реакции приципитации: **АТ (иммунная диагностическая сыворотка) + АГ (м/о или их токсины) = нет повреждений на животном (флокуляция – помутнение, хлопья в пробирке)**

# РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

РСК основана на адсорбции (оседании) комплемента на комплексе АГ—АТ.

РСК применяют для идентификации и серодиагностики инфекций, вызванных спирохетами (реакция Вассермана), риккетсиями и вирусами.

## **Техника проведения РСК:**

**1 фаза** (не различима глазом): инкубация смеси АГ (м/о) + АТ (иммунная сыворотка) + комплемент (сывороточная смесь от разных животных) + изотонический раствор

**2 фаза:** смесь [АГ + АТ + комплемент] + АГ (эритроциты барана) + гемолитическая сыворотка (АТ к эритроцитам барана) + изотонический раствор.

### Учёт результатов:

Если комплемент присоединился к комплексу АГ – АТ в 1 фазе, то гемолиза эритроцитов барана нет, реакция положительная – в пробирке муть (комплекс АГ – АТ специфический).

Если в 1 фазе АГ не соответствует (не специфичен, не соединится) антителу, то и комплемент останется свободным.

Свободный комплемент участвует во 2 фазе, вызывая гемолиз эритроцитов барана — результат отрицательный (в пробирках прозрачно — «лаковая кровь»).

- **РЕАКЦИЯ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ**
- К АТ иммунных сывороток присоединяют флюорохромы (люминесцирующие сыворотки). При взаимодействии АТ с АГ образуется светящийся комплекс, видимый с помощью люминесцентного микроскопа.

Метод высокочувствителен, прост, быстр (результат через 30мин), не требует выделения чистой культуры (обнаруживают микроорганизмы в кале при холере, мокроте при коклюше, мозговой ткани).

РИФ применяют для экспресс (ускоренной) диагностики инфекций.

Схема реакции приципитации: АТ (иммунная сыворотка) + флюорохромы + АГ (м/о) = свечение комплекса АТ - АГ



## Иммуноферментный анализ

ИФА – метод выявления АГ с помощью АТ, конъюгированных ферментом – меткой (щелочная фосфатаза). ИФА применяют для диагностики ВИЧ, гепатита.

## Радиоиммунологический анализ

АГ или АТ помечают радионуклидом. После образования комплекса АГ – АТ радиоактивный комплекс исследуют на радиоактивность, интенсивность излучения прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.