

Е.В. Просекова, Н.Р. Забелина, В.А. Сабыныч

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ



Владивосток
Медицина ДВ
2016



Издательство «Медицина ДВ»
690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 4
Тел.: (423) 245-56-49. E-mail: medicinaDV@mail.ru

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Тихоокеанский государственный медицинский университет

Е.В. Просекова, Н.Р. Забелина, В.А. Сабыныч

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Учебное пособие

*Рекомендовано Координационным советом по области образования
«Здравоохранение и медицинские науки» в качестве учебного пособия
для обучающихся по основным профессиональным образовательным
программам высшего образования – программам ординатуры
по специальности Клиническая лабораторная диагностика*



Владивосток
Медицина ДВ
2016

УДК 616-074/-078(075.8)

ББК 53.4я7

П 822

*Издано по рекомендации редакционно-издательского совета
Тихоокеанского государственного медицинского университета*

Рецензенты:

Ю.С. Хотимченко – д.б.н., профессор, директор школы биомедицины
Дальневосточного федерального университета
Министерства образования и науки Российской Федерации

Т.Ф. Боровская – д.м.н., профессор кафедры биологической химии
и клинической лабораторной диагностики
Дальневосточного государственного медицинского университета
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Просекова, Е.В.

П 822 Иммунологические методы исследования в клинической лабораторной диагностике : учебное пособие / Е.В. Просекова, Н.Р. Забелина, В.А. Сабыныч. – Владивосток : Медицина ДВ, 2016. – 120 с.

ISBN 978-5-98301-070-3

В учебном пособии отражены современные подходы к патогенетическому принципу иммунологических методов исследования, представлены современные требования и рекомендации по теоретическим аспектам и практической значимости иммунологических методов в многопрофильной научно-исследовательской работе и клинической практике, рассмотрены особенности контроля их качества.

Учебное пособие составлено в соответствии с требованиями Федеральных государственных образовательных стандартов и предназначено для клинических интернов и ординаторов по специальности Клиническая лабораторная диагностика.

УДК 616-074/-078(075.8)

ББК 53.4я7

ISBN 978-5-98301-070-3

© Коллектив авторов ТГМУ, 2016

© «Медицина ДВ», 2016

Список сокращений

АГ	– антиген
АТ	– антитело
АГ-АТ	– комплекс антиген-антитело (иммунный комплекс)
АОК	– антителообразующая клетка
ВПГ	– вирус простого герпеса
ВВЗ	– вирус Варицеллазостер
ВЭБ	– вирус Эпштейн-Барра
ГВИ	– герпесвирусные инфекции
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИА	– индекс авидности
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИХЛА	– иммунохемилюминесцентный анализ
НИФ	– непрямая иммунофлюоресценция
ПИФ	– прямая иммунофлюоресценция
РА	– реакция агглютинации
РИФ	– реакция иммунофлюоресценции
РП	– реакция преципитации
РГА	– реакция гемагглютинации
РТГА	– реакция торможения гемагглютинации
РНГА	– реакция непрямой гемагглютинации
РПГА	– реакция пассивной гемагглютинации
РН	– реакция нейтрализации
РТН	– реакция торможения нейтрализации
РИА	– радиоимунный анализ
РМП	– реакция микропреципитации
РБО	– реакция бляшкообразования
РТБО	– реакция торможения бляшкообразования
РГадс	– реакция гемадсорбции
РТГадс	– реакция торможения гемадсорбции
ЦП	– цветная проба
ЦПД	– цитопатогенное действие
РТ ЦПД	– реакция торможения цитопатогенного действия

РТЦП	– реакция торможения цветной пробы
TCR-T	– лимфоцита клеточный рецептор
ЦМВ	– цитомегаловирус
CD4	– Т-хелперы
EBNA IgM	– иммуноглобулины к нуклеиновому антигену
IgM, IgG, IgA	– иммуноглобулины А, М, G
IgG EA	– иммуноглобулины к раннему антигену
NK	– натуральные киллеры
VCA IgM	– иммуноглобулины к капсидному антигену
Fab	– фрагмент антитела
PAMP	– Pathogen-associatedmolecularpatterns – патогенассоциированные молекулярные паттерны

Введение

Иммунная система человека обладает способностью выработки *специфических молекул антител* к различным по своей индивидуальности *антигенам*. Уникальность иммунной системы состоит в том, что в ней заложены регуляторные функции, которые позволяют при наличии каждого конкретного антигена, являющегося пусковым механизмом иммунного ответа, реагировать нестандартно в соответствии с индивидуальными особенностями организма и системы иммунитета.

Иммунитет можно описать как систему своеобразных защитных реакций, обеспечивающих надзор за антигенным составом внутренней среды организма человека, основанную на наличии распознающих молекул и связанную с формированием неординарной памяти.

Лабораторная диагностика, основанная на специфическом взаимодействии антигенов и антител, позволяющая выявлять как антитела, так и антигены, широко используется в практической медицине. Эти реакции обозначили как серологические – от латинского *serum* – сыворотка и *logos* – учение. В настоящее время для названия методов исследования с использованием принципа специфической реакции взаимодействия антигена и антитела применяют термин иммунологические при единичном сохранении в научной литературе названия серологические.

В клинической диагностической лаборатории с помощью этих методов исследования определяют группы крови, диагностируют инфекционные и паразитарные заболевания, выявляют регуляторные белки, клеточные структуры, тканевые и опухолевые антигены, визуализируют процессы сенсибилизации и аутоиммунное воспаление, гормональные нарушения, проводят фенотипирование клеток.

Исторически феномен образования иммунных комплексов «антиген-антитело» был зарегистрирован бактериологами без объяснения и расшифровки иммунных механизмов специфичности этой реакции. Сыворотка человека, перенесшего заболевание, давала видимую реакцию склеивания с бактериями, вызвавшими данное заболевание. Этот феномен был назван «агглютинация».

Образование комплекса «антиген–антитело» происходит между антигенными детерминантами и Fab-фрагментом антитела. Связь между детерминантами и активным центром обеспечивается разными механизмами:

1. *Электростатическими силами* – притяжение между двумя противоположно заряженными ионизированными группами (NH_3^+ и COO^-).

2. *Водородными связями* – между OH , NH_2 и COOH гидрофильными группами.

3. *Гидрофобными взаимодействиями* – при соприкосновении гидрофобных групп белков в воде наступает их взаимное притяжение.

4. *Вандерваальсовыми силами* – взаимодействие внешних электронных облаков, зависящее от площади контакта АГ и АТ и встречи зарядов противоположного знака.

Сила и прочность связи в иммунном комплексе между АГ-АТ варьируют в зависимости от характеристик и природы участников реакции и могут быть прочными и непрочными. Более прочному связыванию способствуют большее количество *антигенных детерминант* в антигене, количественное соотношение антигена и антитела (реакция становится результативнее при эквивалентном их соотношении), последовательность расположения концевых групп аминокислот в детерминанте, наличие в детерминанте ароматических аминокислот, а также *аффинность* и *авидность* антитела.

Антитела, применяемые в иммунных реакциях выявления антигена, входят в состав иммунных сывороток. Иммунные сыворотки ранее готовились путем иммунизации животных: баранов, ослов, кроликов, лошадей соответствующими антигенами. После выработки специфических антител у иммунизированного животного венепункцией забирали кровь, отделяли сыворотку от клеточной массы и определяли титр искомого антитела.

В настоящее время иммунные сыворотки готовят с использованием гибридомной технологии. Гибридома вырабатывает моноклональные антитела. Принцип применения технологии гибридомы состоит в том, что у иммунизированной мыши из селезенки выделяется антителообразующая клетка (АОК или плазмоцит), способная вырабатывать антитела с одинаковыми свойствами. Эту клетку объединяют с опухолевой клеткой (выделенной из В-лимфомы), получая гибридную клетку, которая может одновременно вырабатывать антитела и быть бессмертной. Гибридомные технологии в настоящее время позволяют получать моноклональные антитела к широкому спектру антигенов.

Иммунные реакции, используемые в клинической лабораторной диагностике, в зависимости от механизмов и принципов визуализации классифицируют:

- на *двухкомпонентные* с применением только антигенов и антител – реакции агглютинации, преципитации, нейтрализации. Регистрация результатов в этих реакциях происходит визуально, иммунный комплекс образуется между корпускулярным антигеном и антителами, преимущественно представленными высоковалентными иммуноглобулинами М (IgM);
- на *реакции с использованием антигена, антитела и «метки»*, присоединяемой к одному из них, для визуализации и регистрации оптическими или иными приборами – иммунофлюоресцентный, радиоиммунный, иммуноферментный, иммунохемилюминесцентный, метод иммуноблотинга и др. Необходимость привлечения дополнительных средств визуализации объясняется тем, что результат реакции с образованием иммунного комплекса между растворимыми антигеном и антителом не визуализируется, а метка служит маркером завершенной реакции и количественно фиксируется с помощью аппаратуры. В зависимости от природы используемой метки применяют разные приборы учета результата реакции: для флюоресцентной метки – флюоресцентный микроскоп, цитофлюориметр, для радиоактивной – счетчик радиоактивности, для ферментной – измерение оптической плотности раствора.

Основные понятия, термины и определения

Аккредитация клинической диагностической лаборатории – это процедура официального установления компетентности лаборатории в клинической диагностике.

Аналитическая система – полная совокупность измерительных приборов и другого оборудования, объединенных для выполнения специальных измерений, которая включает в себя также химические и биологические вещества и другие материалы.

Аналитическая серия – совокупность измерений лабораторного показателя, выполненных в одних и тех же условиях без перенастройки и калибровки аналитической системы, при которых характеристики аналитической системы остаются стабильными.

Аналитические характеристики лабораторного метода исследования:

Аналитическая чувствительность метода – способность определять возможно малые количества аналита.

Аналитическая специфичность метода – способность определять содержание только того вещества, для выявления которого этот метод предназначен.

Воспроизводимость измерения (*precision*) – качество, отражающее близость результатов измерений, выполненных практически в одинаковых условиях.

Диагностическая специфичность – частота негативных результатов у практически здоровых людей.

Диагностическая чувствительность – частота патологических результатов при обследовании пациентов с определенной патологией.

Правильность измерения (*accuracy*) – качество, отражающее близость полученного результата к истинному значению измеряемой концентрации вещества.

Основная функция иммунной системы состоит в защите организма от биологической агрессии, исходящей, как правило, извне от патогенов и их продуктов, чужеродных для макроорганизма. В качестве маркеров чужеродности рассматривают **антигены**.

Антигены – биологические тела и молекулы (высокомолекулярные соединения), несущие признаки чужеродной генетической информации, способные специфически стимулировать иммунокомпетентные лимфоидные клетки и обеспечивать развитие иммунного ответа (англ. – *antigen* от *antibody-generator* – «производитель антител»). Чужеродность антигена проявляется относительно конкретного организма – молекула, воспринимаемая как антиген одним организмом, может не восприниматься в качестве такового другим организмом.

Антигены – это любые простые или сложные вещества, которые при попадании в организм тем или иным путем вызывают иммунную реакцию и способны своеобразно взаимодействовать с продуктами этой реакции: антителами и иммунными Т-клетками. Иммуногенность молекул антигена во многом определяется наличием в их составе РАМР – патогенассоциированных молекулярных паттернов. По происхождению различают четыре группы АГ: природные; модифицированные; синтетические; гаптены. Виды антигенов: экзогенные (инфекционные и неинфекционные); эндогенные. Инфекционные – включают антигены бактерий, вирусов, грибов и простейших. Бактериальные антигены подразделяются на группоспецифические, видоспецифические, типоспецифические. Неинфекционные антигены состоят из аллергенов растений и лекарств, химических, природных, синтетических и других аллергенов, а также антигенов эритроцитов и лейкоцитов. Антигенами для иммунных реакций могут быть бактерии, вирусы, клетки, аллергены различной природы, рекомбинантные антигены бактерий, вирусов. Для иммунных реакций в лабораторных исследованиях данные препараты называются диагностикумами, готовятся разными методами: фракционированием, осаждением, очисткой и т.д.

Антигены обладают следующими свойствами: чужеродностью, антигенностью, иммуногенностью, специфичностью.

Антигенность – мера, по которой определяют качество АГ. На введение различных АГ один и тот же организм вырабатывает разное количество антител (АТ). Чем больше выработка АТ, тем выше антигенность АГ.

Антигены, которые позволяют различать особи или группы особей животных одного вида, называют **изоантигенами**.

При присоединении к молекуле белка группы, обеспечивающей новую иммунологическую специфичность, получают антигены, названные конъюгированными. При введении животным этих АГ, содержащих разные химические группировки, вырабатываются АТ,

специфичные по отношению к этим поверхностным детерминантам. Химическая группа, определяющая специфичность антигена названа *антигенной детерминантой*.

Антигенраспознающие рецепторы – рецепторы лимфоцитов, которые способны нестандартно взаимодействовать с тем или иным антигеном; они обеспечивают фундаментальное свойство иммунного ответа – специфичность, т.е. направленность исключительно против конкретного антигена. Антигенраспознающие рецепторы и антитела могут взаимодействовать с четко ограниченным участком антигена – активным центром или антигенсвязывающей детерминантой. Связь специфичности антигенов с относительно небольшими фрагментами их молекул служит отражением пространственного соответствия (комплементарности) эпитопа и активного центра рецептора. Чем больше это пространственное соответствие, тем выше сродство эпитопа с активным центром рецептора. Практически в любой молекуле антигена есть несколько детерминант, или эпитопов – участков, ответственных за взаимодействие с активными центрами антигенраспознающих молекул. Существуют три разновидности антигенраспознающих молекул: иммуноглобулины/антитела; TCR двух типов – $\alpha\beta$ и $\gamma\delta$, в форме мембранных рецепторов лимфоцитов, а антитела – также в виде свободных растворимых молекул. Любой рецептор или антитело максимально точно распознают только один антиген, чем и обеспечивается высочайшее своеобразие иммунного ответа, и гораздо слабее могут взаимодействовать с другими, даже похожими по структуре антигенами.

Антитела (иммуноглобулины) – белки сыворотки крови, продуцируемые плазмócитами в ответ на введение антигена. Свойствами антител обладают белковые молекулы, называемые иммуноглобулинами. Термин «иммуноглобулин» отражает химическую структуру молекулы без учета ее особенности к конкретному антигену. Термин «антитело» определяет функциональные свойства молекулы и учитывает специфичность конкретного иммуноглобулина в отношении антигенов (обычно уточняют, к какому антигену направлены антитела, например антитела к бычьему сывороточному альбумину). Специфичность иммуноглобулинов определяется первичной структурой антигенраспознающих доменов, называемых переменными, или V-доменами (от *variable*). В зависимости от структуры тяжелых цепей (H-цепей) выделяют 5 классов молекул иммуноглобулинов – IgM, IgG, IgA, IgD и IgE (латинские буквы в названии иммуноглобулинов соответствуют греческим в обозначении изоформ H-цепей).

Роль иммуноглобулинов различных классов в иммунной защите организма различна. Поскольку первыми экспрессируются μ -цепи, в ходе иммунного ответа ранее других начинает секретироваться IgM. Большинство антител при первичном иммунном ответе принадлежит к IgM-классу. IgM-антитела обладают высокой способностью связывать комплемент, агглютинировать и лизировать клетки-мишени. В то же время они обладают относительно низким сходством с антигеном, причем оно не возрастает в процессе иммунного ответа (отсутствует созревание аффинитета). Недостаточная функциональная эффективность IgM-антител обусловлена также отсутствием на эффекторных клетках иммунной системы рецепторов для Fc-части молекулы IgM. Тем не менее значение IgM-антител в экстренной защите организма на ранних этапах иммунного ответа достаточно велико. Все молекулы иммуноглобулинов, расположенные на поверхности конкретной клетки, построены из идентичных H- и L-цепей. Поэтому они имеют один и тот же изотип и аллотип, а также обладают одинаковой специфичностью к антигенам и, следовательно, идентичны по идиотипу. Характеристики антител: специфичность, валентность, аффинность, авидность.

Авидность антитела – прочность связи антитела с антигеном – сила связывания между антигенраспознающим рецептором (иммуноглобулином, иммуноглобулиновым рецептором В-лимфоцитов) и Т-клеточным антигенраспознающим рецептором) и лигандом (антигеном). Ее определяют чаще всего по устойчивости иммунных комплексов к таким воздействиям, как повышение ионной силы раствора, способствующее разрыву связей между эпитопами и активными центрами антител. Оценку проводят с помощью иммуноферментного или радиоиммунного тестов. Как правило, авидность взаимодействия с антителами целого антигена выше, чем сумма взаимодействий с антителами индивидуальных эпитопов. Это превышение объясняют тем, что диссоциация каждой связи затрудняется при сохранении контакта молекул, удерживаемых за счет других связей.

Аутоантигены – антигены собственных клеток, полимерных молекул конкретного индивидуума.

Аффинность антитела – прочность связи между отдельной антигенной детерминантой и антидетерминантой антитела – это соединение одного активного центра Fab 1 или Fab 2 и антигенной детерминанты. Взаимодействие антигена с антителом обратимо и подчиняется закону действия масс, на основе которого рассчитывают константу равновесия. Константа связывания служит мерой родства

(аффинности) антител и может рассматриваться как показатель специфичности антител к данному эпитопу.

Биологический референтный интервал (*biological reference interval, reference interval*) – специфицированный интервал распределения значений, полученных в биологической референтной популяции.

Валентность антитела – количество антидетерминант в молекуле антитела.

Валидация метода – процесс установления пригодности метода или методики для оценки качества конкретной продукции в соответствии с требованиями нормативных документов.

Гаптены – простые химические соединения в основном ароматического ряда; неполные антигены; чужеродная низкомолекулярная субстанция, которая индуцирует специфический иммунный ответ только после конъюгации с макромолекулой.

Гибридома – при ее помощи можно получать моноклональные антитела необходимой заданной специфичности и обнаружить антигены, характерные для опухолей определенных тканей.

Диапазон определяемых величин методики – интервал между верхним и нижним значениями концентрации (количества) анализируемого вещества в образце, включая эти значения, в котором методика обеспечивает приемлемую линейность и имеет достаточный уровень прецизионности и правильности.

Идиотип – участок антитела с антигенными свойствами, к которому синтезируются другие антитела (т.н. антитела против антител, или антиидиотипические антитела).

Изотип – участок тяжелой цепи константной зоны антитела, по которому устанавливают принадлежность этого антитела к определенному классу (M, G, A, E, D).

Иммунитет – это способность многоклеточных организмов поддерживать постоянство своего макромолекулярного состава путем удаления чужеродных молекул, что обеспечивает устойчивость к инфекционным агентам и резистентность к опухолям. Развитие иммунных реакций против собственных макромолекул возможно, но только при патологии.

Иммунный комплекс – продукт реакции антиген-антитело, который также может содержать компоненты системы комплемента.

Иммуногенность антигенов определяет способность антигена вызывать иммунный ответ независимо от его специфичности. Биологической основой для проявления иммуногенности антигенов служат механизмы развития иммунного ответа, которые предполагают коо-

перацию различных типов лимфоцитов. Способность чужеродных веществ запускать весь необходимый клеточный ансамбль и составляет основу их иммуногенности. Иммуногенность антигенов зависит не только от свойств молекул, но и от пути и режима их введения в организм, а также дополнительных воздействий (например, использования адъювантов). Структурно-химические основы иммуногенности антигена определяются преимущественно носителем, а специфичность антигена – гаптенем. Иммуногенность антигенов зависит от жесткости их структуры, т.е. способности сохранять определенную конфигурацию.

Исследование (*examination*) – комплекс операций, объектом которых является определение значения или характеристики свойств.

Качество – международный стандарт ISO 8402 (1994) определяет качество как совокупность характеристик объекта, относящихся к его способности удовлетворять установленные и предполагаемые потребности.

Клиническая диагностическая лаборатория – медицинская лаборатория, клиническая лаборатория (*medical laboratory, clinical laboratory*) – лаборатория, которая проводит биологические, микробиологические, иммунологические, химические, иммуногематологические, гематологические, биофизические, цитологические, патологические, генетические или другие исследования материалов из организма человека в целях получения информации для диагностики, предупреждения и лечения болезни или оценки состояния здоровья человека и которая может оказать консультативную помощь относительно всех аспектов лабораторных исследований, включая интерпретацию результатов и рекомендацию дальнейших необходимых исследований.

Клон – группа идентичных клеток, происходящих из одной клетки-предшественницы.

Комплемент – система сывороточных белков, распознающих шаблонные молекулы микроорганизмов или антитела, индуцирующие развитие воспаления, усиливающие фагоцитоз и разрушающие объекты (микроорганизмы и скомпрометированные собственные клетки) путем осмотического лизиса.

Контроль качества лабораторных исследований: внутрिलाбораторный контроль – оперативный контроль качества результатов до их передачи для клинического использования (фильтр); **внешняя оценка качества** – ретроспективная оценка качества результатов после их клинического применения, оценка эффективности внутрिलाбораторного контроля.

Контрольные материалы – натуральный или искусственный однородный материал, содержащий те же компоненты, что и проба пациентов. Результат измерения контрольного материала используется для оценки погрешности измерения лабораторного показателя в пробах пациента.

Лимфома – злокачественное перерождение лимфоцитов, размножающихся в лимфоидной ткани и непроникающих в кровь.

Линейность методики – способность (в установленных границах) получать результаты исследований, пропорциональные концентрации (количеству) исследуемого вещества в образце. Линейность методики изучают в диапазоне определенных величин и оценивают с помощью графика зависимости аналитического сигнала от концентрации или содержания исследуемого вещества и обрабатывают с помощью статистических методов.

Макрофаги – большие мононуклеарные клетки, широко представлены в тканях организма; производные костномозговых предшественников; играют критическую роль в развитии иммунитета; в неспецифическом врожденном иммунитете исполняют роль фагоцитирующих клеток с киллерной активностью, а также участников воспалительной реакции.

Моноклональные антитела – антитела, вырабатываемые иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону, то есть произошедшими из одной плазматической клетки-предшественницы.

С использованием моноклональных антител стала доступной диагностика инфекционных, аутоиммунных заболеваний, определяют наличие гормонов и измеряют их уровень. Применение моноклональных антител в диагностике позволило значительно увеличить специфичность и чувствительность тест-систем, основанных на реакции антиген–антитело.

Моноклональные антитела, названные цоликлонами, применяются для установления группы крови, резус-фактора. Данная технология используется для фенотипирования эритроцитов, лейкоцитов.

Предел обнаружения методики – наименьшее количество анализируемого вещества в образце, которое может быть выявлено, но не обязательно определено как конкретное значение.

Предел количественного определения методики – наименьшее количество анализируемого вещества в образце, которое может быть определено количественно с установкой прецизионности и правильности.

Референтные интервалы содержания аналитов – интервалы, установленные в здоровой популяции, отражают групповую биологи-

ческую вариацию и обычно применяются для разграничения патологии от состояния здоровья (ГОСТ Р 53022.3-2008).

Рецепторы – макромолекулы на клетках, связывающие различные биологически активные вещества.

Специфичность антигена – свойство, благодаря которому АГ отличаются друг от друга. Различают следующие виды антигенной специфичности: **видовая** позволяет отличать представителей одного вида от особей другого вида; **групповая** обуславливает различия особей одного вида организмов; **типоспецифичность** позволяет находить различия среди микробов одного вида; **гетероспецифичность** объединяет общие для представителей разных видов антигенные комплексы или антигенные детерминанты на различающихся по другим признакам комплексах; **функциональная** характеризует специфичность АГ, сопряженную с функцией данной органической молекулы; **стадиоспецифичность** выявляет различия на определенных этапах эмбрионального развития животных; **гаптеноспецифичность** позволяет отличать антигенную специфичность, обусловленную той или иной гаптенной группировкой; **патологическая** – понятие, возникшее в связи с поисками антигенов, свойственных патологически измененным тканям. Это антигены, обнаруженные при раке, ожоговой и лучевой болезни.

Специфичность антитела – способность реагировать только с определенным антигеном (создана наличием определенных антигенных детерминант).

Специфичность методики – способность определять исследуемое вещество в присутствии других возможных компонентов.

Чужеродность антигена – обязательное для антигена свойство. Если вещество не несет генетически чужеродной информации для данного организма, то он не может быть АГ для него. Бычий сывороточный альбумин (БСА) не является для быка АГ, а для кролика он служит полноценным АГ, так как для них этот АГ чужероден.

CD антигены – кластеры дифференцирования; так обозначены все мембранные молекулы лейкоцитов, характеризующие тип клетки, ее функциональное состояние, принимающие участие в реализации межклеточных контактов и выполняющие другие разнообразные функции. Для клеток в определенной стадии развития или функционирования характерно наличие на поверхности определенных молекул. На поиске этих CD антигенов основана идентификация субпопуляций лимфоцитов человека.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ I

Выберите один правильный ответ.

1. ТЕРМИН «АНТИГЕНЫ» ХАРАКТЕРИЗУЕТ ВЕЩЕСТВА

- 1) способные расщепляться ферментами
- 2) способные связываться со специфическими рецепторами В- и Т-лимфоцитов
- 3) вызывающие реакции отторжения
- 4) блокирующие функции генов
- 5) вызывающие делецию генов

2. «ИММУНОГЕННОСТЬ» – ЭТО

- 1) способность вещества вызывать развитие специфического иммунного ответа
- 2) генетический контроль иммунного ответа
- 3) неответаемость на антиген
- 4) связывание лигандов с рецепторами макрофагов
- 5) способность вещества усиливать фагоцитоз

3. «ГАПТЕНАМИ» НАЗЫВАЮТСЯ

- 1) высокомолекулярные соединения, имеющие в своем составе повторяющиеся структуры
- 2) вещества, вызывающие развитие толерантности
- 3) короткие пептиды, отщепляющиеся от гаптоглобина
- 4) низкомолекулярные антигены, неспособные вызвать развитие иммунного ответа

4. ИММУНОГЕННОСТЬ АНТИГЕНА НЕ ЗАВИСИТ

- 1) от его дозы
- 2) от его чужеродности
- 3) от наличия иммунодефицита
- 4) от его размера
- 5) от его структуры

5. СВОЙСТВА ПОЛНОЦЕННЫХ АНТИГЕНОВ

- 1) макромолекулярность
- 2) макромолекулярность, коллоидность
- 3) макромолекулярность, коллоидность, белковая природа
- 4) макромолекулярность, коллоидность, белковая природа, чужеродность

- 5) макромолекулярность, коллоидность, белковая природа, чужеродность, взаимодействие с Т- и В- клеточными рецепторами лимфоцитов
- 6. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБНОСТИ АГ ВЫЗВАТЬ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НАЗЫВАЕТСЯ
 - 1) иммуногенностью
 - 2) резистентностью
 - 3) специфичностью
 - 4) вирулентностью
 - 5) патогенностью
- 7. СТРУКТУРНЫЕ ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭПИТОПОВ АНТИГЕНА ОПРЕДЕЛЯЮТ СЛЕДУЮЩИЕ КАЧЕСТВА
 - 1) резистентность
 - 2) иммуногенность
 - 3) специфичность
 - 4) патогенность
 - 5) персистентность
- 8. АНТИГЕНЫ, ИНДУЦИРУЮЩИЕ СИНТЕЗ IgG, ЯВЛЯЮТСЯ
 - 1) Т-независимыми
 - 2) Т-зависимыми
 - 3) В-независимыми
 - 4) В-зависимыми
 - 5) клеточными
- 9. КЛАСТЕРЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ (CD) – ЭТО
 - 1) поверхностные маркеры клеток, которым присвоены номера
 - 2) функциональные группы клеток
 - 3) моноклональные антитела
 - 4) тучные клетки
- 10. АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТЕСТА – ЭТО
 - 1) способность теста достоверно выявлять анализируемое вещество
 - 2) минимально достоверно выявляемая в процессе анализа концентрация измеряемого вещества
 - 3) соответствие измеренной в процессе анализа концентрации вещества истинной концентрации вещества в пробе
 - 4) способность теста в процессе анализа не реагировать на «посторонние» соединения в пробе

5) вероятность правильного определения концентрации анализируемого вещества в образце

11. ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ ИЗМЕРЕНИЯ – ЭТО КАЧЕСТВО ИЗМЕРЕНИЯ, ОТРАЖАЮЩЕЕ

- 1) близость результатов к истинному значению измеряемой величины
- 2) близость результатов измерений, выполняемых в одинаковых условиях
- 3) близость результатов измерений, выполняемых в разных условиях
- 4) близость к нулю систематических ошибок в их результатах

12. ПРАВИЛЬНОСТЬ ИЗМЕРЕНИЯ – ЭТО КАЧЕСТВО ИЗМЕРЕНИЯ, ОТРАЖАЮЩЕЕ

- 1) близость результатов к истинному значению измеряемой величины
- 2) близость результатов измерений, выполняемых в одинаковых условиях
- 3) близость результатов измерений, выполняемых в разных условиях
- 4) близость к нулю систематических ошибок в их результатах

13. СХОДИМОСТЬ ИЗМЕРЕНИЯ – ЭТО КАЧЕСТВО ИЗМЕРЕНИЯ, ОТРАЖАЮЩЕЕ

- 1) близость результатов к истинному значению измеряемой величины
- 2) близость результатов измерений, выполняемых в одинаковых условиях
- 3) близость результатов измерений, выполняемых в разных условиях
- 4) близость к нулю систематических ошибок в их результатах

14. ТОЧНОСТЬ ИЗМЕРЕНИЯ – ЭТО КАЧЕСТВО ИЗМЕРЕНИЯ, ОТРАЖАЮЩЕЕ

- 1) близость результатов к истинному значению измеряемой величины
- 2) близость результатов измерений, выполняемых в одинаковых условиях
- 3) близость результатов измерений, выполняемых в разных условиях
- 4) близость к нулю систематических ошибок в их результатах

15. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ – СЫВОРОТОЧНЫЕ БЕЛКИ, ОТНОСЯЩИЕСЯ К ФРАКЦИИ

- 1) α -глобулинов
- 2) β -глобулинов
- 3) γ -глобулинов

16. КОЛИЧЕСТВО КЛАССОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У ЧЕЛОВЕКА

- 1) 1
- 2) 2
- 3) 3
- 4) 5

17. АКТИВНЫМ ЦЕНТРОМ МОЛЕКУЛЫ АНТИТЕЛА СЧИТАЮТСЯ

- 1) константные участки полипептидных цепей
- 2) переменные участки полипептидных цепей
- 3) легкие цепи молекулы антитела
- 4) тяжелые цепи молекулы антитела

18. ОСНОВНОЙ ФУНКЦИЕЙ АКТИВНОГО ЦЕНТРА МОЛЕКУЛЫ АНТИТЕЛА ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) фиксация антител к клеткам организма
- 2) фиксация компонентов комплемента
- 3) связь с антигеном
- 4) активация системы комплемента

19. Т-КЛЕТОЧНЫМ МАРКЕРОМ СЛУЖИТ

- 1) CD20⁺
- 2) CD16⁺
- 3) CD3⁺
- 4) CD 95⁺

Установите соответствие между позициями, представленными в обозначенных колонках. Для каждого буквенного компонента левой колонки выберите пронумерованный элемент правой колонки.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ К ГЛАВЕ I

1. ВЫБЕРЕТЕ СООТВЕТСТВИЕ

А. Точность лабораторного теста	1. Вероятность того, что у здорового обследуемого будет выявлен отрицательный результат теста
Б. Достоверность теста	2. Вероятность того, что у здорового обследуемого будет выявлен положительный результат теста
В. Специфичность теста	3. Соответствие результатов теста истинным величинам
Г. Чувствительность теста	4. Способность теста дифференцировать клинические изменения больного

2. ВЫБЕРЕТЕ СООТВЕТСТВИЕ

А. Аккредитация	1. Специфицированный интервал распределения значений, полученных в популяции здоровых людей
Б. Критический интервал	2. Продемонстрированная способность применять знания и умения
В. Референтный интервал	3. Процедура, посредством которой орган власти дает официальное признание способности организации выполнять специфические задачи
Г. Компетентность	4. Комплекс операций, объектом которых является определение значения или характеристики свойств
Д. Исследования	5. Интервал значений исследований для тревожных тестов

3. ВЫБЕРЕТЕ СООТВЕТСТВИЕ

А. Межлабораторный контроль качества	1. Принятая в лаборатории система мероприятий, проводящая постоянное слежение за всеми этапами лабораторной работы
	2. Осуществляет внешняя организация
Б. Внутрлабораторный контроль качества	3. Позволяет решить вопрос о возможности передачи получаемых результатов врачам-специалистам
	4. Позволяет сопоставить результаты исследований в разных организациях

Иммунологические методы в клинической лабораторной диагностике: способы оценки взаимодействия антиген–антитело, применяемые для диагностики бактериальных инфекций

В клинической практике часто возникает необходимость измерения взаимодействия антигена и антитела – как для определения содержания антител, так и для выявления антигенов в биологических жидкостях и растворах. Для этого применяют 2 группы методов. Первая группа основана на непосредственной регистрации связывания антигенов и антител. Результатами данного взаимодействия является образующийся комплекс антиген–антитело, который можно увидеть глазом. Второй тип реакций – сложные реакции между растворимыми антигеном и антителом, которые образуют комплекс АГ+АТ, но его невозможно увидеть непосредственно в пробирке или на стекле. Для этого один из компонентов (обычно антитела) метят и затем выявляют связывание меченого реагента с другим компонентом реакции. В качестве метки используют радиоактивные изотопы (радионуклиды), ферменты и флюоресцентные красители (флюорохромы). Методы, соответственно, обозначают как радиоиммунные, иммуноферментные и иммунофлюоресцентные. Радиоиммунный анализ обычно проводят в прямом варианте, т.е. содержание антигена определяют по количеству связавшихся с ним меченых антител. Наиболее распространенные варианты иммуноферментного метода – конкурентный и двусайтовый. В первом случае оценивают степень ослабления связывания меченых антител с антигеном, фиксированным на пластиковой поверхности, после добавления исследуемого реагента. Во втором случае на пластике фиксируют немеченые антитела, специфичные к одному из эпитопов антигена, к ним добавляют исследуемый материал и содержание в нем антигена определяют по связыванию меченых антител к другому его эпитопу.

В основе реакции антиген–антитело лежит взаимодействие между эпитопом антигена и активным центром антитела, основанное на их пространственном соответствии (комплементарности). Это взаимодействие состоит в установлении между эпитопом и активным центром антитела нековалентных химических связей с различными типами межмолекулярных взаимодействий (ни одно из них не является характер-

ным для реакции антиген–антитело): электростатические; они включают ионные (между заряженными группами аминокислотных остатков, например, карбоксильными и аминогруппами) и полярные (связанные с формированием диполей) взаимодействия; водородные (соотносятся с образованием водородных мостиков между гидрофильными группами); гидрофобные (обусловлены энергетическими преимуществами контакта гидрофобных участков молекул между собой); силы Ван-дер-Ваальса (основаны на взаимофункционировании электронных облаков). Все эти взаимодействия проявляются только при близком контакте молекул. Интенсивность электростатических взаимодействий убывает пропорционально квадрату расстояния, а вандерваальсовых сил – пропорционально 7-й степени расстояния. Такой маленький интервал между молекулами может быть достигнут только за счет комплементарности эпитопа и активного центра антитела.

РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ

Реакция агглютинации (РА) позволяет выявить корпускулярные антигены и антитела, локализованные на поверхности сравнительно крупных частиц (эритроциты, частицы латекса, микроорганизмы). Механизм реакции агглютинации описывает «теория решетки», согласно которой двухвалентное антитело взаимодействует одним активным центром с детерминантой одной молекулы антигена, а вторым активным центром – с детерминантой второй молекулы антигена. В результате подобного взаимодействия происходит «склеивание» антигенов, то есть образуется агглютинат. Агглютинат может быть двух типов – мелкозернистый и крупнохлопчатый. Мелкозернистый – это результат взаимодействия мелких бактерий, крупнохлопчатый – бактерий, имеющих жгутики.

Все реакции агглютинации подразделяются на два типа: – ориентировочные (ОРА), которые выполняются на стекле; – развернутые (РРА) выполняются в пробирках с титрованием сыворотки.

Ориентировочные реакции также могут иметь две цели:

- идентификация микробного вида (с использованием известной иммунной сыворотки);
- поиск антител в сыворотке крови пациента с использованием известного микробного диагностикума.

ОРИЕНТИРОВОЧНЫЕ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ

Схема постановки ориентировочной реакции агглютинации – ОРА представлена на рисунках 1 и 2.

Этапы выполнения реакции:



Контроль «-» Агглютинация

Рис. 1. Ориентировочная реакция агглютинации.

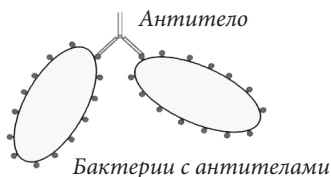


Рис. 2. Схема ориентировочной реакции агглютинации.

1. На обезжиренное стекло нанести каплю физиологического раствора.
2. Внести петлей исследуемую культуру бактерий, равномерно распределить в капле физиологического раствора.
3. Добавить каплю специфической агглютинирующей иммунной сыворотки.
4. Учесть результат реакции. Интенсивность реакции оценивается согласно таблице 1.

Положительной считается реакция, когда в капле происходит просветление жидкости и формирование агглютината.

Таблица 1

Интенсивность образования агглютината

+++	Полная агглютинация: очень большой осадок, полное просветление жидкости. Результат положительный
++	Неполная агглютинация: осадок такой же, надосадочная жидкость над осадком слегка мутновата. Результат положительный
+	Слабая агглютинация: осадок небольшой, жидкость непрозрачная. Результат слабоположительный
-	Следы агглютинации: осадок маленький, надосадочная жидкость непрозрачная. Сомнительный результат реакции
-	Отрицательная реакция: осадка нет, взвесь равномерно мутная.

Реакция агглютинации имеет несколько модификаций: это реакция Минкевича и реакция Хеддельсона.

Реакция Минкевича позволяет определить наличие противотуляремийных антител у инфицированного пациента (рис. 3).



Контроль «-» Опыт

Рис. 3. Реакция Минкевича.

Необходимые ингредиенты:

1. Капля крови пациента, взятая при помощи скарификатора из пальца больного.
2. Дистиллированная вода.
3. Туляремийный диагностикум.

Этапы выполнения реакции:

1. На обезжиренное стекло нанести каплю крови пациента.
2. Добавить каплю дистиллированной воды для лизиса эритроцитов.
3. Внести каплю туляреминого диагностикума.
4. Учесть результаты.

Положительной считается реакция, если в капле образуются зерна агглютината.

ПОСТАНОВКА РЕАКЦИИ ХЕДДЕЛЬСОНА ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ

Реакция Хеддельсона позволяет не только выявить антитела в сыворотке инфицированного бруцеллезом пациента, но и определить титр антител.

Необходимые ингредиенты:

1. Сыворотка пациента.
2. Физиологический раствор.
3. Бруцеллезный диагностикум.

кум.

Принцип метода основан на использовании большого стекла фотопластины, концентрированной неразведенной сыворотки крови больного в нарастающих или уменьшающихся объемах, дополняемой до определенного уровня физиологическим раствором, что приравнивается к разным разведениям, и окрашенного метиленовым синим диагностикума для лучшей видимости образующегося агглютината. Последнее очень важно при работе с диагностикумами из мелких бактерий (например, бруцелл). Ускорение реакции достигается смешиванием ингредиентов путем легкого покачивания стекла и помещения его в термостат при $+37^{\circ}\text{C}$. На одном стекле одновременно проводят анализ сывороток от нескольких больных. Результат получают через 2-5 минут в виде голубого агглютината разной активности в зависимости от разведений (рис. 4).

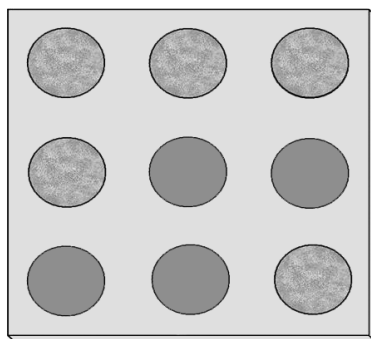


Рис. 4. Постановка реакции Хеддельсона.

РЕАКЦИЯ НЕПРЯМОЙ (ПАССИВНОЙ) ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ

Реакция не прямой или пассивной гемагглютинации считается одной из наиболее чувствительных серологических реакций. Основана на способности антител взаимодействовать с антигеном, фиксированным на различных эритроцитах, которые при этом агглютинируют.

Для постановки этой реакции необходимо приготовление эритроцитарного диагностикума. Эритроцитарный диагностикум может быть двух видов: антигенный и антительный.

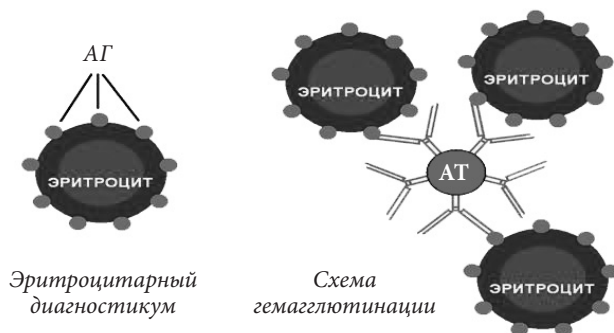


Рис. 5. Схема эритроцитарного диагностикума и реакции гемагглютинации.

Приготовление эритроцитарного диагностикума: вначале выполняется фиксация эритроцитов, для чего эритроциты (барана, кур, мышей) фиксируют танином или формалином для стабилизации; затем на эритроцитах фиксируют антиген (бактерия, вирус, риккетсия) для достижения антигенного эритроцитарного диагностикума или антитела для получения антительного эритроцитарного диагностикума (рис. 5).

Необходимые ингредиенты:

1. Сыворотка крови инфицированного пациента.
2. Физиологический раствор.
3. Эритроцитарный диагностикум.

Реакция пассивной гемагглютинации выполняется в лунках иммунологического планшета.

Этапы выполнения реакции:

1. В лунки планшета внести физиологический раствор в одинаковом количестве – 0,25 мл для разведения сыворотки.
2. В первую лунку внести сыворотку крови пациента, разведенную в 50 раз в объеме 0,25 мл; перемешать содержимое пипеткой и этой же пипеткой набрать 0,25 мл и перенести в следующую лунку.
3. Перемешать содержимое и повторить эту процедуру во всех лунках, предназначенных для проведения реакции.
4. Приготовить контроль, для чего в одну лунку внести 0,25 мл физиологического раствора.

5. Во все лунки, включая контрольную, внести по 2 капли приготовленного эритроцитарного диагностикума и перемешать путем осторожного покачивания планшета.

6. Учесть результаты реакции.

Положительной считается проба, когда в лунках планшета на дне в контроле эритроциты ложатся в виде «пуговки», а в опытных лунках появляется осадок в виде «зонтика». Схема постановки РПГА и учета результатов показаны на рисунке 6. Интенсивность реакции учитывается согласно таблице 2.

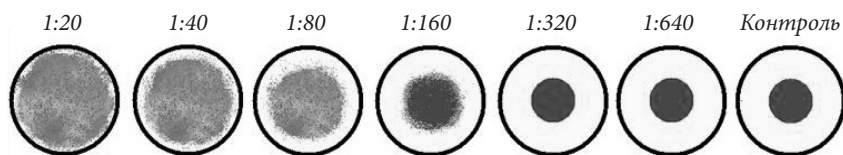


Рис. 6. Схема постановки и учета РПГА.

Таблица 2

Критерии учета результатов реакции

++++	Полная агглютинация: осадок занимает все дно лунки. Результат положительный
+++	Неполная агглютинация: осадок занимает три четверти дна лунки. Результат положительный
++	Слабая агглютинация: осадок занимает менее половины дна лунки. Результат сомнительный
+	Следы агглютинации: осадок небольшой. Сомнительный результат реакции
-	Отрицательная реакция: осадок занимает центральное положение с округлыми краями.

Реакция **латекс-агглютинации**. Эта реакция аналогична реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), за исключением того, что антиген или антитело фиксируется на поверхности нейтральных частиц латекса. Разработаны коммерческие диагностикумы для выявления антигенов стрептококков, гемофилов. При этом применяются диагностикумы, где на частицах латекса адсорбированы моноклональные антитела.

Данная реакция выполняется, как ориентировочный вариант реакции агглютинации, на стекле, и учет ведется в косом свете на темном фоне. При этом быстро формируется агглютинат.

РАЗВЕРНУТЫЕ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ

Развернутые реакции агглютинации предложены для поиска анти-тел в сыворотках крови инфицированных пациентов при некоторых бактериальных инфекциях. При этом применяются диагностикумы, приготовленные из микроорганизмов.

Для выполнения этих реакций необходимо предварительное титрование сыворотки. Чтобы приготовить первоначальное разведение сыворотки 1:10, необходимо взять пипеткой 1 мл цельной сыворотки больного и добавить 9 мл физиологического раствора, таким образом:

Разведение 1:10 это 1мл сыворотки + 9 мл физ. раствора

1:50 это 1 мл сыворотки + 49 мл физ. раствора или

1:50 это 0,1 мл сыворотки + 4,9 мл физ. раствора

1:100 это 1 мл сыворотки + 99 мл физ. раствора или

1:100 это 0,1 мл сыворотки +9,9 мл физ. раствора.

Для выполнения развернутой РА необходимо приготовить ряд пробирок, в которых вначале готовятся разведения сыворотки. Например, чтобы приготовить двукратные разведения сыворотки, выполняем следующее:

В 10 пробирок вносим по 2,5 мл физиологического раствора. 8 пробирок будут опытными, 2 – контрольными: контроль сыворотки и контроль антигена. Затем в первую пробирку добавляем 2,5 мл сыворотки больного, разведенную 1:50. Это значит, что в первой пробирке получилось 5 мл разведенной 1:100 сыворотки. Перемешиваем пипеткой, затем набираем 2,5 мл жидкости и переносим ее во вторую пробирку. После перемешивания объем жидкости становится 5 мл с титром 1:200, переносим 2,5 мл в третью пробирку и, таким образом, разведение сыворотки в ней получится 1:400. Повторяем эти манипуляции с разведением во всех 8 опытных пробирках. Из 8-й пробирки 2,5 л жидкости сливаем пипеткой в дезинфицирующий раствор.

В контроль сыворотки вносим только разведенную сыворотку в объеме 2,5 мл, в контроль антигена – только взвесь диагностикума.

Затем во все пробирки, кроме контроля сыворотки, вносим по 1 мл взвеси диагностикума. В результате образования агглютината мутная жидкость в пробирках просветляется, на дно оседает осадок агглютината. Учет реакции начинается с контрольных проб: в контроле сыворотки должна быть прозрачная сыворотка, в контроле антигена – равномерно мутная взвесь диагностикума. Титр РРА учитывается по разведению сыворотки, в которой еще явственно видно формирование осадка агглютината. Схема разведения сыворотки и постановки РРА представлена на рисунке 7 и в таблице 3.

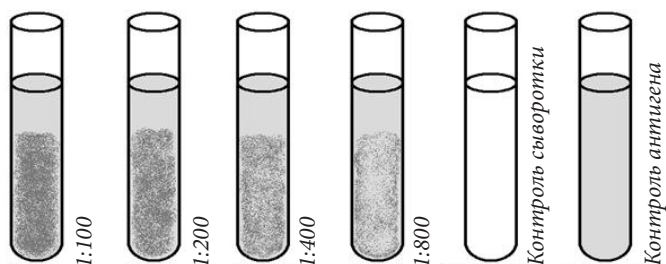


Рис. 7. Схема разведения сыворотки и постановки развернутой реакции агглютинации.

Таблица 3

Схема постановки развернутой реакции агглютинации с сывороткой больного по Видалью (Райту)

Ингредиенты	Содержимое пробирок				Контроль	
					Сыворотки	Антигена
Физиологический раствор 0,85% хлорида натрия, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
Сыворотка в разведении 1:50 мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5 (1:50)	--
Разведения	1:100	1:200	1:400	1:800	-	
Диагностикум, 1-2 млрд микробных тел в 1 мл	2к	2к	2к	2к	-	2к
В термостат при +37°С на 2 часа, затем на 18-20 часов при комнатной температуре						

Учет результатов реакции агглютинации – по интенсивности образования агглютината (обозначается крестами).

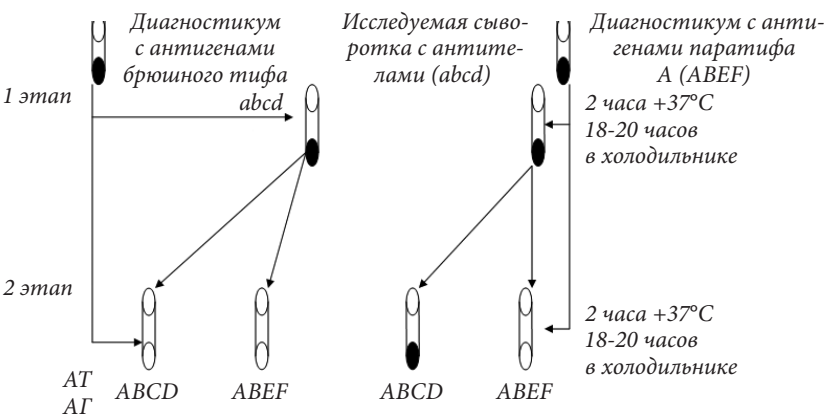
СХЕМА ПОСТАНОВКИ ПЕРЕКРЕСТНОЙ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ ПО КАСТЕЛЛАНИ

Принцип метода. Перекрестная РА направлена на извлечение групповых антител методом адсорбции и основана на правиле – специфический антиген (АГ) изымает из сыворотки все антитела – и специфические только для него, и групповые; неспецифический АГ – только групповые.

В этой реакции наряду со специфическим антигеном используют родственные гетерологические АГ. Например, у больного брюшным тифом (Т) сыворотка крови дала агглютинацию со специфическим диагностикумом Т и с групповым паратифа А (рис. 8).

Метод Нобля основан на использовании концентрированных ингредиентов (микробной взвеси, сыворотки больного) и применении механи-

ческого фактора, ускоряющего агглютинацию (энергичное встряхивание пробирок), что позволяет получить результаты через 2-5 минут (табл. 4).



Оценка РА: в данном примере – больной страдает брюшным тифом.
Рис. 8. Схема постановки реакции Каstellани.

Таблица 4

Схема постановки реакции Нобля

Ингредиенты	Номер опыта					Контроль	
	1	2	3	4	5	Сыворотки	Антигена
Физ. раствор, мл	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9
Сыворотка больного в разведении 1:5, мл	0,1 →	0,1 →	0,1 →	0,1 →	0,1 дез. ↓p-p	0,1	-
Разведение сыворотки	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160		
Диагностикум (взвесь известных микробов 3-6 млрд м.т./мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,1
Встряхивать 3-5 минут, дать постоять							

Реакция Нобля применяется для диагностики сыпного тифа.

При оценке результатов реакции используют поправочный коэффициент 10, который отражает разницу между адсорбционными процессами в концентрированных растворах антител и в растворах обычной концентрации. Таким образом, разведение 1:20 по Ноблю соответствует 1:200 при обычной постановке развернутой РА.

Пробирки встряхнуть, поместить в термостат на 24 часа и 2 часа при комнатной температуре.

Диагностическим титром РАР считают положительный результат в разведениях 1:100 – 1:160.

Максимальные титры антител при первичном сыпном тифе достигают до 1:1280 – 1:3200, при повторном (болезнь Бриля) – до 1:640 (чаще 1:160 – 1:640).

Схема постановки реакции Вейля отражена в таблице 5.

Таблица 5

Реакция Вейля при сыпном тифе

п/п	Ингредиенты	Разведение сыворотки					Контроли	
		1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	Сыворотки	Антигена
1.	Физиологический раствор	-	0,25	0,25	0,25	0,25	-	0,25
2.	Сыворотка больного (1:25)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	Дез-р-р	0,25 (1:5)
3.	Антиген из риккетсий Провачека (50 млн м.т./мл)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	-	0,25

Агглютинины у реконвалесцентов в 88,5% сохраняются 1-3 месяца. После чего они остаются в титрах 1:50 – 1:400 – у небольшого числа переболевших, а через год полностью исчезают из кровотока. Диагностический титр у детей – 1:100, у взрослых – 1:200. Анамнестическая реакция редко бывает положительной в титре 1:20.

РЕАКЦИИ ПРЕЦИПИТАЦИИ

Реакции преципитации (РП) предложены Краусом (1897) и основаны на феномене образования видимого осадка (преципитата) или общего помутнения среды после взаимодействия растворимых, либо находящихся в коллоидном дисперсном состоянии антигена с антителом. РП позволяют быстро (в течение нескольких секунд) выявлять незначительные количества антигена. Они очень чувствительны, их применяют для тонкого иммунохимического анализа, выявляющего отдельные компоненты в смеси антигенов. Метод имеет несколько разновидностей.

1. Реакция кольцепреципитации.
2. Реакция микропреципитации.
3. Реакция флукюляции.
4. Реакция преципитации в геле.
5. Реакция преципитации в агаре.
6. Иммуноэлектрофорез.

Реакция кольцепреципитации. Как вариант этой реакции, широко известна реакция Асколи. Она применяется для поиска антигена возбудителя сибирской язвы в материале (например, на шкурах животных).

Постановка реакции осуществляется в тонких пробирках и заключается в том, что вначале в пробирку вносится сыворотка, содержащая антитела к возбудителю сибирской язвы, на нее сверху осторожно наслаивается термопреципитиноген так, чтобы жидкости не перемешивались. При нахождении антигена в субстрате (спор возбудителя сибирской язвы) в месте соприкосновения двух жидкостей возникает кольцо преципитации (мутное кольцо). Схема реакции представлена на рисунке 9.

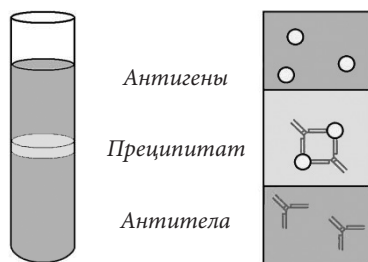


Рис. 9. Выявление АГ в реакции кольцепреципитации (по Воробьеву А.А., 2003 г.).

Реакция микропреципитации на примере экспресс-диагностики сифилиса (ЭДС).

Данная реакция выполняется для скрининга сывороток при массовых обследованиях на сифилис. В качестве антител применяются сыворотки крови пациентов, антигеном служит кардиолипиновый антиген (неспецифический).

Реакция выполняется в лунках иммунологического планшета.

Необходимо иметь два контроля:

в первом в качестве ингредиентов применяется физиологический раствор и кардиолипиновый антиген (контроль мутности), во втором контроле – заведомо положительная сыворотка и кардиолипиновый антиген (контроль преципитата). В опытной лунке – изучаемая сыворотка больного, взятая в разведении 1:10 и кардиолипиновый антиген. После смешивания реагентов в течение 2-5 минут осторожно покачиваем планшет, в течение этого времени формируется преципитат, жидкость в лунке становится прозрачной. Учет реакции ведется по четырехплюсовой системе. Результат, оцениваемый как один и два плюса, считается сомнительным, на 3 и 4 +++++ – положительным. Схема реакции микропреципитации отражена на рисунке 10.

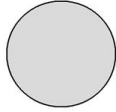
		
Контроль «-»	Контроль «+»	Опыт
Физ. раствор	«+» сыворотка	исследуемая сыворотка
Кардиолипиновый антиген		

Рис. 10. Экспресс-диагностика сифилиса (ЭДС).

РЕАКЦИЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭКЗОТОКСИНОВ

Проводится *in vivo* (на больных людях, морских свинках, мышах) и *in vitro* – в реакции флокуляции, на плотной среде. Применяется для идентификации бактериального экзотоксина по его видовой и типовой принадлежности, а также для определения наличия и силы антитоксина в исследуемой сыворотке, титра анатоксина.

Бактериальный экзотоксин в смеси с гомологичной сывороткой (антисывороткой) не разрушается, а нейтрализуется. Нейтрализация наступает в строго определенных пропорциях (необходим избыток антитоксина) и при одномоментном добавлении всего количества антитоксина к токсину. При дробном добавлении токсина с интервалами смесь остается токсичной (феномен Дениша), поскольку первые порции адсорбируют и изымают антитела, последующие порции остаются токсичными, не нейтрализованными.

2. Единицы измерения токсина и антитоксина

DLM (*Dosis letalis minima*) – минимальная летальная доза, т.е. наименьшая доза токсина, способная убить морскую свинку массой 250 г в течение 4 дней после подкожного или внутрибрюшинного введения;

ME – международная единица антитоксина, соответствующая его количеству, содержащемуся в 0,0628 мг стандартного, высушенного антитоксина, хранящегося в качестве эталона в Копенгагенском институте сывороток;

LO – наибольшее количество токсина, которое в смеси с одной единицей антитоксина, при введении подкожно морской свинке массой 250 г не дает никакой видимой реакции;

Lt (*Limes tod*) – наименьшее количество токсина, которое в смеси с одной антитоксической единицей, введенное подкожно морской свинке массой 250 г, приводит к ее гибели в течение 4 дней;

Lf – доза или единица флокуляции. Это количество токсина, которое в смеси с одной единицей антитоксина дает самую быструю (начальную) флокуляцию.

Реакция флокуляции – это реакция преципитации в системе токсин-антитоксическая сыворотка, характеризующаяся появлением хлопьевидного осадка или опалесценции при избытке антигена. Механизм реакции обусловлен растворимостью и авидностью антител. Реакцию обычно применяют для определения активности антитоксической сыворотки и для подсчета силы анатоксина, используемого для вакцинации.

Необходимые ингредиенты:

1. Анатоксин.
2. Антитоксическая сыворотка.
3. Физиологический раствор.

Схема постановки реакции флоккуляции и учет результатов приведены на рисунке 11, в таблицах 6 и 7.

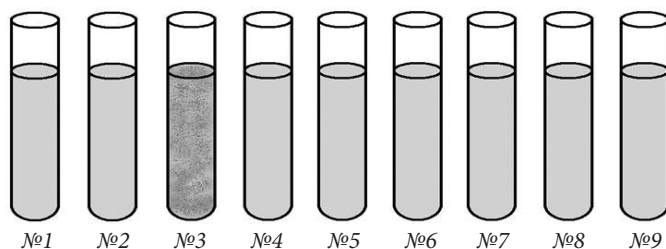


Рис. 11. Реакция флоккуляции.

Таблица 6

Определение активности анатоксина по известной антитоксической сыворотке (титр 200 АЕ в 1 мл) в реакции флоккуляции

Ингредиенты	Номера пробирок и их содержимое								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Анатоксин, мл	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5
Физ. раствор, мл	0,9	0,85	0,8	0,75	0,7	0,65	0,6	0,55	0,5
Антитоксин 200 АЕ в 1 мл (1:200)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
5'									
10' инициальная флоккуляция			+	+					
15'									

Инициальная флоккуляция наступила в пробирке №3

В 1 мл антитоксина содержится 1 АЕ.

В 0,2 мл анатоксина входит, следовательно, 1 IE, титр анатоксина: $1 \times 5 = 5 \text{ IE/мл}$.

Таблица 7

Определение титра антитоксической сыворотки по известному анатоксину (титр 5000 IE в мл) в р. флоккуляции

Ингредиенты	Номера пробирок и их содержимое								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Антитоксическая сыворотка, мл	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5

Таблица 7 (окончание)

Ингредиенты	Номера пробирок и их содержимое								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Физиол. раствор 0,85%, мл	0,9	0,85	0,8	0,75	0,7	0,65	0,6	0,55	0,5
Анатоксин 500 IE в 1мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Инкубация при +45°C									
5' инициальная флокуляция				+	+				
10'		+	+	+	+	+			
15'									

Инициальная флокуляция наступила в пробирке № 4.

В 1 мл анатоксина 500 IE. В 0,25 мл анатоксина – 500 АЕ, а в 1 мл будет в 4 раза больше, т.е. титр анатоксина 2000 АЕ/мл.

Постановка реакции нейтрализации токсина антитоксином *in vivo*. Постановка реакции на лабораторных животных осуществляется по тому же принципу, что и реакция флокуляции с использованием тех же ингредиентов и схемы, но разные разведения или количество содержимого пробирок вводятся лабораторным животным весом 250 г подкожно или внутривенно. То есть одной группе животных вводится только токсин, второй группе вначале вводится антитоксическая сыворотка, содержащая антитела к данному токсину, а затем и сам токсин. Если правильно подобрана антитоксическая сыворотка, то животное остается живым, а контрольное животное от действия токсина погибает (рис. 12).

Постановка реакций в организме человека. Реакция Дика. С целью определения уровня антитоксического иммунитета к скарлатине

Ход исследования:

Контроль (№1)



Физ. раствор

Опыт (№2)



Токсин +
Антитоксическая сыворотка
Поливалентная

Рис. 12. Схема постановки реакции нейтрализации.

у здорового человека выполняют кожную пробу с очищенным токсином – эритрогенином. В ладонную поверхность предплечья строго внутрикожно вводят 0,1 мл (1 кожную дозу) эритрогенина. Реакцию учитывают через 24 часа после введения. Ее считают положительной при отсутствии покраснения и отрицательной при наличии его диаметром более 1 см. Положительный результат фиксирует наличие анти-токсического иммунитета, отрицательный – его отсутствие.

Реакция Шика – реакция нейтрализации дифтерийного токсина антитоксинами организма. Она ставится для оценки напряженности иммунитета к дифтерии. Пробу выполняют со стабилизированным, очищенным дифтерийным токсином. Последний разводят так, чтобы в 0,2 мл содержалась 1/40 ДЛМ для морской свинки. Эту одну дозу вводят внутрикожно в ладонную поверхность предплечья. Учет результатов ведут через 24 часа. При наличии в сыворотке крови обследуемого 1/30 АЕ/мл происходит нейтрализация токсина и на месте введения не будет покраснения. Это говорит о хорошем иммунитете.

Феномен гашения сыпи испытывается на пациентах с диагностической и лечебной целью. Сыпь, например, при скарлатине – результат действия токсина возбудителя на мелкие капилляры. При подкожном или внутрикожном введении специфической антитоксической сыворотки наступает нейтрализация токсина, и сыпь на этом участке исчезает – «гасится».

РЕАКЦИЯ ПРЕЦИПИТАЦИИ В АГАРЕ

Данный вариант реакции преципитации применяется для обнаружения, например, токсина, вырабатываемого возбудителем при росте на агаре. Таким способом выявляется токсигенность коринебактерии дифтерии.

Для постановки данной реакции необходимы чашка с агаром с полоской фильтровальной бумаги, пропитанной антитоксической противодифтерийной сывороткой, после чего проводят перпендикулярно к полоске посев изучаемой культуры. Важно, чтобы на этой же чашке присутствовал посев заведомо токсигенной культуры для положительного контроля.

При росте культуры токсин пропитывает агар, одновременно из фильтровальной бумаги противотоксические антитела диффундируют в агар, и на месте их соединения образуется комплекс антиген-антитело, что становится видимым, как «усы» преципитации. Результат реакции представлен на рисунке 13.

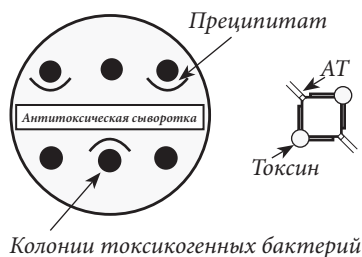


Рис. 13. Реакция преципитации в агаре (по Воробьеву А.А., 2003 г.).

РЕАКЦИЯ ПРЕЦИПИТАЦИИ В ГЕЛЕ

Этот метод еще называется иммунодиффузия в геле. Известны простая иммунодиффузия (по Удену), радиальная иммунодиффузия (по Манчини) и двойная (встречная) радиальная иммунодиффузия (по Оухтерлони).

Методы простой диффузии основаны на способности антигена, внесенного в лунки, диффундировать в гель. При постановке двойной диффузии антитела и антиген вносят в отдельные лунки. Обычно такие методы используют для выявления белковых антигенов в различных жидкостях и тканевых экстрактах. Схема постановки и результаты реакции представлены на рисунке 14.

Диффузионный метод преципитации в геле.

Принцип метода: вещества (антиген, антитела), диффундирующие в геле навстречу друг другу, реагируя между собой, образуют преципитат беловатого цвета разной конфигурации. В контроле он не наблюдается.

Ингредиенты и техника постановки реакции:

- Готовят 1-1,5 % голодный агар-агар, разливают его в горячем расплавленном виде в любые стеклянные объекты: в чашки, на отмытые фотопластины, на предметные стекла (для микрометода). Дают застыть.
- Под объекты подкладывают бумажные расчерченные ориентиры и специальным пробойником делают на равном расстоянии друг от друга лунки. Дно их заливают 1 каплей жидкого агара для избегания затекания реагентов под агар.
- Вносят в лунки 0,1-0,5 мл испытуемого вещества (антигена), а напротив – специфические преципитирующие сыворотки с антителами.
- Выдерживают в термостате 18-24 часа, накрыв реагенты крышкой или стеклом для предохранения от испарения.

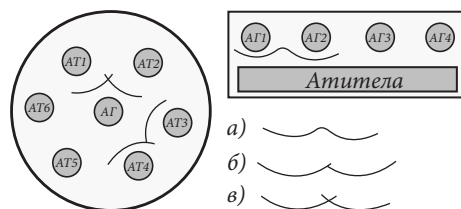


Рис. 14. Реакция преципитации в геле (по Воробьеву А.А., 2003 г.).

- Учет результатов ведут по появлению линии преципитата между содержимым лунок.
- Метка позволяет дифференцировать родство между антигенами (рис. 14). Концевое слияние полос свидетельствует о полной идентичности антигенов; а) при стыке полос – неполное родство (б) перекрест – разные антигены, но есть групповые антигены (в).

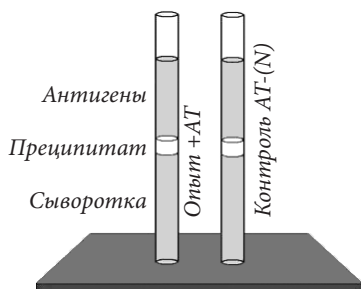


Рис. 15. Капиллярная реакция преципитации.

Капиллярная реакция преципитации подобна первым методам, но ставится в капиллярах из комплекта для определения СРБ (С реактивного белка).

Методика. В отличие от пробирочного метода первым набирают легкий по массе АГ, затем сюда же – сыворотку с тяжелым АТ. После этого оба капилляра вертикально фиксируют в пластине (рис. 15).

Учет результата производят в опытной пробе по кольцу преципитации на границе АГ и АТ.

ИММУННОЭЛЕКТРОФОРЕЗ

Метод объединяет реакцию преципитации в геле с электрофорезом. Для этого слой агара наносят на предметное стекло, на его разных краях вырезают две лунки, а в центре – разделяющую канавку. В лунки вносят смесь антигенов и проводят электрофорез в течение 1-2 часов (рис. 16). Различные антигены с разной скоростью перемещаются между катодом и анодом. Затем в канавку вносят преципитирующую сыворотку, и через 5-7 суток в геле образуются зоны преципитации. Для лучшей визуализации агар окрашивают красителями (например, амидо-черным).

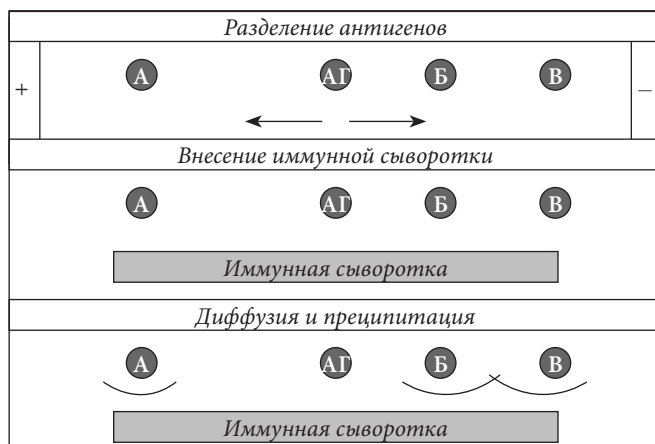


Рис. 16. Схема постановки иммуноэлектрофореза (по Воробьеву А.А., 2003 г.).

РЕАКЦИИ, ПРОТЕКАЮЩИЕ С УЧАСТИЕМ КОМПЛЕМЕНТА. РЕАКЦИИ ЛИЗИСА

Известно несколько модификаций данного типа реакций: это бактериолиз и гемолиз. Реакция бактериолиза применяется редко, она используется для дифференциальной диагностики холерного вибриона от других холероподобных бактерий. В основе реакции лежит способность специфических антител образовывать иммунные комплексы с клетками, в том числе с бактериями, что приводит к активации системы комплемента по классическому пути и лизису бактерий.

В реакции гемолиза антигеном служат эритроциты, антителом – антигемолитические антитела. При образовании комплекса антиген-антитело начинается активация комплемента, в результате чего мутная взвесь эритроцитов превращается в ярко-красную прозрачную жидкость – «лаковую» кровь вследствие выхода гемоглобина. При постановке диагностической реакции связывания комплемента (РСК) реакция гемолиза используется как индикаторная: для тестирования присутствия или отсутствия (связывания) свободного комплемента.

РЕАКЦИИ ГЕМОЛИЗА

Определение антирезус-антител в сыворотке.

Данная реакция проводится у беременных женщин, имеющих отрицательный резус-фактор. В случае, если у отца ребенка положительный резус-фактор, то у плода возможен как положительный, так и отрицательный резус. Для предотвращения резус-конфликта необходимо

знать, образуются ли антирезус-антитела в течение беременности и если это происходит, то идет ли динамика нарастания их титра.

Для постановки данной реакции необходимы следующие ингредиенты:

1. Исследуемая сыворотка.
2. Эритроциты человека, несущие положительный резус-фактор (стандартные эритроциты).
3. Комплемент.

Этапы постановки теста:

1. В пробирку вносим 1 мл исследуемой сыворотки.
2. В каждую пробирку вносим 2% взвесь стандартных эритроцитов.
3. Добавляем одинаковое количество комплемента в рабочей дозе.

В качестве положительного контроля используем сыворотку, имеющую антирезус-антитела; в качестве отрицательного контроля – заведомо отрицательную сыворотку.

Учет результата ведется по гемолизу (рис. 17):

- В пробирке с отрицательным контролем наблюдаем осадок эритроцитов.
- В пробирке с положительным контролем – полный гемолиз, то есть равномерно окрашенная в красный цвет жидкость.
- В исследуемых образцах при наличии антирезус-антител – полный гемолиз, при их отсутствии – осадок эритроцитов.

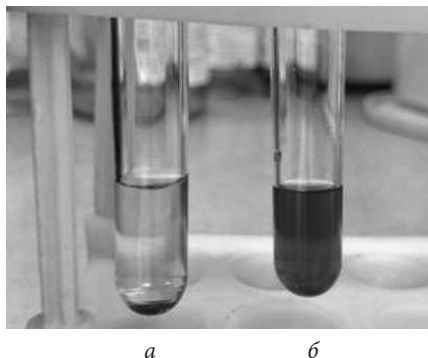


Рис. 17. Реакция гемолиза: а – отсутствие гемолиза, б – гемолиз.

РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

Реакция связывания комплемента (РСК) до настоящего времени была широко распространена в практике лабораторной диагностики и выполнялась при диагностике многих инфекционных заболеваний.

Одним из примеров такой реакции служит реакция Вассермана для диагностики сифилиса, схема постановки и учета которой даны в таблицах 8, 9 и на рисунке 18.

Таблица 8

Схема постановки основного опыта РСК

Ингредиенты	Опыт	Контроль сыворотки	Контроль антигена на антикомплементарность	Контроль антигена на гемотоксичность
1. Диагностическая система				
Сыворотка крови больного, инактивированная при +56°C 30 мин, мл	0,5	0,5	-	-
Антиген в рабочей дозе, мл	0,5	-	0,5	0,5
Комплемент в рабочей дозе, мл	0,5	0,5	0,5	-
Физ. Раствор 0,85%	-	0,5	0,5	1,0
Инкубировать в термостате при 37°C 60 мин				
2. Индикаторная система (гемолитическая)				
Гемолитическая сыворотка в рабочей дозе, мл	0,5	0,5	0,5	0,5
Эритроциты барана 3% взвесь, мл	0,5	0,5	0,5	0,5
Инкубировать в термостате при 37°C 60 мин.				
Соединить I и II системы			Выдержать при +37°C 60 мин.	
Результаты РСК (пример)	-	-	-	
Результат гемолиза	-	+	+	-

Оценку РСК проводят по четырехплюсовой системе.

Таблица 9

Критерии учета результатов реакции

++++	Полная задержка гемолиза, эритроциты в осадке, надосадочная жидкость прозрачная; резко положительная РСК.
+++	Неполная задержка гемолиза, эритроциты в осадке, надосадочная жидкость прозрачная, слабо розового цвета; положительная РСК.
++	Частичная задержка гемолиза, надосадочная жидкость красно-розового цвета, прозрачная; слабо положительная РСК.
+	Осадок незначительный, жидкость красная; сомнительная РСК.
-	Полный гемолиз, прозрачная красная жидкость. Отрицательная РСК.

РЕАКЦИЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ ТРЕПОНЕМ (РИТ) (извлечение из справочника Биргера М.О. М., 1982 г.)

Реакция основана на наблюдениях Д.К. Заболотного (1907) и П.П. Маслаковца в отношении потери подвижности бледной спиро-

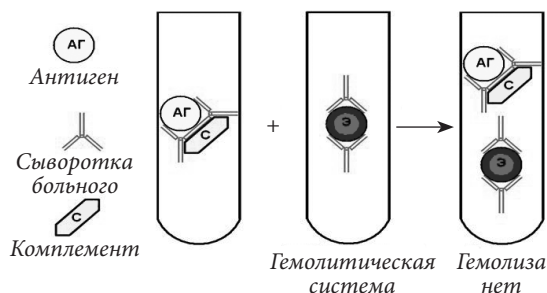


Рис. 18. Реакция связывания комплемента.

хеты при добавлении к ее культуре сыворотки крови больных сифилисом в присутствии комплемента.

Ингредиенты реакции:

1. Антиген – взвесь тканевых спирохет (получают из размельченного яичка кролика, зараженного сифилисом).
2. Антитела – сыворотка обследуемого больного.
3. Комплемент (сыворотка крови морской свинки);

Реакцию выполняют в меланжерах. Основной опыт – соединение в смесителе сыворотки больного, взвеси тканевых спирохет и активного комплемента (табл. 10).

Таблица 10

Схема постановки реакции иммобилизации трепонем

№ п/п	Ингредиенты	№ меланжеров				
		1	2	3	4	5
			контр. комплемента		контр. антигена	
1	Сыворотка обследуемого	До метки 1	До метки 1	-	-	-
2	Взвесь тканевых спирохет в смеси с активным комплементом	До метки 2	-	До метки 2	-	-
3	Смесь тканевых спирохет с инaktivированным комплементом		До метки 2	-	До метки 2	-
4	Взвесь тканевых спирохет без комплемента	-	-	-	-	До метки 2

После 19-20-часовой инкубации при +35°C на предметное стекло наносят каплю содержимого из меланжера, кладут на нее покровное стекло и в микроскопе с темнопольным конденсором определяют количество подвижных и неподвижных спирохет. Опыт сопоставляют с контролями и по формуле вычисляют процент специфически иммобилизованных антителами спирохет.

Процент специфически иммобилизованных спирохет в опыте определяют по формуле: $X = T_k - T_o \times 1000$, где T_k – число подвижных трепонем в контроле (с инактивированным комплементом); T_o – число подвижных трепонем в опыте (с активным комплементом).

Результат считают положительным, если процент иммобилизации выше 50, слабоположительным – от 31 до 50, сомнительным – от 21 до 30, отрицательным – ниже 30.

Микроскопическая картина учета реакции представлена на рисунке 19.



Рис. 19. Бледная трепонема при микроскопическом исследовании.

РЕАКЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕЧЕНЫХ АНТИГЕНОВ И АНТИТЕЛ. РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ

Реакции иммунофлюоресценции протекают в двух вариантах: ПИФ – прямая иммунофлюоресценция и НИФ – непрямая иммунофлюоресценция.

ПИФ – прямая иммунофлюоресценция, второе ее название – РИФ – реакция иммунофлюоресценции выполняется на предметном стекле, учитывается с использованием люминесцентного микроскопа.

На стекло наносится изучаемый материал с неизвестным антигеном, фиксируется жидким фиксатором, после чего на препарат наносят специфическую иммунную сыворотку, меченную флюорохромом. Часто в качестве флюорохрома применяют ФИТЦ-препарат (флюоресцеин изотиоционат). Стекло инкубируют во влажной камере 15 минут в термостате при 37°C, после чего промывают проточной водой 2 минуты. В случае совпадения антигена и специфической сыворотки на стекле образуется комплекс антиген-антитело, при микроскопии под ультрафиолетовыми лучами наблюдается свечение изучаемого объекта. При отсутствии свечения реакция считается отрицательной. Схема реакции изображена на рисунке 20.

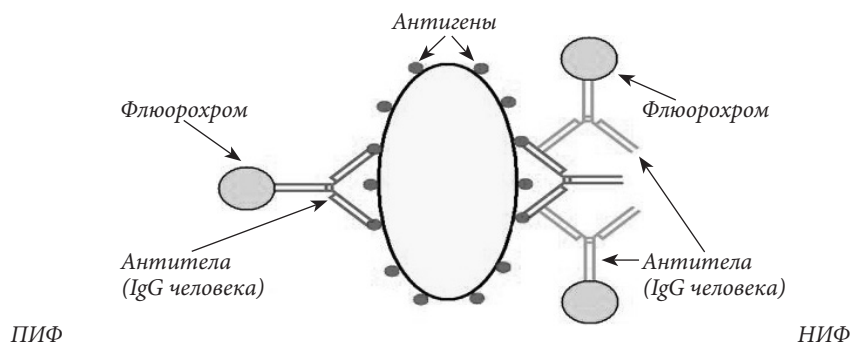


Рис. 20. Схема постановки ПИФ и НИФ.

НИФ – непрямая флюоресценции или РНИФ – реакция непрямой флюоресценции заключается в том, что в данной модификации с помощью известного антигена проводят поиск специфических антител в биологическом материале (сыворотке крови пациента). Так, в практике широко распространена РИФ для диагностики сифилиса и подтверждения активности сифилитического процесса.

Этапы постановки реакции:

1. На предметном стекле есть фиксированный антиген (культура бледной трепонемы).
2. Наносим сыворотку пациента.
3. Инкубируем 30 минут во влажной камере в термостате.
4. Промываем препарат проточной водой в течение 2 минут.
5. Наносим на препарат антисыворотку, содержащую антитела к иммуноглобулинам человека, меченную ФИТЦ.
6. Инкубируем 30 минут во влажной камере в термостате.

7. Промываем 2 минуты проточной водой.

8. Препарат высушиваем, микроскопируем в ультрафиолетовых лучах люминесцентного микроскопа.

При обнаружении противосифилитических антител в препарате наблюдаем свечение бледных трепонем разной степени интенсивности – от + (одного плюса) до ++++ (четырех плюсов). В случае отрицательного результата препарат остается темным.

Пример учета реакции непрямой иммунофлюоресценции для выявления хламидий дан на рисунке 21.

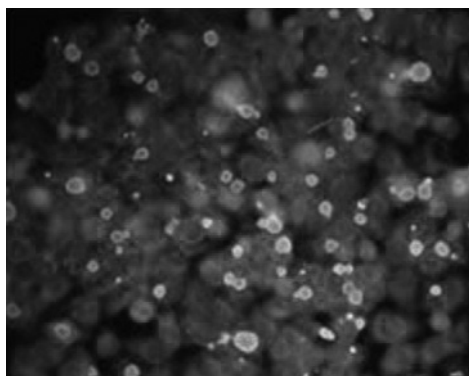


Рис. 21. Микроскопическая картина при непрямой реакции иммунофлюоресценции.

МЕТОД РАДИОИММУННОГО АНАЛИЗА

В основе метода радиоиммунного анализа (РИА) – маркирование радионуклидом антигена или антител, вступающих в реакцию. Образующиеся иммунные комплексы выделяют из системы и определяют их радиоактивность на счетчиках импульсов. Наибольшее распространение получил радиоиммунный анализ на твердой фазе (твердофазный РИА) с использованием меченых антигена или антител, сорбированных в лунках полистироловых панелей. РИА применяют для выявления микробных антигенов, различных гормонов, ферментов и т.д. Широкое распространение метода ограничивает необходимость создания условий, обеспечивающих безопасность работы с радионуклидами (рис. 22).

Этапы постановки реакции:

1. Стандартное количество антигена, идентичного меченному радиоактивной меткой (например, I123, I131, либо другими изотопами), наливают в пробирку.

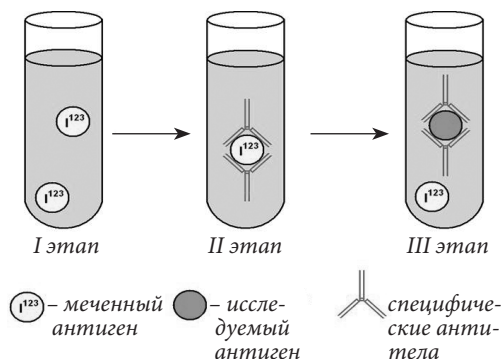


Рис. 22. Схема постановки радиоиммунного метода.

2. Добавляют стандартное количество иммунной сыворотки, специфичной антигену. 70-80% меченого антигена связывается при этом с антителами, образуя радиоактивный преципитат.

3. Добавляют субстрат, исследуемый на присутствие предполагаемого антигена. Если в субстрате есть антиген, идентичный меченому, то он конкурирует с ним, отнимая антитела. Радиоактивность преципитата при этом снижается.

Чем больше в субстрате антигена, тем меньше радиоактивность преципитата.

МЕТОД ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Метод иммуноферментного анализа – ИФА – во многом напоминает РИА, но использует коммерческие реагенты – антигены или антитела, маркированные ферментами (например, пероксидазой или щелочной фосфатазой). Он выполняется в полистироловых планшетах, где в лунках фиксирован антиген или антитело. После образования иммунного комплекса в систему вносят субстрат, расщепляемый ферментом, что приводит к окрашиванию среды. В отличие от классических методов выявления ИФА позволяет непосредственно регистрировать взаимодействие антигена с антителом в специфической фазе, а не анализировать вторичные проявления взаимодействия – агглютинацию, преципитацию или гемолиз. Метод отличается высокой чувствительностью – обычно достаточно присутствия антигена в концентрации 1 нг мл.

Этапы выполнения реакции (на примере диагностики антител при ВИЧ-инфекции) приводятся на рисунке 23.

1. В лунки полистиролового планшета, на которых сорбирован антиген ВИЧ, вносят сыворотку крови пациентов. Первая лунка предназначена для заведомо положительной сыворотки, вторая – заведомо отрицательной.

2. Инкубируем планшет во влажной камере в течение 30 минут.

3. Промываем лунки планшета фосфатно-солевым буфером 5 раз.

4. Вносим во все лунки антисыворотку, содержащую антитела против иммуноглобулинов человека, меченные ферментом.

5. Промываем лунки фосфатно-солевым буфером 5 раз.

6. Во все лунки добавляем субстрат, содержащий перекись водорода и бензидин.

7. Выдерживаем планшет 20 минут в темном месте.

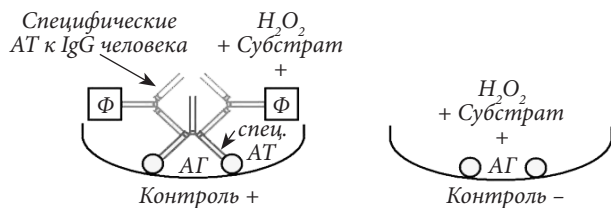


Рис. 23. Схема постановки ИФА.

Проводим визуальный учет результатов и определение оптической плотности раствора в каждой лунке с использованием прибора.

При правильной постановке анализа в лунке, содержащей положительную контрольную сыворотку, меняется цвет – он становится желтым. В отрицательном контроле цвет не меняется. Учет результатов опытных образцов зависит от изменения цвета в исследуемой лунке – если он меняется, как в положительном контроле, значит у данного пациента обнаружены антитела к ВИЧ.

Существует несколько вариантов иммуноферментного метода: твердофазный, прямой, непрямой, «Сэндвич-вариант», конкурентный, ингибиторный, метод иммуноферментных пятен (ELISPOT).

Практическое применение ИФА в клинической лабораторной диагностике:

1. Для массовой диагностики инфекционных заболеваний (выявление различных специфических антигенов или антител к ним).

2. Выявление и определение уровней гормонов и лекарственных препаратов в биологических образцах.

3. Определение изотипов (IgM, IgG и др.) антител против конкретного антигена.

4. Выявление иммунных комплексов.

5. Обнаружение онкомаркеров.

6. Определение белков сыворотки крови (ферритин, фибронектин и др.).

7. Нахождение общего IgE и специфических IgE антител.

8. Скрининг моноклональных антител.

9. Определение цитокинов в биологических жидкостях.

Для проведения иммуноферментного анализа применяются ИФА-анализаторы – от простых ридеров до полностью автоматизированных систем, в которых объединены дозатор образцов, инкубатор, промывочное устройство, фотометры, персональные компьютеры для управления и хранения данных.

ИММУНОБЛОТТИНГ

Иммуноблоттинг – метод идентификации антигена или антител с помощью известных сывороток (или АГ). На практике применяют для идентификации Аг ВИЧ. Первоначально электрофорезом в полиакриловом геле выделяют Аг вируса (на практике пользуются коммерческим реагентом). Затем на полосы преципитата накладывают носитель (нитроцеллюлезную пленку или активированную бумагу) и продолжают электрофорез. После чего на пленку наносят сыворотку пациента и инкубируют. После отмывания несвязавшихся антител (при их наличии) проводят ИФА – на пленку наносят антисыворотку к иммуноглобулинам человека, меченную ферментом, и хромогенный субстрат, изменяющий окраску при взаимодействии с ферментом. При наличии комплексов Аг-Ат-антисыворотка к иммуноглобулинам на носителе появляются окрашенные пятна.

Этапы вестерн-блоттинга: подготовка образца > гель-электрофорез > перенос на мембрану > блокирование > детекция

Детекция может проводиться следующими методами: – колориметрическая; – хемилюминесцентная; – радиоактивная; – флуоресцентная (рис. 24).

ИММУННОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД

Твердофазный хемилюминесцентный иммуноанализ заключается в том, что твердой фазой в нем служит полистирольный шарик, заключенный в тест-единицу (пробирку). На твердой фазе сорбированы моноклональные антитела, специфичные для выбранного исследова-

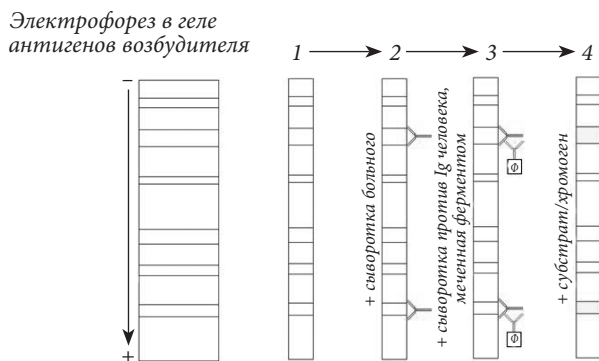


Рис. 24. Схема постановки иммуноблоттинга (по Воробьеву А.А., 2003 г.).

ния. Например, для диагностики Hbs-антигена вируса гепатита В шарик покрыт моноклональными антителами против данного антигена. Сыворотка пациента вводится в пробирку вместе с щелочной фосфатазой и инкубируется в термостате при 37°C 30 минут. В течение этого времени Hbs-антиген из сыворотки конкурирует с меченым щелочной фосфатазой Hbs-антигеном за ограниченное количество мест связывания с антителами на шарике. Несвязанный ферментный конъюгат удаляется впоследствии при промывке путем центрифугирования, после которой добавляется субстрат, и тест-единица инкубируется еще 10 минут.

Хемилюминесцентный субстрат (фосфатный эфир адамантил диоксетана) подвергается гидролизу, образуя нестабильное соединение. Продолжающееся образование этого нестабильного соединения происходит с непрерывной эмиссией света, что повышает точность измерений, обеспечивая возможность множественных считываний. Количество связанных комплексов и, соответственно, выход фотонов, измеренный люминометром, обратно пропорциональны концентрации Hbs-антигена в пробе (рис. 25).

Сравнительная характеристика чувствительности методов выявления антител указана в таблице 11. Хотя методы просты, возникают значительные трудности при их автоматизации и проведении количественной оценки. Результаты этих реакций оценивают титрами, т.е. последним разведением антител, дающим положительный результат. Использование этих методов сыграло огромную роль на ранних этапах развития иммунологии (тогда их применяли для выявления антител и антигенов с целью диагностики многих инфекционных заболеваний).

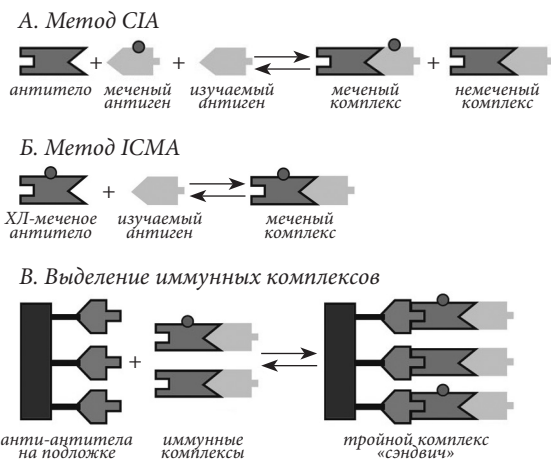


Рис. 25. Принцип иммунохемилюминесцентного анализа.

Таблица 11

Сравнительная характеристика чувствительности методов выявления антител (по Петрову Р.В., 1982 г.)

Метод	Выявляемое кол-во АТ (мг АТ в 1 л)
Иммуноферментный (ИФА), радиоиммунный	0,00001
Гемолиз	0,2
Антиглобулиновая реакция	4,5
Реакция непрямой гемагглютинации	5,0
Реакция агглютинации бактерий брюшного тифа	20
Реакция связывания комплемента	100
Нейтрализация токсина на коже кролика	300
Кольцепреципитация	3000-5000
Преципитация в геле	2000-18000

Эти методы послужили единственной методической основой работ, заложивших теоретические основы иммунохимии. Анализ кривой преципитации, методы которого в 30-е годы XX века разработал М. Хейдельбергер (М. Heidelberg), позволил установить основные закономерности взаимодействия антигенов и антител, когда не только отсутствовала возможность получения чистых и гомогенных препаратов антител, но даже их природа была неизвестна. Кривую преципитации строили, измеряя количество белка в осадке, образуемом при взаимодействии антигена с антителом (обычно к стандартному рас-

твору антигена постепенно добавляли антитела и измеряли содержание белка в преципитате), а также концентрацию свободных антител или антигена в растворе. Кривая обычно имеет горбовидную форму. Перед формированием максимального количества преципитата находится точка эквивалентности, когда в растворе отсутствуют свободные антигены и антитела.

В настоящее время методы, основанные на преципитации, продолжают использовать в лабораторной и исследовательской практике.

Реакцию преципитации в агаре применяют для определения концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови (метод радиальной иммунодиффузии). Преципитация лежит в основе широко используемого метода иммуноблоттинга («иммунопромокания»), когда электрофоретические фракции белков переносят в целлюлозу и «проявляют», осаждая антителами.

Два других традиционных подхода к определению антител или выявлению антигенов основаны на агглютинации и лизисе.

Сущность агглютинации состоит в склеивании частиц (эритроцитов, частиц латекса и т.д.), несущих антиген, в присутствии антител. Антитела вызывают перекрестное связывание молекул антигена, находящихся на разных частицах, что приводит к их склеиванию. В результате стабильность суспензии частиц, поддерживаемая их взаимным электростатическим отталкиванием, нарушается и образуются агрегаты, обнаруживаемые визуально.

В реакциях иммунного гемолиза, помимо антигенов и антител, участвует комплемент, обуславливающий лизис связавших антитела эритроцитов. Аналогичный подход лежит в основе метода лимфотоксичности. Результаты этого метода оценивают по снижению жизнеспособности лимфоцитов, связавших антитела, в присутствии комплемента; гибель клеток выявляют по окрашиваемости витальными красителями (эозин, трипановый синий). Реакции, основанные на агглютинации и гемолизе, в настоящее время применяют в ограниченных масштабах (для экспрессной полуколичественной оценки содержания антител или антигенов). В современной лаборатории широкое распространение получили такие методы, как ИФА, хемилюминесцентный анализ, которые выполняются автоматизированной аппаратурой.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ II

Выберите один правильный ответ.

1. К СВОЙСТВАМ АНТИГЕНА НЕ ОТНОСЯТ

- 1) атипизм
- 2) чужеродность
- 3) антигенность
- 4) иммуногенность

2. ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ – ЭТО

- 1) антитела
- 2) антигены
- 3) соединение антигена с антителом
- 4) соединение антигена с эндотелиальной клеткой микрососуда

3. НАЗОВИТЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЦИТОКИН

- 1) ИФН- γ
- 2) ИЛ-1
- 3) ИЛ-4
- 4) ИЛ-6

4. ИНТЕРФЕРОН АЛЬФА – ЭТО

- 1) иммуноглобулин
- 2) фактор врожденного иммунитета
- 3) фактор приобретенного иммунитета
- 4) фактор роста

5. КЛАССИЧЕСКИЙ ПУТЬ АКТИВАЦИИ КОМПЛЕМЕНТА ИНИЦИИРУЕТСЯ

- 1) бактериями
- 2) комплексом антиген–антитело
- 3) СРБ
- 4) ИЛ-1

6. НАЗОВИТЕ ЗАВЕРШАЮЩУЮ СТАДИЮ ФАГОЦИТОЗА

- 1) хемотаксис
- 2) аттракция (прилипание)
- 3) поглощение
- 4) переваривание

7. ТЯЖЕЛЫЕ ЦЕПИ СОСТОЯТ

- 1) из альфа
- 2) из гамма
- 3) из мю
- 4) из ипсилон

8. ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОГЛОБИНОВ

- 1) липиды
- 2) белки
- 3) углеводы
- 4) гликолипиды

9. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТА

- 1) иммунные диагностические сыворотки
- 2) антитоксины
- 3) аллергены
- 4) анатоксины
- 5) диагностикумы

10. ВИДЫ АНТИТЕЛ ПО ДЕЙСТВИЮ НА АНТИГЕН

- 1) агглютинины
- 2) агглютинины и опсонины
- 3) агглютинины, опсонины и лизины
- 4) агглютинины, опсонины, лизины и преципитины
- 5) агглютинины, опсонины, лизины, преципитины и цитотоксины

11. ИНГРЕДИЕНТЫ РЕАКЦИИ НЕПРЯМОЙ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ

- 1) иммунная диагностическая сыворотка
- 2) антииммуноглобулиновая сыворотка, меченная флюорохромом
- 3) исследуемый материал
- 4) иммунная диагностическая сыворотка, антиглобулиновая сыворотка
- 5) исследуемый материал, иммунная диагностическая сыворотка, антиглобулиновая сыворотка, меченная флюорохромом

12. ФАЗЫ РЕАКЦИЙ ИММУНИТЕТА

- 1) специфичная, неспецифичная
- 2) специфичная, неспецифичная, гетерогенная

- 3) специфичная, гетерогенная
- 4) специфичная, гетерофильная
- 5) гетерогенная, гетерофильная

13. АНТИГЕНЫ – ЭТО

- 1) макромолекулы, несущие генетически чужеродную информацию и способные индуцировать иммунный ответ
- 2) специальные белки, продуцируемые В-лимфоцитами
- 3) γ -фракция глобулярных белков сыворотки крови
- 4) вещества, которые способны индуцировать митотическое деление лимфоцитов
- 5) белки, способствующие усилению фагоцитоза

14. СПЕЦИФИЧНОСТЬ АНТИГЕНА ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

- 1) классом органического вещества
- 2) антигенной детерминантой (эпитопом)
- 3) частью антигенной молекулы (носителем)
- 4) дозой антигена
- 5) способом введения антигена

15. СВОЙСТВО АНТИГЕНА ВЫЗЫВАТЬ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) вариабельностью
- 2) специфичностью
- 3) чужеродностью
- 4) иммуногенностью
- 5) цитотоксичностью

16. СПОСОБНОСТЬ АНТИГЕНА ИЗБИРАТЕЛЬНО РЕАГИРОВАТЬ СО СПЕЦИФИЧЕСКИМИ АНТИТЕЛАМИ ИЛИ СЕНСИБИЛИЗОВАННЫМИ ЛИМФОЦИТАМИ НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) вариабельностью
- 2) специфичностью
- 3) чужеродностью
- 4) иммуногенностью
- 5) цитотоксичностью

17. ДЛЯ УСИЛЕНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ВВЕДЕНИЕ АНТИГЕНА ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) селектины
- 2) адъюванты
- 3) анафилатоксины
- 4) комплемент
- 5) дефензины

18. МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА – ЭТО ИММУНОГЛОБУЛИНЫ, ПРОДУЦИРУЕМЫЕ

- 1) НК-клетками
- 2) эпителиальными клетками
- 3) гибридомами В-лимфоцитов и миеломных клеток
- 4) Т-лимфоцитами
- 5) макрофагами

19. УКАЖИТЕ АНТИГЕН, ВХОДЯЩИЙ В СОСТАВ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ВСЕХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

- 1) H-АГ
- 2) K-АГ
- 3) Vi -АГ
- 4) O-АГ
- 5) протективный АГ

20. АКТИВНЫЙ ПОСТИНФЕКЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ ФОРМИРУЕТСЯ

- 1) при введении сыворотки
- 2) после введения антибиотиков
- 3) после перенесенного заболевания
- 4) рецидива инфекции
- 5) после вакцинации

21. ЕСТЕСТВЕННЫЙ ПАССИВНЫЙ ИММУНИТЕТ ВЫРАБАТЫВАЕТСЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ

- 1) получения антител через плаценту от матери
- 2) вакцинации
- 3) введения сыворотки
- 4) перенесенного заболевания
- 5) рецидива инфекции

22. ПАССИВНЫЙ ИСКУССТВЕННЫЙ ИММУНИТЕТ ФОРМИРУЕТСЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРАТОВ

- 1) химических вакцин
- 2) генно-инженерных вакцин
- 3) антитоксических сывороток
- 4) бактериофагов
- 5) пробиотиков

23. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА МОГУТ БЫТЬ ОБНАРУЖЕНЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПОСЛЕ ПЕРВИЧНОГО КОНТАКТА С АНТИГЕНОМ

- 1) через 10 мин
- 2) через 1 час
- 3) через 5-7 дней
- 4) через 3-5 нед.
- 5) после повторной встречи с антигеном

24. ТЕРМИНУ «АНТИТЕЛА» СООТВЕТСТВУЕТ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

- 1) защитные факторы организма, синтезируемые макрофагами
- 2) продукты эпителиальных клеток, регулирующие регенерацию
- 3) белковые структуры, синтезируемые плазматическими клетками, способные специфически связываться с антигеном
- 4) стимуляторы иммунитета, усиливающие продукцию цитокинов

25. СПЕЦИФИЧНОСТЬ АНТИТЕЛ – ЭТО

- 1) способность взаимодействовать с лигандами, сходными по структуре с иммуногеном
- 2) способность взаимодействовать с антигеном в экстремальных (специфических) условиях
- 3) уникальное отличие их структуры от структуры других антител
- 4) способность отличать антиген, против которого они были получены, от других антигенов
- 5) способность изменять структуру антигена

26. FАВ-ФРАГМЕНТ МОЛЕКУЛЫ ИММУНОГЛОБУЛИНА ОТВЕТСТВЕН

- 1) за связывание комплемента
- 2) за связывание антигена
- 3) за связывание с Fc-рецептором
- 4) за связывание с макрофагами
- 5) за прохождение IgG через плаценту

27. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ – ЭТО

- 1) антитела сыворотки
- 2) антитела сыворотки и специфические рецепторы на клетках иммунной системы
- 3) антитела сыворотки, специфические рецепторы на клетках иммунной системы и секреторные антитела
- 4) антитела сыворотки, специфические рецепторы на клетках иммунной системы, секреторные антитела и миеломные белки
- 5) антитела сыворотки, специфические рецепторы на клетках иммунной системы, секреторные антитела, миеломные белки и абзимы

28. ПРЕПАРАТЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ИЗВЕСТНЫЕ АТ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИДА МИКРООРГАНИЗМА

- 1) бактериофаги
- 2) аллергены
- 3) иммунные диагностические сыворотки
- 4) диагностикумы
- 5) анатоксины

29. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СЫВОРОТКИ, СОДЕРЖАЩИЕ АТ ТОЛЬКО К ОДНОМУ АГ, НАЗЫВАЮТСЯ

- 1) поливалентными
- 2) аффинными
- 3) монорецепторными
- 4) моноклональными
- 5) поликлональными

30. ИНГРЕДИЕНТЫ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ В СЕРОЛОГИЧЕСКОМ МЕТОДЕ ДИАГНОСТИКИ

- 1) иммунная диагностическая сыворотка, сыворотка больного, электролит
- 2) иммунная диагностическая сыворотка, чистая культура бактерий, электролит
- 3) диагностикум, сыворотка больного, электролит
- 4) иммунная диагностическая сыворотка, диагностикум, электролит
- 5) иммунная сыворотка, аллерген, электролит

31. АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ

- 1) ростом титра антител, представленных в основном IgM
- 2) ростом титра антител, представленных в основном IgG

- 3) постоянным титром антител, представленных в основном IgM
- 4) постоянным титром антител, представленных в основном IgG
- 5) нарастанием титра IgM

32. В СЕРОЛОГИЧЕСКОМ МЕТОДЕ ДИАГНОСТИКИ ОПРЕДЕЛЯЮТ

- 1) титр АГ
- 2) титр АТ
- 3) иммунные комплексы
- 4) титр цитокинов
- 5) абсолютное количество Ig

33. ВАКЦИННЫМ ПРЕПАРАТОМ, ВЫЗЫВАЮЩИМ ФОРМИРОВАНИЕ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) живая полиомиелитная вакцина
- 2) АКДС
- 3) брюшнотифозная вакцина спиртовая
- 4) гонококковая вакцина
- 5) полисахаридная менингококковая вакцина

34. ЧЕРЕЗ ПЛАЦЕНТУ ПРОХОДЯТ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ КЛАССА

- 1) IgG
- 2) IgM
- 3) IgA
- 4) IgE
- 5) IgD

35. ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ВОЗМОЖНО

- 1) истощением поливалентных сывороток
- 2) иммунизацией животных
- 3) иммунизацией доноров
- 4) гибридомной технологией
- 5) всем перечисленным

36. ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕ СИНТЕЗА IgM НА IgG ОБЕСПЕЧИВАЮТ

- 1) Т-киллеры
- 2) Т-хелперы
- 3) макрофаги

- 4) естественные киллеры
- 5) гранулоциты

37. ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНЫХ РЕАКЦИЙ ИММУНИТЕТА

- 1) антиген взаимодействует с антигеном
- 2) антиген взаимодействует с аллергеном
- 3) антиген взаимодействует с рецептором на поверхности клеток
- 4) антитело взаимодействует с рецептором на поверхности клеток
- 5) Т-хелперы взаимодействуют с В-клетками памяти

38. СЕРОЛОГИЧЕСКИМИ НАЗЫВАЮТСЯ РЕАКЦИИ, В КОТОРЫХ

- 1) антитела сыворотки взаимодействуют с антигеном
- 2) антиген взаимодействует с аллергеном
- 3) антиген взаимодействует с рецептором на поверхности клеток
- 4) антитело взаимодействует с рецептором на поверхности клеток
- 5) Т-хелперы взаимодействуют с В-клетками памяти

39. В РЕАКЦИИ ПРЕЦИПИТАЦИИ УЧАСТВУЮТ

- 1) бактериальная клетка
- 2) бактериальная клетка, токсин
- 3) бактериальная клетка, токсин, антитоксическая сыворотка
- 4) токсин, антимикробная сыворотка, электролит
- 5) токсин, антитоксическая сыворотка, электролит

40. ИНГРЕДИЕНТАМИ ИНДИКАТОРНОЙ ФАЗЫ РСК ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) гемолитическая сыворотка
- 2) гемолитическая сыворотка, сыворотка больного
- 3) комплемент, сыворотка больного
- 4) иммунная диагностическая сыворотка, комплемент
- 5) гемолитическая сыворотка, эритроциты

41. ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ НЕПОЛНЫХ АНТИТЕЛ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ

- 1) реакция Хеддельсона
- 2) реакция Райта
- 3) реакция Кумбса
- 4) реакция Пирке
- 5) реакция Манту

42. РЕАКЦИЯ ПРЕЦИПИТАЦИИ СТАВИТСЯ С ЦЕЛЬЮ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

- 1) бактериальных клеток, экзотоксинов
- 2) бактериальных клеток и классов иммуноглобулинов
- 3) экзотоксинов и классов иммуноглобулинов
- 4) иммуноглобулинов и эндотоксинов

43. РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА ВКЛЮЧАЕТ

- 1) два ингредиента
- 2) три ингредиента
- 3) четыре ингредиента
- 4) пять ингредиентов
- 5) шесть ингредиентов

44. ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

- 1) только антител
- 2) только антигенов
- 3) антител и антигенов
- 4) аллергической реакции замедленного типа
- 5) реакция отторжения трансплантата

45. ЕСЛИ ПРИ ПОСТАНОВКЕ РСК ПРОИСХОДИТ ЛИЗИС ЭРИТРОЦИТОВ, ТО РЕАКЦИЯ СЧИТАЕТСЯ

- 1) отрицательной
- 2) положительной
- 3) нейтральной
- 4) неопределенной
- 5) щелочной

Методы оценки взаимодействия антиген–антитело, применяемые для диагностики вирусных инфекций. Методы индикации и идентификации вирусов

В зараженных клеточных культурах вирусы можно обнаружить по изменению морфологии клеток, цитопатическому действию, появлению включений, путем определения вирусных антигенов в клетке и в культуральной жидкости; с помощью установления биологических свойств вирусного потомства в культуральной жидкости и титрования вирусов в культуре ткани, куриных эмбрионах или на чувствительных животных; путем выявления отдельных вирусных нуклеиновых кислот в клетках методом молекулярной гибридизации или скоплений нуклеиновых кислот цитохимическим методом с помощью люминесцентной микроскопии.

Серологические методы в вирусологии основаны на классических иммунологических реакциях: связывания комплемента, торможения гемагглютинации, биологической нейтрализации, иммунодиффузии, непрямой гемагглютинации, радиального гемолиза, иммунофлюоресценции, иммуноферментного, радиоиммунного анализа. Разработаны микрометоды многих реакций, техника их непрерывно совершенствуется. Эти методы используют для идентификации вирусов с помощью набора известных сывороток и для диагностики с целью определения нарастания антител во второй сыворотке по сравнению с первой (первую сыворотку берут в первые дни после заболевания, вторую – через 2-3 нед.). Диагностическое значение приобретает не менее чем четырехкратное нарастание антител во второй сыворотке. Если выявление антител класса IgM свидетельствует о недавно перенесенной инфекции, то антитела класса IgG сохраняются в течение нескольких лет, а иногда и пожизненно.

Для идентификации индивидуальных антигенов вирусов и антител к ним в сложных смесях без предварительной очистки белков используют иммуноблоттинг. Метод сочетает фракционирование белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле с последующей иммуноиндикацией белков иммуноферментным методом. Разделение белков снижает требования к химической чистоте антигена и позво-

ляет выявлять индивидуальные пары антиген–антитело. Такая задача актуальна, например, при серодиагностике ВИЧ-инфекции, где ложноположительные реакции иммуноферментного анализа обусловлены наличием антител к клеточным антигенам, которые присутствуют в результате недостаточной очистки вирусных белков. Идентификация антител в сыворотках больных к внутренним и наружным вирусным антигенам позволяет определять стадию заболевания, а при анализе популяций – изменчивость вирусных белков. Иммуноблоттинг при ВИЧ-инфекции применяют как подтверждающий тест для выявления индивидуальных вирусных антигенов и антител к ним. При анализе популяций метод используют для определения изменчивости вирусных белков. Большая ценность метода заключается в возможности анализа антигенов, синтезируемых с помощью технологии рекомбинантных ДНК, установлении их размеров и наличия антигенных детерминант.

ЦВЕТНАЯ ПРОБА

Для понимания этих феноменов вначале необходимо разобраться, как вирусы взаимодействуют с клетками, в которых они репродуцируются. Для накопления вирусов применяется такая модель, как культура клеток. Клетки для осуществления своей жизнедеятельности нуждаются в питательных веществах. Такие условия создаются благодаря использованию питательных сред, например, среды 199, в которой в качестве индикатора применяется раствор, меняющий свой цвет в зависимости от изменения рН среды. Клетки в результате метаболизма выделяют в среду кислые продукты обмена, это приводит к изменению рН, следовательно, цвет среды становится желтым.

При добавлении вирусов в культуру клеток вирус проникает в клетки, начинается синтез новых вирусных частиц, что приводит к гибели клетки. В результате этой гибели клетки не осуществляют метаболизма, цвет среды остается неизменным. Этот феномен называется цветная проба (ЦП).

На основании данного феномена разработан метод идентификации вирусов, который называется реакция торможения цветной пробы (РТ ЦП).

РЕАКЦИЯ ТОРМОЖЕНИЯ ЦВЕТНОЙ ПРОБЫ

Реакция осуществляется следующим образом. Исследуемый вирусосодержащий материал смешивается со специфической иммунной противовирусной сывороткой (например, с сывороткой, содержащей

антитела к вирусу гриппа), после инкубации данная взвесь вводится в пробирку, в которой находится культура клеток, залитая средой 199. Если правильно подобрана сыворотка, в первой пробирке происходит образование комплекса антиген (вирус) – антитело (специфическая противогриппозная сыворотка), вирус окажется блокированным, он не сможет проникнуть в клетки, клетки останутся жизнеспособными, смогут осуществлять метаболизм, кислые продукты обмена поступят в среду 199, соответственно, изменится цвет индикатора (рис. 26).

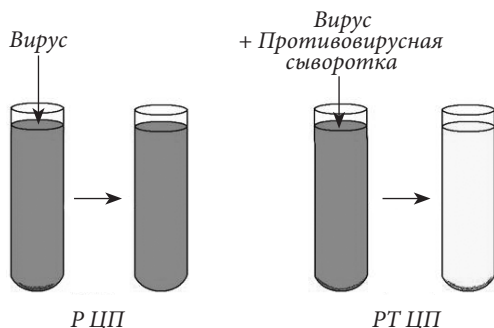


Рис. 26. Постановка ЦП и РТ ЦП.

РЕАКЦИЯ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ

Постановка этой реакции возможна только для вирусов, которые обладают гемагглютинином. Это дает им возможность адсорбироваться на различных эритроцитах. В результате положительной реакции гемагглютинации можно выявить вирус в вируссодержащем материале. Выполняется данная реакция в лунках иммунологического планшета, учет реакции проводится аналогично другим реакциям с использованием эритроцитов в качестве носителя (РПГА). Схема реакции представлена на рисунке 27.

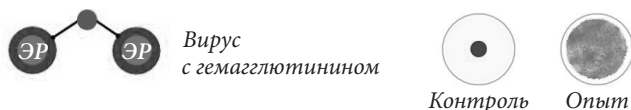


Рис. 27. Схема постановки реакции гемагглютинации.

РЕАКЦИЯ ТОРМОЖЕНИЯ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ

Для идентификации вируса на основе реакции гемагглютинации необходима специфическая иммунная сыворотка. Например, после

этапа постановки положительной РГА следует определить вид вируса. В реакции используются взвесь изучаемого вируса, специфическая иммунная сыворотка и взвесь эритроцитов. На первом этапе происходит инкубация вирусосодержащего материала со специфической сывороткой (например, имеем дело с аденовирусом, для этого применяем сыворотку, содержащую антитела против аденовируса). Если предположение верно, в пробирке произойдет образование комплекса антиген–вирус – антитело–сыворотка, вирусный гемагглютинин окажется заблокирован, и при добавлении этой взвеси к эритроцитам феномен агглютинации отменяется (рис. 28).

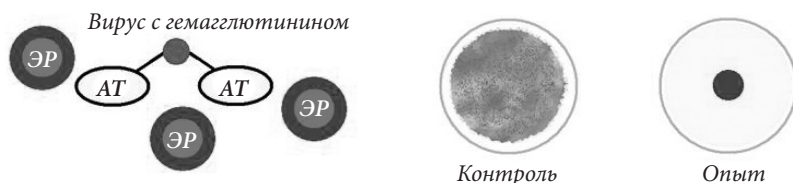


Рис. 28. Реакция торможения гемагглютинации.

РЕАКЦИЯ ГЕМАДСОРБЦИИ (РГадс)

Это реакция индикации вирусов в вирусосодержащем материале, который основан на феномене прилипания эритроцитов к клеткам, пораженным вирусом. Для выполнения этой реакции необходимо использование культуры клеток, вирусосодержащего материала и эритроцитов.

Этапы выполнения реакции:

- В культуру клеток вносят вирусосодержащий материал.
- Через несколько часов инкубации добавляют взвесь эритроцитов.

В случае, если в изучаемом субстрате находился вирус, он проникает в клетки, где начинается синтез вирусных частиц, поэтому при добавлении эритроцитов последние адсорбируются на пораженных клетках, наблюдается эффект гемадсорбции.

РЕАКЦИЯ ТОРМОЖЕНИЯ ГЕМАДСОРБЦИИ (РТГадс)

На основе РГадс выполняется идентификация вируса. Для постановки данной реакции на первом этапе делается смешивание вируса со специфической иммунной сывороткой. После образования комплекса антиген-антитело вирусные поверхностные антигены становятся блокированными, поэтому после добавления такой взвеси к культуре

клеток вирус не способен проникнуть в клетки, значит, добавление эритроцитов не приведет к их избирательной адсорбции, эритроциты опускаются равномерно по всей поверхности монослоя клеток – так называемый феномен торможения гемадсорбции (рис. 29).

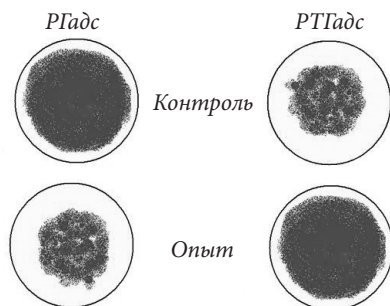


Рис. 29. Реакция гемадсорбции. Реакция торможения гемадсорбции.

ЦИТОПАТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ВИРУСА

Цитопатогенное действие вируса (ЦПД) – еще один метод индикации вирусов в вирусосодержащем материале. Выполняется данный метод с использованием культуры клеток, точнее монослоя клеток. В правильно подготовленном монослое все клетки имеют одинаковую морфологическую структуру, без дефектов. После добавления вирусов последние проникают внутрь клеток, там начинается синтез новых вирусных частиц, в результате чего клетки разрушаются, погибают, частично сливаются друг с другом, образуя так называемые симпласты и синцитии, или ЦПД.

Данный эффект можно наблюдать только микроскопически, поэтому для учета реакции пользуются микроскопией монослоя клеток, в которых наблюдают грубые изменения по сравнению с контролем.

РЕАКЦИЯ ТОРМОЖЕНИЯ ЦИТОПАТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ (РТ ЦПД)

На основе реакции ЦПД для идентификации вирусов применяют реакцию торможения ЦПД. Для ее выполнения необходима взвесь изучаемого вируса и специфическая иммунная сыворотка.

Этапы выполнения реакции:

- В пробирке смешивают вирусосодержащий материал и специфическую иммунную сыворотку.

- После инкубации данную смесь вносят в культуру клеток с готовым монослоем.
- Проводят учет реакции микроскопически.

Положительной считается реакция, когда наблюдается «отмена» ЦПД вируса (рис. 30).

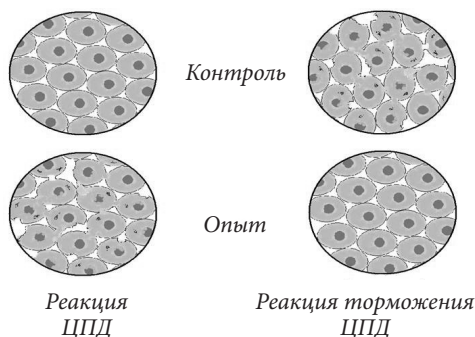


Рис. 30. Реакция ЦПД. Реакция торможения ЦПД.

РЕАКЦИЯ БЛЯШКООБРАЗОВАНИЯ

Реакция бляшкообразования (БО) также основана на ЦПД вируса, но для упрощения учета результатов реакции предложено монослой зараженных клеток заливать либо слоем агара, либо бентонита. Таким образом, при поражении клеток визуально можно наблюдать «пустоты» в агаровом слое, которые были названы «бляшками».

РЕАКЦИЯ ТОРМОЖЕНИЯ БЛЯШКООБРАЗОВАНИЯ (РТ БО)

Эта реакция также применяется для идентификации вирусов, служит иммунной реакцией. На первом этапе изучаемый вирус смешивается со специфической иммунной сывороткой, затем данная взвесь вносится в культуру клеток, после чего культура клеток заливается слоем агара. В случае, если специфическая иммунная сыворотка оказалась идентичной изучаемому вирусу, вирусные антигены блокируются, вирусы не в состоянии проникнуть в клетку, таким образом, не наблюдается ЦПД и отменяется феномен бляшкообразования (рис. 31).

В современной клинической практике к актуальным проблемам диагностики относится выявление инфекций, вызываемых вирусами группы герпесов (ВПГ, ЦМВ и ВЭБ) относящихся к инфекциям с нетипичной динамикой антителообразования (когда наличие IgM не является достоверным и достаточным признаком для дифференциации

стадий заболевания). При них появление IgM становится признаком первичного инфицирования или обострения латентно протекающей инфекции. Иногда антитела к ГВ класса М могут циркулировать в крови более 3 месяцев (до нескольких лет). Ложноотрицательный ответ на анти-ВПГ IgM может быть у новорожденных. В качестве скринингового метода при диагностике герпесвирусных инфекций рекомендуется использовать метод ПЦР, иммуноферментный анализ (ИФА) и реакцию иммунофлюоресценции (РИФ). Для повышения надежности диагностики, особенно в случаях наличия субклинических и маломанифестных форм герпеса, следует пользоваться 2-3 методами лабораторной диагностики. Сравнительная оценка лабораторных методов диагностики герпесвирусных инфекций дана в таблице 12.

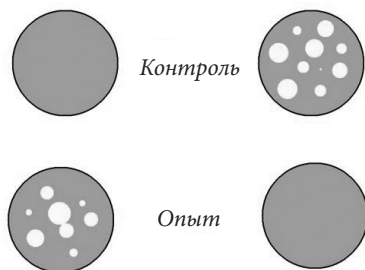


Рис. 31. Реакция бляшкообразования и торможения бляшкообразования.

Таблица 12

Лабораторные методы диагностики герпесвирусных инфекций

Основные методы выявления ВПГ или обнаружения вирусных частиц и/или их компонентов	Вспомогательные методы выявления антител к ВПГ в биологических жидкостях
Выделение вирусов герпеса на чувствительных культурах клеток Прямая и иммунная электронная микроскопия Прямой и непрямой варианты иммунопероксидазного метода Прямой и непрямой варианты метода флюоресцирующих антител Варианты твердофазного иммуноферментного анализа Варианты метода молекулярной гибридизации Полимеразная цепная реакция Реакция агглютинации латекса	Реакция нейтрализации Реакция связывания комплемента Реакция агглютинации латекса Непрямой вариант метода флюоресцирующих антител Непрямой вариант иммунопероксидазного метода Варианты твердофазного иммуноферментного анализа Метод иммунного блоттинга Метод радиальной фиксации комплемента Определение уровней аланин- и аспартаминотрансфераз

В настоящее время применяется ускоренный вирусологический метод выявления вируса. Сущность его заключается в том, что материал, полученный от больных, культивируют совместно с культурой клеток

Vero в течение 24 ч, после чего клетки культуры фиксируют в холодном ацетоне. Далее выявляют антигены вируса в реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ). На фиксированные препараты наносят моноклональные антитела к ВПГ. Затем препараты инкубируют во влажной камере в течение 1 ч при температуре 37°C и промывают проточной водой. После промывки на препараты наслаивают антивидовой конъюгат – меченные ФИТЦ (флюоресцеинизотиоцианатом) антитела против иммуноглобулинов мыши – и помещают в камеру на 30 мин при температуре 37°C. Окрашенные препараты исследуют с помощью люминесцентного микроскопа. При микроскопии определяют вирусспецифические включения в виде образований с зеленой или желто-зеленой флюоресценцией в ядре и/или цитоплазме эпителиальных клеток. Включения могут иметь зернистую, гомогенную или смешанную структуру. Результаты лабораторного обследования готовятся в течение двух суток.

При люминесцентной микроскопии вирусы герпеса приобретают специфическое, интенсивное изумрудно-зеленое свечение. Антиген вируса может быть обнаружен в ядре, ядре и цитоплазме неизмененных клеток. Положительными считаются результаты внутриклеточной флюоресценции при наличии не менее трех светящихся антигенсодержащих клеток. Достоинством РИФ служит небольшая стоимость, высокая специфичность (90%) и чувствительность (55-75%), быстрота получения результатов (в пределах 2 ч). А недостатком – зависимость результатов от качества забора материала, стадии заболевания и квалификации врача-вирусолога. Часто в практической работе используется метод прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) с поликлональными антителами против ВПГ-1 или ВПГ-2. Метод ПИФ достаточно легко воспроизводим в обычной клинической лаборатории, не является дорогостоящим, чувствительность его выше 80%, специфичность 90-95%. При иммунофлюоресцентной микроскопии выявляют наличие цитоплазматических включений, морфологические особенности, процент инфицированных клеток в мазках-соскобах из уретры, цервикального канала, шейки матки, прямой кишки.

Метод ПИФ дает представление о морфологических свойствах клеток и изменении локализации антигенов ВПГ. Кроме прямых признаков поражения клеток вирусами герпеса (обнаружение специфического свечения), существуют косвенные признаки герпетической инфекции по данным ПИФ:

- а) агрегация ядерного вещества, отслаивание kariолеммы;
- б) наличие так называемых «ядер-дырок», когда от ядра клеток остается только одна kariолема;

в) наличие внутриядерных включений – телец Каудри.

При постановке ПИФ врач получает не только качественную, но и количественную оценку состояния инфицированных клеток, что можно использовать для анализа эффективности проводимой противовирусной терапии.

Другим методом, позволяющим выявить антигены вируса герпеса, служит **иммуноферментный анализ (ИФА)**. Преимуществом ИФА по сравнению с РИФ являются: большая степень чувствительности, стандартизация и автоматизация исследований, снижение частоты субъективных ошибок. Чувствительность метода составляет 70-80 %. Важную роль для диагностики стадии ГИ играет определение противовирусных антител. Информативность метода ИФА зависит от формы инфекции (первичная, рецидивирующая), состояния иммунореактивности организма больного, длительности заболевания, проведенной терапии и т.д. После внедрения вируса герпеса в организм человека начинается синтез специфических иммуноглобулинов класса М (IgM), которые определяются на 4-6-й день после инфицирования и достигают максимального значения к 15-20 суткам. С 10-14 суток начинается продукция специфических IgG, несколько позднее – IgA. Иммуноглобулины IgM и IgA сохраняются в организме человека недолго (1-3 мес.), IgG – в течение всей жизни. Диагностическое значение при первичной ГИ имеет выявление IgM и/или четырехкратное увеличение титров специфических иммуноглобулинов G (IgG) в парных сыворотках крови, полученных с интервалом в 14-21 день. Рецидивирующий герпес обычно протекает на фоне высоких показателей IgG, свидетельствующих о постоянной антигенной стимуляции организма больного.

Определение серологических маркеров при ГВИ не может быть специфическим тестом для дифференциации первичной инфекции и реактивации. Единственным способом, позволяющим сразу и достоверно диагностировать первичную инфекцию, становится нахождение индекса avidности специфических антител. Выражают показатель индекса avidности при помощи ИФА. В процессе инкубации образцов сыворотки крови с адсорбированными на планшете антигенами образуются иммунные комплексы. После промывания планшета в часть лунок добавляют раствор, который способствует удалению «ранних» IgG с низкой avidностью (денатурирующий агент). После внесения конъюгата контролируют его связывание с комплексом антиген-антитело с помощью раствора хромогена. После остановки ферментативной реакции измеряют спектрофотометром оптическое

поглощение окрашенного раствора. Наличие в исследуемом образце вирусспецифических IgG антител с низкой авидностью определяется по снижению интенсивности окрашивания в сопоставлении с лунками, обработанными раствором сравнения. В качестве денатурирующего вещества используют: диэтиламид, тиоционат калия, глютаральдегид, мочевины.

Индекс авидности (ИА) антител сывороток рассчитывают по формуле:

$$\text{ИА} = \text{ОП}_1 \times 100 / \text{ОП}_2,$$

где ОП₁ – оптическая плотность в лунках с антигенами после обработки денатурирующим агентом; ОП₂ – оптическая плотность в лунках с той же сывороткой после обработки раствором сравнения.

Выявление в исследуемой сыворотке антител с ИА ниже 30-50 % указывает на свежую первичную инфекцию. Показатель ИА, равный или превышающий 50 %, свидетельствует о присутствии в сыворотке высокоавидных антител – маркеров перенесенной в прошлом инфекции. Показатель авидности антител в пределах 31-49 % может говорить о поздней стадии первичной инфекции или недавно перенесенной инфекции (ранняя паст-инфекция) только при условии выявления высоких концентраций антител. Если в исследуемой сыворотке крови при наличии или отсутствии IgM обнаруживаются IgG с низкой авидностью, то это свидетельствует о первичной (недавней) инфекции. Присутствие высокоавидных антител IgG указывает на вторичный иммунный ответ в случае попадания возбудителя в организм или обострения (реактивации) заболевания.

Для диагностики инфекционного мононуклеоза (инфекции, вызванной ВЭБ) применяют вирусологические, молекулярно-биологические и серологические методы, реакцию Пауль-Буннеля с эритроцитами барана (диагностический титр 1:28 и выше) при однократном исследовании сыворотки крови либо четырехкратный прирост антител при обследовании парных сывороток. Используют реакцию Гоффа-Бауэра со взвесью 4 % формализированных эритроцитов лошади. Результат учитывают через 2 мин, при инфекционном мононуклеозе реакция высокоспецифична.

В настоящее время разработан иммуноферментный (ИФА) метод диагностики инфекционного мононуклеоза. При этом антитела классов IgG и IgM в сыворотке больного определяют путем ее инкубации с лимфобластами, зараженными ВЭБ, с последующей обработкой флюоресцирующими антителами. В остром периоде заболевания антитела к вирусному капсидному антигену определяются в титре 1:160 и выше.

Серологическая диагностика ВЭБ-инфекции представляет определенные трудности, она основана на выявлении специфических антител к нескольким антигенам вируса, однако не существует единого надежного теста, позволяющего получать достоверную информацию для постановки окончательного диагноза.

На ранних стадиях развития инфекции в образцах сыворотки крови пациента обнаруживаются IgM и IgG к капсидному антигену (IgM-VCA и IgG-VCA). Активная фаза инфекционного мононуклеоза также характеризуется продукцией низкоавидных антител IgG к VCA и в большинстве случаев наличием IgG, специфичных к комплексу ранних антигенов (IgG EA). IgM антитела к нуклеарному антигену (EBNA) могут служить индикатором острой инфекции, однако, ряд авторов отмечает частое возникновение ложноположительных реакций вследствие неспецифической реактивности. Показано, что антитела к ядерному белку EBNA-1 p72 являются маркерами только паст-инфекции.

Таблица 13

Интерпретация серологических данных при ВЭБ-ассоциированных заболеваниях

Оценка серологических данных при типичном течении инфекции	Маркеры ВЭБ-инфекции		
	VCA IgM	EA IgG	EBNA IgG
Инкубационный период или отсутствие инфицирования	–	–	–
Очень ранняя первичная инфекция	+	–	–
Ранняя первичная инфекция	+	+	–
Поздняя первичная инфекция	+/-	+	+/-
Атипичная первичная инфекция	–	–	+
Хроническая инфекция	-/+	+	–
Ранняя паст-инфекция	–	+	+
Поздняя паст-инфекция	–	–	+
Реактивация	+	+	+
Атипичная реактивация	–	+	+

Примечание. EA – ранний антиген; EBNA – ядерный антиген; VCA – капсидный антиген. ОП – оптическая плотность; «–» отсутствие антител; «+/-» вероятное присутствие антител; «+» присутствие антител.

Появление IgM анти-VCA антител может происходить с опозданием или вообще не происходить. IgM анти-VCA могут выявляться в течение нескольких месяцев после первичного инфицирования, повторно появляться при реактивации инфекции, когда целесообразно определять индекс авидности IgG к VCA антигену ВЭБ. После положи-

тельной ИФА, выявившей антитела к ВЭБ, ставят подтверждающую реакцию иммуноблотинга, в которой определяют наличие антител к отдельным маркерным белкам ВЭБ (р – протеины): р23, р54, р72 (наличие этого белка указывает на возможность размножения ВЭБ), р138 и др. Указанные лабораторные методы используют и для контроля эффективности лечения (табл. 13).

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ III

Выберите один правильный ответ.

1. РАЗМЕРЫ ВИРУСОВ ОПРЕДЕЛЯЮТСЯ СЛЕДУЮЩИМИ СПОСОБАМИ

- 1) электронной микроскопией
- 2) радиальной иммунодиффузией
- 3) люминесцентным микроскопом
- 4) световым микроскопом
- 5) осаждением трихлоруксусной кислотой (ТХУ)

2. В СОСТАВ ВИРИОНА ВХОДИТ

- 1) цитоплазма
- 2) капсид
- 3) ядро
- 4) липосомы
- 5) клеточная стенка

3. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

- 1) серологический
- 2) аллергический
- 3) бактериологический
- 4) паразитологический
- 5) биохимический

4. ДЛЯ ВИРУСОВ ХАРАКТЕРНО

- 1) наличие только одной нуклеиновой кислоты
- 2) относительный паразитизм
- 3) рост на искусственных питательных средах
- 4) размножение путем поперечного деления
- 5) наличие РНК и ДНК

5. ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВИРУСА ПРИМЕНЯЕТСЯ

- 1) культура перевиваемых клеток
- 2) среда Эндо
- 3) среда Вильсона–Блера
- 4) среда Китта–Тароцци
- 5) среды Гисса

6. МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ ВИРУСОВ

- 1) цитопатогенное действие (ЦПД)
- 2) метод Вейнберга–Перетца
- 3) метод Цейслера
- 4) реакция Вассермана (RW)
- 5) проба Манту

7. СПОСОБЫ РАЗМНОЖЕНИЯ ВИРУСОВ

- 1) дисъюнктивная репродукция
- 2) митоз
- 3) амитоз
- 4) почкование
- 5) спорообразование

8. ВИРУСЫ ХАРАКТЕРИЗУЮТСЯ

- 1) одним типом нуклеиновой кислоты
- 2) абсолютным внутриклеточным паразитизмом
- 3) отсутствием рибосом
- 4) дисъюнктивной репродукцией
- 5) верно все перечисленное

9. ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ЭЛЕМЕНТАРНЫЕ ТЕЛЬЦА ВНУТРИ КЛЕТКИ ПРЕДСТАВЛЯЮТ СОБОЙ

- 1) собственно вирусные частицы
- 2) включения жира
- 3) гранулы волютина
- 4) фрагменты хромосомы
- 5) РНК

10. БАКТЕРИОФАГ – ЭТО ВИРУС, ПОРАЖАЮЩИЙ

- 1) животных
- 2) насекомых
- 3) птиц

- 4) бактерий
- 5) человека

11. ВИРУСЫ СПОСОБНЫ СИНТЕЗИРОВАТЬСЯ

- 1) на МПА
- 2) на среде Эндо
- 3) на среде Левенштейна-Йенсена
- 4) на яичных средах
- 5) в курином эмбрионе

12. К ВИРУСНЫМ ИНФЕКЦИЯМ ОТНОСЯТСЯ

- 1) туберкулез
- 2) холера
- 3) корь
- 4) брюшной тиф
- 5) сыпной тиф

13. ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ А ОТНОСИТСЯ К ЗАБОЛЕВАНИЯМ

- 1) антропонозным
- 2) зоонозным
- 3) антропозоонозным
- 4) конвенционным
- 5) трансмиссивным

14. ВИРУС ГРИППА СОДЕРЖИТ ФЕРМЕНТ

- 1) коллагеназу
- 2) нейраминидазу
- 3) гиалуронидазу
- 4) плазмокоагулазу
- 5) каталазу

15. ВИРУСЫ МОГУТ РАЗМНОЖАТЬСЯ

- 1) на искусственных питательных средах
- 2) в курином эмбрионе
- 3) на среде Эндо
- 4) на среде Китта-Тароцци
- 5) на среде Левина

16. ПУТЬ ПЕРЕДАЧИ ГЕПАТИТА А

- 1) алиментарный

- 2) половой
- 3) трансмиссивный
- 4) парентеральный
- 5) воздушно-капельный

17. К ГЕРПЕСВИРУСАМ ОТНОСЯТСЯ ВИРУСЫ

- 1) цитомегалии
- 2) полиомиелита
- 3) парагриппа
- 4) гриппа
- 5) бешенства

18. ОБРАТНУЮ ТРАНСКРИПТАЗУ (РЕВЕРТАЗУ) ОБРАЗУЮТ

- 1) рабдовирусы
- 2) ретровирусы
- 3) миксовирусы
- 4) тогавирусы
- 5) поксвирусы

19. ВИРОГЕНИЯ – ЭТО ОБЪЕДИНЕНИЕ

- 1) вирусной нуклеиновой кислоты с хромосомой клетки хозяина
- 2) вирусной нуклеиновой кислоты с цитоплазмой клетки хозяина
- 3) вируса с ядром клетки хозяина
- 4) со жгутиками
- 5) с зернами волютина

20. ПРОВИРУС – ЭТО ВИРУС, ИНТЕГРИРОВАННЫЙ

- 1) с клеточным геномом
- 2) в цитоплазму
- 3) в капсулу
- 4) в ядро
- 5) в клеточную стенку

21. КЛЕТОЧНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ НАИБОЛЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ
К ИНФИЦИРОВАНИЮ ВИЧ

- 1) СД-4 лимфоциты (хелперы)
- 2) эндотелиоциты
- 3) гепатоциты
- 4) В-лимфоциты
- 5) эпителиальные клетки

22. ДЛЯ СЕРОДИАГНОСТИКИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) агглютинации
- 2) иммуноферментный метод (ИФМ)
- 3) преципитации
- 4) РСК
- 5) РТГА

23. ВИРУСЫ РАЗМНОЖАЮТСЯ

- 1) делением
- 2) сегментированием
- 3) репродукцией
- 4) конъюгацией
- 5) с помощью митоза

24. ПРИСУТСТВИЕ ВИРУСОВ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ ВЫЯВЛЯЮТ

- 1) по цитопатогенному действию
- 2) реакцией Борде–Жангу
- 3) реакцией Асколи
- 4) реакцией Шика
- 5) феноменом Исаева–Пфейффера

25. ПРОЧНЫЙ (ПОЖИЗНЕННЫЙ) ПРОТИВОВИРУСНЫЙ ИММУНИТЕТ ОСТАЕТСЯ ПОСЛЕ

- 1) кори
- 2) гриппа
- 3) парагриппа
- 4) аденовирусных инфекций
- 5) цитомегалии

26. ПРИЗНАК, ХАРАКТЕРНЫЙ ДЛЯ ВИРУСА ГРИППА

- 1) размножается поперечным делением
- 2) содержит митохондрии
- 3) характеризуется изменчивостью антигенной структуры
- 4) относится к пикорнавирусам
- 5) культивируется на искусственных питательных средах

27. ВИРУС БЕШЕНСТВА

- 1) относится к дермотропным вирусам
- 2) поражает иммунную систему
- 3) содержит ДНК

- 4) содержит РНК
 - 5) относится к группе пикорнавирусов
28. УЛИЧНЫЙ ВИРУС БЕШЕНСТВА ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМИ ПРИЗНАКАМИ
- 1) циркулирует в природе в организме диких животных
 - 2) не образует в клетках ЦНС тельца-включения
 - 3) патогенен только для кроликов
 - 4) неверно все перечисленное
 - 5) верно все перечисленное
29. ВИРУС, ИНТЕГРИРОВАННЫЙ В КЛЕТОЧНЫЙ ГЕНОМ, НАЗЫВАЕТСЯ
- 1) рабдовирус
 - 2) пикорновирус
 - 3) провирус
 - 4) аденовирус
 - 5) реовирус
30. ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СЕРОТИПОВ ВИРУСА ПОЛИОМИЕЛИТА ПРОИЗВОДИТСЯ В РЕАКЦИИ
- 1) биологической нейтрализации вируса
 - 2) преципитации
 - 3) агглютинации
 - 4) бактериолиза
 - 5) нейтрализации токсина

Методы оценки взаимодействия антиген–антитело, применяемые в иммуногематологии

В настоящее время известно более 10 изосерологических систем, включающих более 100 эритроцитарных антигенов. Одной из основных систем антигенов в иммуногематологии является система антигенов АВО, включающая 4 антигена: А, В, АВ, А 1. Резус фактор – это целая система антигенов, содержащаяся в основном в эритроцитах, основными из которых являются D, С, Е. Она имеет наибольшее значение в медицине после АВО-системы. На втором месте по активности после системы резус стоят антигены системы Келл. Антигены этих систем могут вызывать сенсibilизацию при беременности, переливании крови. Они служат причиной гемолитической болезни новорожденных и гемотрансфузионных осложнений.

В клинической практике акушеры-гинекологи нередко сталкиваются с развитием гемолитической болезни плода и новорожденного при несовместимости крови по резус-фактору, реже по системе АВО и крайне редко по системе Келл, Даффи, Кидд, Лютеран и др. Гемолитическая болезнь плода, развивающаяся при несовместимости крови матери и плода по резус-фактору, в структуре перинатальной смертности составляет 3,5%.

Определение группы крови АВО проводят:

- по антигенам, содержащимся в исследуемых эритроцитах, в этом случае для исследования применяют стандартные гемагглютинирующие сыворотки или моноклональные антитела;
- по антигенам эритроцитов, содержащимся в исследуемых эритроцитах, и антителам, содержащимся в исследуемой сыворотке крови. В этом случае используют стандартные изогемагглютинирующие сыворотки или моноклональные антитела, а также стандартные эритроциты групп крови А, В и О (перекрестный метод).

Техника выполнения метода определения группы крови с использованием цоликлонов (моноклональных антител):

1. Нанести по 1 капле (около 0,1 мл) каждого из цоликлонов: анти-А, анти-В, анти-АВ на стекло или в лунку планшета.

2. Нанести по 1 маленькой капле (около 0,03 мл) исследуемой крови (эритроцитов) рядом с реагентом.

3. Смешать отдельными чистыми стеклянными палочками каждую каплю крови (эритроцитов) с соответствующим реагентом.

4. Мягко покачать пластину. Агглютинация может наступить уже в первые секунды после перемешивания, но результаты реакции учитывают через 3 минуты после смешивания, чтобы не пропустить слабые варианты антигенов. Внешний вид растворов цоликлонов, схема определения групп крови и результаты реакции изображены на рисунках 32-34.

Результаты реакции: при положительной реакции в капле видны мелкие агглютинаты, которые постепенно сливаются в крупные. Отрицательный результат – отсутствие агглютинации (табл. 14).

При определении группы крови по системе АВО:

- 1 группа характеризуется тем, что ни в одной из капель агглютинат не образуется.
- Для второй группы – А-агглютинат есть с сывороткой анти-А и анти-AB.



Рис. 32. Внешний вид растворов цоликлонов.

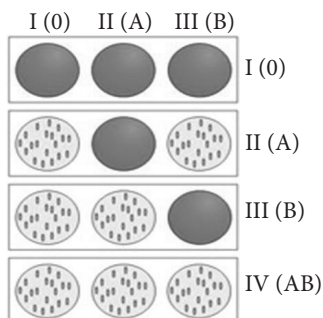


Рис. 33. Определение групп крови с цоликлонами.

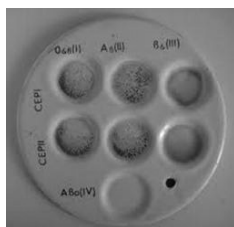


Рис. 34. Выполнение метода определения группы крови цоликлонами.

- Для третьей группы – В-агглютинат с сывороткой анти-В и анти-АВ.
- Для четвертой группы – АВ-агглютинат наблюдается во всех трех образцах.

Таблица 14

*Интерпретация результатов реакции агглютинации эритроцитов
моноклональными антителами*

Результат реакции с реагентом			Исследуемая кровь принадлежит к группе
Анти-А	Анти-В	Анти-АВ	
-	-	-	0
+	-	+	А
-	+	+	В
+	+	+	АВ

Определение анти-А и анти-В антител с помощью стандартных эритроцитов.

Для проведения трансфузий и при проверке совместимости возникает необходимость определения анти-А и анти-В антител у донора и реципиента. Для этого разработана методика определения с использованием стандартных эритроцитов (табл. 15).

Для постановки реакции необходимо оснащение:

- стандартные эритроциты 0, А, В;
- раствор натрия хлорида 0,9%;
- пластины;
- пипетки;
- стеклянные или пластмассовые палочки.

Техника проведения исследования:

1. Приготовить 5% взвесь стандартных эритроцитов в физиологическом растворе.

2. Промаркировать 2 пробирки на одного пациента, в каждую внести по 2 капли исследуемой сыворотки.

3. Добавить 1 каплю стандартных эритроцитов группы А в одну пробирку, группы В – во вторую пробирку, тщательно перемешать и выдержать при комнатной температуре 5 минут.

4. Центрифугировать пробирки при 1500 об./мин в течение 30 с.

5. Взболтать мягко содержимое пробирки и оценить результат. Наличие агглютинации определить, просматривая пробирку на свет.

Можно выполнить данную реакцию не только в пробирках, но и в лунках планшета. Учет результатов проводится аналогично вышеописанному методу по наличию агглютината.

Таблица 15

Интерпретация результатов выявления анти-А и анти-В антител

Результат реакции исследуемой сыворотки с эритроцитами			Сыворотка содержит антитела	Исследуемая кровь принадлежит к группе
А	В	0		
+	+	-	Анти-А и анти-В	0
-	+	-	Анти-В	А
+	-	-	Анти-А	В
-	-	-	нет	AB

Определение резус-фактора. В системе резус различают следующие антигены: D, d, C, c, E, e. Основным (наиболее иммуногенным) является антиген D (Rh), который обычно подразумевают под названием резус-фактор.

Определение резус фактора проводится с использованием цоликлона анти-D, который содержит антитела к данному антигену.

Метод проведения исследования:

1. На пластину нанести одну каплю цоликлона анти-D и на вторую лунку – контрольный раствор.

2. Во все капли добавить каплю исследуемых эритроцитов и перемешать стеклянной палочкой.

3. Пластику покачивать в течение 5 минут, затем в каждую каплю добавить 5-6 капель раствора хлорида натрия для снятия возможной неспецифической агглютинации. После чего пластину покачивают еще 5 минут.

Результат оценивают по наличию или отсутствию агглютинации.

Наличие агглютинации в капле указывает на резус-положительную принадлежность.

В случае переливания крови необходимо также определить наличие антигенов C, c, E, e, метод выполнения которых аналогичен вышеописанному. Иммунные сыворотки должны содержать антитела против данных антигенов.

Реакция агглютинации для выявления антирезус-антител (непрямая реакция Кумбса). Антиглобулиновый тест для определения неполных антиэритроцитарных антител. Реакция Кумбса используется для выявления антител к резус-фактору у беременных женщин и определения гемолитической анемии у новорожденных детей с резус-несовместимостью, влекущей разрушение эритроцитов.

Непрямая проба Кумбса – непрямой антиглобулиновый тест (обнаруживает неполные антитела) позволяет выявить атипичные анти-

тела в крови, в том числе аллоантитела, к чужим антигенам эритроцитов. Свое название (непрямая) она получила вследствие того, что протекает в 2 этапа. Первоначально сыворотка крови больного, содержащая неполные антитела, взаимодействует с добавленным корпускулярным Аг-диагностиком без видимых проявлений. На втором этапе внесенная антиглобулиновая сыворотка взаимодействует с неполными антителами, адсорбированными на антигенах, с появлением видимого осадка. Переливание гомологичных (аллогенных) эритроцитов или беременность – наиболее частые причины образования антиэритроцитарных антител.

Непрямую пробу Кумбса применяют в следующих случаях:

- Определение индивидуальной совместимости крови донора и реципиента.
- Выявление аллоантител, включая антитела, вызывающие гемолитические трансфузионные реакции.
- Определение поверхностных эритроцитарных антигенов в медицинской генетике и судебной медицине.
- Подтверждение однояйцовости близнецов при трансплантации костного мозга.

Современные методы определения групп крови и резус-фактора с использованием ID-гелевых карт.

Принцип метода заключается в том, что выявление антигенов эритроцитов в ID-гелевых картах осуществляется методом агглютинации в геле. Внешний вид ID-гелевых карт представлен на рисунке 35. При добавлении исследуемых эритроцитов в пробирку, содержащую, например, анти-А антитела, при наличии антигена А на эритроцитах, происходит реакция агглютинации, которая усиливается при центрифугировании ID-карты. Образующиеся агглютинаты остаются в верхней части пробирки, так как не проходят через гель из-за большого размера (положительный результат). При отсутствии антигена в исследуемом образце эритроциты не образуют агглютинатов с антисывороткой, при центрифугировании легко проходят через гель и оседают на дно пробирки (отрицательный результат). Схематично данный принцип представлен на рисунке 36.

Порядок проведения исследования:

1. Приготовить взвесь изучаемых эритроцитов в растворе для разведения 1 (модифицированный раствор бромелина), если используются ID-карты, содержащие антитела сыворотки крови человека, для чего:

- выдержать раствор для разведения 1 до достижения комнатной температуры, промаркировать пробирки;

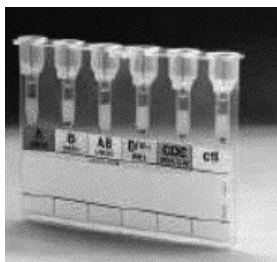


Рис. 35. Внешний вид ID-гелевых карт.

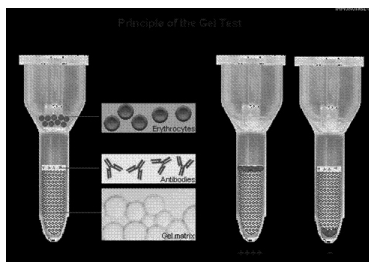


Рис. 36. Принцип использования ID-гелевых карт.

- приготовить 5% взвесь типизируемых эритроцитов в растворе для разведения 1, поместив в пробирку 0,5 мл раствора для разведения 1 и 0,05 мл цельной крови или 0,025 мл эритроцитарной массы;
 - выдержать пробирку при комнатной температуре в течение 10 минут.
2. Приготовить взвесь исследуемых эритроцитов в растворе разведения 2, если используются ID-карты, содержащие моноклональные антитела, для чего:
- выдержать раствор для разведения 2 до достижения комнатной температуры;
 - промаркировать пробирку;
 - приготовить 5% взвесь типизируемых эритроцитов в растворе 2, поместив в пробирку 0,5 мл раствора для разведения 2 и 0,05 мл цельной крови или 0,025 мл эритроцитарной массы.
3. Промаркировать ID-карту, вписать в нее номер исследуемого образца сыворотки или Ф.И.О. пациента.
4. Снять защитную фольгу с пробирок ID-карты.
5. Внести в каждую пробирку ID-карты по 0,01 мл исследуемых эритроцитов, приготовленных в соответствии с п.1 или по 0,05 мл исследуемых сывороток, приготовленных в соответствии с п. 2.
6. Центрифугировать ID-карты в центрифуге в течение 10 минут.
7. Оценить результаты исследования.
- Оценка результатов реакции агглютинации в гелевом тесте (рис. 37, табл. 16).

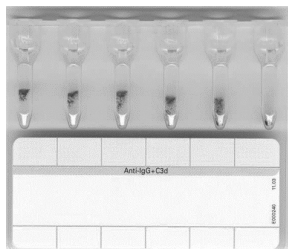


Рис. 37. Интерпретация результатов исследования.

Таблица 16

Результаты исследования антигенов группы крови АВО
и резус-принадлежности в ID-карте АВ0/Rh

Выявляемые антигены					Контроль	Заключение
А	В	АВ	D	CDE		
+	+	+	+	+	-	AB Rh +
+	+	+	-	-	-	AB Rh-
+	-	+	+	+	-	A Rh +
+	-	+	-	-	-	A Rh-
-	+	+	+	+	-	B Rh +
-	+	+	-	-	-	B Rh-
-	-	-	+	+	-	0 Rh +
-	-	-	-	-	-	0 Rh-

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ IV

Выберите один или несколько правильных ответов.

- РЕЗУС-АНТИГЕН, ОБЛАДАЮЩИЙ НАИБОЛЕЕ ВЫРАЖЕННЫМИ АНТИГЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ
 - С-антиген
 - Д-антиген
 - Е-антиген
 - с-антиген
- ПЕРЕКРЕСТНЫЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУППЫ КРОВИ
 - стандартными сыворотками
 - стандартными эритроцитами
 - цоликлонами
 - одновременно стандартными сыворотками и эритроцитами
- ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ ЦОЛИКЛОНАМИ ОБНАРУЖИВАЛАСЬ АГГЛЮТИНАЦИЯ С ЦОЛИКЛОНОМ АНТИ-А. ВАШЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ
 - первая группа крови
 - вторая группа крови
 - третья группа крови
 - требуется дополнительное исследование
- ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ ЦОЛИКЛОНАМИ

- 1) 3 минуты
 - 2) 2 минуты 30 секунд
 - 3) 4 минуты 30 секунд
 - 4) 4 минуты
5. ПРОШЛО 4 МИНУТЫ С МОМЕНТА НАЧАЛА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУППЫ КРОВИ ПО СИСТЕМЕ АВО. АГГЛЮТИНАЦИЯ ПРОИЗОШЛА С СЫВОРОТКОЙ А (II) ГРУППЫ
- 1) продолжить наблюдение
 - 2) определить группу крови заново
 - 3) добавить физ. раствор
 - 4) сделать заключение о группе крови
6. ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ НА ТАРЕЛКЕ РОЗОВОГО ЦВЕТА АГГЛЮТИНАЦИЯ НЕ НАБЛЮДАЛАСЬ ЧЕРЕЗ 5 МИНУТ С СЫВОРОТКАМИ 4-х ГРУПП. ВАШЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ
- 1) первая группа
 - 2) добавить физ. раствор
 - 3) четвертая группа крови
 - 4) предпринять новое исследование групп крови
7. НАЗОВИТЕ КОЛИЧЕСТВО СЕРИЙ ЦОЛИКЛОНОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП КРОВИ
- 1) одна
 - 2) две
 - 3) три
 - 4) четыре
8. БОЛЬНАЯ К., 36 ЛЕТ С РЕЗУС-ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ КРОВЬЮ. В АНАМНЕЗЕ КРОВЬ НЕ ПЕРЕЛИВАЛАСЬ, НО БЫЛО РОЖДЕНИЕ РЕЗУС-ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РЕБЕНКА. НАЗОВИТЕ ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ У БОЛЬНОЙ, ЕСЛИ БУДЕТ СДЕЛАНО ПЕРЕЛИВАНИЕ РЕЗУС-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ЭРИТРОЦИТОВ
- 1) опасности возникновения гемолитического шока нет
 - 2) вопрос не изучен
 - 3) гемолитический шок может возникнуть
 - 4) изменится резус-принадлежность больной
9. ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ ПО СИСТЕМЕ АВО СЫВОРОТКАМИ I, II, III ГРУПП НЕ ВОЗНИКЛА АГГЛЮТИНАЦИЯ

В КАПЛЕ С СЫВОРОТКОЙ ТРЕТЬЕЙ ГРУППЫ. ОПРЕДЕЛИТЕ ГРУППУ КРОВИ

- 1) третья группа крови
- 2) первая группа крови
- 3) требуется дополнительное исследование
- 4) вторая группа крови

10. ВОЗРАСТ ЧЕЛОВЕКА, ПРИ КОТОРОМ НАЧИНАЕТ ОПРЕДЕЛЯТЬСЯ УСТОЙЧИВЫЙ ТИТР АГГЛЮТИНИНОВ

- 1) до рождения
- 2) в возрасте старше 2-х лет
- 3) к концу первого года жизни
- 4) к моменту рождения

11. ОПТИМАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУППЫ КРОВИ

- 1) пластина находится неподвижно
- 2) пластину нужно слегка покачивать
- 3) 1 и 2 не имеют значения
- 4) пластину нужно слегка подогреть

12. ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ ПО СИСТЕМЕ АВО СЫВОРОТКАМИ ОДНОЙ СЕРИИ I, II, III ГРУПП НЕ ВОЗНИКЛА АГГЛЮТИНАЦИЯ В КАПЛЕ С СЫВОРОТКОЙ ТРЕТЬЕЙ ГРУППЫ. ОПРЕДЕЛИТЕ ГРУППУ КРОВИ

- 1) неправомерный результат
- 2) первая группа крови
- 3) вторая группа крови
- 4) третья группа крови

13. ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ ЦОЛИКЛОНАМИ ВОЗНИКАЛА АГГЛЮТИНАЦИЯ С ЦОЛИКЛОНОМ АНТИ-В. ВАШЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- 1) третья группа крови
- 2) вторая группа крови
- 3) неправомерный результат
- 4) требуются дополнительные исследования

14. СРОК ГОДНОСТИ БОЛЬШОГО КОЛИЧЕСТВА СТАНДАРТНЫХ СЫВОРОТОК ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУППЫ КРОВИ ЗАКОН-

ЧИЛСЯ. ОБЪЯСНИТЕ ДАЛЬНЕЙШУЮ ТАКТИКУ ВРАЧА, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА ПЕРЕЛИВАНИЕ КРОВИ В ЭТОЙ СИТУАЦИИ

- 1) хранение и учет сывороток
 - 2) использование сывороток для определения групп крови
 - 3) проверка их годности на станции переливания крови и возможно использование
 - 4) уничтожение сывороток
15. У «РЕЗУС-ОТРИЦАТЕЛЬНОГО» ЧЕЛОВЕКА АНТИГЕНЫ СИСТЕМ «РЕЗУС»
- 1) не имеются
 - 2) имеются
 - 3) вопрос не изучен
 - 4) в исключительных случаях имеются
16. ВОЗРАСТ ЧЕЛОВЕКА, ПРИ КОТОРОМ НАЧИНАЮТ ОПРЕДЕЛЯТЬСЯ АГГЛЮТИНОГЕНЫ
- 1) до рождения
 - 2) в возрасте старше 2-х лет
 - 3) в течение первого года жизни
 - 4) в первые дни после рождения
17. БОЛЬНОМУ С РЕЗУС-ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ КРОВЬЮ ВО ВРЕМЯ ПЛАНОВОЙ ОПЕРАЦИИ ВРАЧ РЕШИЛ ПЕРЕЛИТЬ РЕЗУС-ОТРИЦАТЕЛЬНОЮ КРОВЬ. В АНАМНЕЗЕ КРОВЬ НЕ ПЕРЕЛИВАЛАСЬ. ОБЪЯСНИТЕ ПРАВИЛЬНОСТЬ ВЫБРАННОЙ ТАКТИКИ
- 1) тактика правильная
 - 2) вопрос не изучен
 - 3) тактика неправильная
 - 4) можно перелить 500,0 крови
18. РАЗРУШАЕТСЯ ЛИ ПРИ ИСТИННОЙ АГГЛЮТИНАЦИИ ОБОЛОЧКА ЭРИТРОЦИТОВ
- 1) разрушается частично
 - 2) нет
 - 3) да
 - 4) вопрос не изучен
19. ОПТИМАЛЬНЫЙ ЦВЕТ ПЛАСТИНЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП КРОВИ

- 1) цвет не имеет значения
- 2) белый
- 3) розовый
- 4) голубой

20. ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ ДВУМЯ СЕРИЯМИ СТАНДАРТНЫХ СЫВОРОТОК ЧЕРЕЗ 5 МИНУТ АГГЛЮТИНАЦИЯ ВОЗНИКАЛА С СЫВОРОТКАМИ I, II, III ГРУПП. ВАШЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- 1) первая группа крови
- 2) четвертая группа крови
- 3) добавить физ. раствор
- 4) требуются дополнительные исследования

21. ВО ВРЕМЯ ПЛАНОВОГО ПЕРЕЛИВАНИЯ БОЛЬНОМУ СО II ГРУППОЙ КРОВИ ПЕРЕЛИТО 200 МЛ КОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЕРВОЙ ГРУППЫ КРОВИ. ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ГЕМОТРАНСФУЗИИ НЕ БЫЛО. ОБЪЯСНИТЕ ПРАВИЛЬНОСТЬ ВЫБРАННОЙ ТАКТИКИ

- 1) тактика правильная
- 2) вопрос не изучен
- 3) тактика неправильная
- 4) можно перелить меньшее количество консервированной крови

22. МОЖЕТ ЛИ БЫТЬ ПРИ ЛОЖНОЙ АГГЛЮТИНАЦИИ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЙ ШОК

- 1) нет
- 2) да
- 3) вопрос не изучен
- 4) может возникнуть при определенных условиях

23. В КАПЛИ СТАНДАРТНЫХ СЫВОРОТОК ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ ДОБАВЛЕНЫ РАВНЫЕ ПО ВЕЛИЧИНЕ КАПЛИ ИССЛЕДУЕМОЙ КРОВИ. АГГЛЮТИНАЦИЯ ОПРЕДЕЛЯЛАСЬ ВО ВСЕХ КАПЛЯХ. ВАШЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- 1) необходимо провести повторное исследование
- 2) четвертая группа крови
- 3) первая группа крови
- 4) провести исследование с сывороткой четвертой группы крови

24. ОПТИМАЛЬНАЯ ТЕМПЕРАТУРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

- 1) +38-40°C
- 2) +42-45°C
- 3) +48-55°C
- 4) +46-48°C

25. ДОНОРАМИ НЕ МОГУТ БЫТЬ ЛИЦА

- 1) страдающие туберкулезом
- 2) страдающие вирусным гепатитом
- 3) наркоманы
- 4) все вышеуказанные лица

26. ОПТИМАЛЬНАЯ ТЕМПЕРАТУРА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУППЫ КРОВИ

- 1) +26, +28°C
- 2) комнатная температура
- 3) +5, +10°C
- 4) +46-48°C в условиях термостата

27. МОЖЕТ ЛИ ВОЗНИКНУТЬ ПРИ ИСТИННОЙ АГГЛЮТИНАЦИИ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЙ ШОК

- 1) да
- 2) нет
- 3) вопрос не изучен
- 4) может возникнуть только при определенных условиях

28. ОПТИМАЛЬНАЯ ТЕМПЕРАТУРА ХРАНЕНИЯ СТАНДАРТНЫХ СЫВОРОТОК ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУППЫ КРОВИ

- 1) +4-8°C
- 2) +2-0°C
- 3) +12-14°C
- 4) при комнатной температуре

29. НАЗОВИТЕ ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ПРАВИЛА ОТ-ТЕНБЕРГА

- 1) плановая операция
- 2) экстренная операция
- 3) радикальная операция
- 4) паллиативная операция

30. ТИТР АГГЛЮТИНИНОВ ОПАСНОГО УНИВЕРСАЛЬНОГО ДОНОРА

- 1) 1:8
- 2) 1:16
- 3) 1:32
- 4) 1:128

31. ПРЯМОЕ ПРАВИЛО ОТТЕНБЕРГА ЗВУЧИТ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ: ПРИ ПЕРЕЛИВАНИИ НЕБОЛЬШИХ ДОЗ КРОВИ УЧИТЫВАЮТСЯ

- 1) агглютинины переливаемой крови
- 2) агглютиногены переливаемой крови
- 3) и агглютинины, и агглютиногены
- 4) агглютиногены реципиента

32. ОБРАТНОЕ ПРАВИЛО ОТТЕНБЕРГА ЗВУЧИТ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ: ПРИ ПЕРЕЛИВАНИИ БОЛЬШИХ ДОЗ КРОВИ УЧИТЫВАЮТСЯ

- 1) агглютинины переливаемой крови
- 2) агглютиногены переливаемой крови
- 3) и агглютинины, и агглютиногены
- 4) агглютиногены реципиента

33. ОПАСНЫЙ УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ДОНОР – ЭТО ЧЕЛОВЕК С ПЕРВОЙ ГРУППОЙ КРОВИ

- 1) перенесший вирусный гепатит
- 2) имеющий высокий титр естественных агглютининов
- 3) которому ранее переливалась донорская кровь
- 4) только что перенесший острое респираторное заболевание

34. ОПАСНЫЙ УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ДОНОР – ЭТО ЧЕЛОВЕК С ПЕРВОЙ ГРУППОЙ КРОВИ

- 1) страдающий инфекционным заболеванием
- 2) перенесший грипп
- 3) иммунизированный по эритроцитарному антигену
- 4) иммунизированный по Rh-фактору

35. ОПАСНЫЙ УНИВЕРСАЛЬНЫЙ РЕЦИПИЕНТ – ЭТО ЧЕЛОВЕК С АВ (IV) ГРУППОЙ КРОВИ

- 1) иммунизированный по эритроцитарному антигену

- 2) иммунизированный по Rh-фактору
 - 3) перенесший трансплантацию органа
 - 4) перенесший вирусный гепатит
36. ПОЛНЫЕ АГГЛЮТИНИНЫ СПОСОБНЫ АГГЛЮТИНИРОВАТЬ
ОДНОМОМЕНТНЫЕ АГГЛЮТИНОГЕНЫ
- 1) в коллоидной среде
 - 2) в солевой среде
 - 3) и в коллоидной, и в солевой среде
 - 4) в термостате
37. АГГЛЮТИНОГЕНЫ ОБЛАДАЮТ
- 1) иммуногенностью
 - 2) агглютинабельностью
 - 3) специфичностью
 - 4) аллергенностью
38. АГГЛЮТИНИНЫ ОБЛАДАЮТ
- 1) иммуногенностью
 - 2) агглютинабельностью
 - 3) специфичностью
 - 4) резистентностью
39. НЕПОЛНЫЕ АГГЛЮТИНИНЫ СПОСОБНЫ ВСТУПАТЬ В РЕ-
АКЦИЮ АГГЛЮТИНАЦИИ С ОДНОИМЕННЫМ АГГЛЮТИ-
НОГЕНОМ
- 1) в коллоидной среде
 - 2) в солевой среде
 - 3) и в коллоидной, и в солевой среде
 - 4) в среде с добавлением глюкозы
40. НЕПОЛНЫЕ АГГЛЮТИНИРУЮЩИЕ АГГЛЮТИНИНЫ ВЫЯВ-
ЛЯЮТСЯ В СРЕДЕ С ДОБАВЛЕНИЕМ
- 1) 33% раствора полиглюкина
 - 2) 10% раствора желатина
 - 3) протеолитических ферментов
 - 4) все вышеуказанное верно
41. НЕПОЛНЫЕ СКРЫТЫЕ АГГЛЮТИНИНЫ ВЫЯВЛЯЮТСЯ
ПУТЕМ

- 1) проведения не прямой пробы Кумбса
- 2) проведения пробы с разведением
- 3) добавления 33% раствора полиглобулина
- 4) добавления 10% раствора глюкозы

42. НЕПОЛНЫЕ БЛОКИРУЮЩИЕ АГГЛЮТИНИНЫ ВЫЯВЛЯЮТСЯ ПУТЕМ

- 1) проведения не прямой пробы Кумбса
- 2) проведения пробы с разведением
- 3) добавления 33% раствора полиглобулина
- 4) добавления 10% раствора глюкозы

43. ТИТР СЫВОРОТКИ – ЭТО

- 1) максимальное ее разведение
- 2) максимальное ее разведение, при котором невозможна реакция агглютинации с одноименным агглютиногеном
- 3) максимальное ее разведение, при котором еще возможна реакция агглютинации с одноименным агглютиногеном
- 4) минимальное ее разведение

44. ОПРЕДЕЛИТЕ РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ КРОВИ, ЕСЛИ ПОСЛЕДНЯЯ ДАЛА РЕАКЦИЮ АГГЛЮТИНАЦИИ СО СТАНДАРТНОЙ АНТИРЕЗУСНОЙ СЫВОРОТКОЙ

- 1) резус-положительная
- 2) резус-отрицательная
- 3) результат неопределенный
- 4) требуются дополнительные исследования

45. ХОЛОДОВЫЕ АГГЛЮТИНИНЫ СПОСОБНЫ АГГЛЮТИНИРОВАТЬ ОДНОИМЕННЫЕ АГГЛЮТИНОГЕНЫ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ

- 1) +4-6°C
- 2) комнатной
- 3) любой
- 4) не имеет решающего значения

46. ТЕПЛОВЫЕ АГГЛЮТИНИНЫ СПОСОБНЫ АГГЛЮТИНИРОВАТЬ ОДНОИМЕННЫЕ АГГЛЮТИНОГЕНЫ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ

- 1) +4-6°C
- 2) +18-20°C

3) +46-48°C

4) +50-52°C

47. ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГРУППЫ КРОВИ СТАНДАРТНЫМИ СЫВОРОТКАМИ ВОЗНИКЛА АГГЛЮТИНАЦИЯ С СЫВОРОТКАМИ I И III ГРУППЫ. ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА ХЛОРИСТОГО НАТРИЯ ВСЕ КАПЛИ СТАЛИ ГОМОГЕННЫМИ. ОПРЕДЕЛИТЕ ГРУППУ КРОВИ

1) O (I)

2) A (II)

3) B (III)

4) Результат неправомочный

48. РЕЗУС-ИММУНИЗАЦИЯ ПРОИСХОДИТ, ЕСЛИ

1) мать резус-положительная, а плод резус-отрицательный

2) мать резус-положительная и плод резус-положительный

3) мать резус-отрицательная, а плод резус-положительный

4) мать резус-отрицательная и плод резус-отрицательный

49. НА СТАНЦИИ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ ГРУППУ КРОВИ ДОНОРА ОПРЕДЕЛЯЮТ

1) по стандартным сывороткам

2) по стандартным эритроцитам

3) перекрестным способом

4) любым из вышеуказанных способов

50. ДОНОРАМИ НЕ МОГУТ БЫТЬ ЛИЦА

1) имеющие подгруппу крови A_1 (II)

2) имеющие подгруппу крови A_2 (II)

3) привитые от вирусного гепатита

4) переболевшие гриппом

Методы оценки взаимодействия антиген–антитело, применяемые для диагностики системы иммунитета

Реакции, применяемые для диагностики нарушений в системе иммунитета, подразделяются на тесты 1 и 2 уровня. Тесты 1 уровня определяют грубые нарушения в работе иммунной системы, тесты 2-го уровня – более глубокие изменения.

В настоящее время многие показатели клеточного и гуморального иммунитета определяются с использованием моноклональных антител и аппарата, который называется проточный цитофлуориметр (рис. 38). Принцип работы цитофлуориметра заключается в следующем: в основе проточной цитометрии лежит проведение оптических и флуоресцентных измерений отдельных клеток, пересекающих одна за другой вместе с потоком жидкости луч монохроматического света (обычно света лазера). В этом случае физические свойства клеток (размер или цитоплазматическая гранулярность) могут быть измерены на любой отдельной неокрашенной клетке (рис. 39).



Рис. 38. Внешний вид аппарата.

Клетки также могут быть помечены специфическими красителями, окрашивающими ДНК, РНК или белок, или целым набором флуорохром-конъюгированных антител, направленных к мембранным и внутриклеточным компонентам клеток. Пробу монодисперсной суспензии окрашенных флуоресцирующими маркерами клеток поме-

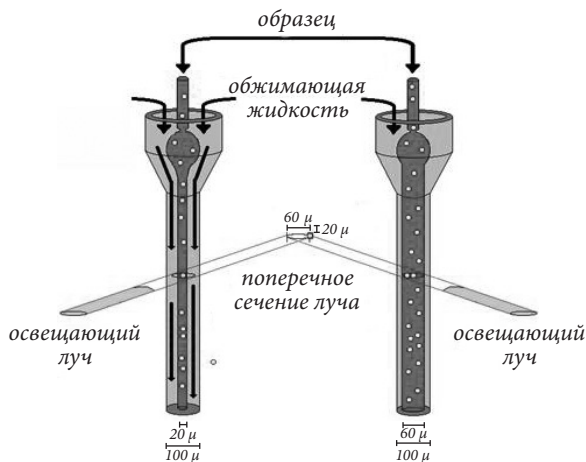


Рис. 39. Схема устройства проточной ячейки.

Справа: слишком высокое давление на образец приводит к уширению конечного диаметра потока, а следовательно, частицы могут попадать не в центр освещающего луча или освещаться не по одной.

щают в контейнер для проб проточного цитометра. Из него проба через наконечник специальной конструкции под давлением впрыскивается в центр движущегося с высокой скоростью в том же направлении потока жидкости. Вследствие этого клетки, подхваченные потоком жидкости, образуют «цепочку», причем каждая клетка окружена жидкой «оболочкой». Геометрия наконечника позволяет предотвратить турбулизацию потока суспензии исследуемых клеток и ее перемешивание с обтекающей жидкостью.

В измерительной камере прибора молекулы некоторых клеточных структур, пересекая луч монохромного лазера, поглощают свет определенной длины волны и переходят в возбужденное состояние. Возвращаясь через короткое время в исходное состояние, клетки испускают кванты света с иными длинами волн. Это вторичное излучение, имеющее строго определенные для каждого вида клеток или их структур длины волн, проходя через оптическую систему прибора (линзы, фильтры, двухцветные зеркала), регистрируется фотоэлектронным умножителем, который преобразует его в электрические сигналы, подающиеся компьютерной обработке. Два или три флуоресцентных сигнала, каждый из которых свидетельствует о реакции одного МКА со специфическим распознаваемым антигеном, могут быть зафиксиро-

рованы вместе с сигналами переднего (FSC-forward scatter) и бокового рассеяния (SSC-side scatter) света. Сигналы рассеяния света, характеризующие размер клетки (FSC), а также цитоплазматические и мембранные особенности (SSC), связывают результаты флуоресцентного анализа с морфологически определенными популяциями. Полученные данные могут быть записаны, проанализированы и представлены в виде гистограмм. При этом в случае одномерной гистограммы на оси абсцисс откладывается интенсивность флуоресценции клеток, а на оси ординат – число клеток с определенной интенсивностью флуоресценции (рис. 40).

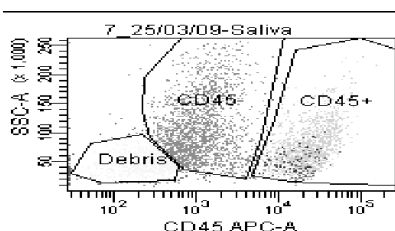


Рис. 40. Учет субпопуляций лимфоцитов.

Определение субпопуляций лимфоцитов. Определение содержания основных популяций лимфоцитов (морфологически представляющие собой единообразные клетки) основано на выявлении поверхностных антигенов (CD-дифференцировочных антигенов).

В настоящее время для определения поверхностных антигенов лимфоцитов (иммунофенотипирование) применяются моноклональные антитела, меченные флюорохромом, и проточный цитофлуориметр.

Этапы исследования:

1. Кровь, взятую из вены, добавляют в пробирку, содержащую антитела к поверхностным антигенам разных субпопуляций лимфоцитов.

2. Пробирка помещается в аппарат, где происходит учет клеток.

3. Результаты появляются на экране монитора и распечатываются.

Основные преимущества данного метода:

- Анализ большого количества клеток.
- Короткое время анализа.
- Детектирование субпопуляций клеток.
- Измерение редко встречающихся клеток.

- Объективное измерение интенсивности флюоресценции.
- Одновременное детектирование нескольких параметров на клетке.

Области применения проточной цитометрии в клинических исследованиях:

1. Иммунология.
2. Онкология, включая мониторинг пациентов, входящих в группу риска.
3. Трансплантология.
4. Общая гематология.
5. Диагностическое типирование клеток.

Определение иммуноглобулинов разных классов проводится иммуноферментным методом, описанным выше, с использованием моноклональных антител.

Применение технологий на основе биочипов.

Биочип – это небольшая (от нескольких миллиметров) пластинка из стекла, пластика или кремния, вмещающая до нескольких десятков тысяч упорядоченно нанесенных микротестов на основе ДНК или белков для проведения множественного анализа. Технология может быть использована в клинической диагностике для определения вирусов и микроорганизмов, гормонов, аллергенов, наркотиков, любых биоактивных веществ в малых концентрациях; в биологических и медико-биологических исследованиях; в криминалистике; для исследований в области экологии и биобезопасности. На сегодняшний день существуют три основных типа биочипов: ДНК-чипы, белковые и клеточные чипы (рис. 41).

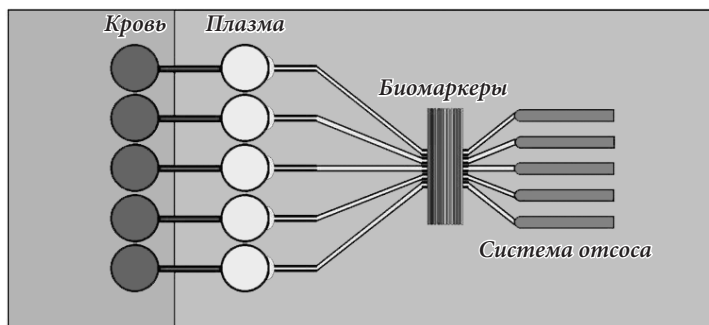


Рис. 41. Схема биочипа: площадка для капель крови, микроканалы для отделения плазмы, участок обнаружения биомаркеров и система отсоса.
(Иллюстрация Ivan Dimov.)

Методы иммунной реакции, применяемые в биочиповой технологии:

- 1) анализ сэндвич на биочипе;
- 2) анализ с захватом антитела на биочипе;
- 3) конкурентный анализ на биочипе.

Анализ сэндвич, как правило, применяется для обнаружения молекул с высокой молекулярной массой со множеством функциональных групп для связывания антитела. Антитела прикреплены к дискретным тест-областям (ДТО) на поверхности биочипа. Когда добавляют образец пациента, вмещающий интересующие анализируемые вещества, они связываются с областями, содержащими антитела на поверхности биочипа. Затем добавляется реактив, в котором находятся меченные ферментом антитела для обнаружения (то есть конъюгат), который связывается с вторичной функциональной группой захваченного анализируемого вещества (рис. 42).

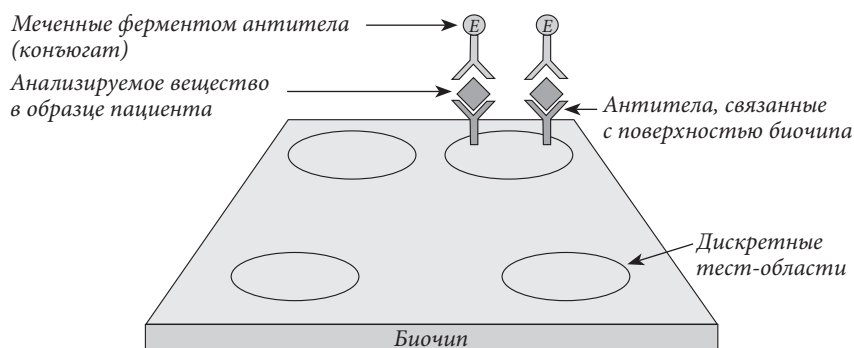


Рис. 42. Принцип анализа Сэндвич на биочипе.

После добавления сигнального реактива испускается световой сигнал, который прямо пропорционален концентрации анализируемого вещества в образце пациента. В случае отсутствия образца исчезают молекулы анализируемого вещества для связывания с поверхностью биочипа, и поэтому не образуется никакой сигнал. Следует отметить, что реактив с мечеными ферментом антителами содержит специфические антитела для всех дискретных тест-областей на поверхности биочипа. Для мечения антител используется пероксидаза хрена. Сигнальный реактив представляет собой универсальный субстрат, применяемый для всех дискретных тест-областей на поверхности биочипа.

Конкурентные методы иммунологического анализа нужны, как правило, для обнаружения молекул с низкой молекулярной массой, имеющих несколько функциональных групп для связывания с антителами.

Антитела прикреплены в дискретных тест-областях на поверхности биочипа, и затем добавляют анализируемое вещество, обработанное ферментом. В отсутствии образца пациента, меченое анализируемое вещество связывается с областями антител на поверхности биочипа, и после добавления сигнального реактива исходящий свет пропорционален концентрации связанного меченого анализируемого вещества (контроль). Когда же добавляют образец пациента, содержащий анализируемые вещества, последние конкурируют с мечеными веществами за сайты связывания антител. Это приводит к уменьшению количества связавшегося меченого вещества, и таким образом, будет уменьшаться исходящий световой сигнал. Исходящий световой сигнал в конкурентном анализе обратно пропорционален концентрации анализируемого вещества, присутствующего в образце пациента.

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ ТЕХНИКА

Хемилюминесценция представляет собой продуцирование света посредством химической реакции. Она используется в иммуноанализах для определения уровня анализируемого вещества в образце. В приборах с биочиповой технологией используют усиленный хемилюминесцентный субстрат с пероксидазой хрена (ПХ) в качестве метки для обнаружения антител или анализируемых веществ, связавшихся с поверхностью биочипа. Интенсивный испускаемый сигнал дает возможность обнаружения пикограмм антитела или антигена. Механизм реакции основан на реакциях окисления и восстановления, приводящих в результате к образованию свободных радикалов и излучению света. Пероксидаза вступает в реакцию с пероксидом с образованием промежуточного раствора 1. Соединение 1 вступает в реакцию с люминолом с образованием радикала люминола, который затем распадается с испусканием света. Молекулы усилителя восстанавливают свободные радикалы, что способствует реакции хемилюминесценции.

Усиление хемилюминесценции позволяет получить высокую чувствительность с малых тест-областей на поверхности биочипа.

Испускание света в результате реакции хемилюминесценции, которое происходит в дискретных областях на поверхности биочипа, обнаруживают и количественно определяют с применением камер с за-

рядовой связью (КЗС). КЗС одновременно регистрирует испускаемый свет со всех дискретных тест-областей на каждом из девяти биочипов, содержащихся в носителе биочипов. Затем для количественного определения сигнала запускается процесс визуализации, управляемый программным обеспечением. Следует особо отметить, что в этих приборах используют камеру с зарядовой связью, так как она позволяет визуализировать низкий уровень света вследствие ее чувствительности, линейной зависимости от испускаемых фотонов, широкого динамического диапазона и высокого пространственного разрешения, и в то же время, при поддержании приемлемой производительности по образцам. В отличие от пленки для регистрации изображения, у КЗС есть датчик, который преобразует свет, испускаемый вследствие хемилюминесцентной реакции, в электрический заряд. Камера с зарядовой связью собрана из матрицы тесно посаженных полисиликоновых проводящих электродов (фотообластей), располагающихся на силиконовом носителе и разделенных слоем изолирующего оксида. Когда испускается свет в результате хемилюминесценции, часть его поглощается полупроводящим веществом. Энергия заставляет электроны высвободиться, и позволяет им свободно течь в направлении электрического поля через фотообласть.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ V

Выберите один правильный ответ.

1. ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЧЕЛОВЕКА

- 1) тимус, костный мозг
- 2) сумка Фабрициуса у птиц, щитовидная железа
- 3) селезенка, лимфоидная ткань
- 4) лимфоузлы, селезенка

2. ПОНЯТИЕ «ИММУНИТЕТ» ОБОЗНАЧАЕТ

- 1) невосприимчивость организма к инфекционным болезням
- 2) способ защиты организма от живых тел и веществ, несущих на себе признаки генетической чужеродности
- 3) способность различать свои и чужеродные структуры
- 4) обеспечение целостности внутренней структуры организма

3. НАЗОВИТЕ ОСОБЕННОСТИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

- 1) она строго ограничена от других органов и систем
 - 2) она находится в одном органе
 - 3) ее клетки постоянно рециркулируют через кровоток по всему телу
 - 4) все перечисленное
4. КЛЕТКАМИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ЯВЛЯЮТСЯ
- 1) лимфоциты
 - 2) макрофаги
 - 3) астроциты
 - 4) дендритные клетки
5. ВИЛОЧКОВАЯ ЖЕЛЕЗА (ТИМУС) ПОСТАВЛЯЕТ В ПЕРИФЕРИЧЕСКУЮ КРОВЬ
- 1) В-лимфоциты
 - 2) дендритные клетки
 - 3) моноциты
 - 4) Т-хелперы и Т-эффекторы
6. К ПЕРИФЕРИЧЕСКИМ ОРГАНАМ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЧЕЛОВЕКА ОТНОСЯТ
- 1) лимфатические узлы, селезенку
 - 2) тимус, красный костный мозг
 - 3) щитовидную железу, вилочковую железу
 - 4) костный мозг, надпочечники
7. ОСНОВНЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ЯВЛЯЮТСЯ
- 1) CD4+, CD8+
 - 2) CD20+, CD22+
 - 3) CD16+, CD56+
 - 4) плазматические клетки
8. ОРГАНОМ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ, В КОТОРОМ ПРОИСХОДИТ СОЗРЕВАНИЕ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-ЛИМФОЦИТОВ, ЯВЛЯЕТСЯ
- 1) костный мозг
 - 2) вилочковая железа (тимус)
 - 3) селезенка
 - 4) лимфатические узлы
9. ОСНОВНОЕ МЕСТО ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ В-ЛИМФОЦИТОВ

- 1) костный мозг
- 2) селезенка
- 3) вилочковая железа
- 4) лимфатические узлы

10. Т-ЛИМФОЦИТЫ

- 1) осуществляют антителозависимую цитотоксичность
- 2) отвечают за развитие клеточных иммунологических реакций в виде гиперчувствительности замедленного типа
- 3) являются клетками-антителопродуцентами
- 4) осуществляют презентацию антигена

11. В-ЛИМФОЦИТЫ

- 1) являются иммунорегуляторными клетками
- 2) обеспечивают противовирусный иммунитет
- 3) трансформируются в клетки памяти
- 4) в ответ на антиген трансформируются в плазматические клетки, синтезирующие антитела

12. ОСНОВНЫМИ КРИТЕРИЯМИ ДЕЛЕНИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ НА СУБПОПУЛЯЦИИ ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) физические параметры клетки (размер, форма и пр.)
- 2) функциональные особенности
- 3) экспрессия на клеточной поверхности специфических антигенов
- 4) особенности морфологической структуры клетки

13. Т-ЛИМФОЦИТЫ-ПОМОЩНИКИ II ТИПА

- 1) обеспечивают реакции гиперчувствительности замедленного типа
- 2) стимулируют В-лимфоциты к пролиферации и дифференцировке в антителопродуцирующие (плазматические) клетки
- 3) тормозят выработку антител
- 4) обеспечивают становление и поддержание иммунологической толерантности

14. К МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЕ ОТНОСЯТ

- 1) нейтрофильные гранулоциты
- 2) моноциты, макрофаги
- 3) лимфоциты
- 4) дендритные клетки

15. ОЦЕНКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ВКЛЮЧАЕТ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТОЯНИЯ
- 1) В-системы иммунитета
 - 2) Т-системы иммунитета
 - 3) системы фагоцитоза
 - 4) все верно
16. ПОКАЗАНИЯМИ К ПРОВЕДЕНИЮ ОЦЕНКИ ИММУННОГО СТАТУСА У ЧЕЛОВЕКА ЯВЛЯЮТСЯ
- 1) тяжелое течение инфекций, хроническое течение воспаления
 - 2) неэффективность проводимой терапии
 - 3) развитие осложнений, аутоиммунные заболевания
 - 4) все верно
17. ДЛЯ ОЦЕНКИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИМЕНЯЮТ МЕТОДЫ
- 1) определение СД3-СД19+ лимфоцитов
 - 2) определение иммуноглобулинов А, М, G
 - 3) определение иммуноглобулина Е
 - 4) все верно
18. ДЛЯ ОЦЕНКИ КЛЕТЧНОГО ИММУНИТЕТА ИСПОЛЬЗУЮТ
- 1) подсчет количества В-лимфоцитов
 - 2) подсчет количества Т-лимфоцитов
 - 3) определение Т-лимфоцитов-помощников
 - 4) все верно
19. ДЛЯ ОЦЕНКИ СИСТЕМЫ ФАГОЦИТОЗА ИССЛЕДУЮТ КЛЕТКИ
- 1) лимфоциты
 - 2) тучные
 - 3) тимоциты
 - 4) фагоциты
20. КРИТЕРИЯМИ ОЦЕНКИ СИСТЕМЫ ФАГОЦИТОЗА ЯВЛЯЮТСЯ
- 1) определение подвижности фагоцитарных клеток
 - 2) определение кислородзависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов
 - 3) определение кислороднезависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов
 - 4) все перечисленное

21. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ – СЫВОРОТОЧНЫЕ БЕЛКИ, ОТНО-
СЯЩИЕСЯ К ФРАКЦИИ

- 1) α -глобулинов
- 2) β -глобулинов
- 3) γ -глобулинов
- 4) все перечисленное

22. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ СИНТЕЗИРУЮТСЯ

- 1) в плазматических клетках
- 2) в Т-лимфоцитах
- 3) в полиморфноядерных лейкоцитах
- 4) в макрофагах

23. КОЛИЧЕСТВО КЛАССОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

- 1) 1
- 2) 2
- 3) 3
- 4) 5

24. АКТИВНЫМ ЦЕНТРОМ МОЛЕКУЛЫ АНТИТЕЛА ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) константные участки полипептидных цепей
- 2) переменные участки полипептидных цепей
- 3) легкие цепи молекулы антитела
- 4) тяжелые цепи молекулы антитела

25. ОСНОВНОЙ ФУНКЦИЕЙ АКТИВНОГО ЦЕНТРА МОЛЕКУЛЫ
АНТИТЕЛА ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) фиксация антител к клеткам организма
- 2) фиксация компонентов комплемента
- 3) связь с антигеном
- 4) активация системы комплемента

26. СВОЙСТВА ИММУНОГЛОБУЛИНА G

- 1) проходит через плаценту
- 2) имеет 4 подкласса
- 3) обеспечивает защиту против инфекций
- 4) верно все перечисленное

27. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ СЕКРЕТОРНОГО ИММУНОГЛОБУ-
ЛИНА A ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В УЧАСТИИ

- 1) в немедленных аллергических реакциях
- 2) в формировании системы местного иммунитета (s IgA) и общей системы нейтрализации аллергенов различного происхождения
- 3) в реакциях замедленной гиперчувствительности
- 4) в иммунокомплексных аллергических реакциях

28. УРОВЕНЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ОСНОВНЫХ КЛАССОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ С ПОМОЩЬЮ

- 1) реакции агглютинации
- 2) реакции бласттрансформации
- 3) иммуноферментного метода
- 4) НСТ-теста

29. СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА

- 1) представляет собой большую группу взаимодействующих между собой белков и гликопротеинов сыворотки крови
- 2) участвует в воспалительных реакциях
- 3) участвует в псевдоаллергических реакциях
- 4) верно все перечисленное

30. ПРИЧИНОЙ НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОНЕВРОТИЧЕСКОГО ОТЕКА ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) дефицит C1-эстеразы
- 2) дефицит ингибитора C1-эстеразы
- 3) дефицит C5
- 4) активация C3

Контроль качества иммунологических методов в клинической диагностической лаборатории

Независимо от условий и формы организации лабораторного обеспечения результаты клинических лабораторных исследований должны удовлетворять медицинским требованиям к аналитической надежности, клинической информативности и своевременности выполнения – отвечать требованиям международного стандарта по качеству ISO 9001:2000 и национального стандарта ГОСТ Р ИСО 9001-2001.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ И ЭТАПЫ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

1.1. Текущий контроль качества.

Внутрилабораторный контроль качества предполагает проверку всех процедур лабораторного исследования биоматериалов на всех его этапах, начиная с подготовки пациента и до использования результатов в клинике. В соответствии с этим контроль качества включает следующие этапы:

1. Преданалитический. Контролю подлежат процедуры: подготовка пациента, забор биоматериала, идентификация проб, первичная обработка проб, использование консервантов, транспортировка проб, хранение проб до выполнения анализа.

2. Аналитический. Контролю подлежат: дозирование проб и реагентов, проведение реакции (перемешивание, термостатирование, время реакции и т.п.), измерение (фотометрирование, подсчет клеток и т.п.), расчет результатов и др.

3. Постаналитический. Контролю подлежат: оформление бланка с результатами, оценка результата, доведение результата до сведения лечащего врача.

Аналитический этап внутрилабораторного контроля качества подразделяется:

- на *превентивный контроль* – установление аналитических характеристик метода и мер по поддержанию их на должном уровне (т.е. как надо работать, чтобы получать точные результаты);

- на *оперативный контроль* – анализ результатов и контроль измерительных средств сразу же после расчета результатов (например, контроль оптической плотности, калибровки, температуры инкубатора и/или измерительной кюветы и т.п.);
- на *ретроспективный или статистический контроль* – ведение контрольных карт и анализ качества работы лаборатории по ним.

Превентивный контроль качества заключается в предварительном исследовании еще до ввода метода в рутинный анализ таких аналитических характеристик метода, как:

- воспроизводимость (случайная составляющая полной ошибки результата). При этом необходимо исследовать воспроизводимость в серии (которую иногда называют сходимостью), воспроизводимость между сериями (для лабораторий, выполняющих более одной серии в день) и воспроизводимость между днями;
- правильность (систематическая составляющая полной ошибки результата);
- аналитический диапазон (линейность);
- чувствительность и минимально определяемое количество;
- специфичность.

Если в лаборатории применяются только коммерческие методы и готовые реактивы, то в инструкциях к методам, как правило, указаны аналитический диапазон, чувствительность и специфичность. Лаборатории требуется только принять их во внимание и учитывать при работе. В этом случае необходимо оценить только воспроизводимость и правильность, т.к. они зависят не только от используемого метода, но и от самой лаборатории (квалификация персонала, условия окружающей среды, качество приборов и реактивов, качество обработки лабораторной посуды дезинфицирующими средствами и др.).

Если же лаборатория использует самостоятельно приготовленные реактивы, то она должна провести исследование всех вышеперечисленных характеристик.

Оперативный контроль подразумевает:

- проверку всех результатов измерений (например, оптических плотностей, флуоресценции и т.п.). Все результаты измерений должны уложиться в допустимый диапазон, обычно указанный в инструкции к прибору;
- контроль рассчитанных концентраций в пробах. Все концентрации должны уложиться в допустимый диапазон (аналитический диапазон) используемого метода;

- контроль результатов измерений пробы с нулевой концентрацией (бланка) и контрольного материала. Результаты измерений бланка и контрольного материала должны уложиться в определенные границы, зависящие от используемого метода;
- контроль калибровки, например, ее крутизны (калибровка не должна быть слишком крутой или слишком полой), характера (возрастающая или убывающая), результатов измерения стандартов (калибраторов) и т.п.;
- визуальный контроль воспроизводимости, если используются дубликаты;
- контроль вида кинетической зависимости (наклон, линейность и т.д.) при кинетических измерениях;
- контроль условий проведения реакции (температуры и т.п.).

Все конкретные требования для процедур оперативного контроля и перечень этих процедур должны быть сформулированы на этапе превентивного контроля качества.

1.2. Ретроспективный контроль качества.

Основной задачей ретроспективного контроля качества является регулярный контроль воспроизводимости и правильности используемых методов с целью раннего выявления изменений их характеристик и поддержания этих характеристик на неизменном уровне.

Для того чтобы контроль качества был эффективным, он должен быть простым, оперативным в выполнении и информативным.

Одним из наиболее эффективных решений этой задачи может стать ведение так называемых контрольных карт. Наиболее широко используется контрольная карта Леви-Дженнингса (Шухарта).

1.3. Контрольная карта с использованием контрольных материалов (контроль правильности и воспроизводимости) или слитой сыворотки (контроль воспроизводимости).

Измерение контрольного материала должно проводиться не менее одного раза за серию, а крупные лаборатории должны проводить измерение контрольного материала 2-3 раза за серию. Обычно на карту наносят все контрольные результаты в порядке их поступления. Крупные лаборатории, измеряющие контрольный материал более одного раза за серию, могут вести контрольную карту «по средним», т.е. наносить на карту среднее значение по всем измерениям данного контрольного материала в серии.

Каждый раз при получении новой партии контрольного материала (с другими значениями параметров) необходимо построить новую контрольную карту.

1.4. Контрольные материалы для исследований.

Контрольным материалом называется субстанция, в которой концентрация исследуемого вещества сохраняется на определенном постоянном уровне в течение достаточно длительного промежутка времени (при соблюдении определенных правил хранения). Благодаря этому основному свойству результаты измерения концентрации вещества в контрольном материале могут быть использованы для контроля воспроизводимости проводимых измерений. Кроме того, концентрации веществ в контрольных материалах могут быть аттестованы в специальных (референтных) лабораториях. В этом случае такие материалы могут использоваться для контроля правильности. Контрольные материалы с аттестованными концентрациями компонентов имеют преимущество в том, что позволяют контролировать сразу и воспроизводимость, и правильность измерения.

ВНЕШНИЙ (МЕЖЛАБОРАТОРНЫЙ) КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества лабораторных исследований не исчерпывается процедурами внутреннего контроля качества, другой необходимой и взаимодополняющей формой контроля служит внешний контроль качества. В настоящее время государственные программы внешнего контроля качества разработаны во всех развитых странах.

В нашей стране контроль качества лабораторных исследований в масштабах системы здравоохранения осуществляется Федеральной системой внешней оценки качества (ФСВОК). Работа ФСВОК направлена на выявление реальных погрешностей в рутинной работе лабораторий при анализе реальных проб. Для этого центр внешнего контроля качества рассылает в лаборатории образцы контрольных материалов. Лаборатории проводят исследования контрольных образцов. Результаты, полученные лабораториями, поступают в центр внешнего контроля и обрабатываются.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ VI

Выберите один правильный ответ.

1. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ, КОТОРУЮ НЕСЕТ МЕДИЦИНСКИЙ РАБОТНИК, НЕ СВЯЗАННЫЙ С НЕБРЕЖНЫМ ОТНОШЕНИЕМ К ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМ ОБЯЗАННОСТЯМ
 - 1) освобождение от ответственности

- 2) уголовную ответственность
 - 3) гражданско-правовую ответственность
2. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА ВРЕД, ПРИЧИНЕННЫЙ ЗДОРОВЬЮ ПАЦИЕНТА ПРИ ОКАЗАНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ, НЕСЕТ
- 1) медицинский работник
 - 2) медицинское учреждение
 - 3) органы управления здравоохранением
3. ВРАЧ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОТВЕЧАЕТ ЗА ПОСТАНОВКУ ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА НА ЭТАПЕ
- 1) лабораторного периода анализа
 - 2) долабораторного этапа анализа
 - 3) аналитической стадии
 - 4) послелабораторного этапа
 - 5) за все перечисленные стадии анализа
4. В РАЙОНЕ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОРМЫ НУЖНО ОРИЕНТИРОВАТЬСЯ НА ЗНАЧЕНИЯ АНАЛИТОВ
- 1) приведенные в справочной литературе
 - 2) приведенные в инструкциях к использованным наборам
 - 3) референтные значения контрольных сывороток
 - 4) выведенные для данной местности и приведенные в бланке лаборатории
 - 5) любого из перечисленных источников
5. НА РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА МОГУТ ПОВЛИЯТЬ СЛЕДУЮЩИЕ ФАКТОРЫ ВНЕЛАБОРАТОРНОГО ХАРАКТЕРА
- 1) физическое и эмоциональное напряжение больного
 - 2) циркадные ритмы, влияние климата
 - 3) положение тела
 - 4) прием медикаментов
 - 5) все перечисленное
6. НА РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА МОГУТ ВЛИЯТЬ СЛЕДУЮЩИЕ ФАКТОРЫ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО ХАРАКТЕРА
- 1) условия хранения пробы

- 2) характер пипетирования
 - 3) гемолиз, липемия
 - 4) используемые методы
 - 5) все перечисленные
7. В СОПРОВОДИТЕЛЬНОМ БЛАНКЕ К МАТЕРИАЛУ, ПОСТУПАЮЩЕМУ В ЛАБОРАТОРИЮ, ДОЛЖНО БЫТЬ УКАЗАНО СЛЕДУЮЩЕЕ, КРОМЕ
- 1) Ф.И.О. больного (№ истории болезни)
 - 2) вид исследования
 - 3) предполагаемый диагноз
 - 4) фамилия лечащего врача
 - 5) метод исследования
8. ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАКОГО ИЗ АНАЛИЗОВ НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ОБЯЗАТЕЛЬНЫМ ТРЕБОВАНИЕ 12 ЧАСОВОГО ВОЗДЕРЖАНИЯ ОТ ПРИЕМА ПИЩИ
- 1) триглицерин, холестерин
 - 2) общий анализ крови
 - 3) общий белок
 - 4) ферменты сыворотки (ЩФ-альфа-амилаза)
9. НАИБОЛЕЕ ЧАСТО ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЕ ПОГРЕШНОСТИ СВЯЗАНЫ
- 1) с низкой квалификацией персонала
 - 2) с недобросовестным отношением к работе
 - 3) с неправильными расчетами, ошибками при приготовлении реактивов
 - 4) с использованием устаревшего оборудования, малочувствительных, неспецифических методов
 - 5) все перечисленное верно
10. ВИДЫ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ПОГРЕШНОСТЕЙ
- 1) методические
 - 2) зависящие от приборов
 - 3) оперативные
 - 4) зависящие от реактивов
 - 5) все перечисленные
11. ПОГРЕШНОСТЬ НЕЛЬЗЯ ВЫЯВИТЬ

- 1) методом параллельных проб
 - 2) выбором аналитического метода
 - 3) последовательной регистрацией анализов
 - 4) обсуждением результата с лечащим врачом
 - 5) пересчетом результата в другой системе единиц измерения
12. ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ РЕКОМЕНДУЕТСЯ ИСПОЛЬЗОВАТЬ
- 1) водные растворы субстратов
 - 2) донорскую кровь
 - 3) промышленную сыворотку (жидкую или лиофилизированную)
 - 4) реактивы зарубежных фирм
 - 5) сыворотку крови больного
13. ПРИ РАБОТЕ С КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКОЙ ПОГРЕШНОСТЬЮ ЯВЛЯЕТСЯ
- 1) использование контрольной сыворотки в качестве калибратора
 - 2) несоблюдение времени растворения пробы
 - 3) хранение контрольной сыворотки при комнатной температуре
 - 4) многократное замораживание контрольной сыворотки
 - 5) все перечисленные
14. ВЫБОР СООТВЕТСТВУЮЩЕГО СРЕДСТВА КОНТРОЛЯ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ
- 1) идентичностью его по физико-химическим свойствам анализируемому образцу
 - 2) стабильностью при хранении, минимальной вариабельностью внутри серии
 - 3) возможностью контролировать весь аналитический процесс
 - 4) всеми перечисленными факторами
 - 5) ни одним из перечисленных факторов
15. КОНТРОЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПО СВОЙСТВАМ И ВНЕШНЕМУ ВИДУ
- 1) могут быть произвольными
 - 2) должны иметь сходство с клиническим материалом
 - 3) должны быть тождественными клиническому материалу
 - 4) должны быть стойкими к замораживанию
 - 5) все перечисленное верно

16. КОНТРОЛЬНЫЙ МАТЕРИАЛ ОТВЕЧАЕТ ТРЕБОВАНИЯМ

- 1) высокая стабильность
- 2) минимальная межфлаконная вариация
- 3) доступность в большом количестве
- 4) удобство и простота в повседневном использовании
- 5) все перечисленные качества

17. ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) гемолизат
- 2) консервированную или стабилизированную кровь
- 3) фиксированные клетки крови
- 4) контрольные мазки
- 5) все перечисленное

18. НА ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ ВЛИЯЕТ

- 1) центрифугирование
- 2) пипетирование
- 3) осаждение
- 4) изменение температуры
- 5) все перечисленное

19. СТАТИСТИЧЕСКИМ КРИТЕРИЕМ СХОДИМОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) средняя арифметическая
- 2) допустимый предел ошибки
- 3) коэффициент вариации
- 4) стандартное отклонение
- 5) все перечисленное

20. СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ ОТРАЖАЕТ ВЕЛИЧИНУ

- 1) случайной ошибки в абсолютных значениях
- 2) случайной ошибки в процентах
- 3) систематической ошибки
- 4) как случайной, так и систематической ошибки
- 5) все перечисленное

21. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА, ЭТАПЫ ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА

- 1) преданалитический
- 2) аналитический
- 3) постаналитический
- 4) все перечисленное верно
- 5) все перечисленное неверно

22. КОЭФФИЦИЕНТ ВАРИАЦИИ ИСПОЛЬЗУЮТ ДЛЯ ОЦЕНКИ

- 1) воспроизводимости
- 2) чувствительности метода
- 3) правильности
- 4) специфичности метода
- 5) всех перечисленных характеристик

23. ДЛЯ КОЭФФИЦИЕНТА ВАРИАЦИИ ВЕРНО СЛЕДУЮЩЕЕ

- 1) отражает воспроизводимость и сходимость в относительном значении (процентах)
- 2) его можно использовать для сравнительной оценки аналитических характеристик разных показателей
- 3) чем больше значение коэффициента вариации, тем хуже воспроизводимость
- 4) для одного и того же показателя коэффициента вариации сходимости всегда меньше, чем коэффициент вариации воспроизводимости из дня в день
- 5) все перечисленное верно

24. ДЛЯ ДОСТИЖЕНИЯ ВОСПРОИЗВОДИМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛАБОРАТОРНЫХ АНАЛИЗОВ НУЖНО ИМЕТЬ

- 1) обученный персонал
- 2) современные средства дозирования
- 3) автоматизированные анализаторы
- 4) оборудованные рабочие места
- 5) все перечисленное

25. КОНТРОЛЬНАЯ КАРТА – ЭТО

- 1) перечень нормативных величин
- 2) порядок манипуляций при проведении анализа
- 3) схема расчета результатов
- 4) графическое изображение сопоставимых измеряемых величин по мере их получения
- 5) все перечисленное

26. ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ КОНТРОЛЬНОЙ КАРТЫ ДОСТАТОЧНО
НА ОСНОВЕ МНОГОКРАТНЫХ ИЗМЕРЕНИЙ ОПРЕДЕЛИТЬ
СЛЕДУЮЩИЕ СТАТИСТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

- 1) среднюю арифметическую
- 2) среднюю арифметическую плюс стандартное отклонение
- 3) допустимый предел ошибки плюс
- 4) коэффициент вариации
- 5) все перечисленное

Эталоны ответов на тестовые задания

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ I

1-2	2-1	3-4	4-3	5-5
6-1	7-3	8-3	9-1	10-2
11-3	12-4	13-2	14-1	15-3
16-4	17-2	18-3	19-3	

ОТВЕТЫ К СИТУАЦИОННЫМ ЗАДАЧАМ К ГЛАВЕ I

1	2	3
A-3; Б-4; В-1; Г-2	A-3; Б-5; В-1; Г-2; Д-4	A-2,4; Б-1,3

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ II

1-1	2-3	3-3	4-2	5-2	6-4	7-2	8-2	9-5
10-5	11-5	12-1	13-1	14-2	15-4	16-2	17-2	18-3
19-4	20-3	21-1	22-3	23-3	24-3	25-4	26-2	27-5
28-3	29-3	30-3	31-4	32-2	33-1	34-1	35-4	36-2
37-3	38-1	39-5	40-5	41-3	42-3	43-4	44-3	45-1

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ III

1-1	2-2	3-1	4-1	5-1	6-1
7-1	8-5	9-1	10-4	11-5	12-3
13-1	14-2	15-2	16-1	17-1	18-2
19-1	20-1	21-1	22-2	23-3	24-1
25-1	26-3	27-4	28-1	29-3	30-1

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ IV

1-2	2-4	3-2	4-2	5-1	6-4	7-1	8-3	9-1	10-3
11-2	12-1	13-1	14-3	15-2	16-1	17-3	18-3	19-2	20-4
21-3	22-1	23-1	24-4	25-4	26-2	27-1	28-1	29-2	30-4
31-2	32-3	33-2	34-3	35-1	36-3	37-1, 2, 3	38-2	39-1	40-4
41-2	42-1	43-3	44-1	45-2	46-3	47-1	48-3	49-3	50-2

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К ГЛАВЕ V

1- 1	2-2	3-3	4-1	5-4	6-1	7-1	8-2	9-1	10-2
11-3	12-2	13-2	14-2	15-4	16-4	17-4	18-4	19-4	20-4
21-3	22-1	23-4	24-2	25-3	26-4	27-2	28-3	29-4	30-2

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ К VI

1-3	2-2	3-5	4-4	5-5	6-5	7-5	8-3	9-5	10-5
11-5	12-3	13-5	14-4	15-3	16-4	17-5	18-5	19-3	20-1
21-4	22-1	23-5	24-5	25-4	26-2				

Рекомендуемая литература

1. Воробьев А.А. Быков А.С. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – М. : Медицинское информационное агентство, 2013. – 236 с.
2. Долгих Т.И., Баринов С.В., Кадцына Т.В. Диагностическое значение антител к аннексину и к В2-гликопротеину для верификации активного течения герпесвирусных инфекций у беременных / Клиническая лабораторная диагностика. – №5. – 2014. – С. 44-47.
3. Иммунология. Практикум : учебное пособие / под ред. Л.В. Ковальчука, Г.А. Игнатъевой, Л.В. Ганковской. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 176 с.
4. Лапин В.С. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний / С.В. Лапин, А.А. Тотолян. – С-Пб. : Человек, 2010. – 272 с.
5. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник с прил. на компакт-диске: в 2-х томах / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Т.2. – 480 с.
6. Наглядная иммунология. Color Atlas of Immunology / Бурмистер Г.Р., Пецутто А., Улрихс Т., Айхер А. – Бином. Лаборатория знаний. – 2014. – 320 с.
7. Хаитов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы: учебное пособие. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 280 с.
8. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Иммунология : атлас. – М. – 2011. – 624 с.
9. Федорова М.М., Абрашкина Н.Н., Долгов В.В. Сертификация и аккредитация клиничко-диагностической лаборатории. Клиническая лабораторная диагностика. – №6. – 2014. – С. 62-69.

Содержание

Список сокращений	3
Введение	5
Глава I. Основные понятия, термины и определения	8
Тестовые задания к главе I	16
Ситуационные задачи к главе I	19
Глава II. Иммунологические методы в клинической лабораторной диагностике: способы оценки взаимодействия антиген–антитело, применяемые для диагностики бактериальных инфекций	21
Тестовые задания к главе II	51
Глава III. Методы оценки взаимодействия антиген–антитело, применяемые для диагностики вирусных инфекций. Методы индикации и идентификации вирусов	60
Тестовые задания к главе III	71
Глава IV. Методы оценки взаимодействия антиген–антитело, применяемые в иммуногематологии	77
Тестовые задания к главе IV	83
Глава V. Методы оценки взаимодействия антиген–антитело, применяемые для диагностики системы иммунитета	93
Тестовые задания к главе V	99
Глава VI. Контроль качества иммунологических методов в клинической диагностической лаборатории	105
Тестовые задания к главе VI	108
Эталоны ответов на тестовые задания	115
Рекомендуемая литература	117

Учебное издание

Просекова Елена Викторовна
Забелина Наталия Робертовна
Сабыныч Виталий Александрович

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ**

Учебное пособие

Редактор И.М. Забавникова
Корректор И.М. Луговая
Верстка Е.С. Аношина

Подписано в печать 14.12.2015.
Формат 60×84/16. Усл.-печ. л. 8
Тираж 100 экз. Заказ №457.

Издательство «Медицина ДВ»
690600, г. Владивосток, пр. Острякова, 4

Отпечатано в типографии «Рея»
690600, г. Владивосток, ул. Днепровская, 42б