

# ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ



МЕТОДИЧЕСКОЕ  
ПОСОБИЕ



МЕДВУЗА

# ЧТО ТАКОЕ МЕДВУЗА

**Медвуза** — это проект, созданный для помощи студентам-медикам. Мы знаем, что такое учёба в медицинском вузе, с какими трудностями приходится сталкиваться каждому студенту.

**Наша задача** — создать сообщество, в котором студенты медицинских университетов могли бы делиться своими знаниями и опытом с младшими коллегами через курсы, бесплатные вебинары, методички, статьи и полезные посты.





# ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| Реакции иммунитета: классификация                | 3  |
| Иммунологические методы диагностики              | 5  |
| АГ строение микроорганизмов                      | 8  |
| Простые реакции иммунитета                       | 9  |
| Реакции, основанные на феномене агглютинации     | 9  |
| Реакции, основанные на феномене преципитации     | 13 |
| Реакции с использованием меток                   | 15 |
| Реакция иммунофлуоресценции                      | 15 |
| Иммуноферментный анализ                          | 19 |
| Иммунохроматографический анализ                  | 24 |
| Непопулярные реакции                             | 26 |
| Реакция вируснейтрализации                       | 26 |
| Реакции токсиннейтрализации                      | 28 |
| Реакции, основанные на феномене иммунного лизиса | 29 |



# ОБЩИЕ ПОНЯТИЯ

## РЕАКЦИИ ИММУНИТЕТА

Реакции иммунитета (РИ) –это образование комплекса Антиген (АГ) + Антитело (АТ). Данный комплекс часто называют иммунным комплексом.



Все реакции иммунитета:

- Высокоспецифичны, т.е. антитела могут взаимодействовать только со строго определенными антигенами.
- Высокочувствительны, т.к. позволяют выявить единичные молекулы либо АГ, либо АТ.

## Классификация реакций иммунитета

### А) По количеству компонентов:

- Простые
    - двухкомпонентные (только АГ+АТ)
    - прямыми, т.к. результат можно увидеть сразу
    - относятся реакции агглютинации и преципитации
  - Сложные
    - многокомпонентные (кроме АТ и АГ есть вспомогательные элементы, такие как ферменты в ИФА, меченные АТ в ИХА)
    - не прямые реакции, результат невозможно увидеть без специальных систем для определения результатов (флуоресцентный микроскоп в РИФ)
- относятся: РИФ, ИФА, ИХА, РИА



## В) По характеру взаимодействия АГ с АТ:

- Реакции агглютинации
- Реакции преципитации
- Реакции токсиконейтрализации
- Реакции иммунного лизиса
- Реакции вируснейтрализации
- Реакции с использованием меченных АГ и АТ

Все реакции иммунитета можно выразить формулой:

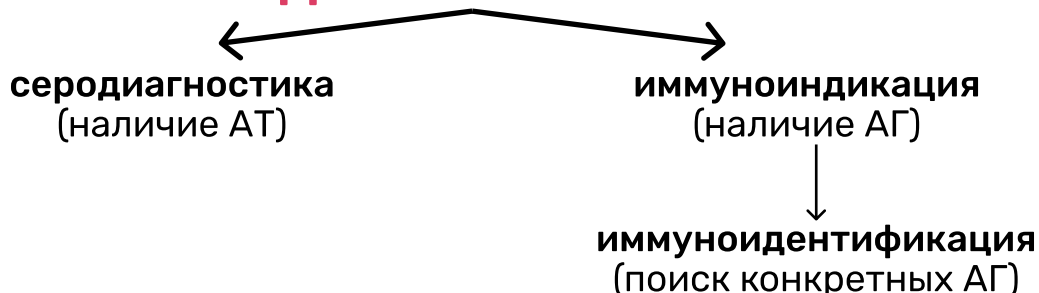
$$\text{АТ} + \text{АГ} = \text{РЕЗУЛЬТАТ}$$

Зная два компонента из этой формулы, можно выявить третий, что и лежит в основе иммунодиагностики.





# ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ



## Серодиагностика

Метод диагностики, основанный на обнаружении антител в сыворотке с помощью известного антигена.

## $xAT + АГ = РЕЗУЛЬТАТ$

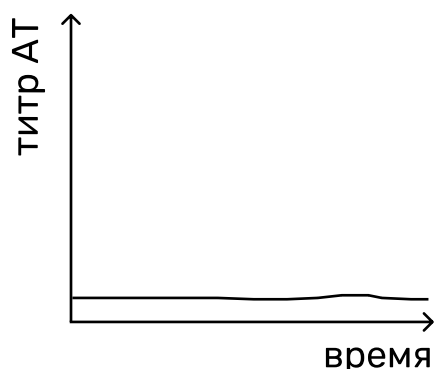
**Типы АТ, содержащиеся в сыворотке человека:**

- **Нормальные** - это АТ, которые образовались в ответ на скрытую (бытовую) иммунизацию малыми дозами различных АГ. В сыворотке присутствуют в *незначительном количестве*.
- **Постинфекционные** - остаются после перенесения инфекционного заболевания, циркулируют в сыворотке *от нескольких дней до десятков лет* (зависит от заболевания).
- **Поствакцинальные** - формируются после проведения активной иммунизации вакцинами или анатоксинами, *продолжительность нахождения в сыворотке различна*, зависит от типа вакцины.
- **Инфекционные** - появляются во время инфекционного заболевания. *Количество их нарастает по мере развития заболевания*. Количество АТ в сыворотке изменяется (нарастает) за короткий промежуток времени, что может указывать на инфекционный процесс в организме, поэтому именно они используются в диагностике.

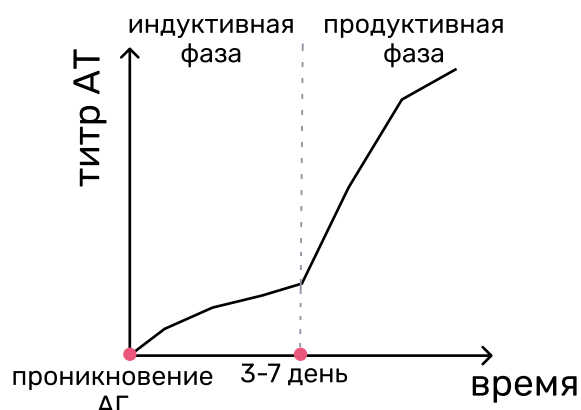
## изменение титра АТ

\*Титр АТ – максимальное разведение сыворотки, при котором еще обнаруживаются АТ. (Это понятие отражает, как много АТ находится в сыворотке крови).

### нормальные АТ



### инфекционные АТ



Титр нормальных АТ стабильно низкий (могут быть колебания, но их нельзя зафиксировать).

Титр инфекционных антител сильно изменяется. Выделяют две фазы:

- 1) Индуктивная: с момента проникновения АГ до 3-7 дня. Организм "знакомится" с АГ, к нему синтезируются АТ, поэтому их количество незначительное в сыворотке, выявить на данном этапе невозможно.
- 2) Продуктивная: резко увеличивается титр АТ, их можно выявить.

На основе данного свойства существует метод **ПАРНЫХ СЫВОРОТОК**:  
Производится забор крови 2 раза:

- Первый забор крови на 5-8 день (делать раньше не имеет смысла, так как титр инфекционных АТ слишком низкий и их невозможно обнаружить, вспоминаем про индуктивную фазу);
- Второй забор крови производят на 10-16 день заболевания;
- Определяют титр АТ **ОДНОМОМЕНТНО**, то есть забор крови проводят в разное время, а определяют в одно (пробирочки просто стоят в холодильнике и ждут).

Таким образом, инфекционные АТ можно отличить от остальных видов АТ по нарастанию их в количестве в сыворотке с 5 по 16 день заболевания.

## Иммуноиндикация

Обнаружение неизвестного АГ в исследуемом материале (кровь, моча, кал и т.д.).

Это самостоятельный **экспресс-метод** диагностики инфекционных заболеваний.

При постановке РИ по обнаружению АГ известным компонентом будут АТ гомологичные искомому АГ. Такие АТ содержатся в сыворотке иммунизированных соответствующим АГ лабораторных животных – *иммунных сыворотках*.

## АТ + хАГ = РЕЗУЛЬТАТ

## Иммуноидентификация

Обнаружение АГ в целях идентификации возбудителя заболевания.

Важно понять, чем это отличается от иммуноиндикация – мы не просто находим АГ, но по ним устанавливаем возбудителя заболевания.

Такие реакции проводят с целью изучения антигенного строения неизвестной чистой культуры, выделенной в ходе бактериологического исследования, т.е. для ее серологической идентификации. Это дает возможность определить не только вид, но и серогруппу, серовар. С этой целью используется только одна реакция: *реакция агглютинации*.



# АГ СТРОЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

## По локализации:

- Целлюлярные АГ, т.е. они связаны с самой клеткой, являются корпускулярными:
  - Соматические (О-АГ);
  - Капсульные (К-АГ);
  - Жгутиковые (Н-АГ).
- Экстрацеллюлярные - белковые молекулы, синтезируемые бактериальной клеткой во внешнюю среду. Это растворимые АГ.
  - Экзотоксины;
  - Экзоферменты.

## По специфичности:

- Гетероантигены - общие с АГ тканями и органами человека. Им соответствуют перекрестно-реагирующие АТ;
- Группоспецифические - общие у организмов одного рода или семейства. Соответствуют групповые АТ;
- Видоспецифические - общие у микроорганизмов одного вида. Соответствуют видовые АТ;
- Вариантспецифические - встречаются у отдельных штаммов микроорганизмов. Соответствуют вариантспецифические АТ.



# ПРОСТЫЕ РЕАКЦИИ ИММУНИТЕТА

## Реакции, основанные на феномене агглютинации

Реакция агглютинации (РА) – это склеивание и осаждение корпускулярного АГ (целых бактериальных клеток, эритроцитов, лейкоцитов) под действием АТ в присутствии электролита. Это простая, двухкомпонентная, прямая РИ.

### Диагностическая реакция агглютинации

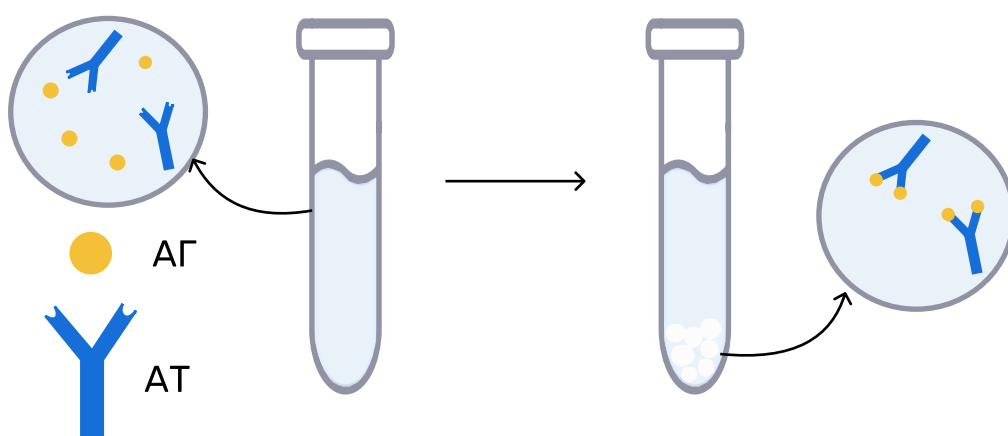
#### Компоненты реакции:

- 1) Исследуемая сыворотка в определённом разведении (хАТ);
- 2) Стандартный антигенный препарат-диагностикум, представляющий собой взвесь убитых бактерий (АГ);
- 3) Физиологический раствор.

#### Техника постановки реакции:

1. Готовят двукратное разведение сыворотки от 1:50 до 1:800;
2. В каждую пробирку вносят равное количество диагностикума;
3. Пробирки встряхивают, ставят в термостат на 2 часа, затем оставляют при комнатной температуре на 18-20 часов;
4. Учитывают результат: положительный результат-выпадение осадка белого цвета.

! При каждой постановке реакции будет проводится контрольная реакция – использование в реакции препаратов, в которых заведомо отсутствуют АГ/АТ.





Недостатком прямой реакции агглютинации является низкая чувствительность из-за малых размеров образующихся комплексов АГ+АТ.

**Чувствительность реакции** – это минимальное количество АТ, которое может быть обнаружено с помощью реакции.

Чтобы повысить чувствительность реакции нужно укрупнить иммунные комплексы, с этой целью АГ адсорбируют на каких-либо носителях (например, эритроциты, латексные частички).

## Реакции пассивной/непрямой гемагглютинации (РПГА/РНГА)

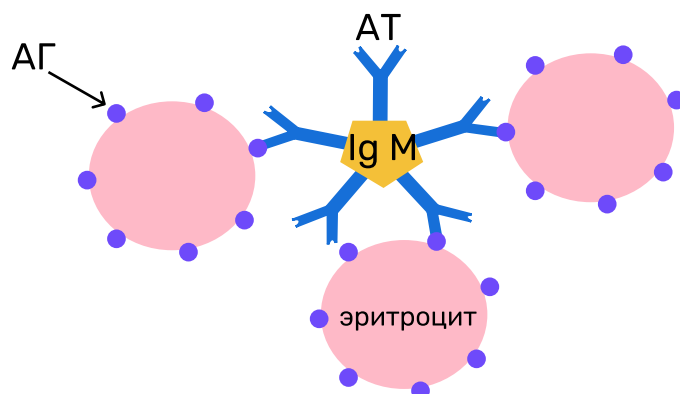
РПГА – это склеивание эритроцитарного диагностикума при взаимодействии с соответствующими АТ.

### Компоненты РПГА:

- 1) Сыворотка больного в определенных разведения (хАТ);
- 2) Стандартный АГ препарат – эритроцитарный диагностикум;
- 3) Физиологический раствор.

### Техника постановки реакции:

- 1) Готовят двукратные разведения сыворотки и каплю каждой вносят в лунки иммунологического планшета. Реакция сопровождается двумя контролями: положительным (используют сыворотку с АТ) и отрицательным (используют физ.р-р);
- 2) Во все лунки добавляют антигенный эритроцитарный диагностикум;
- 3) Оставляют в термостате на 2 часа;
- 4) Учет результатов:
  - Положительный результат – эритроциты с фестончатыми краями «перевернутый зонтик»
  - Отрицательный результат – эритроциты образуют плотный осадок с ровными краями «пуговку»



“Разрозненный” эритроциты, которые были в капле, “скрепляются” АТ-ми, образуя “комочки”. В результате в лунках иммунологического планшета вместо ровных капель будут находиться капли с фестончатыми краями.



## Реакция агглютинации по идентификации (т.е. определение конкретных АГ)

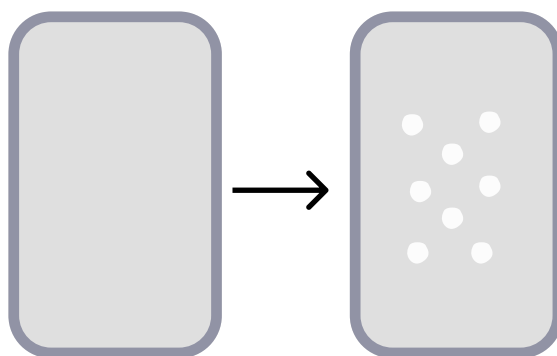
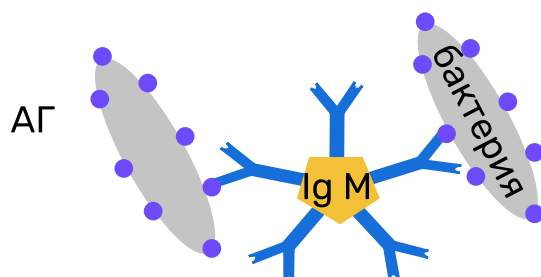
Данная реакция проводится как заключительный этап бактериологического исследования.

### Компоненты реакции:

- 1) Чистая культура бактерий (хАГ);
- 2) Агглютинирующая сыворотка (АТ);
- 3) Физиологический раствор.

### Техника постановки реакции:

- 1) На предметное стекло наносится капля соответствующей сыворотки в разведении 1:10 (в качестве контроля капля физ.ра-ра).
- 2) Стерильной петлей со скошенного агара вносится чистая культура подлежащих идентификации бактерий.
- 3) Через 5-10 минут производят учет результатов.



Реакция положительна, если на предметном стекле появляются хлопья агглютинации.

## Реакция латекс-агглютинации

Данная реакция используется только с целью иммуноиндикации. Антитела сорбируются на частицах полистирольного латекса.

При образовании комплекса АГ+АТ происходит склеивание латексных частиц. Они являются как бы искусственными эритроцитами, но более устойчивы к воздействию факторов окружающей среды.

### Компоненты реакции:

- 1) Исследуемый материал (хАГ);
  - 2) Латексный диагностикум-частицы латекса с адсорбированными на них известными АТ;
  - 3) Физиологический раствор.
- Правила постановки такие же.



## Реакции, основанные на феномене преципитации

**Преципитация** – это осаждение комплекса АГ+АТ, образующегося в результате взаимодействия растворенного антигена с соответствующими антителами.

Реакция преципитации – это простая двухкомпонентная реакция иммунитета. Проявление – возникновение полос преципитации.

Данная реакция используется в основном для определения экзотоксинов (! так как направлена на обнаружение растворенных АГ).

### Реакция двойной иммунодиффузии по Оухтерлони

Эта реакция проводится в агаровом геле.

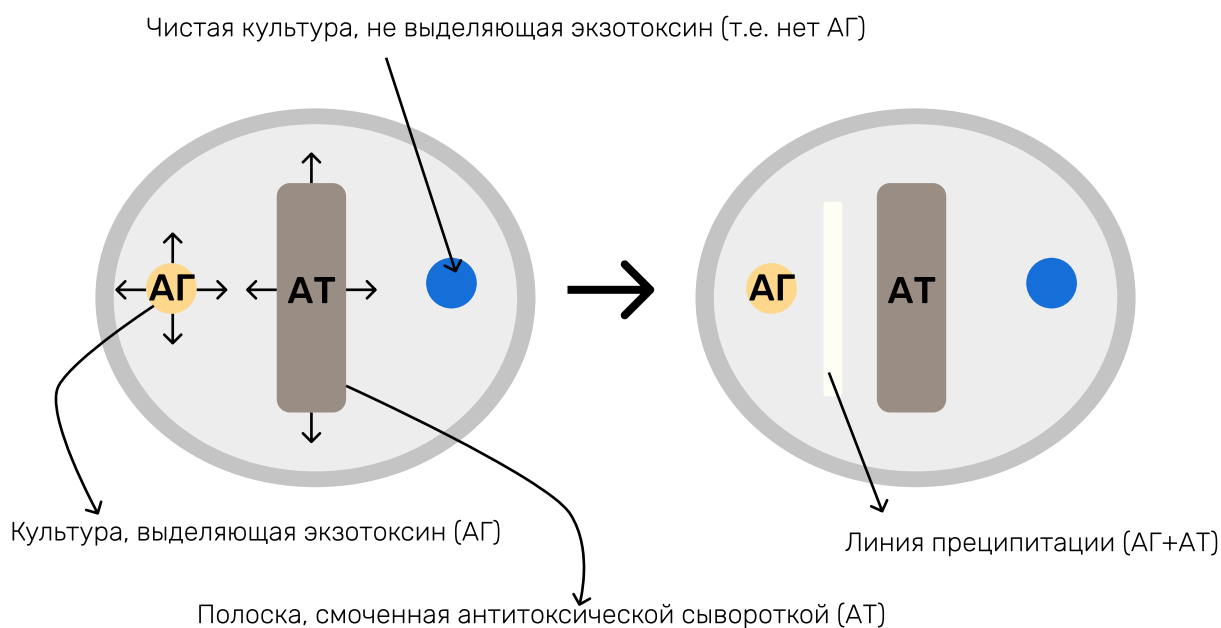
#### Компоненты реакции:

- 1) Антитоксическая противодифтерийная сыворотка (АТ);
- 2) Предположительно экзотоксин *C. diphtheriae* (хАГ)

#### Техника постановки реакции:

- 1) Диск или полоску, пропитанной антитоксической противодифтерийной сывороткой (АТ) накалдывают на поверхность агара, залитого в чашку Петри;
- 2) С одной стороны засевают штамм, токсигенность которого необходимо подтвердить;
- 3) С другой стороны засевают чистую культуру, которая не выделяет экзотоксин (!то есть в лаборатории изначально хранятся чистые культуры, о которых знают, что они не синтезируют экзотоксины);
- 4) Посев оставляют в термостате на сутки;
- 5) Учет результатов.

Если культура продуцирует экзотоксин (АГ), то при росте бактерий на питательной среде, он диффундирует (это же растворимый АГ, значит он будет распределяться по всему объему агара) в среду и вступает в реакцию преципитации с АТ сыворотки, которые также диффундируют в питательную среду – двойная иммунодиффузия. Образуются линии преципитации.



Это схематичное изображение. В реальности выглядит так:



В лунке S - антитоксическая сыворотка, в лунках A, B, C, D - изучаемые штаммы (!помним, что среди них есть группа контроля). Линия преципитации появилось между лунками S и D, значит штамм D - искомый.



# РЕАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОК

Для повышения чувствительности иммунологических методов диагностики разработаны РИ с использованием меченых сывороток. Сущность этих методов в том, что комплекс АГ+АТ, образовавшийся при положительном результате реакции, выявляют с помощью меченой сыворотки. То есть к иммунному комплексу присоединяется меченное АТ, тем самым “выдавая” наличие этого комплекса.

В случае серодиагностических реакций используется антиглобулиновая сыворотка, которую получают при иммунизации животных иммуноглобулинами человека. То есть это АТ к АТ человека.

Любое антитело в комплексе АГ+АТ является иммуноглобулином и будет являться АГ по отношению к антиглобулиновой сыворотке.

В качестве меток могут быть использованы:

- Флуоресцентные красители (реакция иммунофлуоресценции);
- Радиоактивные изотопы (радиоиммунный анализ);
- Фермент (реакция иммуноферментного анализа);
- Красители (иммунохроматографический анализ).

## Реакции иммунофлуоресценции (РИФ)

**Непрямая РИФ - применяется для серодиагностики**

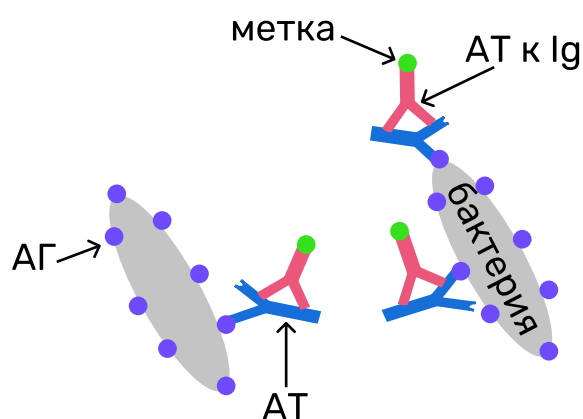
**Компоненты реакции:**

- 1) Эталонный штамм (АГ);
- 2) Исследуемая сыворотка ( $xAT = Ig$ );
- 3) Меченная антиглобулиновая сыворотка (будем обозначать **АТ к Ig**);
- 4) Буферный раствор.

**Техника постановки реакции:**

1. Приготовление мазков из эталлоного штамма (АГ) на предметном стекле, фиксируют;
2. На поверхность фиксированного мазка наносят исследуемую сыворотку от больного в разных разведениях ( $xAT$ );
3. Промывают буферным раствором;

4. Обрабатывают меченой сывороткой, против иммуноглобулинов человека - АТ к Ig, меченные флюоресцеина изотиоцитатом (ФИТЦ);
5. Повторно промывают буферным раствором;
6. Учет результатов с помощью люминесцентного микроскопа.



Теперь разберем механизм реакции:

На предметном стекле адсорбируют (=закрепляют) АГ.



Вносят исследуемую сыворотку. Если АГ и АТ подходят, то образуется **прочный** иммунный комплекс.



АТ и АГ подошли, образовался прочный иммунный комплекс



АТ и АГ не подошли, не образовался иммунный комплекс

Промывают буферным раствором - то есть "ополаскивают" предметное стекло. В случае, если образовался **прочный** иммунный комплекс, то он останется. Если нет - то АТ удалится с поверхности предметного стекла.

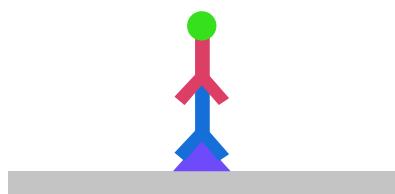


ИК остался после промывки

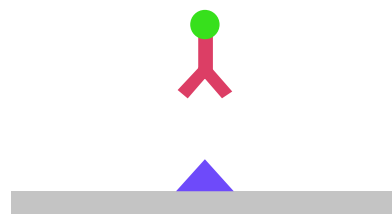


ИК не образовался, поэтому АТ  
"смыло" буфером

Вносят меченное АТ к Ig, которое образует ИК с АТ (ведь для него это будет АГ).

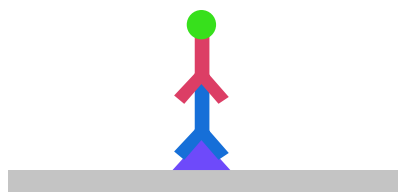


образование ИК



ИК не образуется

Повторно промывают, если все компоненты реакции подошли, то прочные ИК остаются на предметном стекле.



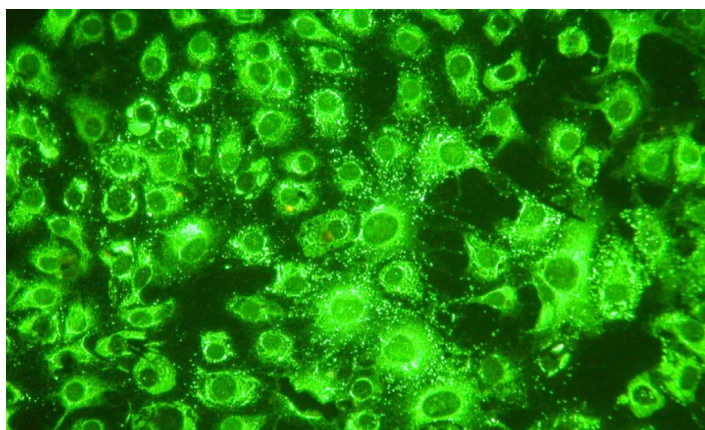
есть меченые АТ, которые будут  
выявлены при люминесцентном  
микроскопировании



нет меченых АТ

При положительном результате наблюдается свечение. Интенсивность свечения зависит от количества образовавшихся иммунных комплексов, а, следовательно, от количества АТ в сыворотке больного. При отрицательном результате свечение отсутствует.

Недостаток метода - субъективность, т.к. он основан на микроскопии и визуальном наблюдении.



положительная РИФ

## Прямая РИФ - применяется для иммуноиндикации

### Компоненты реакции:

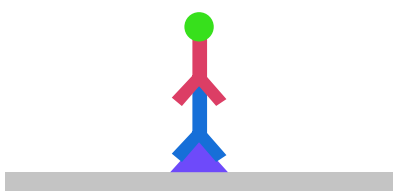
- 1) Исследуемый материал от больного (хАГ);
- 2) Диагностическая сыворотка, меченная флюорохромом (АТ);
- 3) Буферный раствор.

### Техника постановки реакции:

1. Из исследуемого материала готовят мазок на предметном стекле, фиксируют;
2. На поверхность мазка наносят меченые ФИТЦ сыворотки или моноклональные АТ;
3. Промывка буферным раствором;
4. Учет результата.

Теперь разберемся: в чем разница между ПРЯМОЙ И НЕПРЯМОЙ РИФ, почему одна используется для иммуноиндикации, а вторая для серодиагностики.

При прямой РИФ мы СРАЗУ используем меченые АТ.



НЕПрямая РИФ - необходимо АТ человека, чтобы образовался комплекс с меченым АТ. Так как мы используем хАТ - серодиагностика



прямая РИФ - к АГ сразу подходит меченое АТ, Это не АТ к Ig (здесь же нет человеческих АТ). В реакции хАГ-иммуноиндикация

## Иммуноферментные методы (ИФА)

Метка - фермент, способный расщеплять определенный субстрат. А значит в реакции обязательно будут присутствовать: субстрат и индикатор, который покажет, что фермент и субстрат взаимодействовали.

Положительной результат реакции – изменение цвета индикатора. Данный метод используют как для серодиагностики, так и для иммуноиндикации. Известные АГ или АТ фиксируют на твердой фазе (96-луночные полистирольные планшеты). Конечный результат оценивают визуально или с помощью ИФА-ридеров по оптической плотности окрашенных продуктов.

Плюсы метода - высокая чувствительность, высокая специфичность, простота учета результата.



## ИФА-ридер с иммунологическим планшетом



## Серодиагностическая ИФА

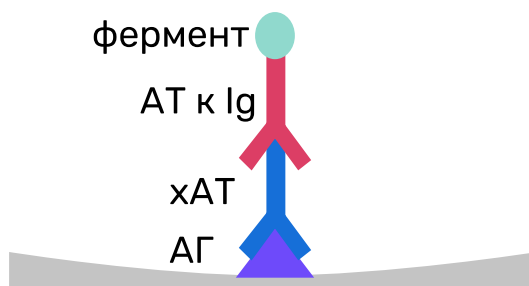
### Компоненты реакции:

- 1) Эталонный АГ (АГ);
- 2) Исследуемая сыворотка (хАТ = Ig);
- 3) Антиглобулиновая сыворотка, меченная ферментом (АТ к Ig);
- 4) Субстрат к ферменту, которым мечена антиглобулиновая сыворотка;
- 5) Индикатор;
- 6) Буферный раствор.

### Техника постановки реакции:

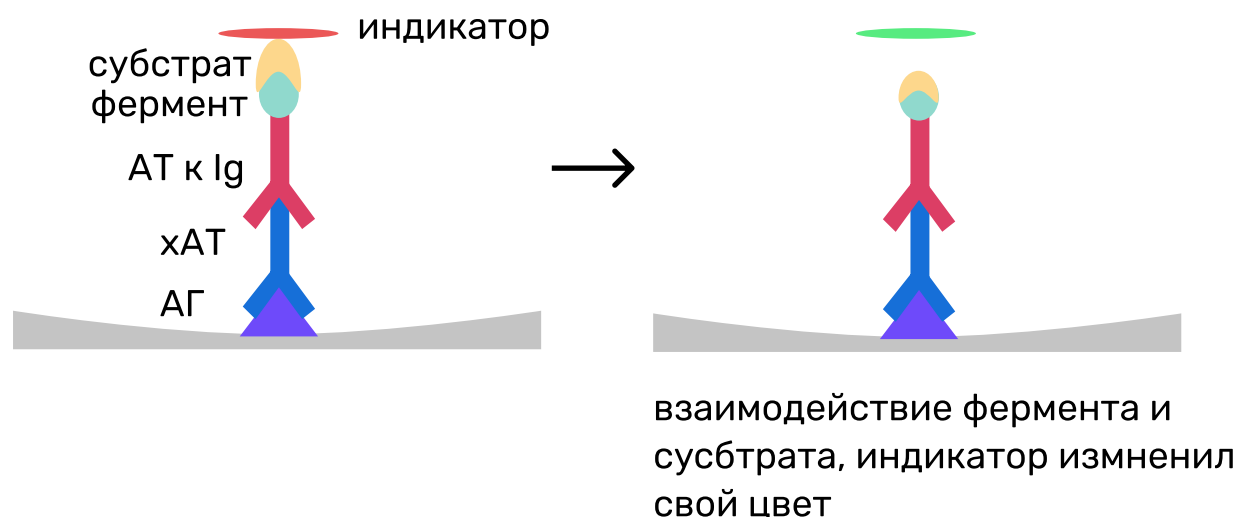
1. Адсорбируют эталонный АГ в лунки планшета;
2. Вносят исследуемую сыворотку в лунки (хАТ);
3. Отмывка буферным раствором;
4. Вносят в лунки антиглобулиновую сыворотку, меченную ферментом (АТ к Ig);
5. Отмывка буферным раствором;
6. Добавление субстрата для фермента и индикатора;
7. Учет результатов.

Разберем механизм реакции: аналогично РИФ, только здесь будет другая метка – с этого места и начнем.



На дне лунки адсорбирован АГ. К нему подошло АТ, в результате образовался прочный ИК. После отмывки буфером ИК остался на дне лунки, поэтому при внесении антиглобулиновой сыворотки сформировался комплекс АТ+АТ к Ig (а он мечен ферментом). После повторной промывки комплекс АГ+АТ+АТ к Ig сохранился в лунке.

Но чтобы мы смогли распознать наличие этого комплекса, необходимо внести в лунку субстрат действия для фермента и индикатор.



Это **НЕПРЯМАЯ** ИФА, так как к АГ не сразу направляется меченое АТ, а через посредника – АТ человека.

## ИФА для иммуноиндикации

Также его называют “сэндвич” ИФА.

### Компоненты реакции:

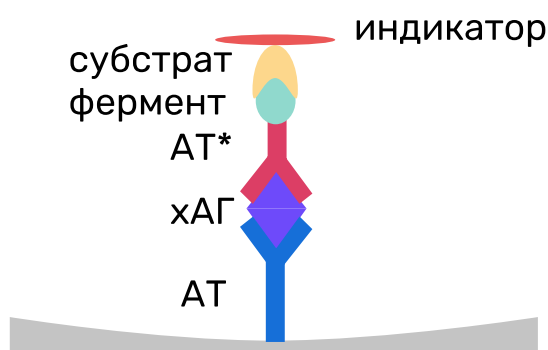
- 1) Искомый АГ (хАГ);
- 2) Диагностическая сыворотка (АТ);
- 3) Диагностическая сыворотка к искомому АГ, меченная ферментом (АТ\*);
- 4) Субстрат к ферменту, которым мечена антиглобулиновая сыворотка;
- 5) Индикатор;
- 6) Буферный раствор.

### Техника постановки реакции:

1. АТ (из диагностической сыворотки) адсорбируют в лунках планшета;
2. В лунки вносят исследуемый АГ (хАГ);
3. Проводят отмывку буферным раствором;
4. Вносят меченные ферментом АТ (АТ\*);
5. Повторно отмывают буферным раствором;
6. Вносят субстрат для фермента и индикатор;

## 7. Учет результатов.

Сейчас мы посмотрим, почему же это СЭНДВИЧ ИФА:



хАГ как будто бы “зажат” между АТ, поэтому напоминает сэндвич. “Обычное” АТ используется для того, чтобы закрепить его на поверхности лунки. В случае, если АТ и АГ подошли, то при отмывке прочный ИК останется в лунке. При добавлении АТ\*, он образует ИК с АГ, останется в лунке после отмывки.

Почему нельзя сразу закрепить в лунках хАГ? Данный метод не требует препаратов очищенных АГ (ведь производя забор пат.материала, у нас будет набор различных АГ), должно подойти оба АТ, чтобы реакция произошла. Поэтому ее называют “ловушечной” ИФА – АТ ловит свой АГ из смеси АГ.

## Конкурентная ИФА

Для серодиагностики: метод основан на конкуренции меченых АТ (АТ\*) и немеченных искомым АТ (хАТ). На дне лунок адсорбирован эталонный АГ. В случае совпадения АГ и хАТ, меченые АТ\* не будут связываться с АГ, изменение цвета индикатора не произойдет.

Для иммуноиндикации: конкуренция меченых АГ (АГ\*) с искомым АГ (хАГ) за связывание с АТ, которые адсорбированы в лунках планшета.

## Иммуноблоттинг

Сочетание гель-электрофореза с ИФА.

Первоначально бактериальные клетки или вирионы разрушают при помощи ультразвука, а затем методом электрофореза разделяют все антигены вируса или бактериальных клеток и получают коммерческий реагент на специальной нитроцеллюлозной плёнке. При постановке иммуноблоттинга на плёнку с известными антигенами наносится исследуемая сыворотка пациента. После инкубации и отмывания несвязавшихся антител, приступают к ИФА (в данном случае для ИФА для серодиагностики).

Практическое применение: выявление при ВИЧ-инфекции антител на gp120, gp24 и другие антигены вируса.

## Иммунохроматографический анализ (ИХА)

ИХА используют только для иммуноиндикации и проводят с помощью специальных тест-полосок. Чтобы это запомнить, вспомните тесты на беременность (это типичный пример ИХА), в моче исследуют определенный гормон – АГ.

Принцип действия состоит в том, что при погружении тест полоски в биологическую жидкость она начинает мигрировать вдоль полоски по принципу тонкослойной хроматографии.

Метка – красящее вещество.

### Прямой иммунохроматографический анализ:

#### Компоненты реакции:

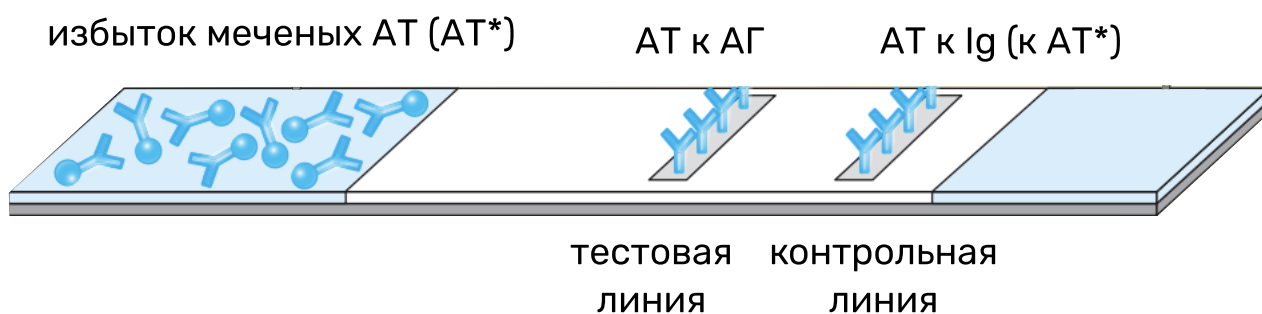
- 1) Исследуемый материал (хАГ);
- 2) Меченая диагностическая сыворотка, содержащая АТ против хАГ (АТ\*);
- 3) Диагностическая сыворотка, содержащая АТ против хАГ (АТ);
- 4) Антиглобулиновая сыворотка (АТ к Ig, в данном случае АТ к АТ\*).

#### Техника постановки реакции:

Необходимо опустить тест-полоску в емкость с исследуемой жидкостью на некоторое время (указано в инструкции), положить тест-полоску на сухую горизонтальную поверхность. Через некоторое время произвести учет результатов.

#### Механизм реакции:

Разберем строение тест-полоски

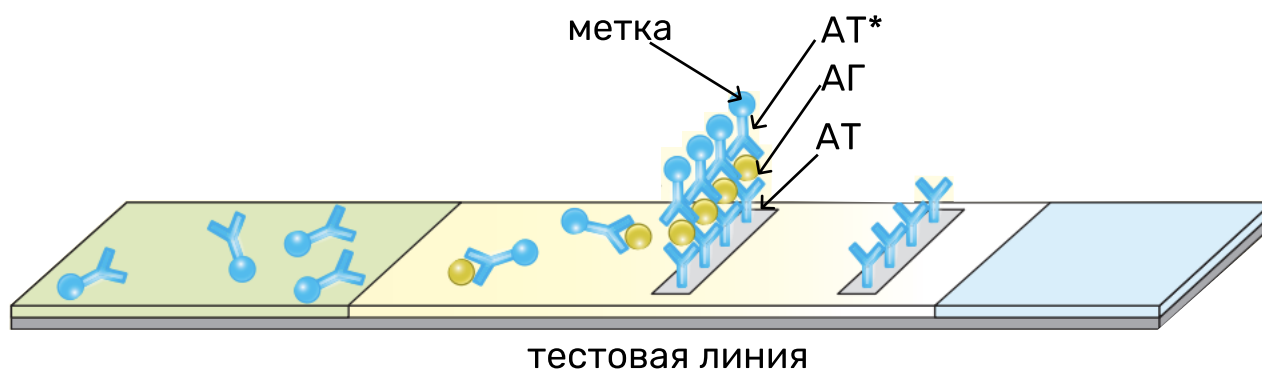




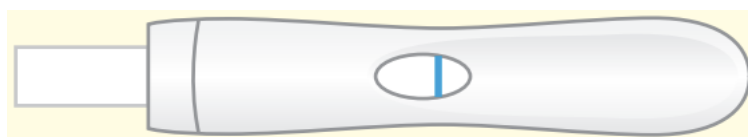
На нижнюю часть тест-полоски нанесены в избытке меченные красящим веществом АТ, специфичные к искомому АГ. При погружении тест-полоски в исследуемую жидкость, АГ распределяется по тест-полоске.



АГ и АТ\* подошли друг другу, образовался ИК. Далее этот ИК идет вверх по полоске, попадая на тестовую линию, которая содержит АТ к АГ. Визуально увидим появление одной линии.



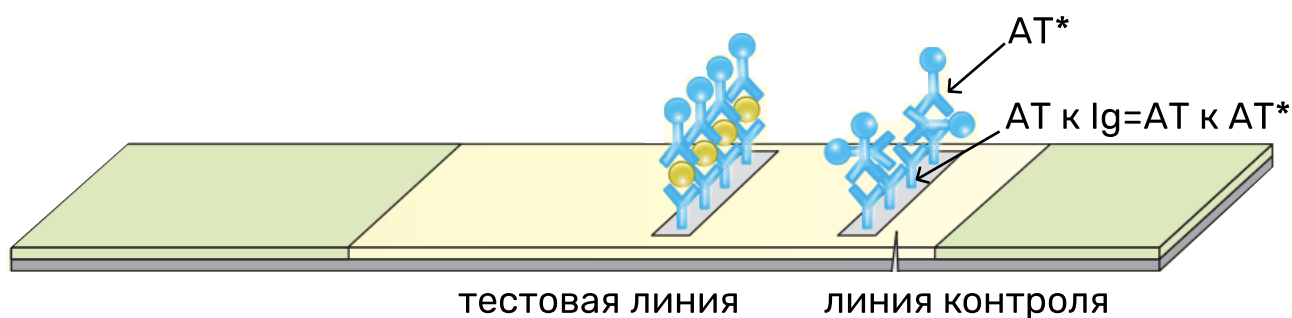
На тестовой линии образуется "сэндвич" АТ\*+АГ+АТ.



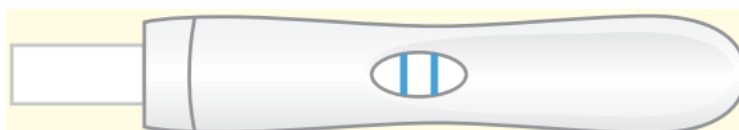
проявление одной полоски

Исследуемая жидкость двигается дальше по тест-полоске.

Избыток не связавшихся меченых АТ (АТ\*) достигает контрольной зоны, где специфически взаимодействует с антиглобулиновой сывороткой (АТ к АТ\*).



Образуется ИК  $AT^* + AT \text{ к } Ig$ . Именно для этого  $AT^*$  наносится в избытке. Проявляется вторая линия – линия контроля. Она показывает, что тест работает исправно.



проявление двух полосок

Таким образом, появление двух полосок – положительный результат; одной полоски – отрицательный результат.

# НЕПОПУЛЯРНЫЕ РЕАКЦИИ

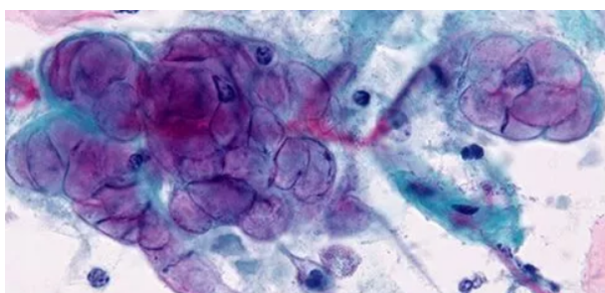
## Реакции вируснейтрализации

Нейтрализация действия вирусов при помощи вируснейтрализующих АТ.

АТ блокируют рецепторы вируса на этапе адсорбции вируса на клетках, что приводит к нейтрализации биологической активности вируса. Реакция применяется для изучения антигенного строения вирусов в ходе вирусологического исследования.

Реакция и ее результат не видны на глаз, поэтому результат учитывается в зависимости от биологии вируса:

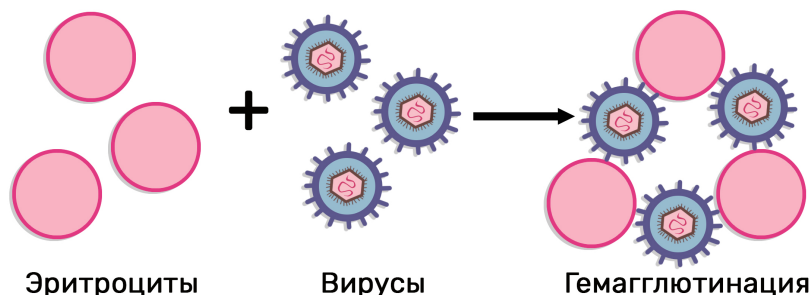
- 1) По реакции торможения гемагглютинации (РТГА);
- 2) По отсутствию цитопатического действия;
- 3) По цветной пробе;
- 4) По выживаемости лабораторных животных.



Цитопатический эффект -  
образование симпластов



\*Цветная проба - живые клетки выделяют метаболиты в окружающую среду, изменяя ее pH, в результате чего цвет индикатора меняется. При проникновении вируса клетки погибают, цвет индикатора не изменяется.



## Реакции торможения гемагглютинации

Реакцию используют для идентификации вирусов, обладающих гемагглютинином (шипы на поверхности вируса, которые склеивают эритроциты).

### Компоненты реакции:

- 1) Вирусосодержащий материал (хАГ);
- 2) Диагностическая сыворотка (АТ);
- 3) Взвесь эритроцитов.

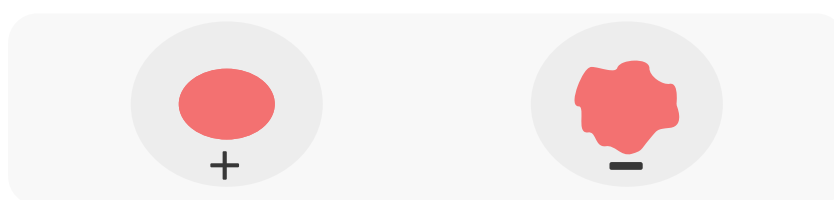
### Техника постановки реакции:

1. На предметное стекло наносят каплю сыворотки (АТ);
2. Добавляют центрифугат вирусосодержащего материала (хАГ);
3. Добавляют взвесь эритроцитов;
4. Учет результатов.

### Механизм реакции:

В случае, если хАГ (гемагглютинин) и АТ подошли, образуются ИК, в результате чего гемагглютинины теряют способность связываться с эритроцитами, агглютинация эритроцитов отсутствует.

Положительная реакция - отсутствие агглютинации, отрицательная реакция - агглютинация произошла:



## Реакции токсиннейтрализации

Нейтрализация токсического действия бактериальных экзотоксинов антитоксическими АТ.

Антитоксические сыворотки получают путем иммунизации животных анатоксином. Реакция токсиннейтрализации не видна на глаз, ее применяют на биологических моделях. Реакцию применяют для:

1. Определение титра антитоксических АТ в сыворотке крови. Исследуемую сыворотку в различных разведениях совместно с токсином вводят лабораторным животным. При достаточном количестве АТ происходит полная нейтрализация токсина и животное не погибает;

### Компоненты реакции:

- 1) Экзотоксин бактерий (АГ);
- 2) Исследуемая сыворотка (хАТ).

2. Для определения вида токсина возбудителей газовой гангрены, типа ботулинического токсина. Животных заражают кровью больного. После чего каждому животному вводят антитоксическую сыворотку, содержащие АТ только к одному определенному типу токсина. Животное, в организме которого, тип экзотоксина совпал с типом антитоксических АТ, происходит нейтрализация токсина и животное сохраняет жизнеспособность.

### Компоненты реакции:

- 1) Экзотоксин бактерий (хАГ);
- 2) Антитоксическая сыворотка (АТ).



## Реакции, основанные на феномене иммунного лизиса

**Реакции лизиса** – растворение АГ, имеющего клеточную организацию под действием АТ в присутствии комплемента (для бактериальных клеток – бактериолизины, для эритроцитов – гемолизины).

Комплемент – многокомпонентная самособирающаяся система белков крови, которая участвует в поддержании иммунного гомеостаза. Характерное свойство комплемента – высокое сродство к комплексу АГ+АТ и прочная фиксация на нем за счет взаимодействия с Fc-фрагментом молекулы Ig.

После фиксации комплемента на комплексе АГ+АТ происходит активация системы комплемента и реализация его цитолитической активности, что приводит к разрушению клетки.

В зависимости от типа клеток, участвующих в реакции различают несколько разновидностей:

- 1) Реакция иммунного гемолиза;
- 2) Реакция бактериолиза;
- 3) Реакция связывания комплемента (РСК) – практически не используется в микробиологии.

### Компоненты реакции:

- 1) Микробы, эритроциты или другие клетки (хАГ);
- 2) Бактериолитическая/гемолитическая сыворотка (АТ);
- 3) Комплемент (больше всего содержится в сыворотке морских свинок);
- 4) Изотонический раствор.

Компоненты реакции смешивают, в случае совпадения АГ и АТ, образуется ИК, к которому присоединяется комплемент. Наблюдается лизис клеток.

## Иммунодиагностические препараты

**Диагностикум** – диагностический препарат, содержащий взвесь убитых микроорганизмов или их отдельные АГ.

**Иммунные сыворотки** – это сыворотки, полученные от иммунизированных лабораторных животных известным АГ. Общее название сывороток, содержащих известные АТ – **диагностические сыворотки**.

**Эритроцитарный диагностикум** – взвесь эритроцитов, с адсорбированными на них известными АТ.

**Агглютинирующая сыворотка** – сыворотки, полученные путем иммунизации лабораторных животных взвесью чистой культуры стандартных штаммов тех или иных бактерий или вирусов. В настоящее время на практике используют **адсорбированные агглютинирующие сыворотки** – это сыворотки, лишенные групповых АТ.

**Анатоксин** – экзотоксин, который подвергли нагреванию и действию формалина, в результате чего он потерял свою токсигенность, но сохранил иммуногенность. То есть он не убивает, но вызывает иммунный ответ у организма.

# СПАСИБО ЗА ПРОЧТЕНИЕ

Мы ответственно подходим к созданию наших материалов и тщательно отбираем информацию. Нам хочется, чтобы наша методичка помогла тебе подготовиться к занятиям и сдать коллоквиумы на отлично!

Если тебе был полезен этот материал, то выкладывай фотографию методички в сторис и отмечай наш аккаунт  @med\_medvuza. Каждый месяц мы выбираем лучший отзыв и дарим один из наших курсов! Поддержка и отдача от аудитории мотивирует нас делать еще больше и еще качественнее!

## Подписывайся на нас в социальных сетях



[https://vk.com/med\\_medvuza](https://vk.com/med_medvuza)



[https://www.instagram.com/med\\_medvuza/](https://www.instagram.com/med_medvuza/)



<http://www.youtube.com/c/МЕДВУЗАШколаМедицины>



**МЕД В УЗА**