

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

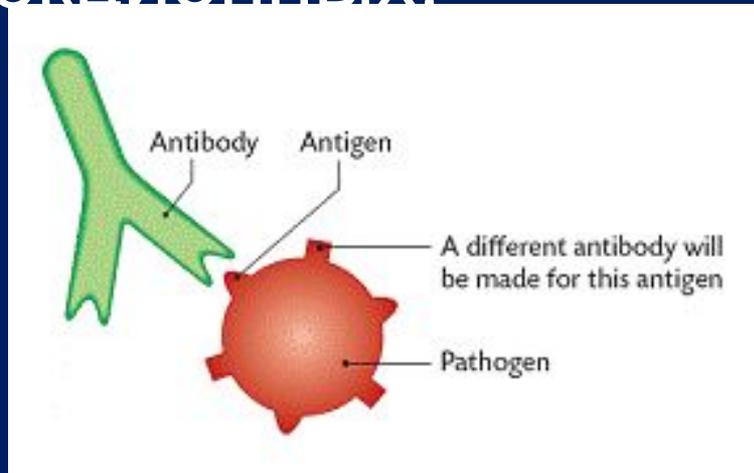
# Серологические реакции

Аклеев Андрей  
Александрович, к.м.н., доцент  
кафедры микробиологии,  
вирусологии, иммунологии и  
клинической лабораторной  
диагностики

Челябинск – 2019

# Серологические реакции – ЭТО

специфические реакции обнаружения неизвестного антигена (АГ) или антитела (АТ) по второму известному реагенту, проводимые *in vitro* с целью диагностики различных заболеваний, в том числе инфекционных.



# Схема серологической реакции

АГ + АТ = результат реакции

*Таким образом, постановка  
серологической реакции напоминает  
решение уравнения с одной неизвестной.*

# Цели серологических реакций

```
graph TD; A[Цели серологических реакций] --> B[Диагностика инфекционных заболеваний]; A --> C[Диагностика неинфекционных заболеваний, состояния иммунной и других систем организма];
```

## Диагностика инфекционных заболеваний:

- Реакции сероиндикации;
- Реакции сероидентификации;
- Реакции серодиагностики.

## Диагностика неинфекционных заболеваний, состояния иммунной и других систем организма

### Примеры использования:

- Определение уровней иммуноглобулинов разных классов в сыворотке крови;
- Определение ревматоидного фактора в сыворотке крови.

**Серологические реакции,  
проводимые с целью  
диагностики  
инфекционных  
заболеваний**

**По целям постановки эти реакции делятся на 3 группы:**

- 1. Реакции сероиндикации;***
- 2. Реакции сероидентификации;***
- 3. Реакции серодиагностики.***

# Сероиндикация

Сероиндикация – комплекс иммунологических реакций, направленных на обнаружение АГ возбудителя в исследуемом материале без выделения чистой культуры возбудителя с помощью заведомо известных АТ (диагностических сывороток).

# Реакции сероиндикации

- ✓ Реакция преципитации (РП) (реакция термокольцепреципитации Асколи)
- ✓ Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА)
- ✓ Реакция латекс-агглютинации
- ✓ Реакция коагглютинации
- ✓ Реакция иммунофлуоресценции (РИФ)
- ✓ Иммуноферментный анализ (ИФА)

# Сероидентификация

Сероидентификация – комплекс иммунологических реакций, направленных на обнаружение (идентификацию) возбудителя в чистой культуре с помощью заведомо известных АТ (диагностических сывороток).

# Реакции сероидентификации

- ✓ Реакция агглютинации (РА)
- ✓ Реакция латекс-агглютинации
- ✓ Реакция преципитации (РП) в геле

# Серодиагностика

Серодиагностика – это комплекс иммунологических реакций, направленных на обнаружение неизвестных АТ в сыворотке крови пациента с помощью заведомо известных АГ (диагностикумов).

**Составляет самостоятельный метод диагностики – серологический.**

# Реакции серодиагностики

- ✓ Развернутая реакция агглютинации (развернутая РА)
- ✓ Развернутая реакция пассивной гемагглютинации (развернутая РПГА)
- ✓ Реакция связывания компонента (РСК)
- ✓ Непрямая реакция иммунофлуоресценции (нРИФ)
- ✓ Иммуноферментный анализ (ИФА)
- ✓ Иммуноблотинг

*Для обнаружения неизвестного АГ в исследуемом материале или в чистой культуре бактерий необходимы заведомо известные АТ (диагностические сыворотки).*

# **Классификация диагностических сывороток**

# 1. По способу получения

Гипериммунизация животных-продуцентов соответствующим микроорганизмом (АГ)

Забор крови у животного-продуцента

Получение сыворотки крови, содержащей АГ к соответствующему микроорганизму (АГ) (поликлональные АГ)

Путем гибридной биотехнологии

Гипериммунизация животного-продуцента соответствующим микроорганизмом (АГ)

Выделение из организма животного плазмоцитов, продуцирующих антитела нужной специфичности (АОК)

Слияние плазмоцитов с клетками миеломы *in vitro*, получение гибридомы

Получение моноклональных антител

## 2. По специфичности

### □ Поливалентные (полиспецифические)

Содержат АТ к разным антигенам  
(антигенным детерминантам)  
микроорганизма

### □ Моновалентные (моноспецифические)

Содержат АТ к одному конкретному  
антигену (антигенной детерминанте)  
микроорганизма

В процессе жизнедеятельности животные-продуценты антител контактируют с микроорганизмами воздуха вивария, пищи, окружающих объектов, что приводит к накоплению в их крови большого количества антител к АГ этих микроорганизмов. Данные антитела снижают специфичность серологических реакций и уменьшают точность исследования. Плюс – нам нужны антитела только против определённых АГ конкретного микроорганизма. Поэтому для повышения специфичности из сыворотки удаляют эти «ненужные» или «лишние» АТ. Данной процедуре подвергаются лишь сыворотки, полученные путём гипериммунизации животных-продуцентов.

# Методы удаления из сывороток лишних АТ

1. Метод Кастеллани
2. Сорбционные методы (например, аффинная хроматография)

# Метод адсорбции по Кастеллани

К нативной сыворотке крови животного (неадсорбированной), содержащей многочисленные АТ различной специфичности, последовательно добавляют микроорганизмы, в состав которых входят АГ, на которые наработались эти «ненужные» АТ. Антигены связывают антитела и выпадают с ними в осадок, который, в дальнейшем, удаляется. Полученная таким образом сыворотка содержит только «нужные» АТ и называется

# Аффинная хроматография

Сыворотка крови иммунизированного животного пропускается через колонку с носителем, к которому ковалентно «пришиты» АГ к «нужным» антителам.

Специфические по отношению к АГ антитела сыворотки связываются с ним, а все другие («ненужные») антитела проходят через колонку.

Вслед за этим специфически связанные антитела смывают с колонки кислым или щелочным раствором, получая таким образом именно «нужные» АГ, то есть адсорбированную сыворотку.

## 3. По назначению

1. Агглютинирующие
2. Преципитирующие (+ антитоксические)
3. Люминесцирующие
4. АТ, меченные ферментом (АТ, конъюгированные с ферментом)
5. Суспензионные АТ
6. АТ, адсорбированные на частицах латекса
7. АТ, адсорбированные на клетках стафилококка
8. Лизирующие (например, гемолитическая)

# Получение конкретных диагностических сывороток

Все диагностические сыворотки получены либо путем гипериммунизации животных - продуцентов АГ или при помощи гибридомной биотехнологии (моноклональные антитела).

Причем, для получения преципитирующих сывороток используется иммунизация  
животных

растворимым АГ (молекулярным), а для получения всех остальных – корпускулярным.

## Агглютинирующие сыворотки

Получены путем гипериммунизации животных-продуцентов корпускулярным АГ или при помощи гибридомной биотехнологии (моноклональные антитела).

**Применяются в РА для сероидентификации.**

## Преципитирующие сыворотки

Получают путём гипериммунизации животных-продуцентов растворимым АГ или при помощи гибридомной биотехнологии (моноклональные АТ).

**Применяют в РП для сероиндикации.**

Антитоксические преципитирующие сыворотки получают аналогично, но гипериммунизация животных проводится анатоксином.

**Их применяют в РП в геле для сероидентификации.**

## Люминесцирующие сыворотки

К FC-фрагменту полученных АТ присоединяют молекулу флуоресцирующего красителя, например, ФИТЦ (флуоресцеина изотиоцианат) - флуоресцентная метка.

**Применяются в РИФ для сероиндикации и серодиагностике (антиглобулиновая сыворотка, меченная ФИТЦ).**

## АТ, меченные ферментом (конъюгированные с ферментом)

К FC-фрагменту молекулы АТ присоединяют ферментную метку (например, пероксидазу).

**Применяются в сероиндикации и серодиагностике в ИФА.**

## Суспензионные антитела

Получены путем адсорбции АТ FC-фрагментами на эритроцитах человека или барана, предварительно обработанных формалином или танином для улучшения адсорбционных свойств последних.

**Применяются в РПГА для сероиндикации.**

## АТ, адсорбированные на частицах латекса

Содержат АТ, адсорбированные FC-фрагментами на микросферах латекса. **Применяются в реакции латекс-агглютинации.**

## АТ, адсорбированные на клетках стафилококков

Содержат АТ, адсорбированные FC-фрагментами на клетках стафилококков. **Применяются в реакции коагглютинации.**

## Лизирующие сыворотки

Пример – гемолитическая сыворотка, содержащая АТ к эритроцитам барана (получена путем иммунизации кроликов эритроцитами барана).

**Применяются в РСК.**

*Для обнаружения неизвестных АТ в сыворотке крови пациента необходимы заведомо известные АГ (диагностикумы).*

# Классификация диагностикумов

- ❑ Корпускулярные
- ❑ Некорпускулярные
- ❑ Эритроцитарные

## □ Корпускулярный диагностикум

Представляет собой взвесь бактериальных клеток или вирусных частиц, инактивированных физическими или химическими способами; реже – живые бактерии или вирусные частицы.

## □ Некорпускулярный диагностикум

Содержит отдельные АГ (молекулы), полученные путём экстракции (чаще всего химической) из клеток бактерий или вирусных частиц.

## □ Эритроцитарные диагностикумы

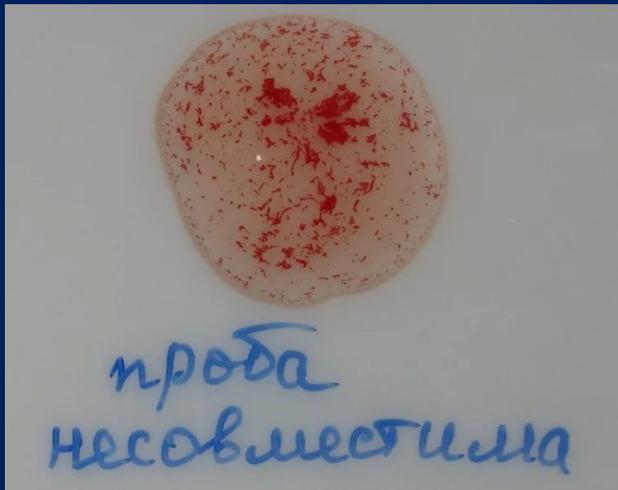
Содержат эритроциты человеческой или бараньей крови, нагруженные АГ микроорганизмов, т.е. АГ микроорганизмов

# План ответа по серологической реакции

1. Цель реакции
2. Где ставится (в пробирке, на предметном стекле и т.д.)
3. Компоненты реакции и как они получены
4. Учёт реакции (визуальный, под микроскопом и т.д.)
5. Интерпретация результатов

# Реакция агглютинации (РА)

РА – это специфическая реакция взаимодействия АГ и АТ, протекающая в присутствии электролита с образованием комплексов (в виде хлопьев или зёрен), выпадающих в осадок.



# Условия РА

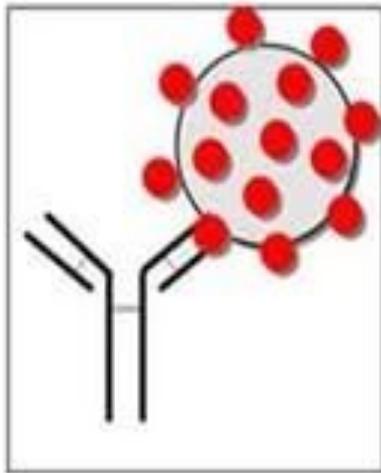
- ✓ АГ должен быть клеточным (корпускулярным)
- ✓ АТ должны быть полными
- ✓ Наличие электролита в среде, где проводится реакция

# Фазы реакции

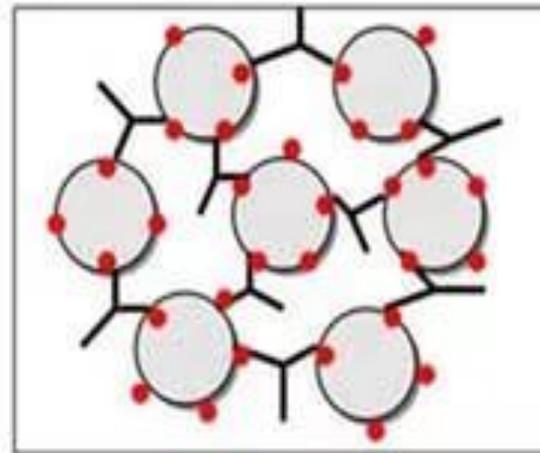
1. Специфическая фаза (невидимая) – не видна невооружённым глазом и состоит в специфическом взаимодействии АТ с АГ детерминантами.
2. Неспецифическая (видимая) фаза – происходит склеивание между собой комплексов «АГ-АТ» в присутствии электролита с образованием конгломератов и выпадение их в осадок в виде хлопьев или зёрен агглютината (видна невооружённым глазом).

# Схема взаимодействия антигена с антителами

Специфическая фаза



Неспецифическая фаза



● - антиген;

Y - антитела.

# Классификация РА

## 1. По способам постановки

- На плоскости (пластинчатая РА)
- В пробирке (развёрнутая РА)
- В лунках планшета (развёрнутая РПГА)

# Классификация РА

## 2. По характеру компонентов

- **Прямая РА** (АТ напрямую взаимодействуют с АГ)
- **Непрямая (пассивная) РА**  
Например, РПГА, реакция латекс-агглютинации, коагглютинации (некорпускулярный АГ или АТ зафиксированы на носителе: эритроцитах человека или барана, частицах латекса, клетках стафилококков)