

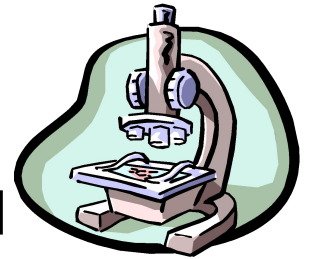
Реакции иммунитета.

РА, РНГА, РТГА, РСК.

Реакция преципитации в жидкой
среде и на твердых средах.

Общие закономерности ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ:

1. Исследование проводится *in vitro*
2. Проявляются при гомологичности антитела и антигена
3. Проходят в 2 фазы:
 - 1) невидимая – взаимодействие между антигеном и антителом
 - 2) видимая – образование крупных агрегатов, которые видны невооруженным глазом



Характеристики иммунологических реакций:

- Чувствительность – отношение числа положительных реакций у истинных больных к общему числу обследованных больных с подтвержденным диагнозом.
- Специфичность – отношение числа отрицательных реакций в контрольной группе к общему числу пациентов контрольной группы.

Условия протекания реакций иммунитета:

- Наличие антигена
- Наличие антитела
- Присутствие электролита

Группы иммунологических методов:

- Методы, основанные на прямом взаимодействии антигена с антителом
- Методы, основанные на опосредованном взаимодействии антигена с антителом
- Реакции с использованием меченых антигенов или антител

Реакция агглютинации -

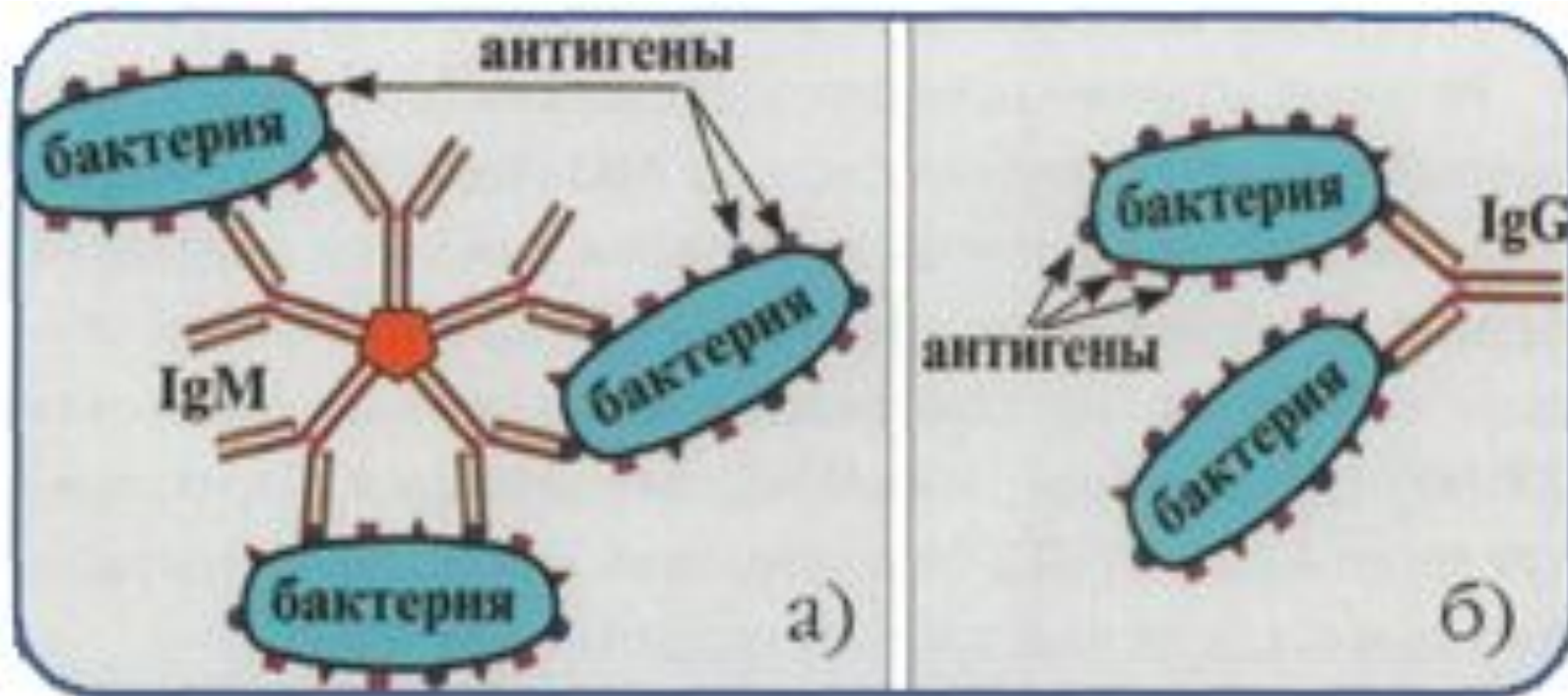
(от лат. *agglutinatio* - склеивание) -
склеивание (соединение)

антигеннесущих корпускулярных
частиц молекулами специфических
антител в присутствии электролитов,
которое заканчивается образованием
видимых невооруженным глазом
хлопьев или осадка (агглютината).

Механизм реакции агглютинации:

(а) с IgM антителами

(б) с IgG антителами



Варианты реакции агглютинации:

- Реакция агглютинации на предметном стекле в капле сыворотки - ориентировочная



Варианты реакции агглютинации:

- Развернутая реакция агглютинации



Постановка развернутой реакции агглютинации:

- **Агглютинирующая сыворотка** – сыворотка, полученная из крови животного, иммунизированного данным антигеном.

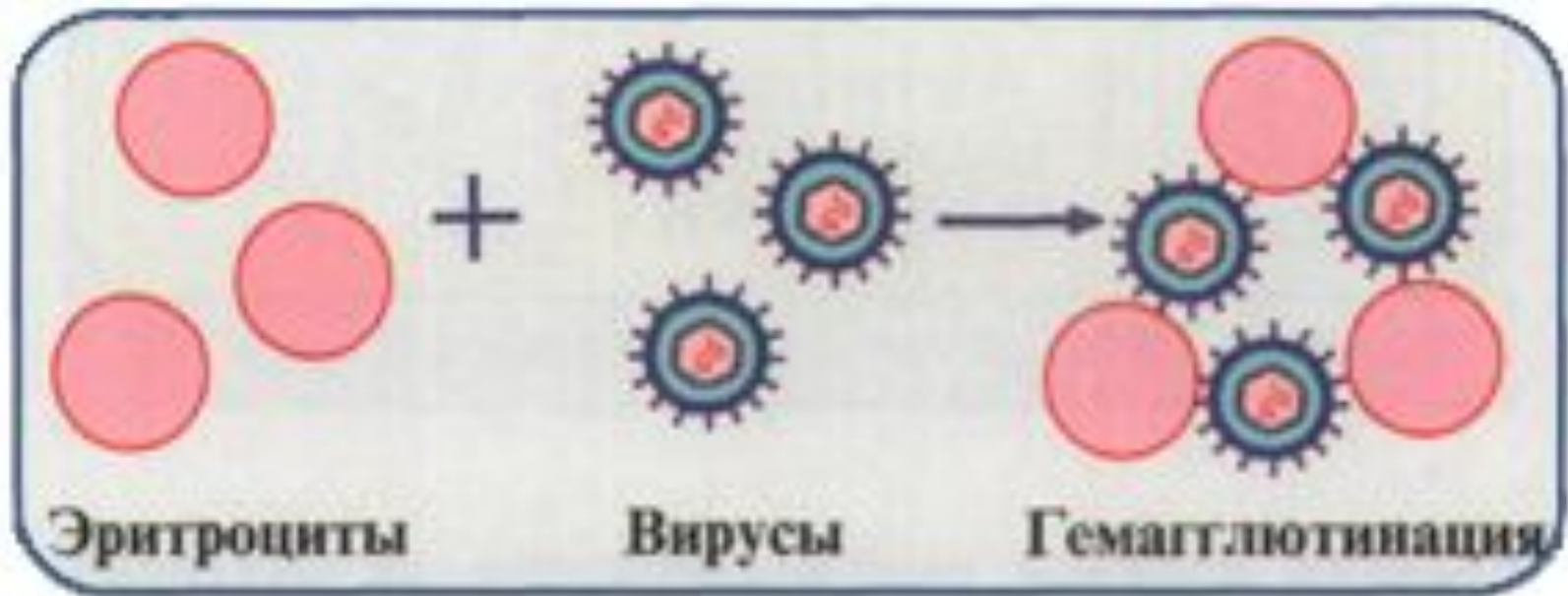
Титр агглютинирующей сыворотки – наибольшее разведение антител, дающее видимую реакцию агглютинации.

Направления использования реакции агглютинации:

1. *Определение возбудителя, выделенного от больного:* используют как агглютинацию на стекле, так и развернутую реакцию.
2. *Определение антител в сыворотке крови больного (развернутая реакция агглютинации) - к разведениям сыворотки больного добавляют*
диагностикум:
 - - Агглютинация с O-диагностикумом (бактерии, убитые нагреванием, сохранившие O-антиген) происходит в виде мелкозернистой агглютинации.
 - - Агглютинация с H-диагностикумом (бактерии, убитые формалином, сохранившие жгутиковый H-антиген) – в виде крупнохлопчатой, протекает быстрее.
3. *Реакция агглютинации для определения групп*

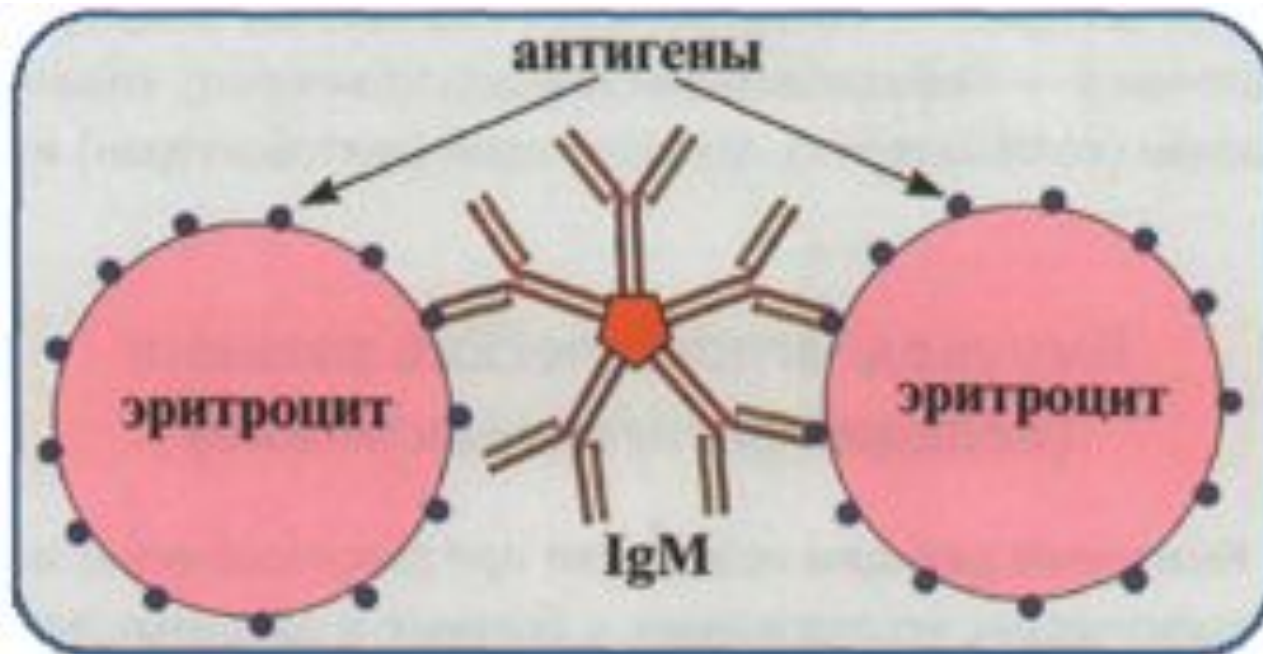
Реакция гемагглютинации (прямой)

- склеивание эритроцитов
гемагглютинидами вирусов:



Реакция непрямо́й (пассивной)

гемагглютинации (РНГА)
- склеивание эритроцитов антителами за счет антигенов, адсорбированных на поверхности эритроцитов



Постановка РНГА

- РНГА ставят в пластиковых планшетах или в пробирках с разведениями сыворотки крови больного, к которым добавляют *антигенный эритроцитарный диагностикум* – эритроциты с адсорбированными на них антигенами



Постановка и учет РНГА.

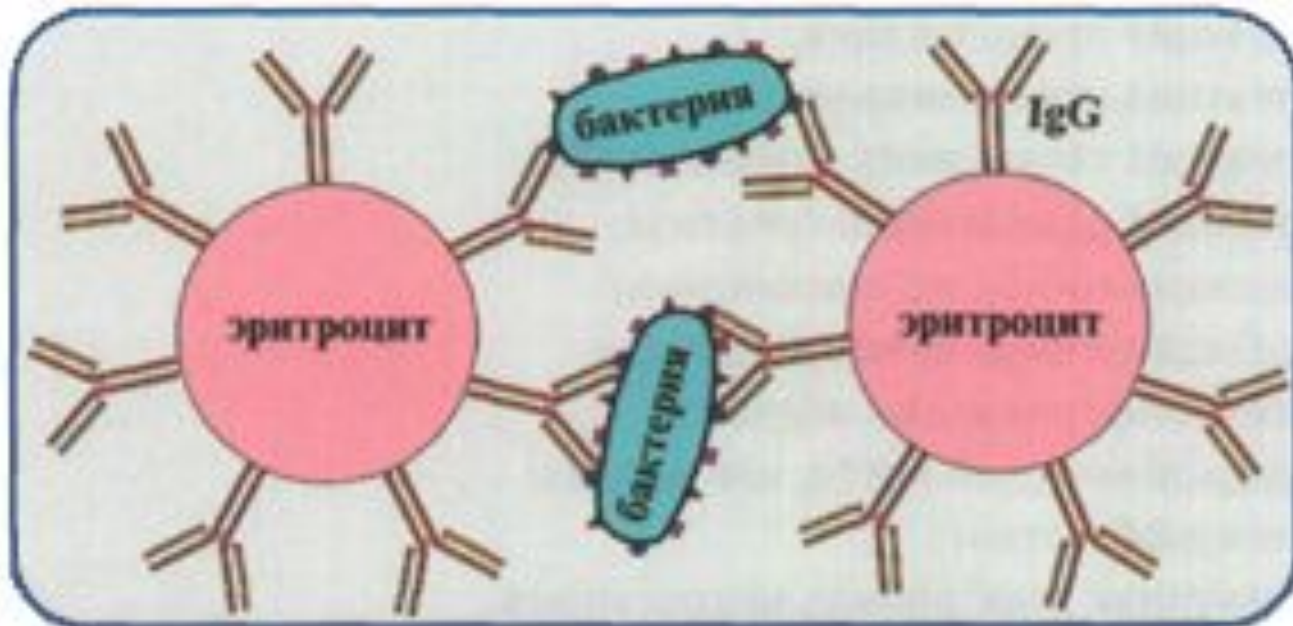
Реакция положительна, если образуется фестончатый осадок (“кружевной зонтик”).

Реакция отрицательна при образовании осадка в виде пуговки.



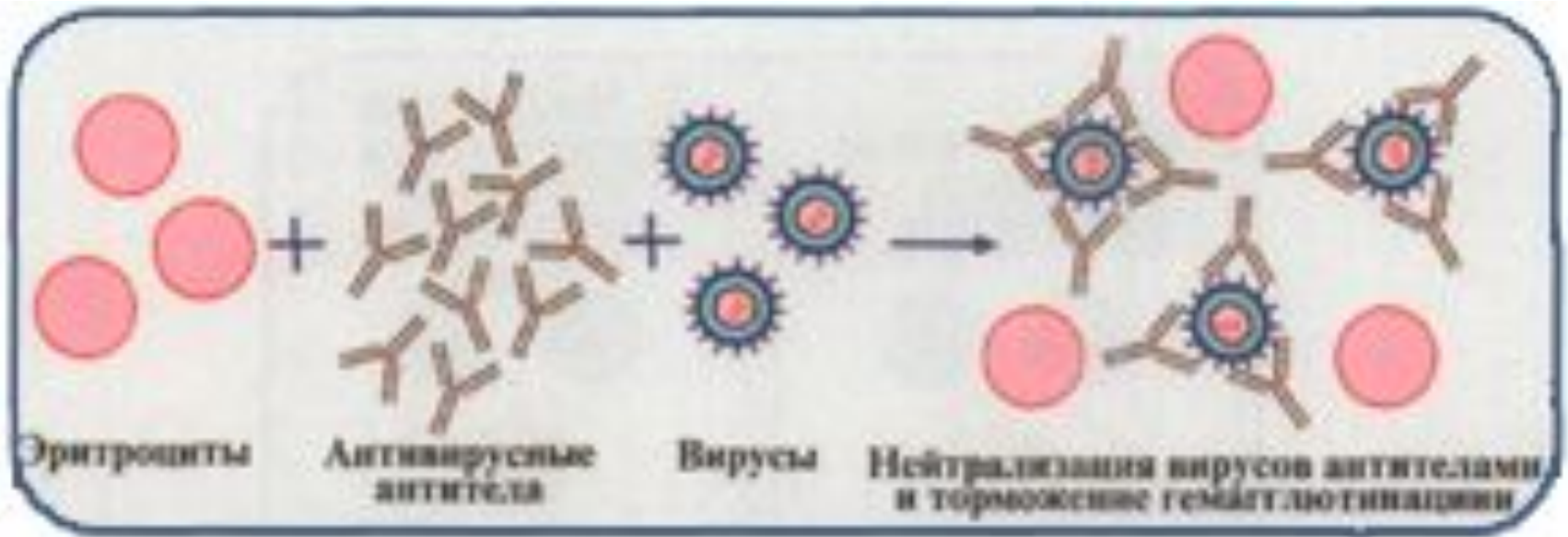
Реакция обратной непрямой гемагглютинации (РОНГА)

- обнаружение токсинов и бактериальных антигенов в материале при помощи *антительных эритроцитарных диагностикумов* – эритроцитов, на которых адсорбированы антитела



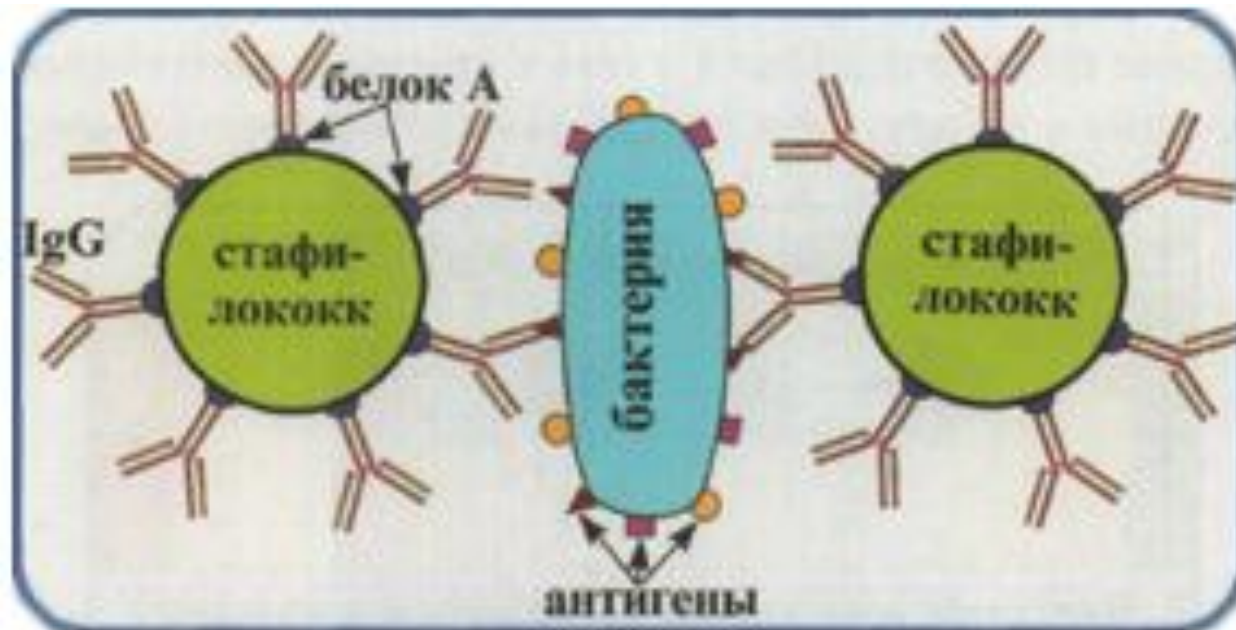
Реакция торможения гемагглютинации (РТГА).

- основана на блокаде антигенов (гемагглютининов) вирусов антителами иммунной сыворотки, в результате чего вирусы теряют свойство агглютинировать эритроциты.



Реакция коагглютинации.

- определение антигенов с помощью *антительного диагностикума* - антител, адсорбированных на белке А клеток стафилококка.

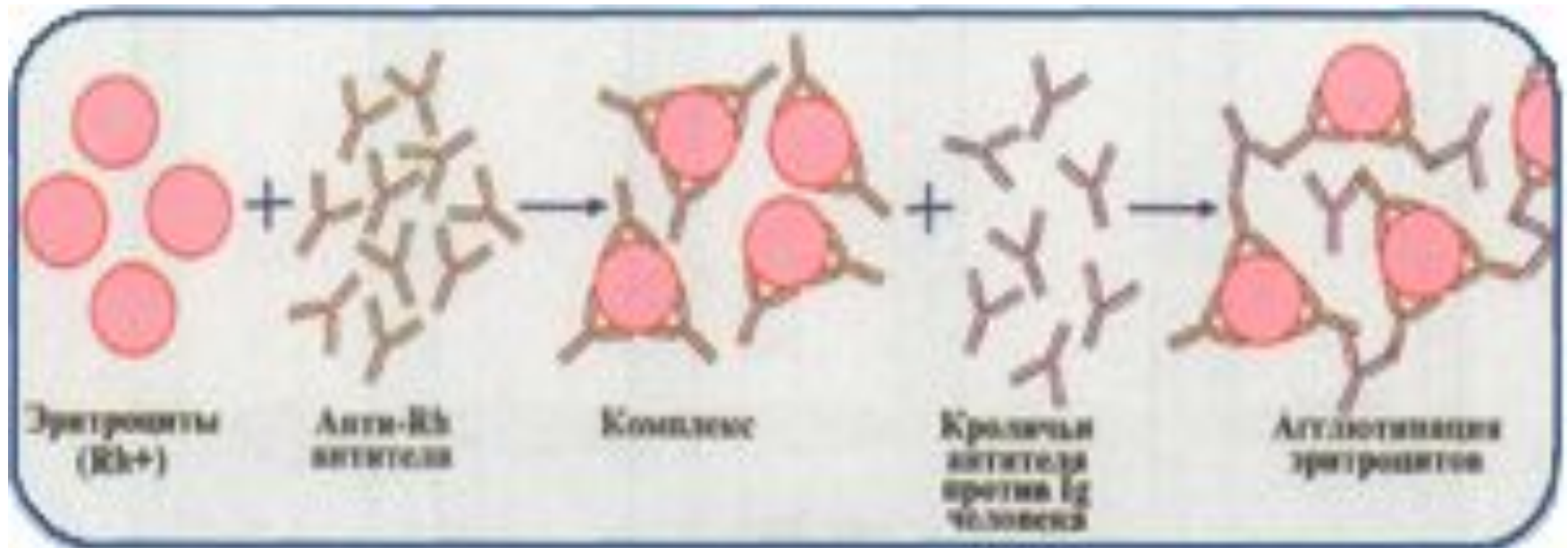


Реакция Кумбса (антиглобулиновый тест)

- реакция агглютинации для выявления неполных антител, например антител к Rh-фактору:

в систему антирезусные антитела + Rh(+)-эритроциты добавляют *антиглобулиновую сыворотку* (антитела против иммуноглобулинов человека), что вызывает агглютинацию эритроцитов.

Реакция Кумбса (схема):



Реакция преципитации

- (от лат. *praecipito* - осаждать) - это формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами в виде помутнения, называемого преципитатом.



В реакции преципитации антигеном являются молекулярно-дисперсные вещества, а в реакции агглютинации - корпускулярные.

Преципитат образуется только тогда, когда количество антител эквивалентно количеству антигена.

Варианты реакции преципитации:

- Реакция кольцепреципитации
- Реакция преципитации в агаровом геле:
 - реакция двойной иммунодиффузии (по Оухтерлони)
 - реакция радиальной иммунодиффузии (по Манчини)
- Иммуноэлектрофорез

Реакция кольцепреципитации.

Ставится в узких преципитационных пробирках: на иммунную сыворотку *осторожно* наслаивают растворимый антиген. При оптимальном соотношении антигена и антител на границе этих двух растворов образуется непрозрачное кольцо *преципитата*.



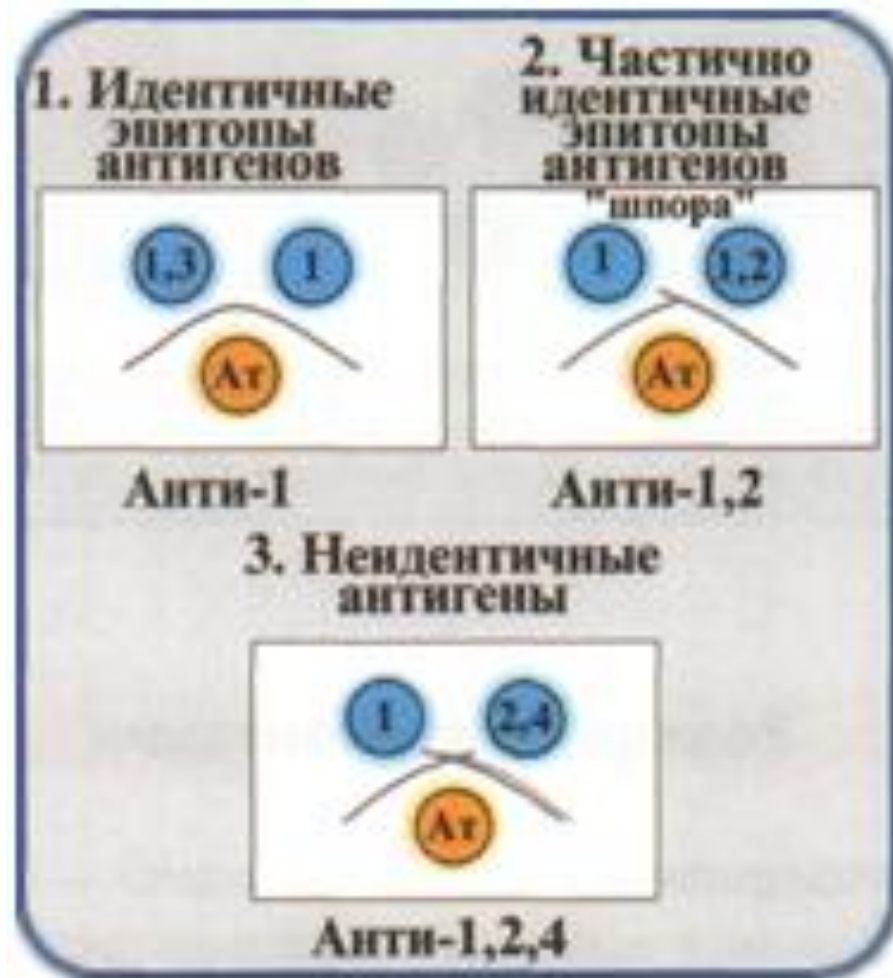
Реакция двойной иммунодиффузии по Оухтерлони.

- В слое агарового геля равномерной толщины на определенном расстоянии друг от друга вырезают лунки для антигена и антисыворотки и заполняют их соответствующими растворами. Антигены и антитела диффундируют в гель, встречаются друг с другом и образуют иммунные комплексы, которые преципитируют в ячейках геля, становясь видимыми как линии преципитации.

Реакция двойной иммунодиффузии по Оухтерлони.

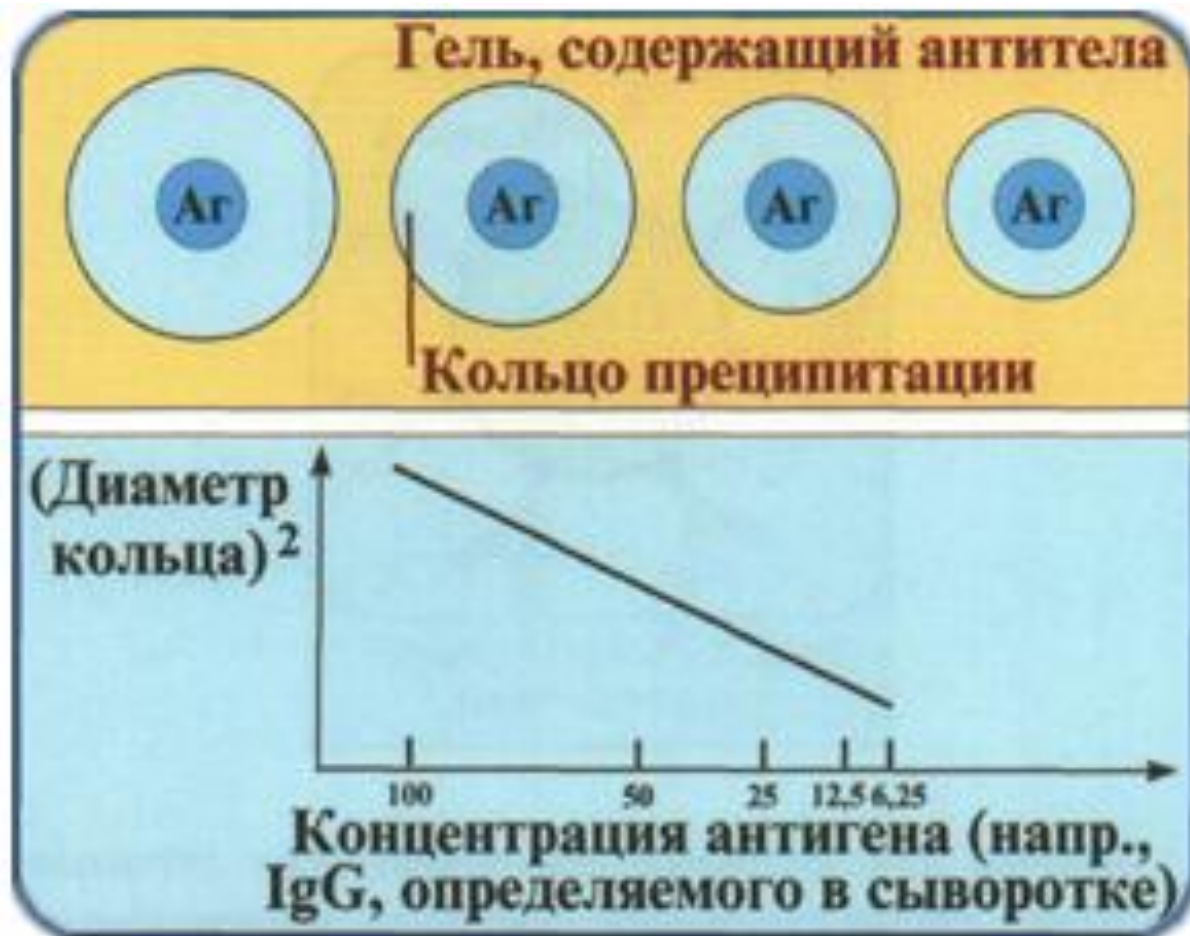
3 варианта расположения линий преципитации:

- 1. Обе линии полностью сливаются. Это говорит об *идентичности антигенов* в обеих лунках.
- 2. Одна из линий длиннее другой и, выходя из нее, образует так называемую "шпору". В этом случае мы имеем дело с *частично идентичными антигенами*.
- 3. Линии пересекаются. Это указывает на *неидентичность антигенных детерминант* и, следовательно, на различие молекул исследуемых антигенов.



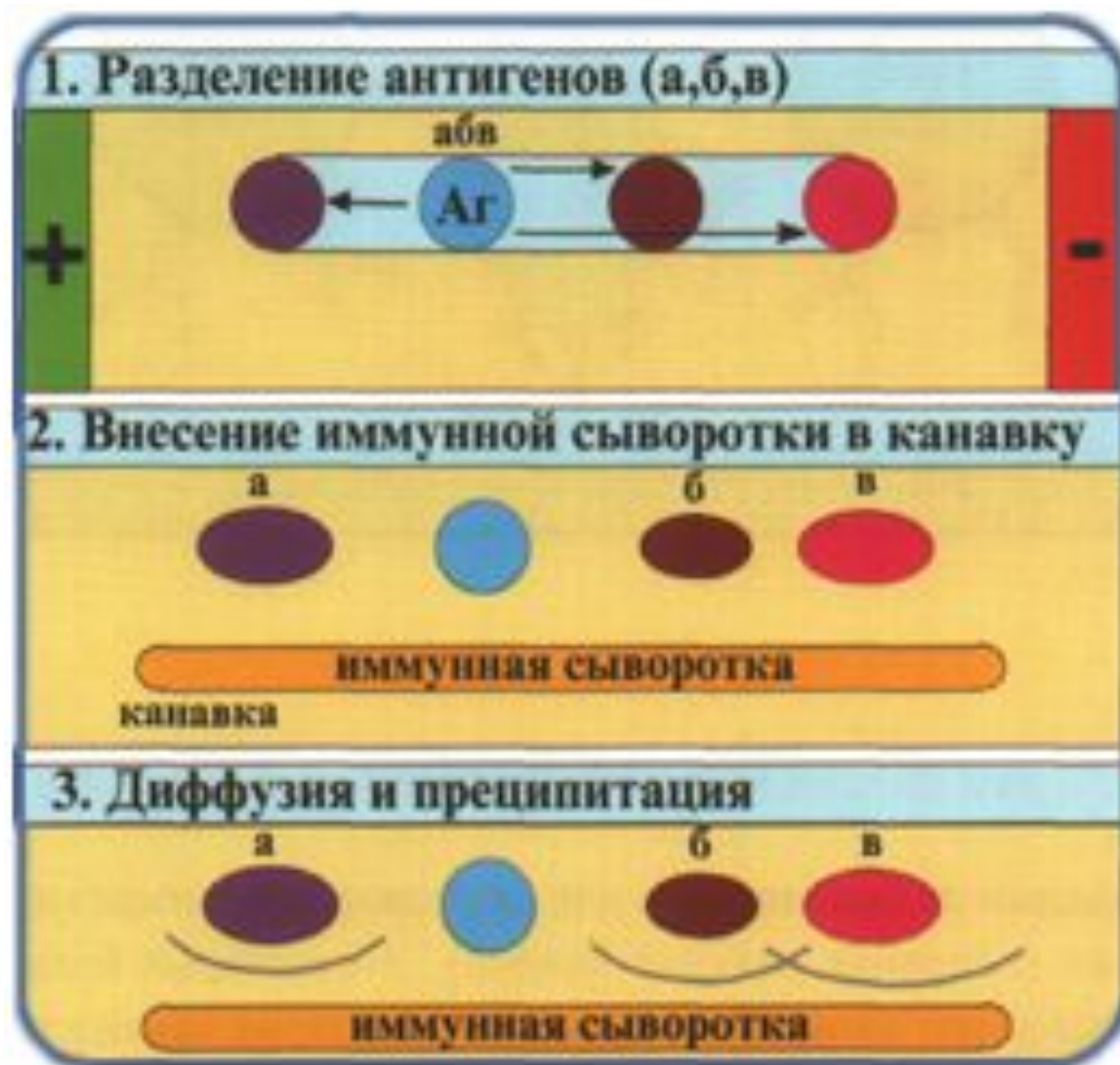
Реакция радиальной иммунодиффузии (по Манчини).

В геле, содержащем антитела, вырезают лунки и заполняют их раствором антигена. Молекулы антигена радиально диффундируют из лунки и, встретившись с антителами,



Иммуноэлектрофорез.

- сочетание метода электрофореза и иммунопреципитации.



Реакция преципитации в агаре для определения дифтерийного экзотоксина.



Реакция флоккуляции (по Рамону)

{от лат. flossus - хлопья шерсти}

появление опалесценции или хлопьевидной массы (иммунопреципитации) в пробирке при реакции токсин-антитоксин или анатоксин-антитоксин. Применяют для определения активности антитоксической сыворотки или анатоксина.

Наиболее интенсивная и ранняя (*инициальная*) флоккуляция – в пробирке, где антиген и антитело содержатся в эквивалентных соотношениях.



Направления использования реакции преципитации:

- В судебной медицине – для определения видовой принадлежности белка в кровяных пятнах, сперме и пр.
- В санитарно-гигиенических исследованиях – для определения фальсификации пищевых продуктов
- Реакция термопреципитации по Асколи (в качестве антигенов в реакции используют прокипяченные и профильтрованные экстракты тканей) - для определения антигена при диагностике сибирской язвы.

Реакция связывания комплемента (РСК).

- реакция, основанная на взаимодействии антигена и антитела с последующей *активацией* (связыванием) комплемента. Если комплекс антиген-антитело не образуется, то комплемент остается свободным.

РСК проводят в 2 фазы:

1-ая – невидимая: инкубация смеси, содержащей антиген + антитело + комплемент в термостате 30 мин. или в холодильнике 18-20 ч.

2-ая – индикаторная: выявление в смеси свободного комплемента путем добавления к ней гемолитической системы (эритроциты барана + гемолитическая сыворотка, содержащая антитела к эритроцитам).

РСК с сывороткой больного.

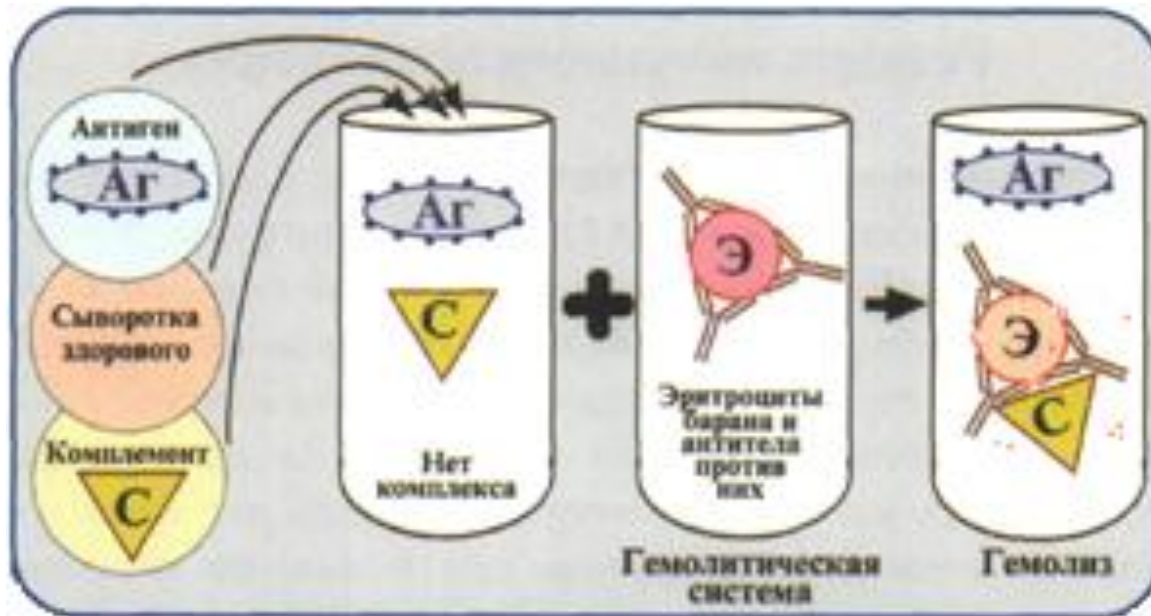
- В 1-й фазе реакции при образовании комплекса антиген-антитело происходит связывание им комплемента, и тогда во 2-й фазе *гемолиз* сенсibilизированных антителами эритроцитов *не произойдет* (реакция положительная).



РСК с сывороткой

здорового.

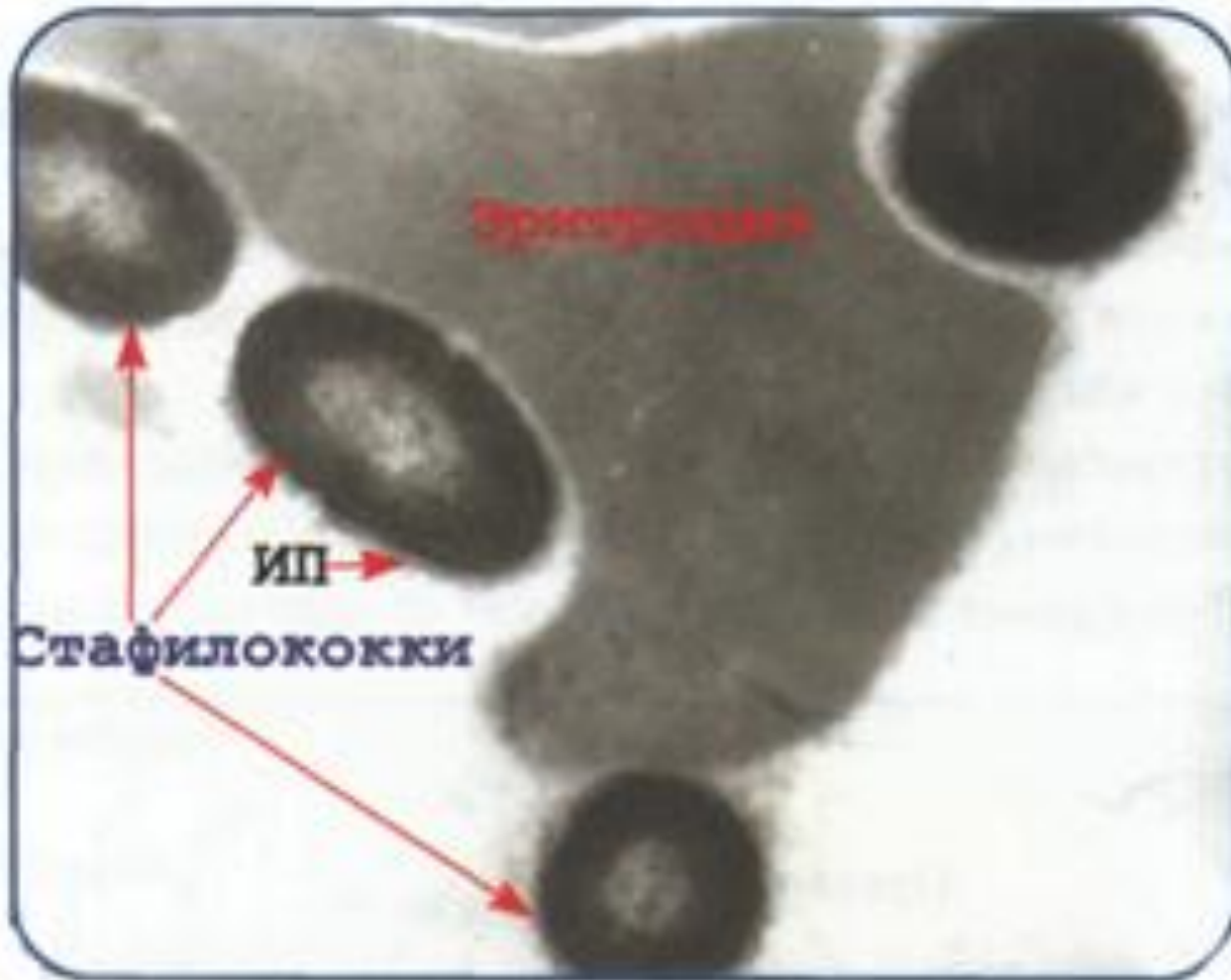
- 1-ая фаза: антиген и антитело не соответствуют друг другу (в исследуемом образце нет антигена или антитела), комплемент остается свободным и во 2-й фазе присоединится к комплексу эритроцит - антиэритроцитарное антитело, вызывая гемолиз (реакция отрицательная).



Реакция иммунного прилипания

- основана на активации системы комплемента (его **C3b**-компонента) корпускулярными антигенами (бактериями, вирусами), обработанными иммунной сывороткой.

На эритроцитах, тромбоцитах, макрофагах имеются рецепторы для компонентов комплемента, благодаря чему при смешивании этих клеток с иммунными комплексами, несущими C3b, происходят их соединение и агглютинация.



Иммунное прилипание стафилококков к эритроциту посредством иммуноглобулинового покрова (ИП), образовавшегося в результате отложения Ig, компонента и других белков на клеточной стенке бактерий.

Электронная микроскопия (по А. С. Быкову)

Реакция радиального

гемолиза

- ставят в лунках геля из агара, содержащего эритроциты барана и комплемент. После внесения в лунки геля гемолитической сыворотки (антител против эритроцитов барана) вокруг них, в результате радиальной диффузии антител, образуется зона гемолиза.
- Реакцию используют для определения:
 - активности комплемента и гемолитической сыворотки,
 - наличия антител в сыворотке крови у больных гриппом, краснухой, клещевым энцефалитом (для этого на эритроцитах адсорбируют соответствующие антигены вируса, а в лунки геля, содержащего данные эритроциты, добавляют сыворотку крови больного).

Реакция радиального гемолиза

- Радиальный гемолиз, вызванный антителами к вирусу краснухи: А - положительный контроль с низким титром антител (15 МЕ), Б - отрицательный контроль (без антител к вирусу)

