

Принципы серодиагностики

1. Определение количества (**титра**) АТ в сыворотке крови пациента
 - Титр АТ соответствует максимальному разведению сыворотки пациента, в котором реакция ещё положительная.
2. Титр АТ пациента сравнить с **диагностическим титром**
3. Изучение изменений титра АТ **в динамике** (в парных сыворотках с интервалом 7 – 14 – 21 дней)
4. Определение титра АТ **разных классов:** IgM, IgG, IgA

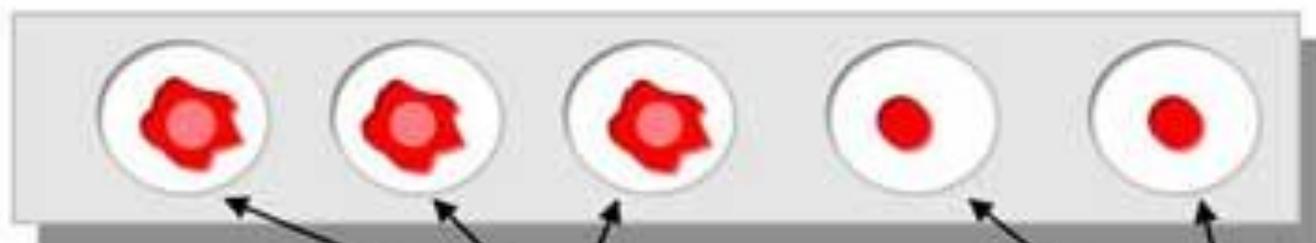
Реакция агглютинации (**РА**) для серодиагностики

- Ставится в пробирках (**развернутая РА**)
- Компоненты:
 - раститрованная **сыворотка больного** (в ней ищут АТ к определенному АГ)
 - **бактериальный диагностикум**
- Учет визуальный:
 - при “+” реакции – **белые хлопья**
 - при “-” реакции – **отсутствие хлопьев**

Реакция пассивной (непрямой) гемагглютинации (**РПГА** или **РНГА**) для серодиагностики

- Ставится в планшете (**развернутая РПГА**)
- Компоненты:
 - раститрованная **сыворотка больного** (в ней ищут АТ к определенному АГ)
 - **эритроцитарный** **диагностикум** (АГ бактерий, адсорбированные на эритроцитах I группы крови человека)
- Учет визуальный:
 - при “+” реакции – осадок в виде **“зонтика”**
 - при “-” реакции – осадок в виде **“пуговки”**

Результат РНГА (РПГА)



Положительный («зонтик»)

Отрицательный («пуговка»)

Реакция связывания комплемента (РСК) для серодиагностики

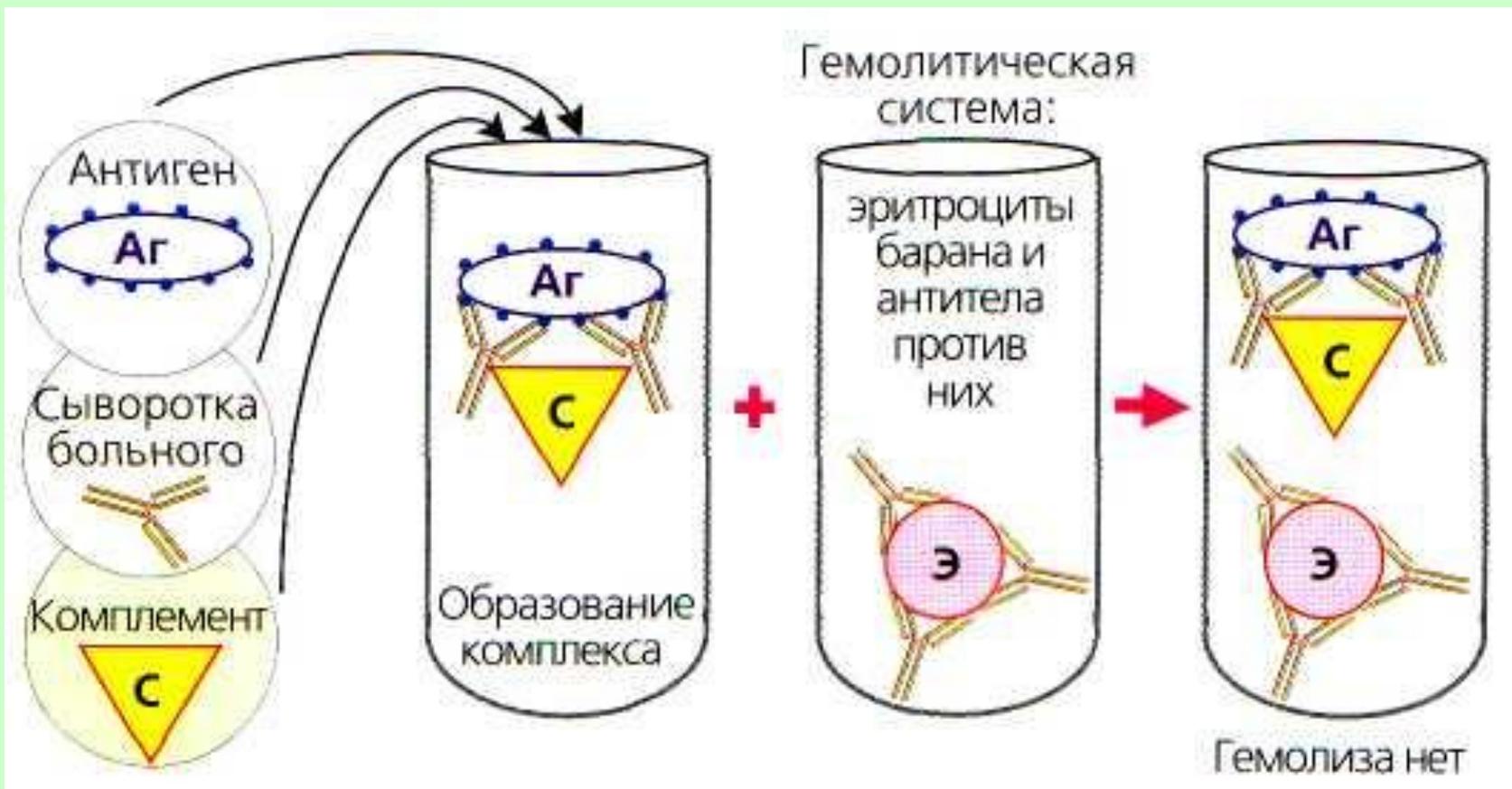
- Ставится в пробирках
- Компоненты:
 - сыворотка больного (в ней ищут АТ к определенному АГ)
 - диагностикум
 - комплемент
- Для учета реакции добавляют индикаторную систему, состоящую из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки.
- Учет – визуальный:
 - при “+” реакции – осадок из эритроцитов
 - при “-” реакции – гемолиз (“лаковая кровь”)

Подготовка ингредиентов для постановки РСК

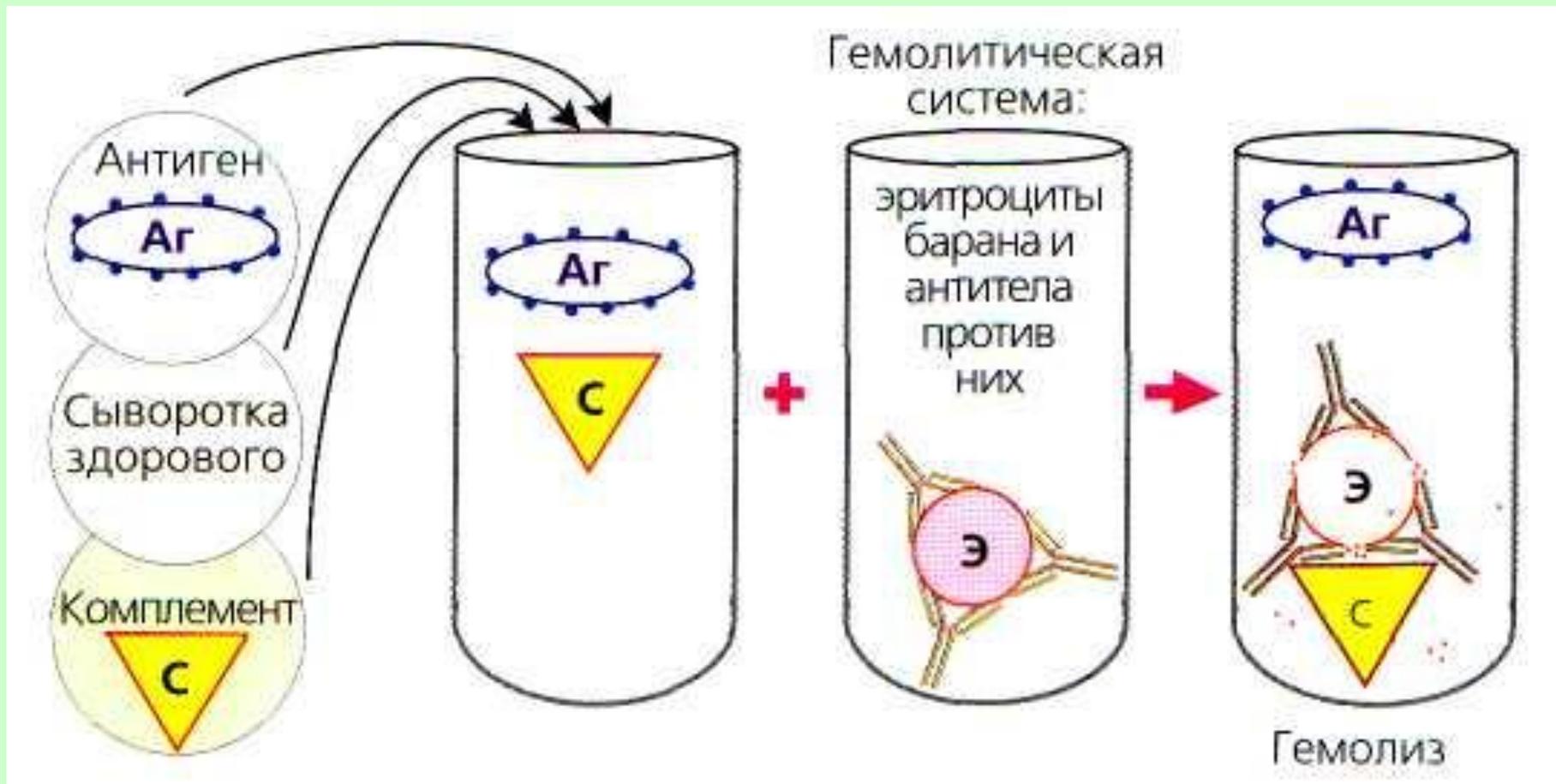
- Исследуемую сыворотку прогревают на водяной бане при $+ 56^{\circ}$ в течение 30 минут для инактивации собственного компонента
- Определяют **титр** и **рабочую дозу компонента** (сыворотки крови морской свинки) в реакции иммунного гемолиза.

Титр компонента – минимальная его концентрация, обеспечивающая полный лизис 3%-ной взвеси бараньих эритроцитов в присутствии гемолитической сыворотки. Рабочая доза компонента берётся **на 25 %** выше его титра. В настоящее время производят сухой консервированный компонент.

Положительная РСК



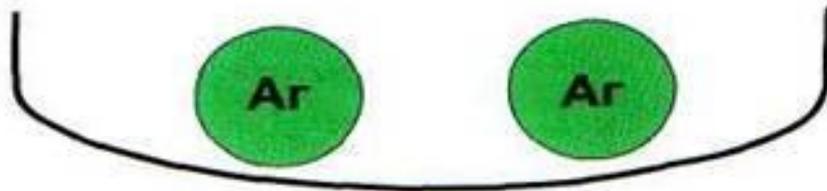
Отрицательная РСК



ИФА для серодиагностики

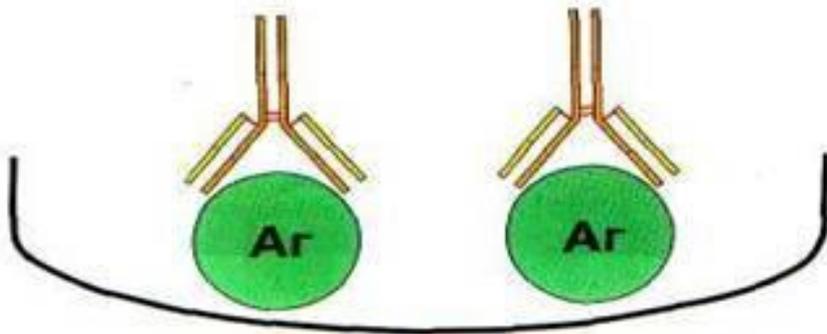
- Ставят в лунках планшета
- Компоненты:
 - АГ бактерий (диагностикум)
 - Сыворотка пациента (в ней ищут АТ)
 - Инкубация, отмывка несвязавшихся компонентов
 - Антиглобулиновая сыворотка (АГС) (антитела к антителам), меченная ферментом
 - Инкубация, отмывка несвязавшихся компонентов
 - Для учета в конце реакции добавляют субстрат для фермента (H_2O_2) и хромоген (ТМБ)
- Учет:
 - или визуальный (изменение цвета раствора в лунке)
 - или с помощью спектрофотометра (измеряется

1



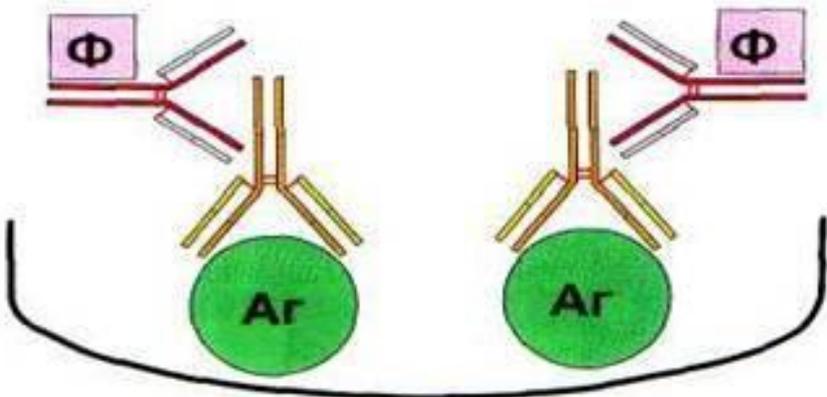
+ сыворотка
больного

2



+ сыворотка против
Ig человека

меченная



3



+ субстрат/хромоген

Непрямая реакция иммунофлюоресценции (**ИРИФ**) для серодиагностики

- Ставится на стекле
- Компоненты:
 - **АГ бактерий (диагностикум)**
 - **Сыворотка пациента (в ней ищут АТ)**
 - Инкубация, отмывка от несвязавшихся компонентов
 - **Антиглобулиновая сыворотка (АГС), меченная ФИТЦ**
 - Инкубация, отмывка от несвязавшихся компонентов
- Учет с помощью **люминесцентного микроскопа**:
при “+” реакции наблюдается специфическое (чаще

Иммунопрофилактика

- - это введение человеку **специфических иммунопрепаратов** для формирования у него иммунитета против возбудителей инфекционных заболеваний с целью предупреждения развития этих заболеваний, т.е. для **профилактики**
- Специфические иммунопрепараты:
 - **вакцины**
 - **лечебно-профилактические сыворотки и иммуноглобулины**

ВАКЦИНА

- - это иммунопрепарат, который содержит **возбудителя** заболевания (в ослабленном или убитом виде) или его отдельные **АГ**
- При введении вакцины в организм человека развивается **активный иммунитет** (на **АГ** вакцины нарабатываются **АТ**)
- **Активный иммунитет** сохраняется от нескольких месяцев до нескольких лет

Классификация вакцин

1. Живые

- содержат живых, но ослабленных (**аттенуированных**) возбудителей.

2. Инактивированные корпускулярные

- содержат **цельные клетки** возбудителя, **инактивированные** физическими или химическими факторами.

3. Химические

- содержат не цельные клетки, а **отдельные АГ** возбудителя, извлеченные из клеток химическим путём. Часто – **адсорбированные** (например, на частицах гидроксида Al).

4. Анатоксины

- экзотоксины бактерий, обезвреженные 0,3 - 0,4% формалином при + 37°C в течение 20 – 40 суток. Токсины теряют токсичность, но сохраняют

Классификация вакцин

5. Рекомбинантные

С помощью методов **генной инженерии** гены микроорганизмов, контролирующие синтез наиболее значимых иммуногенных АГ, встраивают в дрожжевые клетки, которые затем начинают продуцировать нужный АГ. После культивирования дрожжей из них выделяют нужный антиген, очищают и готовят вакцину.

6. Синтетические олигопептидные

Принципы их конструирования включают **синтез пептидных последовательностей**, образующих эпитопы АГ, распознаваемые нейтрализующими антителами.

7. Липосомальные

представляют собой комплексы, состоящие из **АГ и липофильных носителей** (например, фосфолипидов).

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ СЫВОРОТКА

- - это иммунопрепарат, который содержит **готовые АТ** к возбудителю заболевания
- При введении сыворотки в организм человека развивается **пассивный иммунитет**, т.к. АТ уже готовы
- Пассивный иммунитет недолгий (2 – 4 недели)

Получение лечебно-профилактических сывороток

От людей (доноров)



Гомологичные сыворотки

От животных (чаще всего – от лошадей)



Гетерологичные сыворотки



Вводятся дробно (по методу Безредки), т.к. могут вызвать у человека аллергическую реакцию