

## Лекция № 8

### Тема: Иммунодиагностика и ее практическое применение

**Иммунодиагностика** основана на специфичности взаимодействия антител с антигеном и с помощью одного из известных компонентов этой реакции можно определить наличие второго.

Для прижизненной диагностики ряда инфекционных болезней (туберкулез, бруцеллез, паратуберкулез, сап) используются **аллергены** (АГ). Аллергены получают из чистых культур или продуктов их жизнедеятельности. Их используют для постановки серологических реакций, когда по известному антигену определяют наличие специфических антител в сыворотке крови больного животного.

Аллергены готовят для проведения аллергической диагностики больных животных, к ним относят:

1. Абортин – аллерген, полученный из возбудителя *Br.abortus* для диагностики бруцеллеза молодняка.
2. Бруцеллин – получен из *Br.suis*, *Br.abortus*, *Br.melitensis* для диагностики бруцеллеза людей, овец, коз, свиней.
3. Бруцеллизат – получен из *Br.suis* для диагностики бруцеллеза овец и коз.
4. Альттуберкулин для птиц.
5. Туберкулин сухой очищенный (ППД) – получают из культурального фильтрата и осажденных белков.
6. Тулярин – для диагностики туляремии.
7. Малеин – для диагностики сапа лошадей.

Применение аллергенов основано на феномене гиперчувствительности замедленного типа – самостоятельной формы иммунного ответа организма.

Кроме аллергенов используют антигены для постановки различных

иммунологических реакций:

- Единый антиген для РА, РСК и РДСК.
- Комплексный туберкулезный антиген для РСК.
- Вибриозный антиген для РА.
- Сальмонеллезные антигены для РА.
- Антигены для диагностики лептоспироза.
- Типоспецифические ящурные антигены и др.

### **Особенности реакции Антиген – Антитело**

1. Специфичность
2. Аг и Ат реагируют как целые молекулы
3. В процессе соединения Аг и Ат изменений в их химической структуре не происходит
4. Ат связываются с Аг расположенными поверхностно, либо реакция с эпитопом
5. Связь Аг и Ат прочная, но обратимая
6. Иммуный комплекс всегда содержит Аг и Ат
7. Аг и Ат могут соединяться в различных соотношениях.

### **Фазы реакции Аг-Ат**

Специфическое соединение Аг и Ат

Визуально наблюдаемая реакция( агглютинация, лизис, претипитации)

### **Характеристика фаз**

- 1.Соединения Аг и Ат обычно не видима, но может быть обнаружена косвенно

2. При некоторых условиях – отсутствие молей, вибрация и тд, первая фаза происходит, вторая нет

3. Первая и вторая фаза отличаются по скорости. Первая – быстро, вторая – медленно.

4. Специфичность первой фазы выражена сильнее чем второй.

### **Назначение серологических реакций.**

1. Определение неизвестных Аг с помощью известных антител
2. Определение неизвестных антител с помощью известных антигенов

Ложно положительные реакции могут проявляться при тяжелых заболеваниях – эндокринных, у беременных, при гепатитах, алкогольных интоксикациях, красной волчанки и тд

При регистрации антителобразования важно знать вероятность наличия в крови и лимфе антител, секреторных или местных. Сывороточные антитела (IgG, IgM) можно установить с помощью. Реакции агглютинации (РА) и реакции преципитации (РП).

В этих реакциях принимают участие антигены в виде частиц (микробные клетки, эритроцита и другие корпускулярные антигены), которые склеиваются антителами и выпадают в осадок.

В зависимости от вида используемого иммунодиагностикума различают реакцию микробной агглютинации, гемагглютинации, латекс-агглютинации, коагглютинации и т. д.

Для диагностики инфекционных заболеваний реакцию агглютинации проводят в двух направлениях: определяют вид выделенного от больного микроба-возбудителя с помощью диагностической агглютинирующей сыворотки (серологическая идентификация микроба) и обнаруживают

специфические антитела в сыворотке больного, используя стандартный микробный диагностикум (серодиагностика заболевания, постановка серологического диагноза).

**В РА- реакции агглютинации** участвуют антитела (агглютинины), содержащиеся в крови больного организма, антиген (агглютиноген) – клетки живых или убитых бактерий, возбудителя данной болезни. Реакция происходит в присутствии электролита (0,85% р-ра NaCl). Сущность реакции заключается во взаимодействии АТ с АГ, в результате чего происходит склеивание микробов с образованием хлопьев, комочков, видимых невооруженным глазом. РА характеризуется высокой специфичностью и используется для:

- диагностики инфекционной болезни путем обнаружения в сыворотке крови больного животного АТ к определенному известному виду микроба (АГ);
- определение вида (типа) выделенного микроба при помощи заведомо известных агглютинирующих сывороток, содержащих видо- и типоспецифические антитела (агглютинины).

Различают прямую и непрямую реакции агглютинации

Реакция прямой агглютинации микробов (РА). В этой реакции антитела (агглютинины) непосредственно агглютинируют корпускулярные антигены (агглютиногены). Обычно они представлены взвесью инактивированных микроорганизмов (реакция микробной агглютинации). По характеру образующегося агглютината различают зернистую и хлопьевидную агглютинацию. Зернистая агглютинация происходит при склеивании микробов, содержащих О-антиген. Бактерии, имеющие жгутики (Н-антиген), агглютинируются с образованием крупных хлопьев.

Для определения вида микроорганизмов используют стандартные диагностические агглютинирующие сыворотки. Их получают

гипериммунизацией лабораторных животных взвесью бактерий. Титром такой сыворотки является ее наибольшее разведение, при котором наблюдается отчетливая агглютинация соответствующего антигена. Однако из-за сложности антигенной структуры бактерий, агглютинирующие сыворотки содержат антитела не только к видоспецифическим, но и к групповым антигенам и могут давать групповую агглютинацию с родственными видами бактерий. Титры антител к видоспецифическим антигенам в сыворотке всегда выше, чем к групповым. Для удаления группоспецифических антител в сыворотку последовательно добавляют микроорганизмы, в состав которых входят групповые антигены (метод Кастеллани). Таким методом получают адсорбированные сыворотки, которые содержат антитела к определенному виду микроба.

Наиболее распространены пластинчатая (ориентировочная) и развернутая РА. Пластинчатую РА ставят на стекле. В этой реакции используют сыворотки с небольшим разведением или неразведенные. Используют ее как ускоренный метод обнаружения антител или идентификации микроорганизмов. На стекло наносят каплю сыворотки, в которую петлей вносят неизвестную культуру бактерий, перемешивают и через 2-3 минуты наблюдают появление мелкозернистой или хлопьевидной агглютинации. Для контроля используют каплю физиологического раствора, в которой после внесения бактерий наблюдается помутнение. При использовании неадсорбированных сывороток реакция на стекле имеет только ориентировочное значение.

Развернутую РА проводят в пробирках или лунках пластин. При этом диагностическую сыворотку разводят до титра и вносят одинаковые количества антигена. При положительном результате на дне пробирки образуется рыхлый осадок в виде "зонтика", при отрицательном - осадок в виде "пуговицы". Поскольку титры группоспецифических антител в сыворотке значительно ниже, чем титр видоспецифических, групповые реакции наблюдаются лишь в

небольших разведениях сыворотки. Если агглютинация происходит до титра или до половины титра сыворотки, она является видоспецифической.

Для определения антител в сыворотке больного (серологический диагноз) используют стандартный микробный диагностикум, содержащий взвесь известных микробов или их антигенов. В этом случае также можно ставить пластинчатую и развернутую РА.

Существует несколько методов постановки РА: пробирочный (объемный), кровякапельный, капельный (пластинчатый), кольцевая реакция с молоком, антиглобулиновый тест Кумбса, реакция гемагглютинации и др. В ветеринарной практике РА применяется для диагностики бруцеллеза, сальмонеллеза, колибактериоза, лептоспироза и мн.др., а также для идентификации выделенных возбудителей.

#### **РНГА - реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации.**

Сущность реакции заключается в том, что белковые молекулы антигена предварительно адсорбируют на обработанных танином эритроцитах барана. Затем ставят реакцию путем смешивания сенсibilизированных эритроцитов с сывороткой крови больных животных. При наличии в сыворотке крови специфических антител на данный антиген происходит агглютинация эритроцитов. РНГА ставят при диагностике микоплазмоза, сальмонеллеза, вирусных инфекций.

Если циркулирующие антитела окажутся неполными, применяют тест Кумбса, основанный на использовании антивидовой сыворотки, которая служит посредником для соединения неполных антител, фиксированных на корпускулярных антигенах (эритроциты, бактерии). Антиглобулиновую сыворотку получают иммунизацией кроликов сывороткой крови или

глобулиновой фракцией животного того вида у которого исследуют наличие неполных антител.

### **Прямая и непрямая антииммуноглобулиновые реакции Кумбса.**

Прямая реакция: к отмытым эритроцитам крови больного добавляют антииммуноглобулиновую сыворотку. Если на эритроцитах есть неполные антитела (иммуноглобулины), что наблюдается при гемолитической анемии, резус-конflikте (эритроциты плода), то они агглютинируются.

Непрямая реакция выявляет свободные антиэритроцитарные антитела в сыворотке крови больного. К этой сыворотке добавляют отмытые эритроциты донора. Смесь инкубируют при 37°C в течение 30 минут и отмывают эритроциты. Затем к ним добавляют антииммуноглобулиновую сыворотку. Если в сыворотке больного были неполные антиэритроцитарные антитела, то наступит агглютинация.

**Розбенгал проба** – экспресс метод, позволяющий за несколько минут провести большое количество оценочных реакций.

В ветеринарной практике нередко приходится идентифицировать растворимые и корпускулярные антигены. Диагностика растворимых антигенов основана на феномене преципитации антигена антителами – преципитинами. При образовании комплекса АГ – АГ происходит взаимодействие с образованием видимых агрегатов (помутнение, хлопья) частиц, которые постепенно оседают на дно. Поиск антигена в искомом материале проводят с заведомо известной преципитирующей сывороткой. Наиболее активными антигенами являются белки животного и растительного происхождения, различные микроорганизмы, экстракт органов, тканей, сыворотке крови и др.

В основе реакций преципитации лежит образование и выпадение в осадок комплексов антиген-антитело. В реакции участвуют растворимые антигены: преципитиногены (продукты микроорганизмов, тканей, химические вещества и лекарства). Антитела (преципитины), соединяясь с растворимыми антигенами, вызывают их агрегацию, что проявляется в помутнении прозрачных жидкостей или выпадении осадка (преципитата). Диагностические преципитирующие сыворотки выпускают с высоким титром антител. Их получают путем иммунизации лабораторных животных соответствующим антигеном. Титром преципитирующей сыворотки является минимальное количество антигена, которое данная сыворотка может преципитировать.

Реакцию преципитации можно проводить в жидкой и плотной среде (в агаре или геле).

**Реакция преципитации (РП)** высокоспецифична и чувствительна, позволяет обнаружить антиген в разведении 1:10 млн. Широкое применение РП нашла при исследовании кожевенного сырья на сибирскую язву, а также для диагностики туляремии – опасного для человека заболевания, которым он заражается от больных грызунов, ондатр, водяных крыс, зайцев и др. РП можно идентифицировать некоторые виды бактерий – стрептококки и пневмококки (выявление их полисахаридов). Как высокоспецифичный метод РП используют в криминалистике – для определения видовой принадлежности следов крови, в санитарной пищевой экспертизе – наличие в колбасе некондиционного мяса, а в муке некондиционного вида зерна. При исследовании крови у насекомого РП можно установить вид животного, от которого насекомое сосало кровь.

Существуют различные методы постановки РП. В ветеринарной практике большее применение нашли реакция кольцепреципитации и диффузионной преципитации в геле агара (РДП).

#### **Реакция преципитации в жидкой среде (кольцепреципитация).**

Реакцию ставят в узких пробирках, куда вносят преципитирующую

антисыворотку, а сверху осторожно наслаивают прозрачный раствор антигена. При положительной реакции через несколько минут на границе соприкосновения двух жидкостей появится кольцо преципитации. При малых количествах реагентов реакцию можно проводить в капиллярах (микропреципитация).

**Реакция преципитации в агаре.** Сущность реакции в том, что антигены и антитела, помещенные в разные лунки в агаре, диффундируют навстречу друг другу и при взаимодействии образуют комплекс, который осаждается в виде линии преципитации.

**Двойная радиальная иммунодиффузия по Оухтерлони.** Реакцию проводят на пластинках с агаровым гелем. Растворы антигена и антисыворотки помещают в лунки, вырезанные на некотором расстоянии друг от друга. Иммунореагенты диффундируют в геле, при встрече образуют комплексы, которые осаждаются в виде линий преципитации. Этот метод позволяет исследовать сразу несколько образцов иммунореагентов. Например, вокруг лунки с антисывороткой можно разместить несколько лунок с растворами разных антигенов или наоборот.

Метод определения токсигенности микробов в реакции преципитации. Принцип иммунодиффузии в геле положен в основу метода, который применяется для изучения токсигенности (способности вырабатывать токсин) бактерий. Например, для обнаружения дифтерийного токсина на чашку Петри с агаром посередине накладывают полоску фильтровальной бумаги, пропитанную антитоксической сывороткой. Рядом засевают исследуемые культуры бактерий. Если они выделяют токсин, то при взаимодействии с антитоксинами между колониями и полоской бумаги образуются линии преципитации.

Иммунодиффузия в геле лежит в основе реакции преципитации по Манчини, которая используется для определения классов иммуноглобулинов в сыворотке крови (см. иммуноглобулины).

Реакции преципитации используются для; определения антигенов бактерий, тканей человека и животных; диагностики некоторых инфекционных заболеваний; определения видовой принадлежности белка в судебной медицине; выявления примесей в мясных, рыбных, мучных изделиях в санитарной практике.

**В РСК** помимо антигена и антител принимает участие третий компонент - комплемент, который способен связываться с комплексом антиген-антитело. РСК позволяет выявлять антигены при наличии к ним антисывороток или антитела с помощью антигенов-диагностикумов.

Образование комплексов антиген-антитело и фиксация комплемента не сопровождаются видимыми изменениями. Для обнаружения связывания комплемента используют дополнительную индикаторную гемолитическую систему. Эта система состоит из эритроцитов барана, обработанных гемолитической антисывороткой. В присутствии комплемента (сыворотки морской свинки) происходит лизис эритроцитов.

Принцип метода состоит в том, что если в опытной системе образовался комплекс антиген-антитело, который связал комплемент, то не будет лизиса эритроцитов в индикаторной гемолитической системе (РСК положительная, выявлен антиген или антитело). Если в опытной системе комплекс антиген-антитело не формируется, комплемент остается свободным, взаимодействует с гемолитической системой и вызывает лизис эритроцитов (РСК отрицательная, есть гемолиз). РСК лежит в основе реакции Вассермана, которая применяется для диагностики сифилиса.

**РСК** – реакция связывания комплемента, используется для выявления антител на определенный антиген по известному антителу. Это сложная серологическая реакция в которой участвуют две системы. **Первая система бактериологическая (основная)**, состоит:

- исследуемая сыворотка крови – инактивированная
- антиген – биофабричный
- комплемент – морской свинки

**Вторая система гемолитическая (индикаторная):**

- гемолизин (АГ)
- эритроциты барана (АГ)

Сущность РСК состоит в том, что комплемент добавленный к специфическому комплексу (АГ+АГ), связывается с последним. Это можно установить после добавления гемолитической системы. Если комплекс связался в бактериологической системе, то гемолиз не произойдет – **реакция положительная.**

При наличие свободного комплемента, если в сыворотке крови нет специфических антител, то комплемент переходит в гемолитическую систему и вызывает гемолиз эритроцитов – **реакция отрицательна.**

Антигены для РСК готовят из убитых разрушенных микробов, чаще путем экстрагирования. РСК широко используют для диагностики бруцеллеза, сапа, риккетсиозов, ящура и мн.др.

Для выявления корпускулярных антигенов кроме серологических реакций основанных на феномене агглютинации используют иммунологические методы – на уровне отдельных клеток или в смешанной культуре с использованием меченных флюорохромами антител. Благодаря этому методу можно определить наличие возбудителя даже в разложившемся материале.

Разработан ряд **опсонофагоцитарных** тестов для оценки неспецифического иммунологического статуса организма. В этих тестах

фагоцитарные клетки животных (полиморфноядерные лейкоциты) смешивают с разными бактериями или дрожжами в присутствии сыворотки для определения скорости поглощения и внутриклеточного переваривания. Наиболее широкое распространение получил **иммуноферментный анализ (ИФА)**. Реакцию проводят в двух вариантах:

1. Прямой метод с использованием меченой ферментом иммунной сыворотки против гомологичного антигена;
2. Непрямой – с помощью меченой ферментом антивидовой сыворотки против иммуноглобулина исследуемого организма.

В методах иммуноферментного анализа (ИФА) используют иммунореагенты, меченные ферментами. Наиболее широко применяется твердофазный ИФА. В качестве твердой фазы чаще всего используют полистироловые или поливиниловые планшеты или шарики, на которых адсорбированы антигены или антитела.

Для выявления антител известный антиген адсорбируют в лунках полистироловой пластины. Затем вносят исследуемую сыворотку, в которой хотят обнаружить антитела к данному антигену. После инкубации лунки промывают для удаления несвязавшихся белков и вносят в них антииммуноглобулиновые антитела, меченные ферментом (обычно пероксидазой). После инкубации и отмывания в лунки добавляют специфичный для фермента субстрат (перекись водорода) и хромоген (орто-фенилендиамин) для регистрации конечных продуктов расщепления субстрата. О наличии и количестве антител судят по изменению цвета и интенсивности окраски раствора.

Методы ИФА обладают высокой чувствительностью и специфичностью и получили широкое распространение в различных областях биологии и медицины. В клинической диагностике с помощью фиксированных на твердой фазе антител, в том числе

моноклональных, определяют концентрации лекарственных препаратов в организме, присутствие антигенов раковых клеток, микроорганизмов и т. д. Используя твердофазные носители с антигенами выявляют антитела к различным видам бактерий, вирусов, простейших. Так, планшеты с адсорбированными антигенами вируса иммунодефицита человека служат для диагностики ВИЧ-инфекции.

ИФА имеет ряд преимуществ над всеми серологическими методами:

- нет необходимости выделения чистой культуры, для постановки реакции можно использовать смесь культур;
- реакция высокочувствительна и специфична;
- нетрудоемка и требует немного времени на постановку реакции.

Любое заболевание можно диагностировать в серологических реакциях. Для диагностики многих заболеваний используют стандартные иммунные сыворотки. Благодаря использованию этих сывороток можно идентифицировать выделенные микроорганизмы и обнаружить растворимые белки микробного происхождения.

Готовят их путем гипериммунизации кроликов или других животных известными микроорганизмами и вирусными антигенами. Гипериммунизацию проводят нарастающими дозами АГ, используя адъюванты – усилители иммунных реакций, повышающих титр (концентрацию) сывороток (алюминиевые квасцы, гидроокись алюминия, адъювант Фрейнда – вазелиновое масло+ ланолин+микроорганизмы). В реакциях используют:

- агглютинирующие сыворотки (сальмонеллезные, колибактериозные и др.);
- преципитирующие (сибирязвенные);
- гемолитические (гемолизин) для РСК;
- бруцеллезные позитивные сыворотки для РА и РСК;

-Поливалентные и монорецепторные сыворотки против О–АГ для определения и дифференциации выделенных штаммов инфекционных болезней.

Диагностические иммунные сыворотки часто метят флюорохромами и применяют для экспресс диагностики инфекционных болезней.

Специфические антитела обрабатывают (метят) изотиоцианатом. Свечение наблюдается только под УФЛ.

Иммунные сыворотки широко используются для лечебно-профилактических целей:

1. Антибактериальные сыворотки против сибирской язвы, рожи свиней, лептоспироза, сальмонеллеза и колибактериоза.

2. Антитоксическая сыворотка против анаэробной дизентерии и инфекционной энтеротоксемии овец.

3. Противовирусные сыворотки против болезни Ауэски, противоящурный иммунолактон, сыворотка против вирусного гепатита утят.

В качестве пассивного носителя чаще всего используются эритроциты. Он абсорбируется на поверхности эритроцита.

Или на поверхности эритроцита фиксируются антитела. Можно определить токсины (например ботулизма).

**Имуноэлектрофорез**, метод электрофоретического разделения смеси антигенов (антител) в геле с последующим их проявлением по реакции в этом же геле с соответствующими антителами (антигенами).

Имуноэлектрофорез— метод исследования антигенного состава биологических материалов, сочетающий электрофорез и иммунодиффузию. Впервые описан Грабаром и Уильямсом в 1953 году, в 1965 году метод был модифицирован Шейдеггером с целью минимизации (т.н. микромодификация метода ИЭФ).

Образец антигенного материала разделяют электрофорезом в геле (обычно агарозном), в результате чего формируются характерные зоны. Далее параллельно зонам электрофореза вносится преципитирующая антисыворотка, антигены и антисыворотка диффундируют навстречу друг к другу, и в месте встречи антисыворотки с антигеном появляются линии преципитации, имеющие форму дуги. После проведения иммунодиффузии и элюирования непреципитированных молекул из геля гель окрашивают специальными красителями (например амидочёрным 10В, азокармином В и другими красителями, окрашивающими белки в случае белковых антигенов или суданом чёрным В в случае липопротеиновых антигенов). Существует также ряд модификаций метода ИЭФ (при помощи чистого антигена, при помощи моноспецифической антисыворотки, метод ИЭФ по Оссерману, метод ИЭФ по Геремансу).

Этот метод более совершенен. Иммуноэлектрофорез позволяет идентифицировать отдельные антигены микроорганизмов.

### **Реакция иммунофлюоресценции**

Иммунофлюоресцентные методы. Прямой метод иммунофлюоресценции (по Кунсу) основан на взаимодействии антител, меченых флюорохромом, с антигеном, который находится на клетке, в клетке или в тканях. В качестве флюорохрома используют флюоресцеинизотиоцианат (ФИТЦ). Он дает зеленое свечение в ультрафиолетовых лучах, а тетраметилродаминизотиоцианат (ТРИТЦ) -оранжево-красное свечение. Прямой метод одноэтапный: на фиксированный мазок клеток с антигеном наносят диагностическую сыворотку с антителами, мечеными ФИТЦ, инкубируют, отмывают и, при положительном результате, учитывают свечение в люминесцентном микроскопе.

Непрямой метод иммунофлюоресценции заключается в том, что первоначально антиген обрабатывают обычной диагностической сывороткой, которую получают путем иммунизации кроликов соответствующим антигеном.

Для обнаружения образовавшегося комплекса антиген-антитело используют антисыворотку, меченую флюорохромом против иммуноглобулинов кролика. Такую сыворотку получают путем иммунизации барана иммуноглобулинами кролика. Непрямой метод дает возможность обнаруживать различные комплексы антиген-антитело с помощью одной меченой антиглобулиновой сыворотки.

Метод иммунной флюоресценции применяют для идентификации бактерий, риккетсий, вирусов, а также для определения рецепторов и антигенов животных клеток человека и животных.

Экспресс метод, Используется флюорохром, флюорисциин, родомин. При этом Флюорохром прикрепляется к антителу, он не меняет его химическое строение. При клещевом энцефалите, при гриппе используется данный метод.

**Реакция нейтрализации.** Ставится ин виво(на животных) и ин витро(в пробирке, флоккуляции). Определяются анатоксины и антитоксических сывороток. Реакция нейтрализации экзотоксина происходит при его взаимодействии с антитоксической сывороткой (антитела-антитоксины). В результате образования комплекса антиген-антитело токсин теряет свои ядовитые свойства.

Реакцию нейтрализации проводят с целью обнаружения и титрования токсинов, анатоксинов или антитоксинов.

Токсины получают путем фильтрования жидкой питательной среды или исследуемого материала, где размножились токсигенные бактерии. При обработке формалином в течение 30-45 дней при температуре 37°C токсин превращается в анатоксин, который используют для иммунизации животных с целью получения антитоксической сыворотки.

Варианты постановки реакции нейтрализации токсина: Реакция флоккуляции основана на способности токсина или анатоксина при смешивании в эквивалентных соотношениях с антитоксической сывороткой образовывать помутнение в пробирке. Механизм флоккуляции аналогичен механизму реакции преципитации. Используют для количественного определения токсинов или анатоксинов.

### **Реакции лизиса**

Сущность этих реакций состоит в том, что при взаимодействии специфических антител с антигенами клеток (эритроцитов, бактерий), на их поверхности образуется комплекс, который активирует комплемент по классическому пути, вследствие чего наступает лизис этих клеток.

Примером реакции лизиса является индикаторная система в РСК: эритроциты, обработанные антисывороткой, к которым добавлен комплемент. Многие бактерии устойчивы к литическому действию комплемента, поэтому реакция бактериолизиса применяется редко. Однако реакция лизиса используется при типировании (выявлении) антигенов системы HLA на лимфоцитах. К типизируемым лимфоцитам добавляют антисыворотки против различных HLA-антигенов, затем их отмывают и добавляют комплемент. Если соответствующий антиген есть, то наступает лизис лимфоцитов. Мертвые клетки в отличие от живых окрашиваются трипановым синим.

**Радиоиммунологический анализ.** Принцип радиоиммунологического анализа (РИА) основан на выявлении комплекса АГ-АТ, в котором один из иммунореагентов был мечен радиоактивным изотопом. Обычно используют изотопы йода ( $^{125}\text{I}$  или  $^{131}\text{I}$ ). Учет реакции проводят по убыванию или по возрастанию радиоактивности (в зависимости от методики РИА) с помощью специальных счетчиков  $\beta$  или  $\gamma$ -излучения. Метод высокочувствителен, но постепенно вытесняется иммуноферментным анализом, учитывая

небезопасность работы с радиоактивными изотопами и необходимость в сложном регистрирующем оборудовании.

## **Кожные пробы и другие провокационные тесты**

Для определения гиперчувствительности (аллергии) к антигенам-аллергенам у людей проводят провокационные тесты. Суть их в том, что соответствующий аллерген вводят в организм перорально, ингаляционно, наносят на кожу при ее скарификации или вводят внутрикожно. Обычно, спустя 30 минут оценивают немедленные аллергические реакции (ПЧНТ), а через 24-48 час - замедленные (ПЧЗТ).

На пыльцевые, пищевые, лекарственные аллергены чаще наблюдаются немедленные реакции в виде покраснения и припухлости. Замедленные реакции развиваются на бактериальные антигены. Пробу Манту ставят для выявления сенсibilизации к микобактериям туберкулеза (оценка вакцинации и инфицированности). Туберкулин вводят внутрикожно и при положительной реакции через 24-48 час в месте инъекции возникает воспалительная реакция. Она указывает на наличие сенсibilизации к этому антигену. Сильная реакция, или, наоборот, ее отсутствие (анергия) может быть при туберкулезе.

Презентация.....