

ТЕМА : Серологические реакции для сероидентификации. Реакция связывания комплемента (РСК). Реакция преципитации

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

В связи с высокой чувствительностью реакция связывания комплемента (РСК) применяется как для серологической диагностики бактериальных и вирусных инфекций, аллергических состояний, так и для идентификации антигенов (выделенной бактериальной культуры). Знания, полученные при изучении этого раздела, помогут разобраться в механизме РСК и понять необходимость ее использования для диагностики инфекционных заболеваний (сифилиса, хронической гонореи, токсоплазмоза, туберкулеза и др.).

Умение оценить результаты реакции преципитации (РП) будут необходимы для выявления источника инфекции при сибирской язве и чуме; для определения токсигенности дифтерийных палочек; для экспресс - диагностики ботулизма; для определения концентрации иммуноглобулинов различных классов (А, М, G) в сыворотке крови и секретах организма; для определения видовой принадлежности пятен крови и других белковых биологических жидкостей; для определения фальсификации пищевых продуктов.

ЦЕЛИ ОБУЧЕНИЯ

Общая цель: уметь ставить фрагмент РСК для понимания механизма этой реакции и оценивать результаты РСК, реакции преципитации

Конкретные цели:

1. Регистрировать положительный или отрицательный результаты РСК
2. Подбирать ингредиенты для постановки реакции преципитации (РП) и ставить ее

СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО К ЦЕЛЯМ

ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

1. Антитела, структура антител, классы иммуноглобулинов
2. Иммунологические толерантность, паралич и память
3. Реакция гемолиза (механизм, применение реакции гемолиза как индикатора в РСК)
4. РСК (механизм, принцип постановки, применение)
5. Реакция преципитации, механизм и методика постановки

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ

Антитела (иммуноглобулины) – это белки, которые синтезируются под влиянием антигена и специфически с ним реагируют. Они состоят из полипептидных цепей. Большинство молекул иммуноглобулинов состоит из двух тяжелых (H) цепей и двух легких (L) цепей, соединенных дисульфидными связями. Легкие цепи состоят или из двух k-цепей, или из двух l-цепей. Тяжелые цепи могут быть одного из пяти классов (IgA, IgG, IgM, IgD и IgE).

Каждая цепь имеет два участка:

1) постоянный. Остается постоянным в последовательности аминокислот и антигенности в пределах данного класса иммуноглобулинов;

2) переменный. Характеризуется большой непостоянностью последовательности аминокислот; в этой части цепи происходит реакция соединения с антигеном.

При энзиматическом расщеплении иммуноглобулинов образуются следующие фрагменты:

1) Fc-фрагмент содержит участки обеих постоянных частей; не обладает свойством антитела, но имеет сродство с комплементом;

2) Fab-фрагмент содержит легкую и часть тяжелой цепи с одним антигенсвязывающим участком; обладает свойством антитела.

Существует пять классов иммуноглобулинов у человека. Обычно большая часть антител относится к классу IgG. В первый период иммунного ответа, однако, значительная часть антител принадлежит к IgM, которые являются, по-видимому, филогенетически наиболее древними. IgA обладают свойством проникать в секреты — слюну, молозиво, кишечный сок и др. Антитела типа реагинов относятся к IgE.

Иммунологической память - способность организма давать иммунологическую реакцию на повторное введение А/г. После первичного ответа на А/г в организме образуется определенное кол-во клеток памяти, сохраняющих информацию об А/г. При повторном введении А/г в организм клетки памяти обуславливают вторичный иммунный ответ. Антителообразование при нем происходит быстрее и более интенсивно. Память свойственна Т- и В-лимфоцитам. **Иммунологическая толерантность** - отсутствие иммунного ответа, . О наличии иммунологической толерантности судят на основе критериев: 1) отсутствие или уменьшение образования А/г на обычный антигенный стимул; 2) неспособность организма отторгать трансплантат; 3) неспособность организма ликвидировать вирусную инфекцию; 4) отсутствие обычной тканевой реакции на разрешающую дозу А/г после предварительной сенсibilизации. Различают естественную и приобретенную толерантность. Естественная возникает при встрече с А/г в период эмбрионального развития. Если незрелая иммунная система постоянно контактирует с одним А/г, он признается как «свой». Именно этим можно объяснить, что в норме не возникает иммунный ответ на свои собственные антигены. Приобретенная

толерантность может быть индуцирована в течение некоторого времени постнатальной жизни. Этот период назван адаптивным.

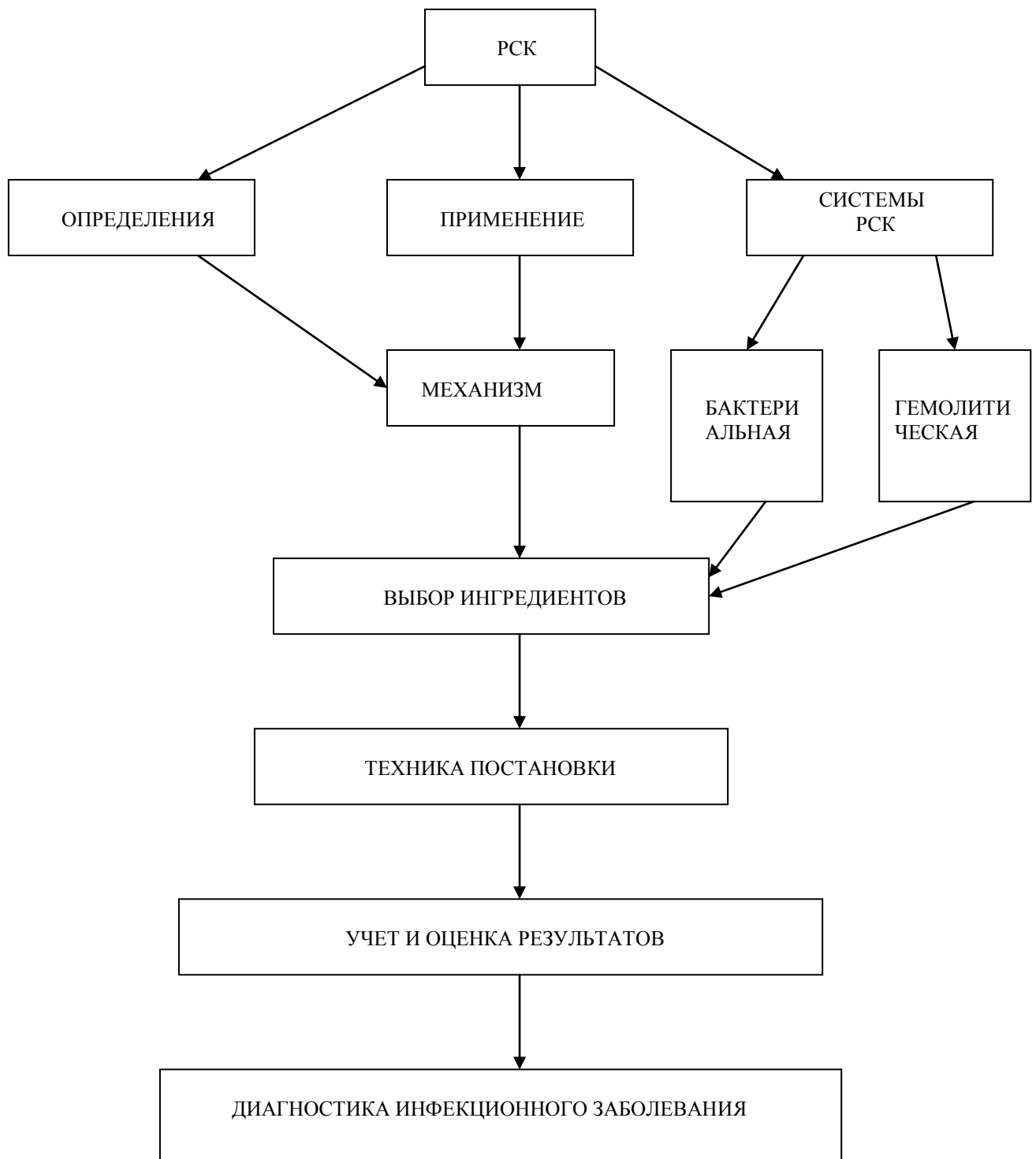
Иммунологический паралич, развивается при введении массивных доз А/г и проявляется в иммунологической беззащитности при последующем введении А/г, рассматривается многими учеными как частный случай иммунологической толерантности.

Реакция связывания комплемента (РСК) используют для выявления а/г на определенный а/г или определяют тип а/г по известному а/г. Это сложная серологическая реакция, в ней участвуют две системы и комплемент. Первая система - бактериологическая (основная), состоит из антигена и антитела. Вторая система - гемолитическая (индикаторная). В нее входят эритроциты барана (антиген) и соответствующая им гемолитическая сыворотка (антитело). РСК ставят в два приема: вначале соединяют а/г с испытуемой сывороткой крови, в которой отыскивают а/г, а затем добавляют комплемент. Если а/г и а/г соответствуют друг другу, то образуется иммунный комплекс, который связывает комплемент. При отсутствии в сыворотке а/г иммунный комплекс не образуется и комплемент остается свободным. Поскольку процесс адсорбции комплемента комплексом визуально невидимый, то для выявления этого процесса добавляют гемсистему. Р-цию учитывают если в первой системе комплемент связался, то при добавлении гемсистемы гемолиз эритроцитов не произойдет — р-ция положительная. Если же комплемент не связался в первой системе из-за отсутствия а/г, то он свяжется с гемсистемой, в результате чего произойдет гемолиз эритроцитов — р-ция отрицательная. В основу РСК легли 2 явления — бактериолиз и гемолиз.

А/г для РСК готовят из убитых и разрушенных микробов, чаще путем экстрагирования. Комплемент - сыворотка морской свинки. Гемолизин — гипериммунизируют кроликов отмытыми эритроцитами барана. РСК применяется для серологической диагностики бактериальных и вирусных инфекций.

Реакция преципитации, механизм и методика постановки. Для определения видовой принадлежности антигена в водно-солевом экстракте из шкур погибших животных используйте такие ингредиенты: антиген (преципитиноген) - водно-солевой экстракт из меха животного, погибшего от инфекции (подозрение на сибирскую язву), стандартная противосибирязвенная преципитирующая сыворотка с титром 1:100000; физиологический раствор, узкие пробирки, пипетки на - 1,0 мл; пастеровские пипетки. Ход работы: В обе пробирки внесите по 1,0 мл стандартной преципитирующей сыворотки. В первую (опытную) пробирку пастеровской пипеткой осторожно налейте антиген, а в контрольную пробирку — физиологический раствор. Зарегистрируйте феномен образования белого кольца преципитации (реакция положительная) в опытной пробирке и отсутствие кольца на границе двух жидкостей в контрольной (реакция отрицательная).

ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ТЕМЫ: «СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ. РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА. РЕАКЦИЯ ПРЕЦИПИТАЦИИ»



Источники информации

Рекомендуемая литература:

1. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. / За ред. В.П. Широбокова. - [2-е вид.]. – Вінниця: Нова книга, 2011. – С. 232-238, 278-282.
2. Микробиология: учебник для студентов высших учебных заведений / И.Л. Дикий, И. Ю. Холупяк, Н.Е. Шевелева, М.Ю. Стегний; Под ред. И.Л. Дикого.-К.: Професіонал, 2004. – С. 143-148, 150-153.
3. Микробиология: руководство к лабораторным занятиям / И.Л. Дикий, И.И. Сидорчук, И.Ю. Холупяк и др. –Х.: Издательство НФаУ «Золотые страницы», 2002.- С. 183-192, 216-222.

Дополнительная литература:

1. Данилейченко В.В., Федечко Й.М., Корнійчук О.П. Мікробіологія з основами імунології.- К.: Медицина, 2009.- С.183-185.

Во время работы с литературой для лучшего усвоения содержания обучения используйте граф логической структуры к теме

Задания для проверки достижения конкретных целей обучения

Тест №1

При расщеплении молекулы иммуноглобулина протеолитическим ферментом папаином выделяют структуры, одна из которых обуславливает связывание комплемента. Что это за структура?

- A. α (альфа) – цепи
- B. Fc– фрагмент
- C. Дисульфидные мостики
- D. E (ипсилон) – цепи
- E. Fав – фрагмент

Тест №2

При постановке РСК с сывороткой крови больного с подозрением на хроническую гонорею реакция оказалась положительной на 4 плюса во всех разведениях сыворотки (от 1:5 до 1:320). Как будет выглядеть результат реакции у данного больного?

- A. Осадок эритроцитов и гемолиз в надосадочной жидкости
- B. Осадка эритроцитов и бесцветная надосадочная жидкость
- C. Гемолиз в опытной пробирке
- D. Гемагглютинация и бесцветная надосадочная жидкость
- E. Частичная гемагглютинация эритроцитов

Тест №3

В лабораторию пищевой гигиены областной СЭС доставлен изъятый у продавца на рынке говяжий мясной фарш. У покупателя возникло подозрение о фальсификации продукта. Какая иммунологическая реакция позволяет это проверить?

- A. Реакция агглютинации
- B. Реакция Кумбса
- C. Реакция преципитации
- D. Реакция опсонизации
- E. Реакция иммунофлюоресценции

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ

1.-B, 2.-B, 3.-C.