

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 37⁰С, 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.