

Теоретический материал.

Реакция преципитации – это осаждение мелкодисперсного растворимого антигена под действием антител в присутствии электролита. Реакция очень чувствительна в отношении антигена, она позволяет обнаруживать и идентифицировать буквально следы антигена. Варианты постановки: реакция кольцепреципитации, реакция преципитации в геле (агаре). Модификации РП: иммуноэлектрофорез, радиальная иммунодиффузия по Манчини, иммуноблотинг. Реакция преципитации применяется для индикации и идентификации антигена в исследуемом материале. РП получила распространение в судебно-медицинской экспертизе, используется для определения принадлежности пятен биологических жидкостей по видовой принадлежности белка. РП в агаре используется для определения токсигенности культур микроорганизмов (при диагностике дифтерии, стафилококкового токсикоза). Метод радиальной иммунодиффузии по Манчини используется для определения разных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови. Иммуноэлектрофорез используется для определения белковых фракций сыворотки крови.

Преципитирующие сыворотки получают иммунизацией кроликов антигенами бактерий, их экстрактами и токсинами. Титром преципитирующей сыворотки называется то максимальное разведение антигена, при котором идет реакция преципитации. Преципитирующие сыворотки выпускаются с высоким титром - не менее 1:100000. Это связано с тем, что антиген, определяемый в реакции преципитации, имеет мелкодисперсную структуру и в единице объема его может содержаться больше, чем в таком же объеме сыворотки - антител.

Специфические преципитирующие сыворотки применяются при диагностике инфекционных заболеваний (сибирская язва, чума, туляремия, дифтерия, и др.), в судебно-медицинской экспертизе для определения видовой принадлежности белка, в санитарной практике для обнаружения соответствия белковых веществ в продуктах (при подозрении на фальсификацию).

Реакция нейтрализации – способность антител нейтрализовать токсины, вирусы, яды змей. Используется для индикации и идентификации токсинов, для идентификации вирусов, и др. РН не дает видимого результата *in vitro*, поэтому она учитывается по биопробе на животных или в культуре ткани. РН *in vivo* может быть использована для определения степени напряженности антитоксического иммунитета в организме человека (проба Шика).

Реакция флоккуляции (РФ) - используется для титрования антитоксических сывороток, токсинов и анатоксинов. В реакции флоккуляции в качестве антигена участвует токсин или анатоксин. При смешивании их в эквивалентных соотношениях с антитоксической сывороткой появляется помутнение, а затем рыхлый осадок. Механизм РФ сходен с таковым реакции преципитации.

В реакциях нейтрализации и флоккуляции участвуют в качестве компонентов токсина, анатоксина, антитоксина (антитоксические сыворотки).

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ). Разработана А. Кунсом и носит его имя (метод Кунса). Это один из методов исследования, в котором используются меченные антитела. В качестве метки используется краситель, дающий свечение в ультрафиолетовых лучах (изоцианат флюоресцеина или просто флюорохром). Риф используется в двух модификациях: **прямой метод Кунса и непрямой метод Кунса.** Прямой метод: исследуемый материал, зафиксированный на предметном стекле, обрабатывается меченой флюорохромом диагностической сывороткой; обязательный этап реакции – отмывка от непрореагировавших антител; если в исследуемом материале есть искомый антиген, меченные антитела фиксируются на антигене и после отмывки такой комплекс выявляется по свечению при просматривании препарата под люминесцентным микроскопом. Непрямой метод: в этом случае реакция идет в два этапа – на первом этапе используется немеченая диагностическая сыворотка, на втором этапе используется меченая флюорохромом антиглобулиновая сыворотка; с помощью непрямого метода можно выявлять в исследуемом материале как наличие антигена, так и наличие и титр специфических антител.

Люминесцирующие (флюоресцирующие) сыворотки представляют собой иммунные сыворотки, содержащие специфические антитела, меченые флюоресцирующими красителями. При приготовлении люминесцирующих сывороток проводят присоединение к глобулиновой фракции иммунной сыворотки флюорохромов путем прочной химической связи. Люминесцирующие сыворотки используют при постановке РИФ.

Антиглобулиновые сыворотки (АГС) содержат антитела к иммуноглобулинам сыворотки человека или кролика - в зависимости оттого, какая иммунная сыворотка используется в реакции. АГС получают путем иммунизации животных иммуноглобулинами человека или кролика. Такие сыворотки используют для постановки непрямого РИФ, реакции ИФА, реакции Кумбса.

Токсин – яд микробного происхождения. Токсины микробов делятся на эндотоксины и экзотоксины. Характеристика токсинов см. тема №6.

Анатоксин – обезвреженный токсин. Получают из экзотоксинов путем их обработки формалином и теплом. Анатоксин не обладает ядовитостью, при этом сохраняет антигенные и иммуногенные свойства токсина. Сила действия анатоксина измеряется в ИЕ. ИЕ (иммуногенная единица) – это такое количество анатоксина, которое в смеси с 1 АЕ сыворотки дает инициальную флоккуляцию. Титр анатоксина – количество ИЕ в 1 мл. Анатоксины титруют в реакции флоккуляции. Анатоксин используется в

качестве вакцины для создания активного антитоксического иммунитета. Примером таких вакцин являются дифтерийный анатоксин, столбнячный анатоксин и др. Анатоксин используется также для получения антитоксических сывороток.

Антитоксин или антитоксическая сыворотка – сыворотка, содержащая антитела к токсину. Антитоксические сыворотки – это гетерологичные сыворотки, их получают путем гипериммунизации лошадей соответствующими анатоксинами с последующим взятием у животных крови и получения сыворотки. Содержание антитоксина в антитоксических сыворотках выражается в международных единицах (МЕ), принятых ВОЗ. Например, 1 МЕ противостолбнячной сыворотки соответствует ее минимальному количеству, нейтрализующему 1000 минимальных смертельных доз (DLm) столбнячного токсина для морской свинки массой 350 г. 1 МЕ противоботулинического антитоксина - наименьшее количество сыворотки, нейтрализующее 10000 DLm ботулинического токсина для мышей массой 20 г. 1 МЕ противодифтерийной сыворотки соответствует ее минимальному количеству, нейтрализующему 100 DLm дифтерийного токсина для морской свинки массой 250 г.

Собственно иммунный метод диагностики . Цель метода – индикация и идентификация антигенов возбудителя в исследуемом материале. Используются РП, РИФ, ИФА, РСК. Собственно иммунный метод – это экспресс-диагностика, результат исследования получается в течение нескольких часов или одних суток.