

Департамент образования и науки ТО
ГАПОУ ТО «Тюменский медицинский колледж»

ОП.03. Основы микробиологии и иммунологии

Тема 4.2. Специфические факторы защиты человека

Практическое занятие № 14. Проведение иммунодиагностики.

Преподаватель:
Кристина Владимировна Малахова



Цель занятия: Освоение методов иммунологических реакций.



Задачи занятия:

1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.
2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.
3. Принимать решения в стандартных и нестандартных ситуациях, нести за них ответственность.
4. Осуществлять поиск, и использование информации, необходимой для эффективного выполнения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.
5. Использовать информационно-коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.
6. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать и осуществлять повышение квалификации.
7. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.
8. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.
9. Брать на себя ответственность за работу членов команды (подчиненных), за результат выполнения задания.
10. Бережно относиться к историческому наследию и культурным традициям народа, уважать социальные, культурные и религиозные различия.
11. Быть готовым брать на себя нравственные обязательства по отношению к природе, обществу и человеку.
12. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности.
13. Вести здоровый образ жизни, заниматься физической культурой и спортом для укрепления здоровья, достижения жизненных и профессиональных целей.



Реакция «антиген – антитело» состоит из двух фаз: специфической, при которой происходит связывание АГ с АТ, с неспецифической, проявляющейся видимым результатом. По способу регистрации реакции «АГ – АТ» подразделяют на реакции, связанные с образованием макромолекулярного иммунного комплекса (агглютинации, преципитации), реакции лизиса – с участием комплемента и реакции с использованием меченых реагентов: реакцию иммунофлюоресценции, иммуноферментный анализ, радиоиммунный анализ, иммуноблоттинг.



Реакция агглютинации (РА) – иммунная реакция взаимодействия суспензии АГ (эритроцитов, бактерий) с АТ в физиологическом растворе. При агглютинации происходит склеивание частиц АТ с образованием хлопьевидного осадка.



Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) является разновидностью реакции агглютинации, в которой используют антигенный или антигенный эритроцитарный диагностикум (эритроциты с адсорбированными на их поверхности АТ или аГ). Эритроциты в этой реакции выполняют роль пассивных носителей.

Оценка результатов РПГА проводится следующим образом:

- при положительной реакции пассивно склеенные эритроциты покрывают дно U – или V-образной лунки ровным слоем с фестончатыми краями («зонтик»);
- при отрицательной реакции (отсутствии агглютинации) эритроциты скапливаются в центральном углублении лунки, образуя компактную «пуговку» с резко очерченными краями.



Реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) используют при диагностике вирусных инфекций. Некоторые вирусы содержат на своей поверхности белок гемагглютинин, склеивающий эритроциты. Добавление специфических противовирусных АТ блокирует вирусный гемагглютинин – гемагглютинация отсутствует.

Реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА), или реакцию Кумбса, применяют для определения неполных АТ. добавление антиглобулиновой сыворотки (АТ против Ig человека) усиливает результаты реакции. РНГА применяют при определении резус – фактора.



Реакция преципитации – иммунная реакция взаимодействия АГ в растворимом состоянии с АТ в физиологическом растворе. При преципитации происходит образование макромолекулярного иммунного комплекса, что проявляется переходом прозрачного коллоидного раствора в непрозрачную суспензию, или преципитат. Количество обоих реагентов должно быть в строго определенных соотношениях, так как избыток одного из них снижает результат. Существует различные способы постановки реакции преципитации.



Реакцию кольцепреципитации ставят в преципитационных пробирках с малым диаметром. В пробирку вносят иммунную сыворотку и осторожно наслаивают растворимый АГ. АГ и АТ смешиваются за счет теплового движения молекул, и они взаимодействуют. При положительном результате на границе двух растворов образуется кольцо непрозрачного преципитата.

Реакцию двойной иммунодиффузии по Оухтерлони проводят в агаровом геле, в лунки которого вносят по схеме либо раствор АГ, либо раствор АТ. АГ и АТ диффундируют в гель навстречу друг другу и при положительном результате реакции образуют иммунные комплексы, видимые как линии преципитации.

Реакция радиальной иммунодиффузии по Манчини отличается от варианта реакции по Оухтерлони тем, что АТ добавляют в агаровый гель, а в лунки – раствор АГ. Последний диффундирует в агаровый гель, и при положительном результате образуется иммунный комплекс в виде кольца преципитации вокруг лунки. Диаметр кольца соответствует определенной концентрации разных классов Ig в сыворотке крови.



Реакция флоккуляции по Рамону – разновидность реакции преципитации, которую используют для определения количества анатоксина. Расчет ведется в единицах начальной флоккуляции по максимальной концентрации исследуемого вещества, дающей положительный результат (помутнение).

Реакции лизиса

Реакции лизиса основаны на способности комплемента вызывать цитолиз по классическому пути. Пример – **реакция связывания комплемента (РСК)**. Реакцию проводят в два этапа. на первом этапе АТ взаимодействуют с АГ и комплементом, на втором этапе добавляют индикатор – гемолитическую систему (смесь эритроцитов и антиэритроцитарной сыворотки). При положительном результате на первом этапе АТ образуют с АГ иммунный комплекс, связывающий комплемент реакционной смеси. В этом случае эритроциты гемолитической системы, добавленные на втором этапе, не разрушаются. В противном случае несвязанный комплемент вызывает лизис индикаторных эритроцитов.

Реакция биологической нейтрализации основана на способности АТ блокировать повреждающее действие микроорганизмов или токсинов. Если АТ связываются с микроорганизмом или токсином и нейтрализуют его действие, живые тест – объекты (животные, эмбрионы птиц, культуры клеток) не погибают.



Реакции и использованием меченых реагентов

К реакциям с использованием меченых реагентов относят реакцию иммунофлюоресценции, иммуноферментный анализ, радиоиммунный анализ, иммуноблоттинг.

- **Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)** (метод Кунса) основана на использовании аГ, меченых флюорохромами – веществами, светящимися в УФ. Результаты оценивают с помощью люминисцентного микроскопа. Метод позволяет как бактериальные АГ, так и АГ и применяется для экспресс – диагностики. Различают прямой и непрямой методы РИФ. При прямом методе неизвестный АГ (микроорганизмы, клетки) напрямую взаимодействует с мечеными АТ. В случае положительного результата наблюдается свечение аГ. Непрямой метод РИФ проводят в два этапа. На первом этапе известный АГ взаимодействует с искомыми АТ, на втором – образовавшиеся иммуноглобулиновой сыворотки. Результаты оценивают, как и в случае прямого варианта.

- **Имуноферментный анализ (ИФА)** – наиболее распространенный современный метод, используемый в микробиологической и иммунологической диагностике. Модификаций ИФА существует очень много, но широко используется его твердофазный неконкурентный вариант. В реакции используют специфические АТ, меченные ферментом. Проявляют реакцию, добавляя субстрат для фермента, а затем – краситель – хромоген. При положительной реакции наблюдается изменение цвета реакционной смеси.

- **Радиоиммунологический анализ (РИА)** основан на использовании меченных радиоактивными изотопами аГ или АТ. Результат оценивают по уровню радиоактивности образовавшихся иммунных комплексов.

- **Имуноблоттинг** основан на сочетании электрофореза и ИФА (или РИФ, РИА). Проводят разделение смеси АГ в электрофорезе, которые затем проявляют АТ, мечеными ферментами, изотопами, флюорохромами.

Имунодиагностика – совокупность методов диагностики, направленных на выявление специфической сенсibilизации (аллергии) к микобактерии туберкулеза (МБТ). Профилактика туберкулеза: прописан порядок организации раннего выявления туберкулеза у детей. Иммунодиагностика туберкулеза органов дыхания.



Домашнее задание:

Вопросы:

1. Проведение алергодиагностики.
2. Проведение серологических реакций.



**ПРЕЗЕНТАЦИЯ
ОКОНЧЕНА**

**СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ!**

