



СЕРО- И ГЕНОДИАГНОСТИКА

Рисунки для презентаций
(Ссылка: Internet < 2008 г.)

Я слышу и забываю
Я вижу - и запоминаю
Я делаю - и понимаю

Конфуций - 6-й век до н.э.



СЕРОДИАГНОСТИКА

[ЧАСТЬ 1. РА, РП, РСК, РН]



Рисунки разных
источников интернета



elitechgroup.com

SERODIAGNOSIS

Serum - сыворотка

- Сыворотка – это свернутая плазма (кровь) без сгустка.
- Антисыворотка (А-Св) – сыворотка, содержащая специфические антитела (противодифтерийная сыворотка ...).

Методы диагностики инфекции

Прямые

(выявления возбудителя)

- Микробиологический анализ
- Методы выявления Ag (антигенов)
- Микроскопия
- Генодиагностика

Косвенные

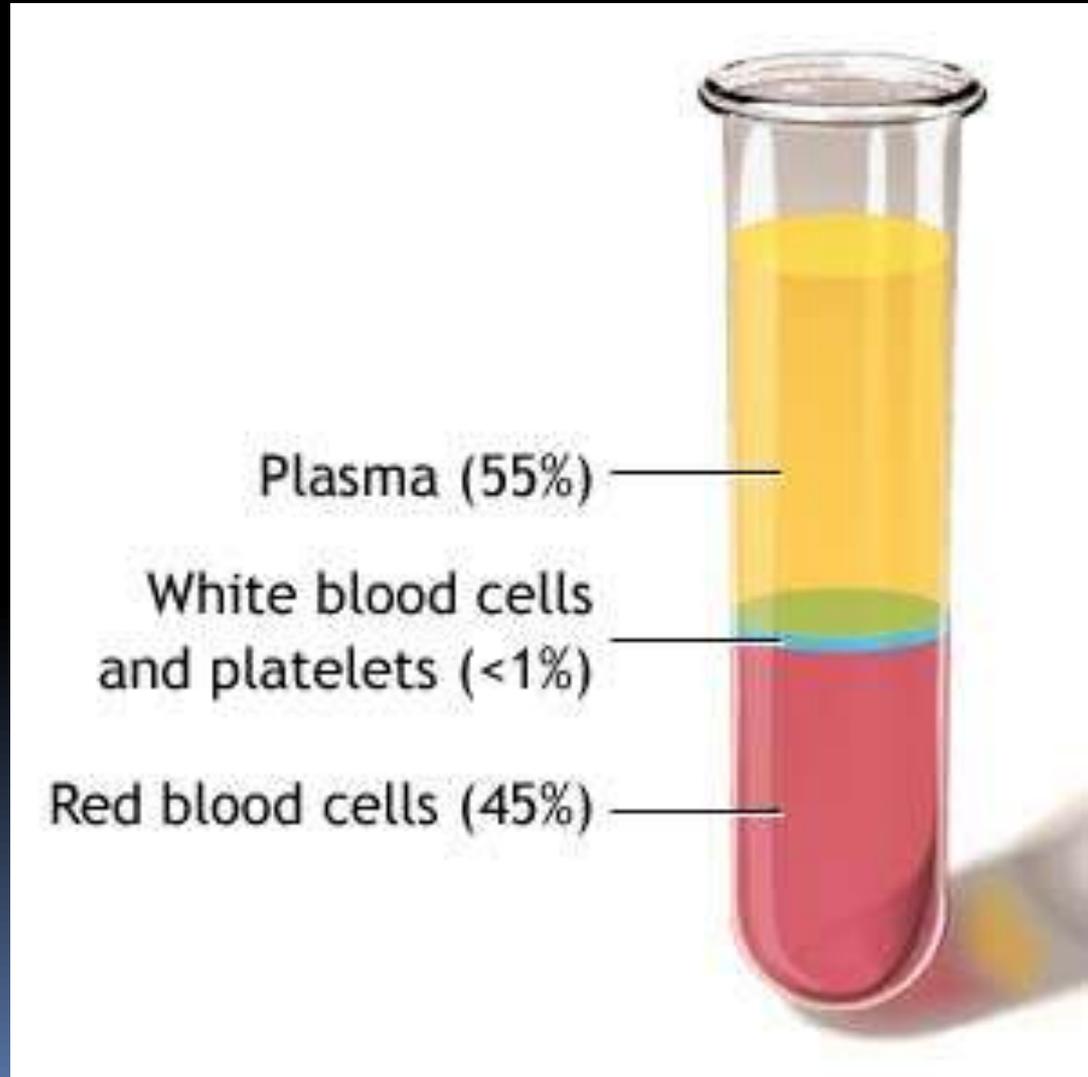
(выявление эффекта)

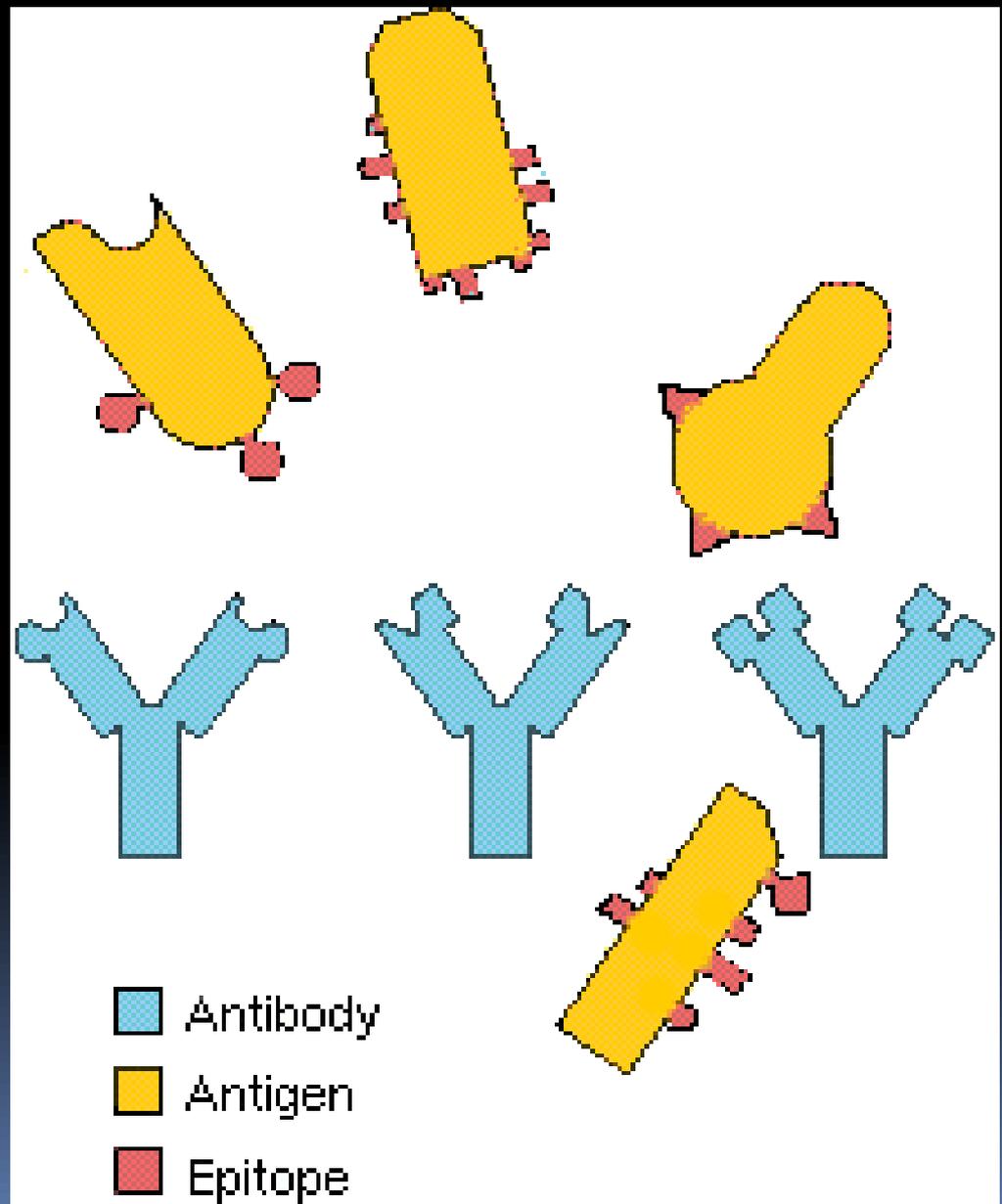
- Методы выявления антител
- Инструментальный анализ
- Гистология

Получение сыворотки (=Св; Св - это свернутая плазма без сгустка)

- **Кровь берется в пустую емкость** (можно с шариками; без антикоагулянтов)
- **Ретракция** (= сокращение сгустка) за счет тромбоспондина тромбоцитов (37° С ~40 минут)
- Отслаивается желтая жидкость – **сыворотка** (центрифугируем для отделения от примесей эритроцитов)

Пробирка с осевшими эритроцитами (с антикоагулянтом)

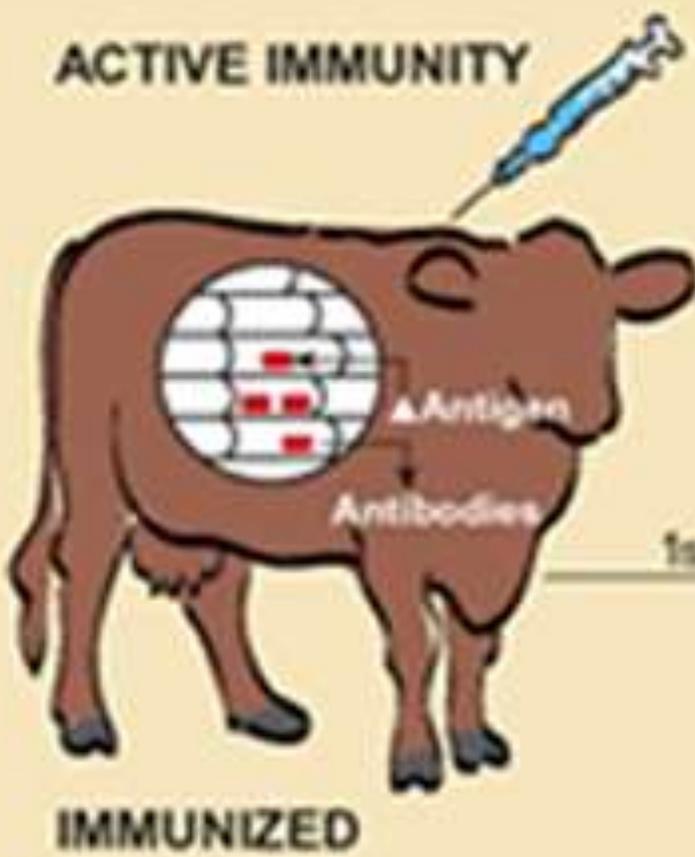




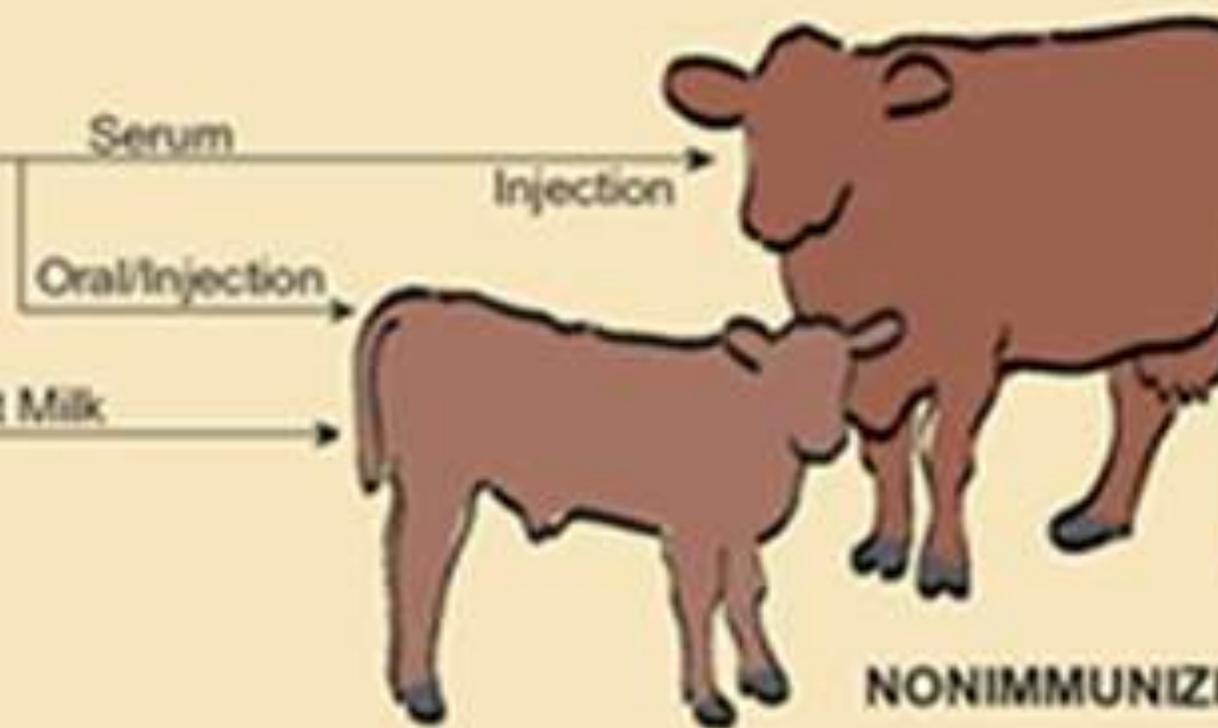
Получение антисыворотки (= А-Св)

- Вводим АГ млекопитающему несколько раз (с адъювантом)
- Через ~месяц берем пробно кровь → Св → Проверяем титр АТ
- **30% крови или 50% (→ 50% смертность) → Св → + консервант → Использование**

ACTIVE IMMUNITY

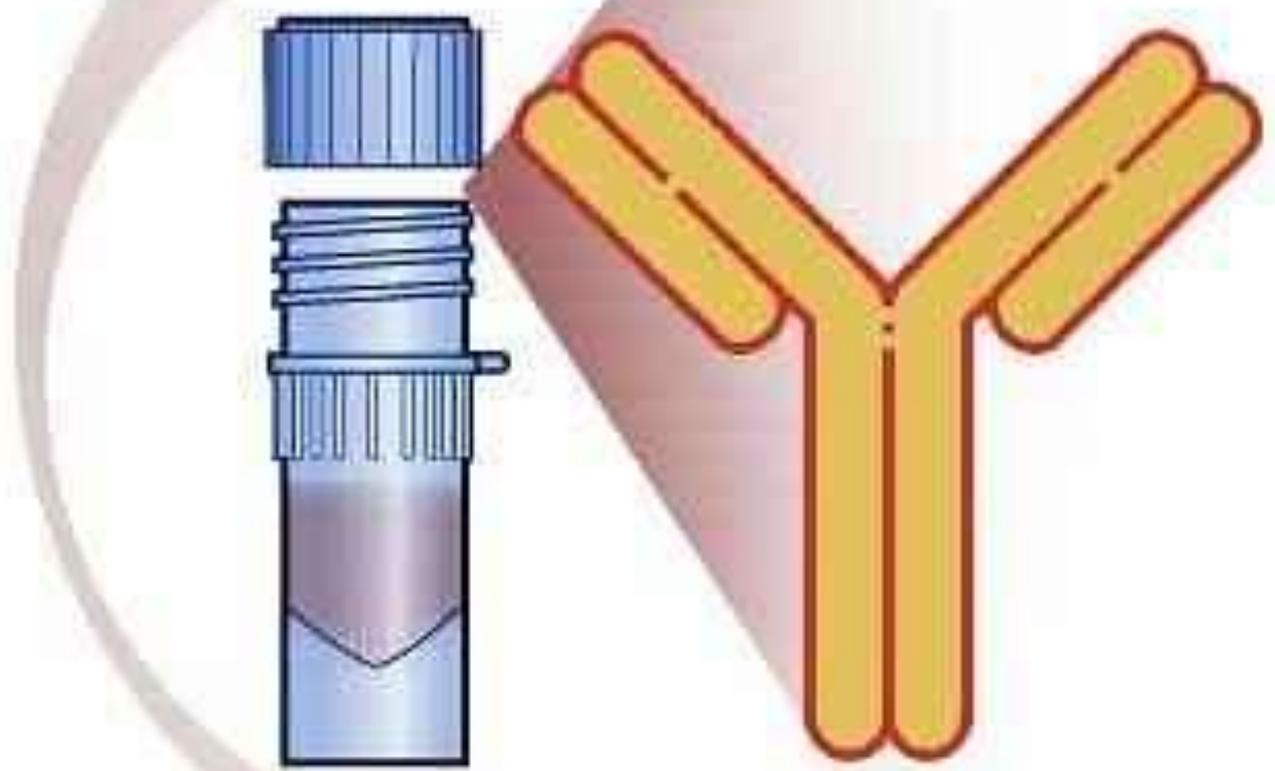


PASSIVE IMMUNITY



Адьювант – депо для АГ
(для медленного рассасывания).

- Неполные (без иммуностимулятора)
- Полные (с иммуностимулятором)

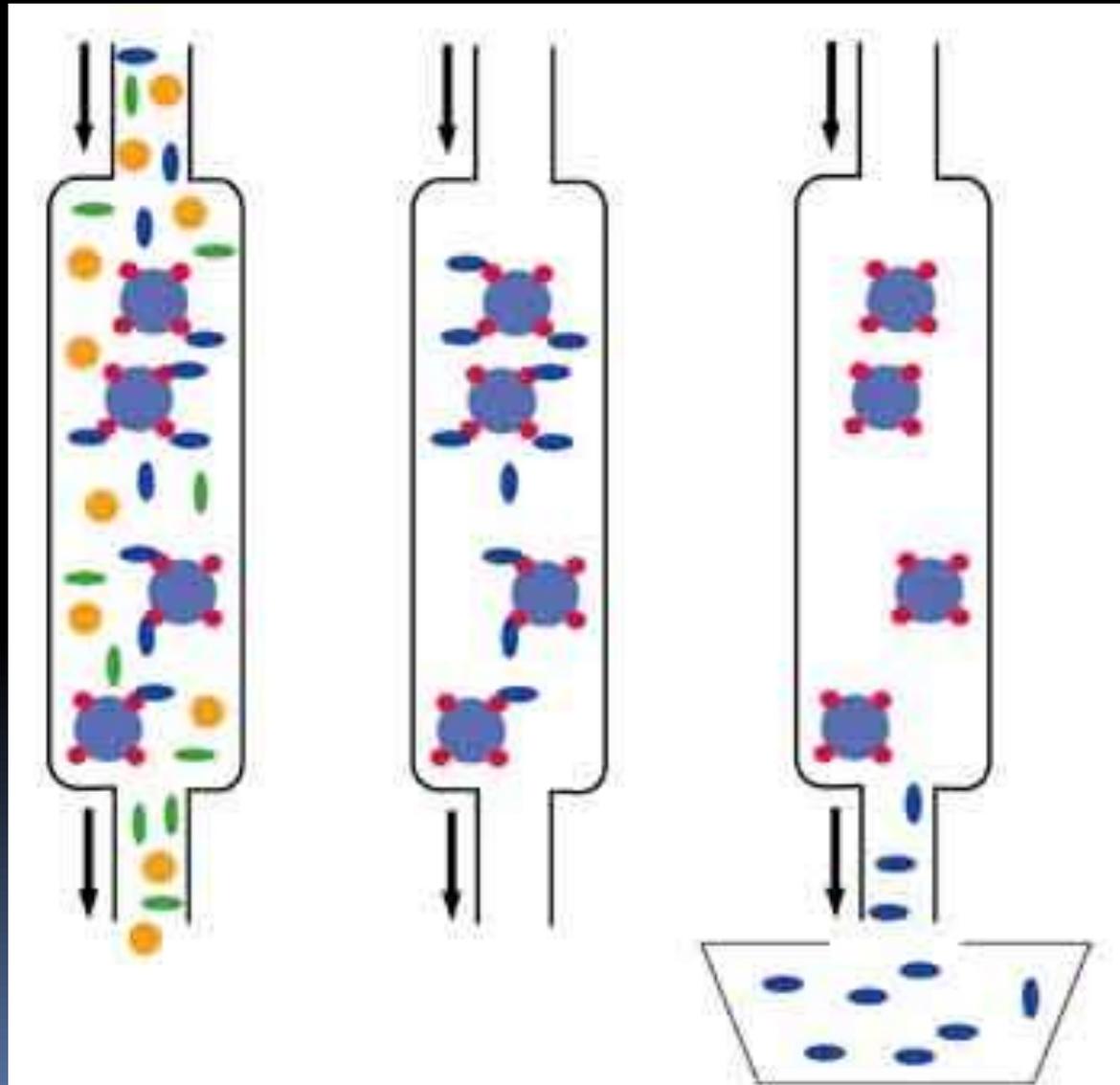




Очистка антисывороток

- Спиртовое осаждение
 - Высаливание
 - Аффинная хроматография
 - ...
- 

Аффинная хроматография (очистка АТ)



!!!

Для проведения сер.реакций все Св инактивируются по СК (системе комплемента) при 52° в течение 20-30 минут.

[При более высокой температуре (56 градусов) идет денатурация Ig.]

Содержание части 1.

- РА
- РП
- РСК

Сравнительная чувствительность основных иммунометрических методов

Метод	Предел чувствительности
Прямая преципитация в растворе	500 мкг/мл
Радиальная иммунодиффузия (Манчини)	50 мкг/мл
Двойная иммунодиффузия (Оухтерлони)	10 мкг/мл
Контрэлектрофорез	5 мкг/мл
Турбидиметрия и нефелометрия	0,5 мкг/мл
Дот-блот	0,05 мкг/мл
Иммуноблоттинг	0,0005 мкг/мл
ИФА, непрямая иммунофлюоресценция	0,00005 мкг/мл
Хемилюминисценция	0,000005 мкг/мл
Радиоиммунный метод	0,0000005 мкг/мл

TABLE 6-3 Sensitivity of various immunoassays

Assay	Sensitivity* (μg antibody/ml)
Precipitation reaction in fluids	20–200
Precipitation reactions in gels	
Mancini radial immunodiffusion	10–50
Ouchterlony double immunodiffusion	20–200
Immunoelectrophoresis	20–200
Rocket electrophoresis	2
Agglutination reactions	
Direct	0.3
Passive agglutination	0.006–0.06
Agglutination inhibition	0.006–0.06
Radioimmunoassay (RIA)	0.0006–0.006
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	~0.0001–0.01
ELISA using chemiluminescence	~0.00001–0.01 [†]
Immunofluorescence	1.0
Flow cytometry	0.006–0.06

*The sensitivity depends on the affinity of the antibody used for the assay as well as the epitope density and distribution on the antigen.

[†]Note that the sensitivity of chemiluminescence-based ELISA assays can be made to match that of RIA.

SOURCE: Updated and adapted from N. R. Rose et al., eds., 1997, *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 5th ed., American Society for Microbiology, Washington, DC.

Table 10.1: Antigen-antibody reactions

<i>Reaction test</i>	<i>Modified test</i>
Precipitation	Immuno-electrophoresis Immunoprecipitation
Agglutination	Latex agglutination Indirect haemagglutination Coagglutination Coombs test
Neutralization	Measurement of LD Plaque assays
Complement fixation	Conglutination
Immunofluorescence	Indirect Immunofluorescence Immunofluoremetric assay
Enzyme immuno- assay	Enzyme linked immunosorbent assay
Radioimmunoassay	Immunoradiometric assay



РА

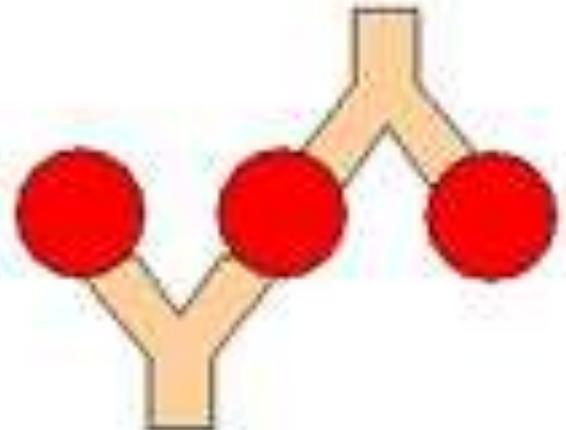
(реакции агглютинации)

РА

(реакции агглютинации;
проводятся с клетками)



+

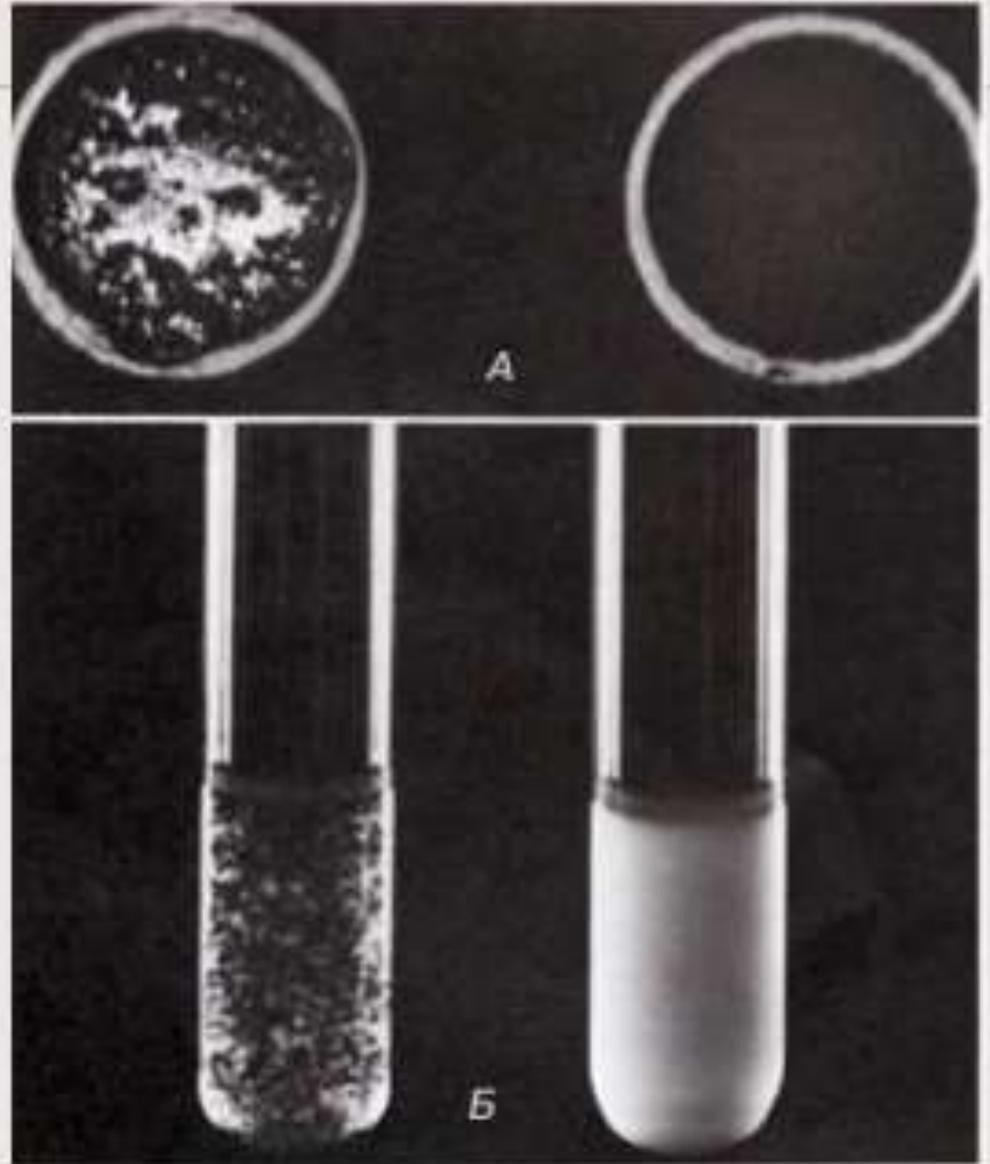


Agglutinated

Non-agglutinated



Agglutination test





SAT

= serum agglutination test

= PA



The ABO Blood System

Blood Type (genotype)	Type A (AA, AO)	Type B (BB, BO)	Type AB (AB)	Type O (OO)
Red Blood Cell Surface Proteins (phenotype)	 <p>A agglutinogens only</p>	 <p>B agglutinogens only</p>	 <p>A and B agglutinogens</p>	 <p>No agglutinogens</p>
Plasma Antibodies (phenotype)	 <p>b agglutinin only</p>	 <p>a agglutinin only</p>	<p>NONE.</p> <p>No agglutinin</p>	 <p>a and b agglutinin</p>

Agglutination

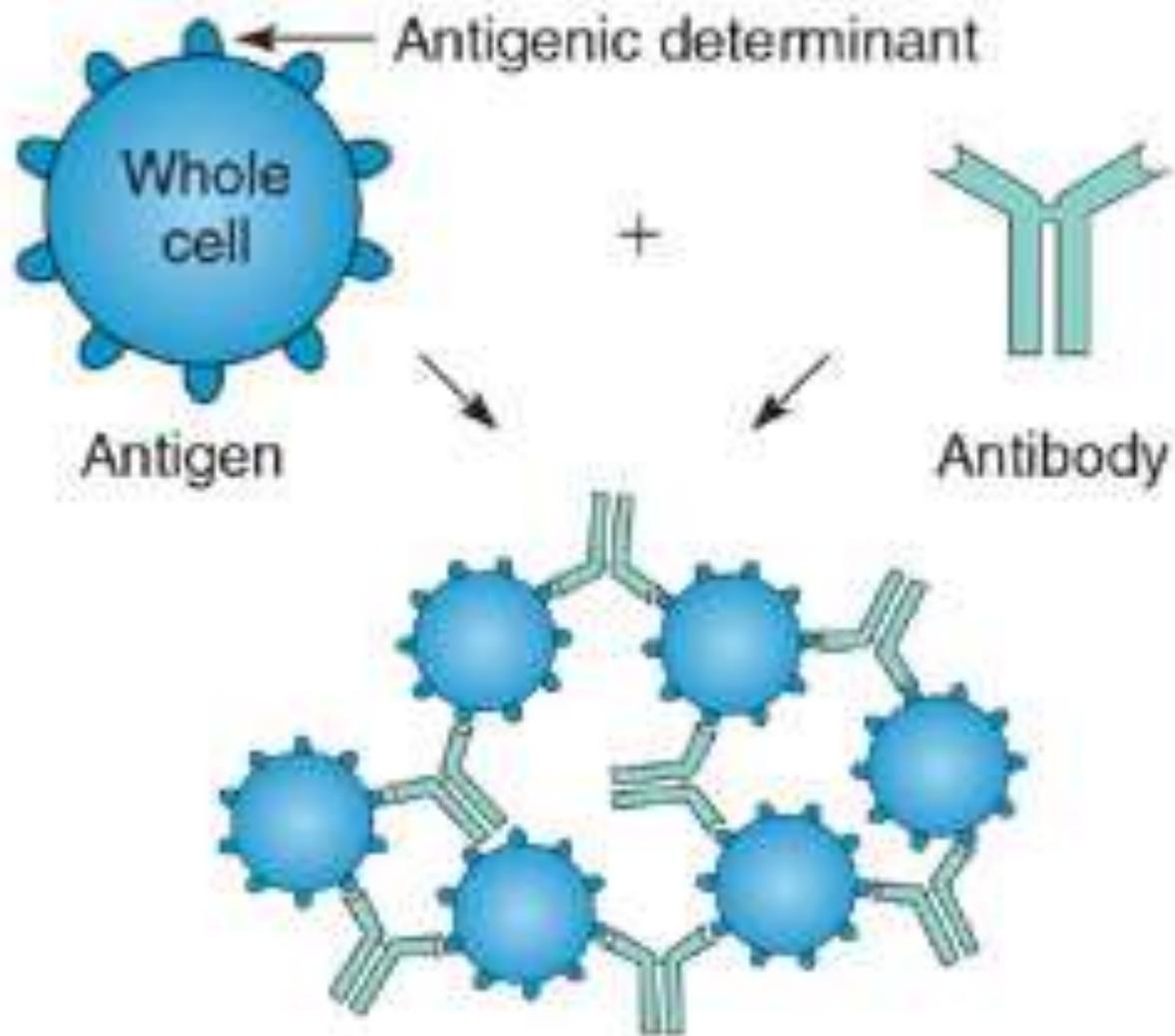
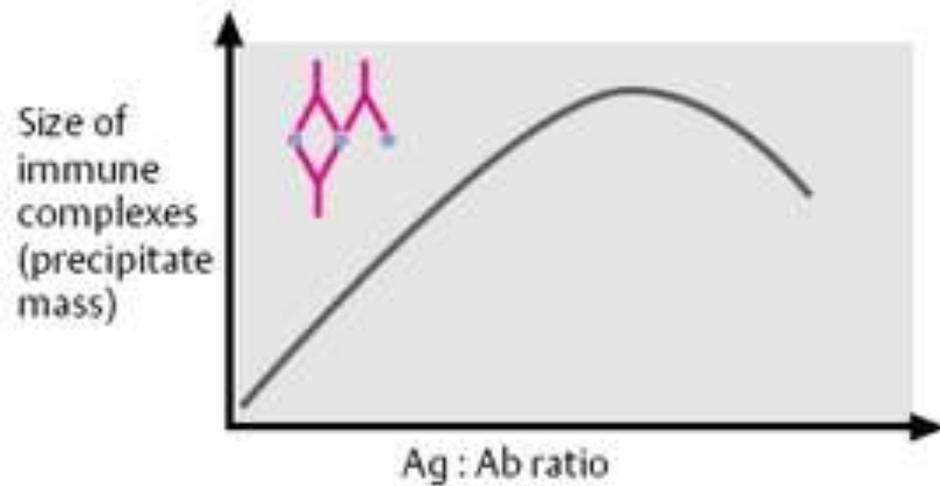


Table 10.3: Application of agglutination reactions

<i>Agglutination reaction</i>	<i>Example</i>
Tube agglutination	Widal test Weil Felix reaction Standard tube test for brucellosis
Slide agglutination	Typing of pneumococci Diagnosis of <i>Salmonella</i> Diagnosis of <i>Shigella</i>
Coagglutination	Grouping of streptococci Identification of gonococci Detection of <i>Haemophilus antigen</i>
Latex agglutination	Detection of HBsAg, ASO, CRP



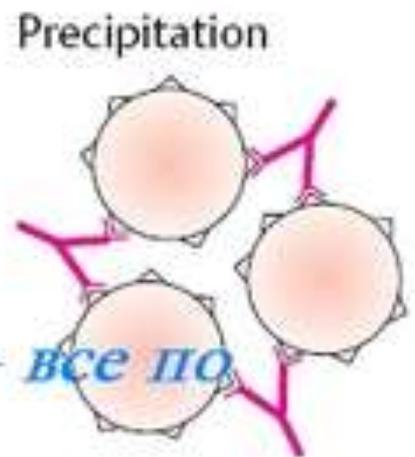
MedUniver.com - все по медицине.



A. Heidelberg curve



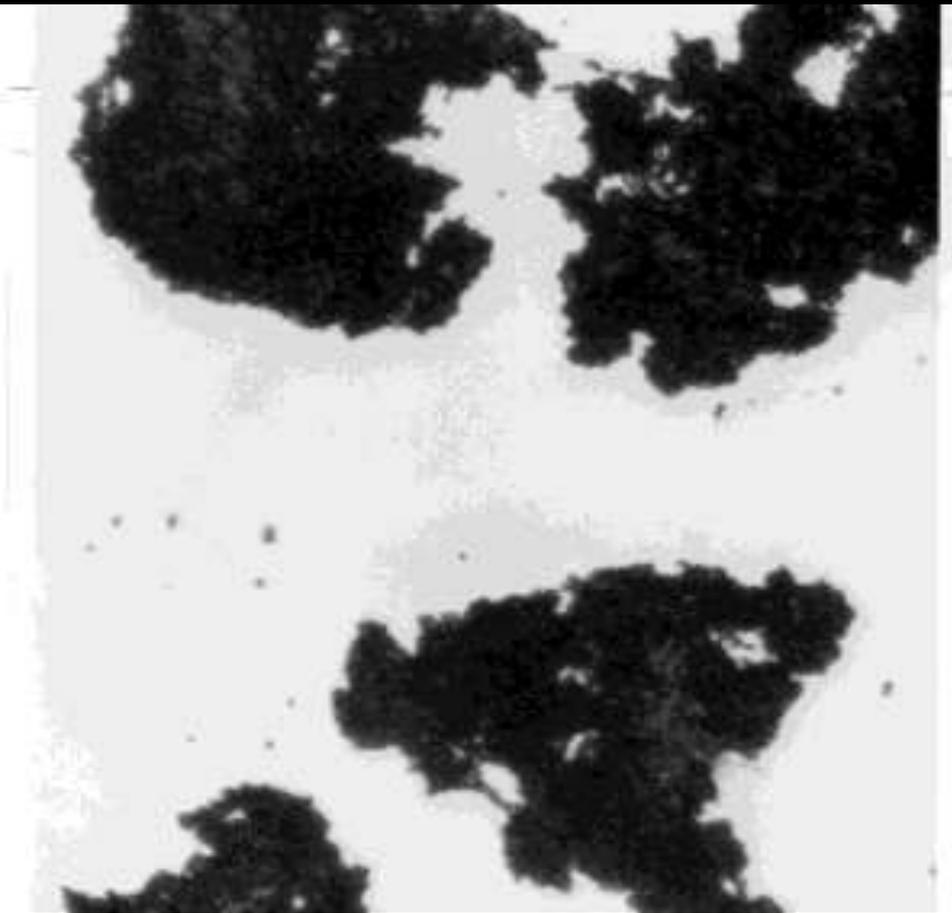
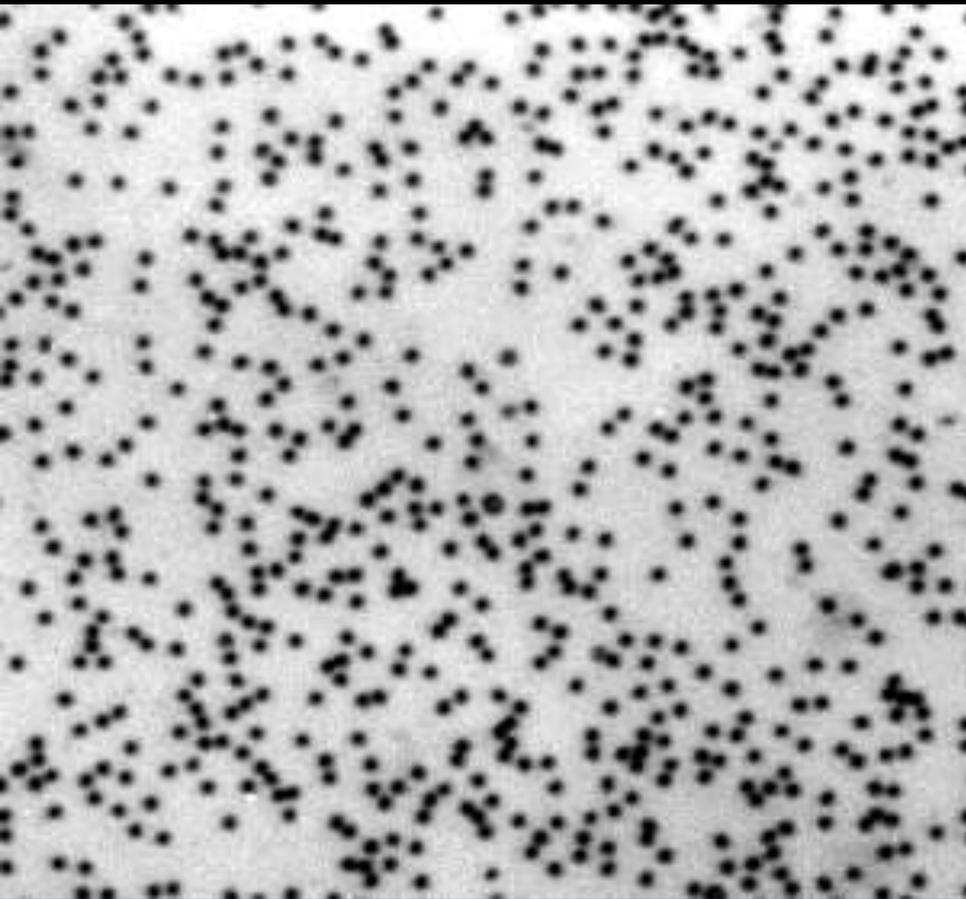
Immune complex formation with molecular antigens

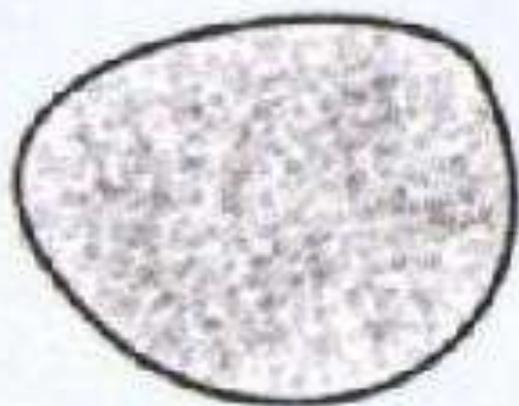


Immune complex formation with antigenic particles (e.g. erythrocytes, latex particles)

B. Precipitation and agglutination

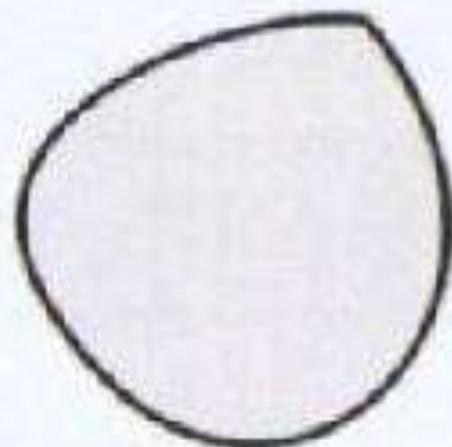
Human red blood cells before (left) and after (right) adding serum containing anti-A antibodies. The agglutination reaction the presence of the A antigen on the surface of the cells.





+

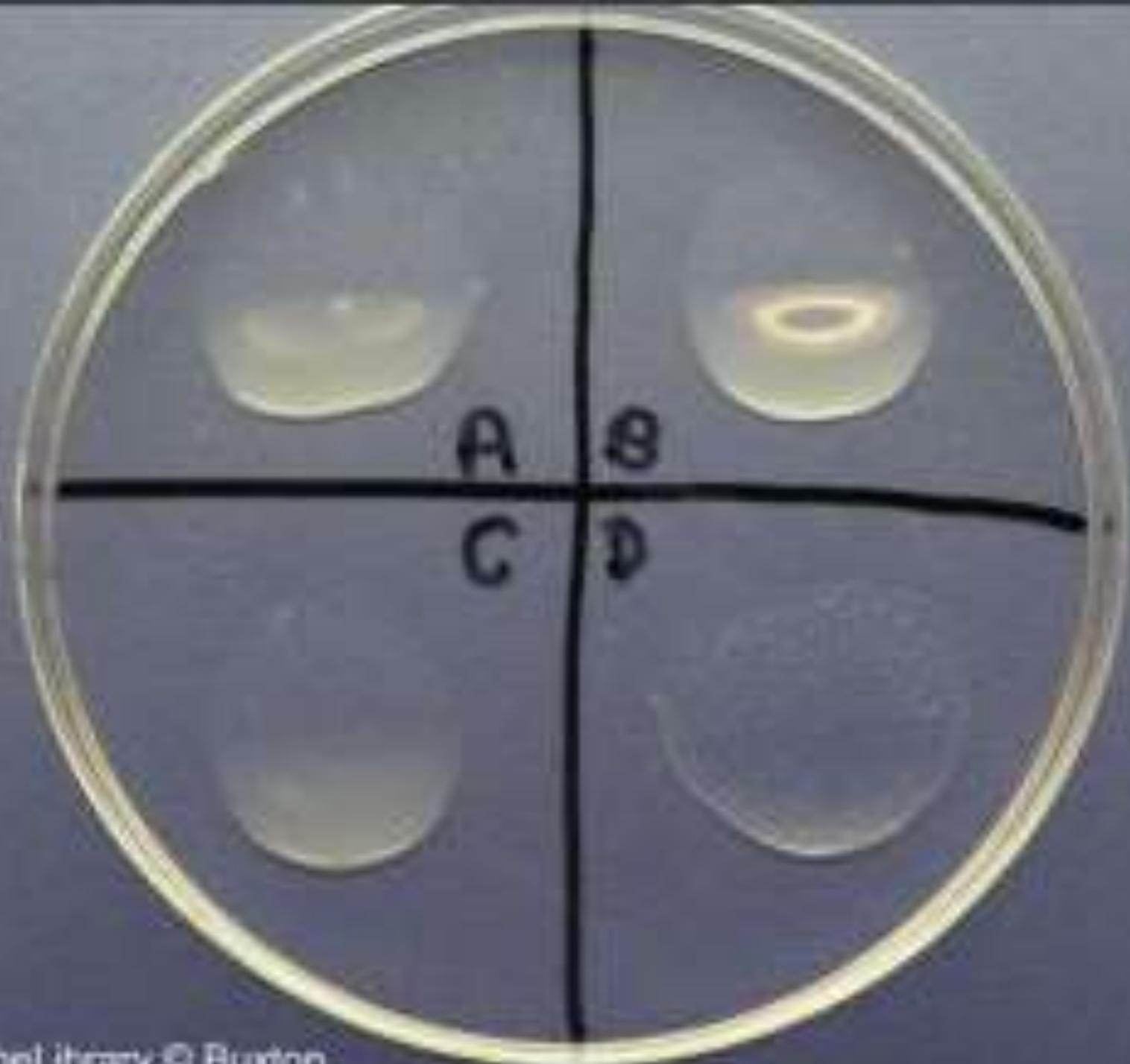
**Агглютинация
положительная**

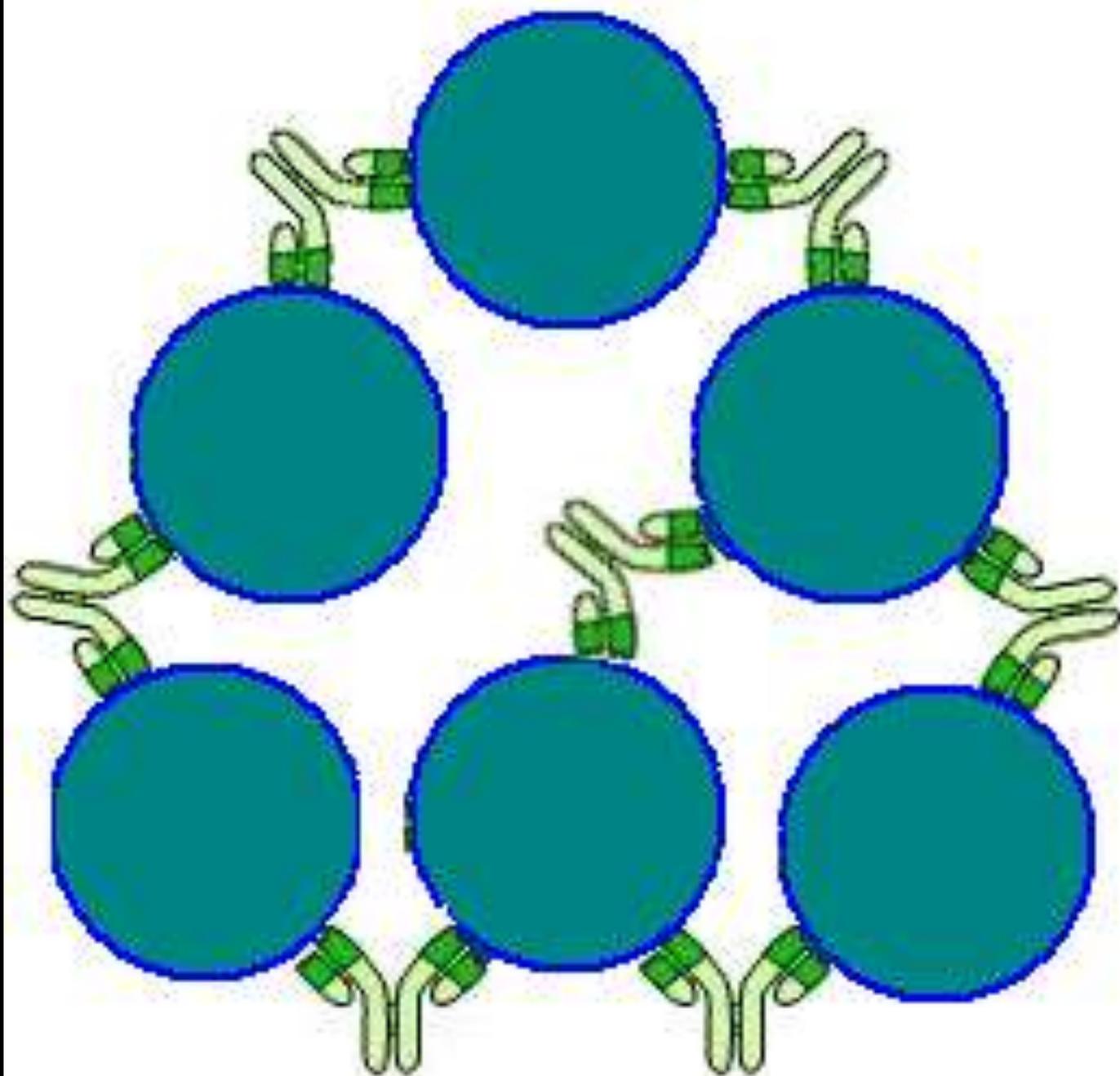


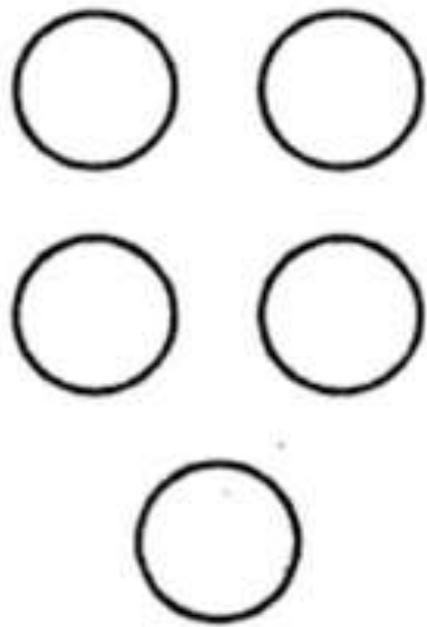
-

**Контроль
(нет агглютинации)**



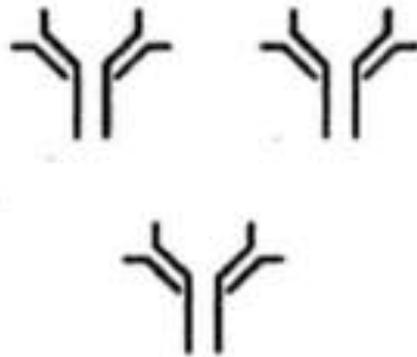




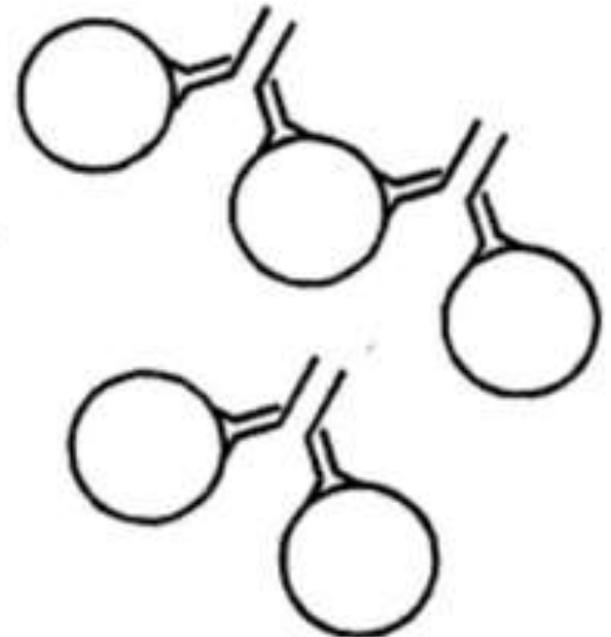


Red blood cells

+

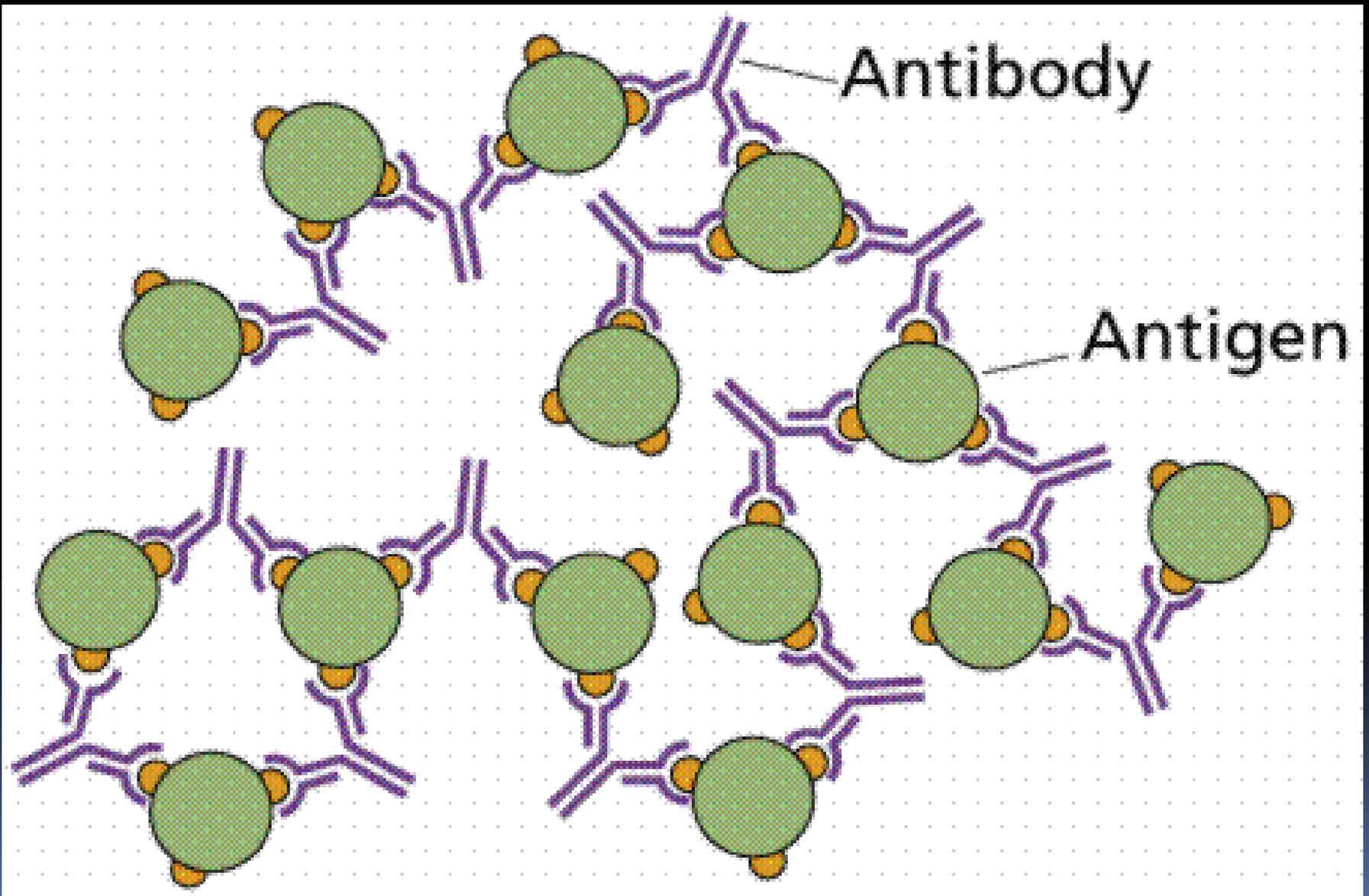


Anti-red blood cell
antibody



Agglutinated Red blood cells

Ориентировочная РА

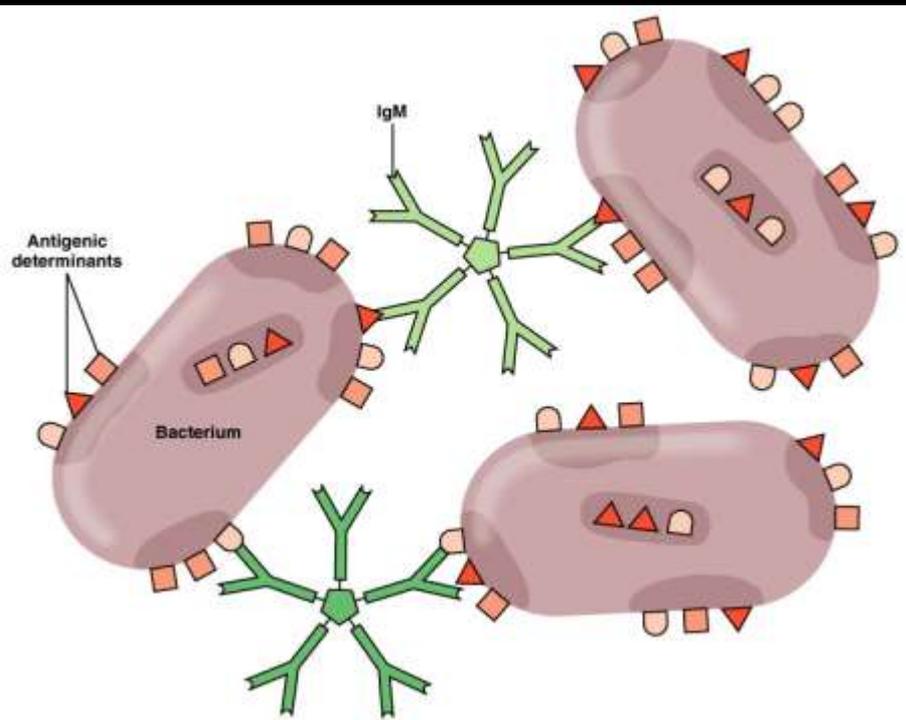


IgM - холодные Ig

(т.е. лучше связывают
АГ «на холоду»)

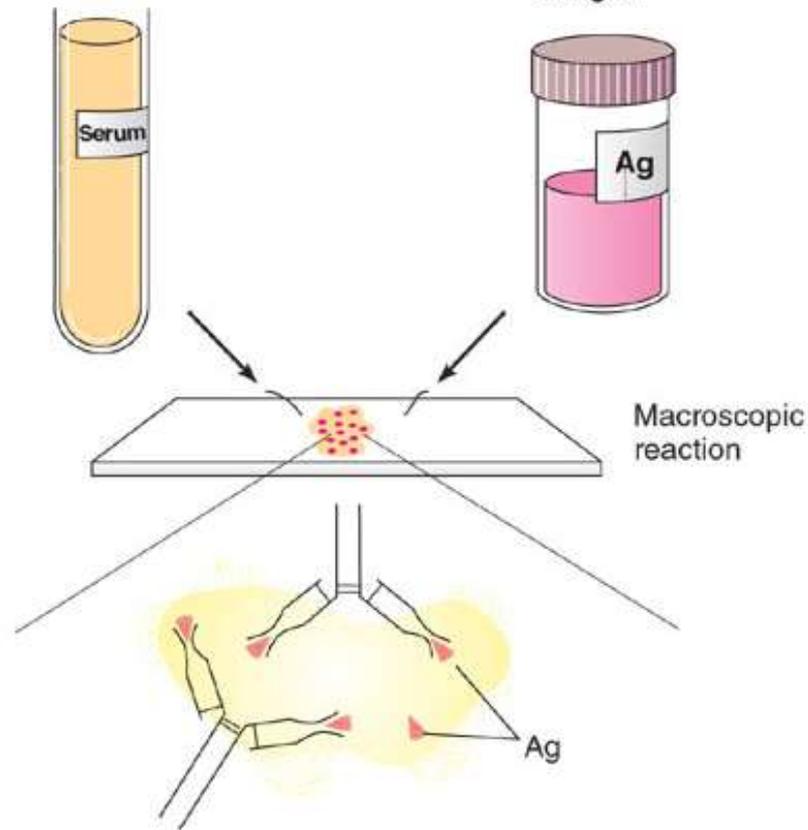
IgG - тепловые Ig

РА



Patient's serum
antibody content *unknown*

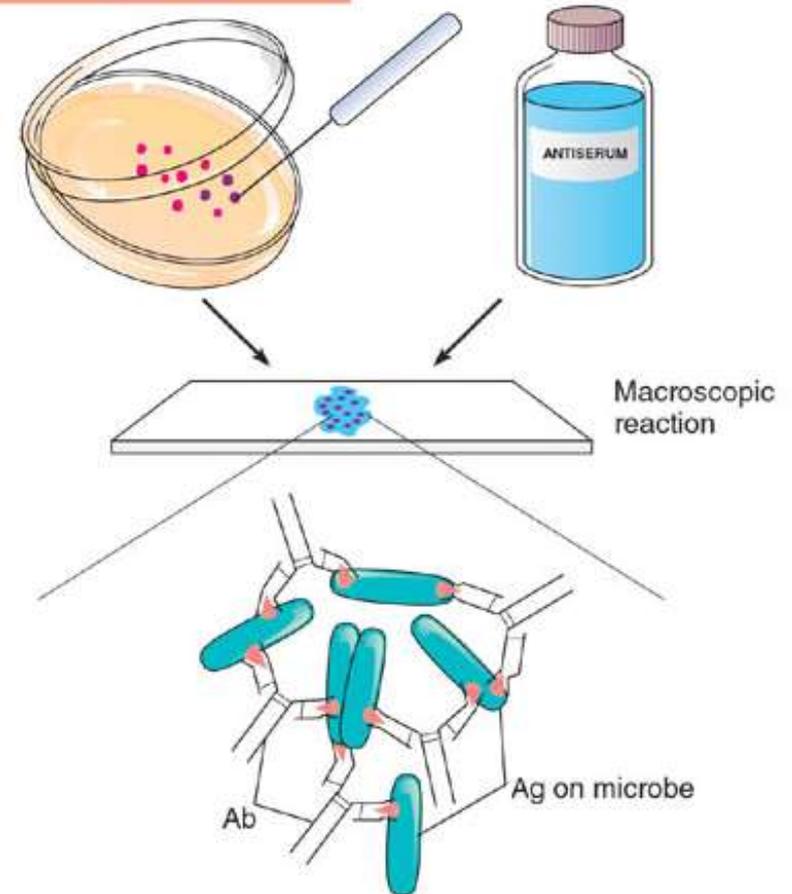
Prepared
known
antigen



(a) In serological diagnosis of disease, a blood sample is scanned for the presence of antibody using an antigen of known specificity. A positive reaction is usually evident as some visible sign, such as color change or clumping, that indicates a specific interaction between antibody and antigen. (The reaction at the molecular level is rarely observed.)

Isolated colony,
identity *unknown*

Antibodies of
known
identity



(b) An unknown microbe is mixed with serum containing antibodies of known specificity, a procedure known as serotyping. Microscopically or macroscopically observable reactions indicate a correct match between antibody and antigen and permit identification of the microbe.