

ТЕМА: Серологические реакции для идентификации. Реакция агглютинации и ее разновидности

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Иммунная система играет ведущую роль в защите организма от инфекционных агентов (микробов, вирусов, простейших), элиминации мутантных клеток. Морфологическим субстратом иммунной системы является лимфоидная ткань, центральные и периферические органы иммунной системы. На специфичности феноменов связывания антигенов и антител построены многие диагностические реакции в медицине и биологии. Поскольку во всех этих реакциях используется сыворотка, они получили название серологических реакций. В зависимости от феномена, который регистрируется во время образования комплекса антиген-антитело серологические реакции разделяют на реакции агглютинации, флоруляции, преципитации, связывания комплемента, нейтрализации и другие.

Реакции агглютинации (РА) в связи с высокой специфичностью взаимодействия антигена (A_2) с антителом (Am) используются для определения вида микроорганизма (антигена) и для серологической диагностики инфекционных заболеваний (выявление специфических антител к возбудителю инфекции). Диагностика инфекционных болезней зависит от правильно подобранных серологических реакций, среди которых - реакции агглютинации Райта, Видаля, реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), реакция обратной пассивной гемагглютинации (РОПГА), реакция торможения гемагглютинации (РТГА). Студентам фармацевтического факультета необходимо знать химические основы реакций иммунитета, методику постановки реакций агглютинации и уметь трактовать результаты этих реакций.

ЦЕЛИ ОБУЧЕНИЯ

Общая цель: уметь назначать серологические реакции с целью идентификации патогенов и оценивать их результаты

Конкретные цели:

- Оценивать результаты РА на стекле для определения групповой и типовой специфичности микроорганизмов
- Оценивать результаты РА типа Грубера и типа Видаля
- Оценивать результаты РПГА с целью определения антител в сыворотке крови больного

СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО К ЦЕЛЯМ

ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

1. Серологические реакции, химические основы этих реакций, серологический метод диагностики

2. Определение антигенов, их классификация, антигенная структура бактериальной клетки
3. Реакции агглютинации (механизм, техника постановки, тип, применение)
4. Разновидности реакций агглютинации: РПГА, РОПГА, РТГА и другие

ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ

Серологический метод (С.м. в диагностике инфекционных заболеваний)-совокупность пробирочных реакций, основанных на *Ag-Аnt-взаимодействии* и направленных на выявление в сыворотке крови и других жидкостях организма Ат к Аг возбудителей инфекционных болезней. К С.м. также следует отнести пробирочные реакции, имеющие целью обнаружение в сыворотке крови и др. субстратах растворимых микробных Аг с помощью стандартных иммунных сывороток. В большинстве случаев материалом является сыворотка крови. При некоторых заболеваниях материалом для С.м. могут служить ликвор, моча, фильтрат испражнений, промывные воды бронхов, полости рта, глотки, носа. Во всех случаях для установления присутствия Ат в исследуемом субстрате необходим набор известных стандартных корпускулярных или растворимых Аг, называемых *диагностикумами*. В свою очередь, для установления присутствия Аг нужен набор *сывороток иммунных диагностических*. Взаимодействие Аг и Ат осуществляется только в присутствии электролита, в качестве которого обычно используют физраствор или буферные смеси, рН системы должен быть около 7. Образование, видимого простым глазом, специфического иммунного комплекса происходит быстро; феномена агглютинации, лизиса и др. - медленно, через несколько часов или даже суток.

Антигены – это генетически чужеродные вещества, при введении которых в организме развиваются специфические иммунологические реакции. Антигенами являются белки (микробные токсины, яды змей, растительные яды, ферменты и пр.), а также полисахариды, липиды и комплексные вещества. Микробные клетки также являются антигенами.

Необходимым условием для проявления антигенной активности вещества является достаточно большой размер молекулы и сложная структура. Это обеспечивает веществу быть замеченным иммунной системой макроорганизма.

Все антигены подразделяются на две группы – полноценные и неполноценные (гаптены). Полноценные антигены – это вещества, в состав которых входит белок. Полноценные антигены вызывают выработку антител. Гаптены – это антигены органической природы, относящиеся к липидам и полисахаридам. Аутоантигены – это антигены, способные иммунизировать собственный организм. К аутоантигенам относятся:

1. Хрусталик глаза

2. Сперматозоиды

3. Антигены, образующиеся под влиянием лекарственных препаратов, при патологических процессах в тканях (при злокачественных образованиях, при сифилисе)

4. Гомогенаты семенной железы, кожи, печени, почек, легких и пр. Микробы содержат очень сложный комплекс антигенов, включающий высокомолекулярные вещества белковой природы.

О сложности, разнообразии и специфичности антигенной структуры микробной клетки можно судить по антигенной структуре бактерий.

У бактерий имеется О- антиген, связанный с клеточной стенкой микроорганизма. Его обычно называют «соматическим», так как считают, что этот антиген заключен в теле (соте) клетки. О- антиген – это сложный глицидо – липидо – протеиновый комплекс. Он термостабилен, но разрушается при обработке спиртом и формалином.

Капсульный К- антиген связан с капсулой и клеточной стенкой бактериальной клетки. Расположен более поверхностно, чем О- антиген, является полисахаридом.

У некоторых бактерий имеется Vi- антиген – антиген вирулентности бактериальной клетки.

Жгутиковый Н- антиген локализуется в жгутиках бактерий и представляет собой особый белок флагеллин, разрушающийся при нагревании, но сохраняющийся при обработке формалином.

Техника постановки ориентировочной реакции агглютинации

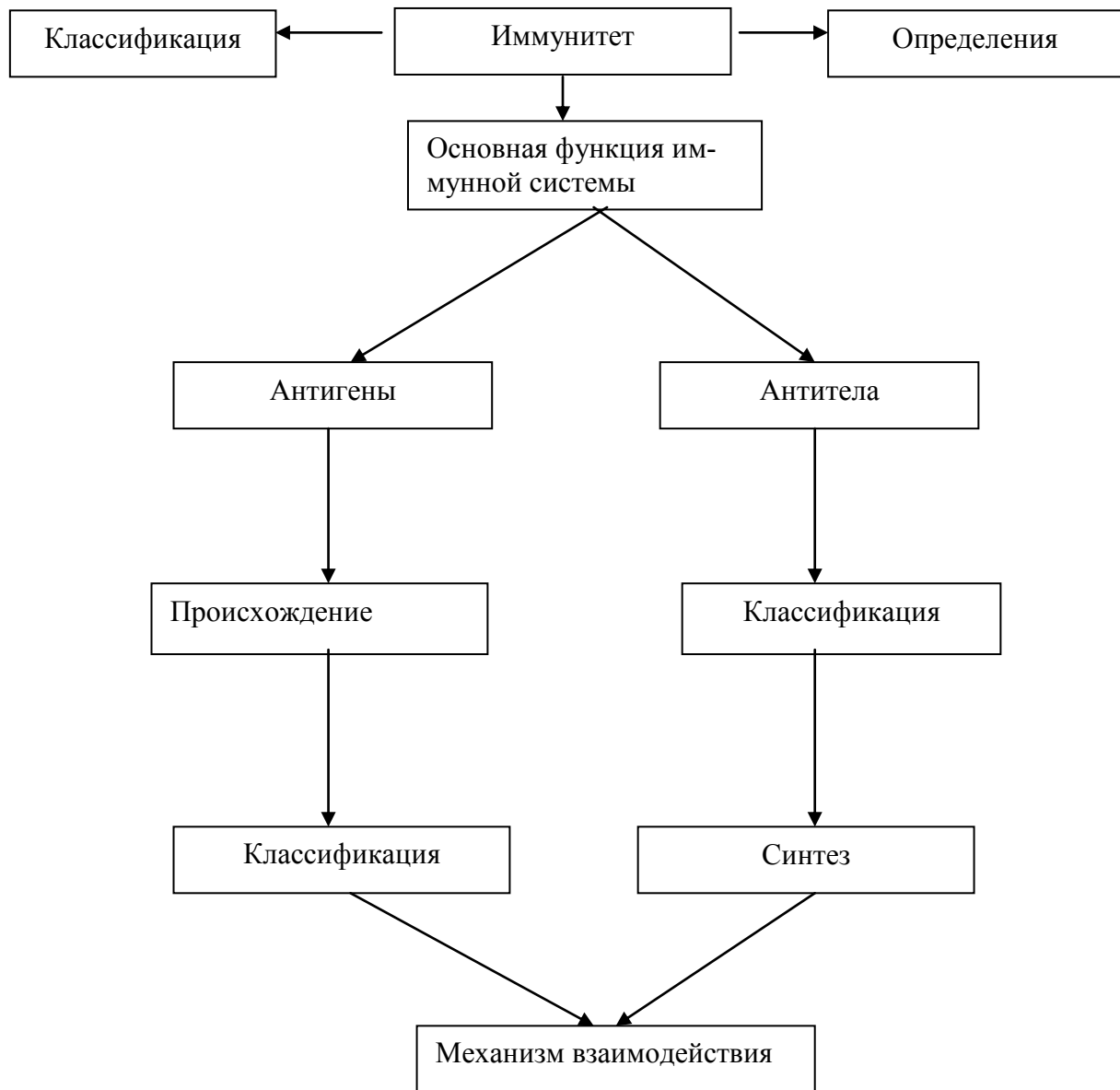
На обезжиренное стекло нанести пастеровской пипеткой несколько капель неадсорбированной агглютинирующей брюшнотифозной сыворотки (1:25) и каплю изотонического раствора натрия хлорида для контроля. В каждую каплю сыворотки, а также в каплю контроля внести петлей суточную живую культуру микроорганизма, взятую с поверхности плотной питательной среды. Внесенную культуру тщательно перемешать, провести регистрацию реакции и сделать заключение. (РА) - способ выявления и количественного определения Аг и Ат, основанный на их способности к образованию видимых невооруженным глазом агломератов.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА; син. реакция пассивной гемагглютинации) метод обнаружения и идентификации антигенов или антител, основанный на возникающем в их присутствии феномене агглютинации эритроцитов, на поверхности которых были предварительно адсорбированы соответствующие специфические антитела или антигены.

Метод преципитации в геле - серологический метод анализа антигенов и их смесей, основанный на различии скорости их диффузии в геле агара, содержащем соответствующие антитела, с образованием отдельных зон (полос, линий) преципитации.

Реакция торможения гемагглютинации.- (РТГА) метод идентификации вируса или выявления противовирусных антител в сыворотке крови больного, основанный на феномене отсутствия агглютинации эритроцитов препаратом, содержащим вирус, в присутствии иммунной к нему сыворотки крови.

ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ТЕМЫ: РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ, ЕЕ РАЗНОВИДНОСТИ и практическое значение



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. ? – ?.
- 2.Руководство к лаборатор. занятиям: Учеб. пособие для студентов высш. учеб. заведений /И.Л. Дикий, И.И. Сидорчук, И.Ю. Холупяк и др.-Х.;Изд-во НфаУ: Золотые страницы, 2002.-С.183-186; 195-204.
- 3.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.: ИД «Профессионал», 2004. - С.177-180.

Дополнительная литература:

1. Мікробіологія з основами імунології / В.В. Данилейченко, Й.М. Федечко, О.П. Корнійчук та ін.- К.: Медицина, 2009.- С. 181-189.
2. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С.182-202.

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

Пациент обратился к врачу на второй неделе заболевания, которое по клинико-эпидемиологическим данным дает возможность предположить брюшной тиф или паратиф. Врач решил подтвердить диагноз путем выявления специфических антител. Какие препараты следует использовать для этой цели?

- A. Диагностикумы
- B. Диагностические сыворотки
- З. Меченые сыворотки
- D. Моноклональные антитела
- E. Адсорбированные монорецепторные сыворотки

Тест 2

Холерный вибрион имеет, как и другие бактерии, целый комплекс разных антигенов, однако его высокая подвижность обеспечивается наличием у него жгутика. Какой вид антигена в связи с этим есть у данного микроорганизма?

- A. Соматический антиген
- B. H-антиген
- C. O-антиген

- D. К-антиген
- E. Vi-антиген

Тест 3

В мазках-отпечатках легочной ткани мышей, погибших после заражения их культурой пневмококка, обнаружены микроорганизмы, окруженные слизистой капсулой. Какой вид антигена в связи с этим есть у данных микроорганизмов?

- A. Соматический антиген
- B. H-антиген
- C. O-антиген
- D. К-антиген
- E. Vi-антиген

Тест 4

Студенты учитывают результат поставленной на предыдущем занятии реакции агглютинации в пробирках. Изменения в пробирках разные – хлопья на дне, помутнение. Как будет выглядеть положительный результат этой реакции?

- A. Полностью прозрачная жидкость и наличие хлопьев на дне
- B. Мутная жидкость при наличии выраженного осадка, состоящего из хлопьев
- C. Прозрачная жидкость и отсутствие осадка
- D. Мутная жидкость при наличии мелкодисперсного осадка
- E. Наличие кольца преципитации

Тест 5

В бактериологической лаборатории из патологического материала выделена чистая культура бактерий, которая частично идентифицирована по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим признакам. Для окончательной идентификации выбрана адсорбированная типоспецифическая агглютинирующая сыворотка. Какую из известных Вам разновидностей реакции агглютинации следует применить в данной ситуации?

- A. Реакцию агглютинации (вариант Видаля)
- B. Реакцию агглютинации на стекле
- C. Реакцию агглютинации (вариант Грубера)
- D. Реакцию гемагглютинации
- E. Реакцию пассивной гемагглютинации

Тест 6

Диагностика носительства брюшного тифа базируется на выявлении антител к определенным антигенам возбудителя в реакции пассивной гемагглютинации. Какой препарат следует использовать для выявления носительства с помощью данной реакции?

- A. Антиген брюшного тифа

- В. Антитела против иммуноглобулинов основных классов
- З. Эритроцитарный диагностикум с адсорбированным антигеном брюшного тифа
- Д. Монорецепторные диагностические сыворотки
- Е. Эритроциты барана и гемолитическая сыворотка

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ

1.-А, 2.-В, 3.-Д, 4.-А, 5.-В, 6.-С.