**Лекция №** 13

 Тема «**Серологические реакции.»**

План:

Серологические реакции:

1.Реакция агглютинации

2. Реакция Непрямой гемагглютинации,

3.Реакция преципитации

4.Реакция связывания комплемента,

5.Иммунофлюоресценции,

6.Иммуноферментные реакции.

7.Значение серологических реакций для диагностики инфекционных заболеваний.

**Конспект лекции.**

**Серологические реакции** — реакции взаимодействия между антигеном и антителом протекают в две фаза: 1 фаза — специфическая — образование комплекса антигена и соответствующего ему антитела (см. рис. 33). Видимого изменения в этой фазе не происходит, но образовавшийся комплекс становится чувствительным к неспецифическим факторам, находящимся в среде (электролиты, комплемент, фагоцит); 2-я фаза— неспецифическая. В этой фазе специфический комплекс антиген — антитело взаимодействует неспецифическими факторами среды, в которой происходит реакция.

Результат их взаимодействия может быть видим невоору­женным взглядом (склеивание, растворение и т. п.). Иногда эти видимые изменения отсутствуют.

Характер видимой фазы серологических реакций зави­сит от состояния антигена и условий среды, в которой происходит его взаимодействие с антителом. Различают реакции агглютинации, преципитации, иммунного лизиса, связывания комплемента и др. (табл. 14).

Применение серологических реакций. Одно из основных применений серологических реакций — лабораторная диаг­ностика инфекций. Их используют: 1) для выявления антител в сыворотке больного, т. е. для серодиагностики; 2) для определения вида или типа антигена, например выделенного от больного микроорганизма, т.е. для его идентификации.

При этом неизвестный компонент определяют по изве­стному. Например, для обнаружения антител в сыворотке больного берут известную лабораторную культуру микро­организма (антиген). Если сыворотка реагирует с ним, значит она содержит соответствующие антитела и можно думать, что данный микроб является возбудителем болез­ни у обследуемого больного.

Если нужно определить, какой микроорганизм выде­лен, его испытывают в реакции с известной диагностиче­ской (иммунной) сывороткой. Положительный результат реакции говорит о том, что данный микроорганизм иденти­чен тому, которым иммунизировали животное для получе­ния сыворотки .

Для серологических исследований применяют иммунные сыворотки нативные (не адсорбированные) и адсорбированные. Недостаток нативных сывороток – наличие в них групповых антител, т.е. антител к микроорганизмам, имеющим общие антигены. Обычно такие антигены встречаются у микробов, принадлежащих к одной группе, роду семейству. Адсорбированные сыворотки отличаются строгой специфичностью: реагируют только с гомологичным антигеном. Антитела к другим (гетерогенным) антигенам удалены адсорбцией. Титр антител адсорбированных сывороток низкий (1:40, 1:320), поэтому их не разводят.

**Реакция агглютинации**

1. Реакция агглютинации (РА) – это склеивание и выпадение в осадок микробов или других клеток под действием антител в присутствии электролита (изотонического раствора натрия хлорида). Образовавшийся осадок называют агглютинатом.

Реакцию агглютинации для серодиагностики широко применяют при брюшном тифе, паратифах (реакция Видаля), бруцеллезе (реакция Райта) и др. Антителом при этом является сыворотка больного, а антигеном – известный микроб.

Постановка реакции. Существует два метода проведения этой реакции: реакция агглютинации на стекле (иногда ее называют ориентировочной) и развернутая реакция агглютинации (в пробирках).

Реакция непрямой гемагглютинации

Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА) основана на том, что эритроциты, если на их поверхности адсорбировать растворимый антиген, приоб­ретают способность агглютинироваться при взаимодей­ствии с антителами к адсорбированному антигену. РНГА широко применяют при диагностике ряда инфекций.При помощи РНГА можно определять неизвестный антиген, если на эритроциты адсорбировать заведомо известные антитела.

Реакцию гемагглютинации можно ставить в объеме 0,025 мл (микрометод), пользуясь микротитратором Такачи.

**Реакция лизиса**

Иммунный лизис – это растворение клеток под воздействием антител при обязательном участии комплемента. Для реакции необходимы:

1.антиген – микробы, эритроциты или другие клетки.

2. антитело (лизин) – иммунная сыворотка, реже сыворотка больного.

3. комплемент

Бактериологическая сыворотка содержит антитела, участвующие в лизисе бактерий.

**Реакция преципитации**

В реакции преципитации происходит выпадение в оса­док специфического иммунного комплекса, состоящего из растворимого антигена (лизата, экстракта, (аптена) и специфического антитела в присутствии электролитов.

Образующееся в результате этой реакции мутное кольцо или осадок называют преципитатом. От реак­ции агглютинации эта реакция в основном отличается размером частиц антигена.

Реакцию преципитации обычно применяют для опреде­ления антигена при диагностике ряда инфекций (сибирская язва, менингит и др.); в судебной медицине — для опреде­ления видовой принадлежности крови, спермы и др.; в санитарно-гигиенических исследованиях — при установле­нии фальсификации продуктов; с ее помощью определяют филогенетическое родство животных и растений.

**Реакция связывания комплемента.**

Реакция связывания комплемента (РСК) основана на том, что специфический комплекс антиген — антитело все­гда адсорбирует на себе (связывает) комплемент.Эту реакцию широко применяют при идентификации антигенов и в серодиагностике инфекций особенно забо­леваний\* вызванных спирохетами (реакция Вассермана), риккетсиямй и вирусами.

РСК-сложная серологическая реакция. В ней уча­ствуют комплемент и две системы антиген -антитело. По существу, это две серологические реакции.

Первая система-о с н о в н а я состоит из антигена и антитела (один известный, другой нет). К ней добавляют определенное количество комплемента. При соответствии антигена и антитела этой системы они соединятся и свяжут комплемент. Образовавшийся комплекс мелкодис­персный и не виден.

Об образовании этого комплекса узнают с помощью второй системы гемолитической или индикатор­ной.

Реакция иммунофлюоресценции

В реакции иммунофлюоресценции (РИФ) используют люминесцентную микроскопию для серологи­ческих исследований. Реакция основана на том, что иммунные сыворотки, к которым химическим путем присоединены флюорохромы, при взаимодействии с соответ­ствующими антигенами образуют специфический светя­щийся комплекс, видимый в люминесцентном микроско­пе. Такие сыворотки называются люминесцирующими. Метод высокочувствителен, прост, не требует выделения чистой культуры (можно обнаружить микроорганизмы непосредственно в материале от больного: кале при холере, мокроте при коклюше, мозговой ткани при бешен­стве). Результат можно получить через полчаса после нанесения на препарат люминесцирующей сыворотки. Поэтому РИФ широко применяют при экспресс (ускоренной) - диагностике ряда инфекций.

Метод иммуноферментного анализа (ИФА) во многом напоминает РИА, но включает использование коммерческих реагентов — Аг или AT, маркированных ферментами (например, пероксидазой или щелочной фосфатазой). После образования иммунного комплекса в систему вносят субстрат, расщепляемый ферментом, что приводит к окрашиванию среды в жёлто-коричневый (при использовании псроксидазы) или жёлто-зелёный цвет (при использовании фосфатазы).

**Контрольные вопросы для закрепления:**

 Серологические реакции:

1.Реакция агглютинации

2.Реакция непрямой гемагглютинации,

3.Реакция преципитации

4.Реакция связывания комплемента,

5. Реакция иммунофлюоресценции

6.Иммуноферментные реакции.

7.Значение серологических реакций для диагностики инфекционных заболеваний.