**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Кафедра общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии



**А.В. Жестков, А.Д. Протасов, О.С. Козлова, Н.И. Танаева,
Е.А. Железнова, Т.Р. Никитина, В.П. Решетникова, М.О. Золотов**

УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ. ОСНОВЫ ИММУНОДИАГНОСТИКИ И ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Учебное пособие

издательство ОФОРТ
**САМАРА
2019**

УДК 616.9-07-084+612.017.1(075.8)
ББК55.14-25я73
У 91

Посвящается 100-летию Самарского государственного медицинского университета

Коллектив авторов:

Жестков Александр Викторович – заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор;

Протасов Андрей Дмитриевич – доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, доктор медицинских наук;

Козлова Ольга Сергеевна – доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, кандидат медицинских наук;

Танаева Наталия Ивановна – доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, кандидат медицинских наук;

Железнова Елена Анатольевна – доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет МинздраваРоссии, кандидат медицинских наук;

Никитина Татьяна Рудольфовна – доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, кандидат медицинских наук;

Решетникова Валентина Петровна –доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, кандидат медицинских наук.

Золотов Максим Олегович – очный аспирант кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, врач аллерголог-иммунолог.

Рецензенты:

Суздальцев Алексей Александрович – заведующий кафедрой инфекционных болезней с курсом эпидемиологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, заслуженный работник здравоохранения Самарской области, доктор медицинских наук, профессор;

Пятин Василий Федорович – заведующий кафедрой физиологии с курсом безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет МинздраваРоссии, доктор медицинских наук, профессор.

Учение об инфекции. Основы иммунодиагностики и иммунопрофилактики инфекционных заболеваний:*учебное пособие*. / А.В. Жестков, А.Д. Протасов, О.С. Козлова, Н.И. Танаева, Е.А. Железнова, Т.Р. Никитина, В.П. Решетникова., М.О. Золотов – Самара : ООО «Офорт», 2019. – 181 с.

ISBN 978-5-6041835-6-4

Учебное пособие посвящено наиболее актуальным вопросам, изучаемым студентами в рамках курса «Иммунология» и является дополнительным источником сведений, облегчающим студенту и врачу любой специальности понимание механизмов развития инфекции, основ инфекционного иммунитета и иммунопатологии, иммунодиагностики и иммунопрофилактики инфекционных заболеваний. Материал изложен в удобной и запоминающейся форме и поможет студентам детально освоить основные концепции и понятия курса, а также конкретизировать и систематизировать знания. Кроме того, в пособии представлен богатый материал фонда оценочных средств и формирования практических навыков по представленным темам.

Учебное пособие предназначено для обучающихся по основным образовательным программам высшего образования - программам специалитета по специальностям «Лечебное дело», «Педиатрия», «Стоматология», изучающих курс «Иммунология», ординаторов и врачей любой специальности.

Учебное пособие утверждено ЦКМС ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (протокол № 1 от 03.10.2018 г.).

УДК 616.9-07-084+612.017.1(075.8)

ББК55.14-25я73

© Коллектив авторов, 2019
© ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2019
© Оформление. ООО «Офорт», 2019

ISBN978-5-6041835-6-4

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....4
ТЕМА 1 *(Танаева Н.И., Железнова Е.А.)*
ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС И ПАТОГЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ.....6
БЛОК КОНТРОЛЯ.....29

ТЕМА 2 *(Решетникова В.П., Золотов М.О.)*
ВРОЖДЕННАЯ И АДАПТИВНАЯ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА: ФАКТОРЫ И МЕХАНИЗМЫ. ИММУНОДИАГНОСТИКА ……43
БЛОК КОНТРОЛЯ……93

ТЕМА 3*(Козлова О.С., Жестков А.В., Никитина Т.Р.)*
ОСНОВЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ И ИММУНОТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ 104
БЛОК КОНТРОЛЯ.....113

ТЕМА 4 *(Танаева Н.И., Протасов А.Д., Козлова О.С., Железнова Е.А.)*
СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ В ИММУНОДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ 124
БЛОК КОНТРОЛЯ.....155

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ..169
ПРИМЕРЫ ОТВЕТОВ НА СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ.....170
ПРИМЕРЫ ОТВЕТОВ НА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ.....173
ПРИЛОЖЕНИЕ МЕДИЦИНСКИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ.....174
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.....177

ВВЕДЕНИЕ

Данное учебное пособие задумано и, по мере сил, выполнено авторами как дополнительный источник сведений, облегчающий студенту и врачу любой специальности понимание механизмов развития инфекции, основ инфекционного иммунитета, иммунодиагностики и иммунопрофилактики инфекционных заболеваний, традиционно считающихся одними из самых трудных для восприятия.

Четко ориентироваться в указанных вопросах невозможно без усвоения фундаментальных вопросов иммунологии, изложенных в настоящем учебном пособии.

Учебное пособие «Учение об инфекции. Основы иммунодиагностики и иммунопрофилактики инфекционных заболеваний» состоит из 4 тем. Первая тема знакомит с основными понятиями, связанными с патогенностью возбудителей и развитием инфекционного процесса. Большой раздел учебного пособия посвящен строению и функционированию иммунной системы, механизмам различных форм иммунологического реагирования, изучение которых происходит при удобном условном подразделении на неспецифические факторы резистентности (врожденный иммунитет), гуморальный и клеточный иммунный ответы (адаптивный иммунитет). Важной темой учебного пособия является раздел, посвященный вакцинопрофилактике и вакцинотерапии, в котором подробно описаны механизмы действия иммунобиологических препаратов, приведено описание современных вакцин, Национальный календарь профилактическихпрививок РФ и календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям РФ. Наконец, завершает учебное пособие раздел, в котором показана роль серологических реакций в иммунодиагностике инфекционных заболеваний.

Изучение материала учебного пособия направлено на формирование следующих профессиональных компетенций:

- **готовность решать стандартные задачи профессиональной деятельности с использованием** информационных, библиографических ресурсов, **медико-биологической терминологии**, информационно-коммуникационных технологий и учетом основных требований информационной безопасности (**ОПК-1В**);
- готовность к использованию основных физико-химических, математических и иных естественнонаучных понятий и методов при решении профессиональных задач (**ОПК-7**);
- готовность к медицинскому применению лекарственных препаратов и иных веществ, и их комбинаций при решении профессиональных задач (**ОПК-8**);
- готовностью к обучению пациентов и их родственников основным гигиеническим мероприятиям оздоровительного характера, навыкам самоконтроля основных физиологических показателей, способствующим сохранению и укреплению здоровья, профилактике заболеваний (**ПК-15**).

Авторы с благодарностью примут все критические замечания по усовершенствованию данного учебного пособия.

С уважением и наилучшими пожеланиями!
Коллектив авторов.

ТЕМА 1

ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС И ПАТОГЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Учение об инфекции – это учение о свойствах микробов, позволяющих им существовать в макроорганизме и оказывать на него патогенное воздействие, а также о защитно-приспособительных реакциях макроорганизма, препятствующих болезнетворному воздействию микробов на него.

Сам процесс взаимодействия патогенного микроорганизма с макроорганизмом получил название инфекционного процесса. Таким образом, инфекционный процесс – это эволюционно сложившееся взаимодействие патогенного микроорганизма и макроорганизма в определенных условиях внешней среды.

В процессе такого взаимодействия макроорганизм дает определенную ответную реакцию. Совокупность физиологических и патологических восстановительно-приспособительных реакций, возникающих в восприимчивом макроорганизме при определённых условиях окружающей внешней среды в результате взаимодействия с патогенными микробами и направленных на сохранение гомеостаза, называется инфекцией.

Инфекция– от латинского *inficio* (вношу что-либо вредное, заражаю) и позднелатинского *infectio* (заражение).

Инфекционное заболевание– крайняя степень развития инфекции, характеризующаяся клинической симптоматикой.

В учении об инфекции существуют также понятия «бактерионосительство» и «персистенция»– это нахождение в чувствительном макроорганизме патогенных микроорганизмов без клинических проявлений. Отличие бактерионосительства от персистенции:

- при бактерионосительстве человек выделяет возбудителя в окружающую среду и является опасным для окружающих;

- при персистенции инфицированный человек возбудителя в окружающую среду не выделяет, следовательно, не опасен для окружающих в эпидемиологическом отношении.

Из определения понятия «инфекция» становятся очевидными условия, необходимые для ее возникновения и развития:

- Патогенный микроорганизм.
- Восприимчивый макроорганизм.
- Входные ворота инфекции.
- Инфицирующая доза.
- Факторы внешней среды.

Для сохранения в природе патогенных микроорганизмов нужна смена среды обитания, нужны механизмы передачи от одного макроорганизма к другому. Так в процессе эволюции возник эпидемический процесс. Эпидемический процесс – это эволюционно сложившийся специфический способ сохранения паразитирования возбудителя. Такое сохранение паразитирования возбудителя обеспечивается тремя обязательными факторами:

1. источник возбудителя инфекции;
2. механизм передачи инфекции;
3. восприимчивый макроорганизм.

Источник инфекции

Источником инфекции всегда служит зараженный макроорганизм, который может быть представлен:

- больным человеком;
- микробоносителем;
- больным животным;
- растением.

Различные одушевлённые объекты внешней среды, содержащие и сохраняющие патогенные микроорганизмы,

обозначают термином резервуары инфекции, но их роль в заболеваемости человека далеко не одинакова. Для большинства инфекций человека основной резервуар и источник – больной человек, в том числе лица, находящиеся в инкубационном периоде (ранние носители) и на этапах реконвалесценции, либо бессимптомные (контактные) микробоносители.

Механизмы, факторы и пути передачи инфекции

Механизмыпередачи определяют способы перемещения инфекционного агента из заражённого организма в восприимчивый организм. Для этого возбудитель должен быть выведен из заражённого организма, некоторое время пребывать во внешней среде и внедриться в восприимчивый организм.

Выделяют фекально-оральный, аэрогенный, трансмиссивный и контактный механизмы передачи.Указанные механизмы передачи характерны для подавляющего большинства инфекций человека. С позиций эпидемиологии пути их распространения рассматриваются как горизонтальная передача возбудителя.

Существует также группа заболеваний, возбудители которых способны трансплацентарно переходить от матери к плоду –вертикальная передача возбудителя.

Факторы передачи– элементы внешней среды, обеспечивающие передачу возбудителей инфекционных болезней. Ими могут быть вода, различные пищевые продукты, воздух, почва, членистоногие переносчики, бытовые предметы и т.д. Механизмы передачи определяют конкретные факторы передачи или их сочетание, обеспечивающие перенос и внедрение возбудителя в организм очередного биологического хозяина. При этом место попадания возбудителя в организм называют входными воротами инфекции.Так, при аэрогенном механизме передачи, входными воротами ин-

фекции служит слизистая оболочка носоглотки и верхних дыхательных путей; при фекально-оральном механизме входными воротами инфекции служит слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта; при контактном механизме передачи входными воротами инфекции могут служить кожа, раневая поверхность, слизистая оболочка ротовой полости и мочеполового тракта, кровь. Наконец, при трансмиссивном механизме передачи входными воротами инфекции служит кровь.

Обычно механизмы передачи инфекционного агента имеют несколько путей: фекально-оральный (алиментарный, водный), аэрогенный (воздушно-капельный, воздушно-пылевой), трансмиссивный и контактный (контактно-бытовой и контактно-половой):

• алиментарный – фактором передачи являются инфицированные пищевые продукты; характерен, например, для дизентерии, ботулизма;

• водный – фактором передачи является вода; характерен, например, для холеры, лептоспироза;

• воздушно-капельный –фактором передачи является воздух, содержащий вегетативные формы микроорганизмов; характерен, например, для ветряной оспы, туберкулеза, коклюша, гриппа;

• воздушно-пылевой– фактором передачи является воздух, содержащий споры патогенных микроорганизмов; характерен, например, для сибирской язвы, аспергиллеза;

• трансмиссивный путь – связан с передачей возбудителя через укусы кровососущих насекомых; характерен, например, для клещевого энцефалита, сыпного тифа;

• контактно-бытовой–фактором передачи являются предметы медицинского назначения (бронхоскопы, шприцы и др.) или быта; характерен, например, для гонореи, брюшного тифа, вирусного гепатита С;

• контактно-половой–фактором передачи является половой секрет, характерен только для заболеваний, пере-

дающихся половым путем, например, сифилис, вирусный гепатит С, ВИЧ-инфекция.

Попадание патогенного возбудителя в организм человека и размножение в нем заканчивается развитием той или иной формы инфекции.

В таблице 1 представлена классификация форм инфекции.

Таблица 1. Формы инфекции

Признак классификации	Наименование форм инфекции
Природа возбудителя	Бактериальная, вирусная, грибковая, протозойная
Происхождение	Экзогенная, эндогенная, аутоинфекция
Локализация возбудителя в организме хозяина	Местная (очаговая), генерализованная: бактериемия, вирусемия, токсинемия, септицемия, септикопиемия, токсико-септический шок
Число видов возбудителя	Моноинфекция, смешанная инфекция (микстинфекция)
Повторные проявления заболевания, вызванного теми же или другими возбудителями	Вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция, рецидив, ремиссия
Продолжительность взаимодействия возбудителя с макроорганизмом	Острая, хроническая, микробоносительство
Проявление	Манифестная, бессимптомная
Источники инфекции: человек животное человек, животное внешняя среда	Антропонозы Зоонозы Антропозоонозы Сапронозы

Характеристика форм инфекционного процесса:

• бактериальная, вирусная, грибковая, протозойная инфекция – инфекция, вызванная соответственно прокариотами, вирусами, грибами, простейшими;

• экзогеннаяинфекция– инфекция, вызванная возбудителем, попавшим в макроорганизм из вне;

• эндогеннаяинфекция – инфекция, вызванная условно-патогенной нормальной микрофлорой макроорганизма, или

патогенным возбудителем, локализовавшимся в макроорганизме,при смене локализации;

• аутоинфекция – инфекция, вызванная условно-патогенными представителями нормальной микрофлоры тела человека;

• местная (очаговая)инфекция– инфекция, локализующаяся в месте входных ворот или занимающая ограниченный участок в пораженном органе;

• бактериемия, вирусемия, токсинемия – наличие в крови бактерий, вирусов без признаков их размножения и/или токсинов;

• сепсис (септицемия) – тяжёлая генерализованная форма инфекционного процесса, обусловленная размножением микроорганизмов в крови и нередко в других биологических жидкостях организма;

• септикопиемия – тяжёлая генерализованная форма инфекционного процесса, обусловленная размножением микроорганизмов не только в жидкой части крови, но и в лейкоцитах, следствием чего является образование гноя в крови;

• токсико-септический шок – инфекционный процесс, характеризующийся вторичным развитием гнойных очагов в различных тканях и органах у пациентов с септикопиемией;

• микстинфекция – инфекционный процесс, вызванный одновременно двумя возбудителями и более;

• реинфекция – повторное (после выздоровления пациента) возникновение инфекционного процесса, вызванного тем же микроорганизмом;

• суперинфекция – повторное инфицирование организма тем же возбудителем до периода выздоровления;

• вторичная инфекция – инфекционный процесс, развивающийся на фоне уже имеющейся (первичной) инфекционной болезни, вызванной другим микроорганизмом;

• рецидив – период наличия клинической симптоматики при хронической форме инфекции;

• ремиссия – период отсутствия клинической симптоматики при хронической форме инфекции;

• острая инфекция – инфекция, продолжительность которой не превышает одного месяца;

• хроническая инфекция – инфекция, продолжительность которой превышает один месяц;

• микробоносительство – неопределенно долгое присутствие патогенного возбудителя в макроорганизме без клинических проявлений;

• манифестная инфекция – инфекция с выраженной специфической клинической симптоматикой;

• бессимптомная инфекция – инфекция при отсутствии выраженной специфической клинической симптоматики;

• антропонозы – инфекции, при которых источником инфекции является только человек (от греч. *anthropos*– человек, *nosos*– болезнь);

• зоонозы – инфекции, при которых источниками инфекции являются животные (от греч. *zoon*– животное, *nosos*– болезнь);

• антропозоонозы – инфекции, при которых источниками инфекции являются животные и больные люди (от греч. *anthropos*– человек, *zoon*– животное,*nosos*– болезнь), например, сибирская язва, бруцеллёз;

• сапронозы – инфекции, развивающиеся после проникновения свободноживущих бактерий или грибов в организм человека с объектов окружающей среды и растений (от греч. *sapros*– гнилой, *nosos*– болезнь).

В развитии инфекционного процесса можно выделить несколько стадий.

Стадии инфекционного процесса:

1. Проникновение микроорганизмов в макроорганизм; адгезия – прикрепление микроба к клеткам и тканям макроорганизма.
2. Колонизация – горизонтальное заселение кожных покровов и слизистых оболочек (первичное размножение микроба) в месте входных ворот. Зависит от инфицирующей дозы – минимального количества жизнеспособных возбудителей, необходимых для развития инфекционной болезни.
3. Диссеминация – распространение возбудителя по внутренним средам организма.
4. Мобилизация защитных факторов макроорганизма.
5. Окончание и исходы инфекционного процесса.

Механизмы диссеминации возбудителей в организме:

- По протяжению ткани – путем контакта от клетки к клетке
- Лимфогенный путь– через лимфу
- Гематогенный путь– по кровеносным сосудам
- Нейрогенный путь – по нервным волокнам.

Характерные особенности инфекционных болезней:

1. Нозологическая специфичность.
2. Контагиозность (инфекционность, заразительность).
3. Цикличность течения.
4. Формирование иммунитета.
5. Применение специфических микробиологических методов диагностики.
6. Применение этиотропных препаратов для лечения и профилактики.

Для инфекционного заболевания, в отличие от соматических болезней, характерна цикличность течения, которая проявляется выделением определенных периодов.

Периоды инфекционного заболевания:

1. Инкубационный (от проникновения микроба в макроорганизм до клинических признаков) – 1-3 недели.

2. Продромальный или начальный (с первых неспецифических клинических симптомов болезни в результате интоксикации) – 1-2 суток.

3. Период разгара болезни – выраженныеспецифическиеклинические проявления(от нескольких дней до месяцев).

В периоде разгара выделяют следующие стадии:

• нарастания клинических симптомов;

• максимальной выраженности клинических проявлений;

• ослабления клинических проявлений.

4. Период реконвалесценции (угасание клинической симптоматики, восстановление нарушенных функций организма).

Периоды инфекционного заболевания представлены на рисунке 1.

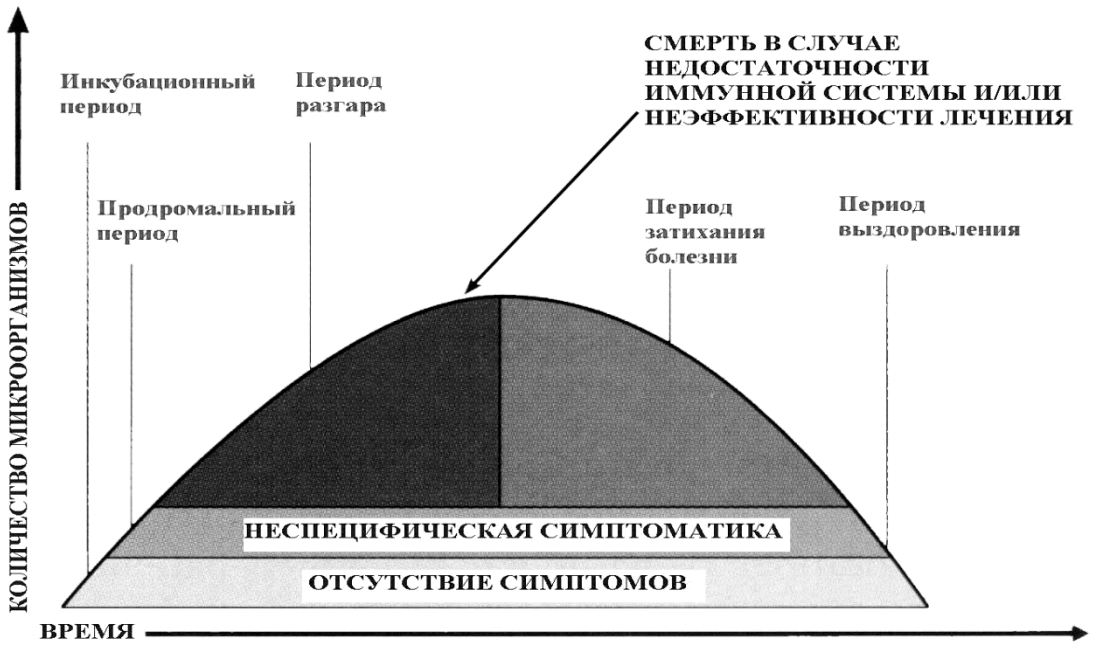


Рис. 1. Периоды инфекционного заболевания.

Возможные исходы инфекционного заболевания: выздоровление, летальный исход, хронизация процесса, формирование микробного носительства.

Главным условием развития инфекционного процесса и фактором, определяющим исход инфекционного заболевания, является патогенность возбудителя.

Инфекционный процесс может вызвать только *патогенный* или *условно-патогенный* микроорганизм. *Патогенные* микроорганизмы способны вызывать заболевание у здоровых людей. У*словно-патогенные* микроорганизмы вызывают инфекционный процесс только при определенных условиях:

- при попадании их в необычные биотопы;
- при снижении реактивности макроорганизма;
- при дисбиозах.

Способность патогенных микроорганизмов поражать здоровых людей является причиной групповой заболеваемости, вплоть до эпидемий и пандемий. Высокая контагиозность микроба и способность вызывать заболевания с тяжелым течением определяет принадлежность его к возбудителям особо опасных инфекций.

Патогенность (*pathos*– страдание, болезнь; *genes*– рождающий) – это генетически детерминированная способность микробов вызывать инфекционный процесс в чувствительном макроорганизме.Генетическая регуляция происходит на уровне хромосом и плазмид.

Патогенность– это видовой признак микроорганизма, что часто находит отражение в видовых названиях микроорганизмов: например, *Yersiniapestis* («pestis» – чума), *Salmonellatyphi* («typhi» – тиф), *Neisseriagonorrhoeae* («gonorrhoeae» – гонорея).

Патогенность может быть реализована или нет. Это зависит от вирулентности.

Вирулентность (от лат. *virulentus*– ядовитый) –

отражает степень патогенности штаммов внутри патогенного вида (молодые колонии – более вирулентны, старые и R-формы колоний – менее вирулентны). Это мера патогенности, её качественная характеристика или фенотипическое проявление генотипа,т.е. индивидуальный признак.

По вирулентности все штаммы данного вида микроба подразделяются на следующие группы:

1) высоковирулентные;
2) умеренновирулентные;
3) слабовирулентные;
4) авирулентные.

Количественная характеристика вирулентности выражается в специальных единицах – DLM, LD_{50}, DCL, ID.

- *DLM* (Dosis letalis minima) – минимальная смертельная доза – количество микроорганизмовили экзотоксина, которое при введении чувствительному лабораторному животному в стандартных условиях вызывает гибель 95% животных через определенный срок;
- LD_{50}(Dosis letalis 50%) – количество микроорганизмов или экзотоксина, которое вызывает гибель подопытных животных чувствительных видов в 50% случаев;
- *DCL* (Dosis certa letalis) – абсолютно смертельная доза, гибель животных в 100% случаев;
- *ID* (инфицирующая доза) – количество возбудителя, способное вызвать инфекционный процесс в явной форме (т.е. инфекционное заболевание).

Вирулентность, как мера патогенности – величина переменная. Она может быть повышена, понижена и даже утеряна.***Вирулентность*** микроба может быть повышена путем пассажей через чувствительный организм лабораторных животных, т.е. последовательным заражением ряда животных.

В *естественных* условиях ***вирулентность*** бактерии повышается путем пассажа через восприимчивый организм.

Снизить ***вирулентность*** микроба в *лабораторных условиях* можно путем пересевов и выращивания на питательных средах при повышенной температуре или при добавлении в среду некоторых химических веществ(бычья желчь, слабый раствор карболовой кислоты и др.), что лежит в основе производства вакцинных препаратов.

Патогенность обусловлена наличием у патогенных бактерий конкретных *факторов патогенности*, каждый из которых ответственен за проявление определенных свойств.

Классификация факторов патогенности по их функции

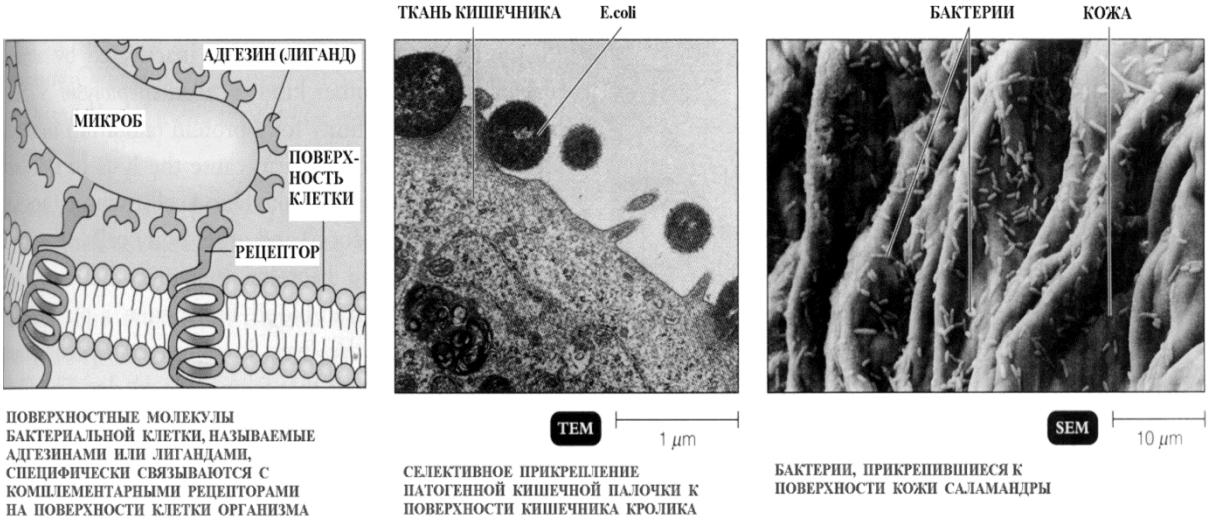
- Факторы патогенности, обуславливающие адгезию и колонизацию.
- Факторы патогенности, обуславливающие инвазивность и агрессивность.
- Факторы патогенности, оказывающие повреждающее действие (токсины и токсические продукты).
- Факторы патогенности, обеспечивающие устойчивость к действию защитных механизмов организма хозяина (факторы «экранирования»).

Факторы патогенности, обуславливающие адгезию и колонизацию

Адгезивность – способность микроорганизмов адсорбироваться на чувствительных рецепторах клеток и расселяться по поверхностям клеток (т.е. колонизировать их). Этот специфический процесс связан с наличием комплементарных рецепторов со стороны микроорганизма и клетки хозяина.

У бактерий функцию факторов адгезии (адгезинов) выполняют пили, фимбрии, жгутики, компоненты клеточной стенки (пептидогликан, тейхоевые кислоты грамположительных бактерий, липополисахаридный слой грамотрицательных бактерий). Уникальное строение

адгезинов, свойственное определенным видам микроорганизмов, обуславливает высокую специфичность данного процесса. Этим объясняется способность одних микроорганизмов прикрепляться и колонизировать эпителий дыхательных путей, других – кишечного тракта, третьих – мочевыделительной системы и т.д. (рис. 2).



ПОВЕРХНОСТНЫЕ МОЛЕКУЛЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ, НАЗЫВАЕМЫЕ АДГЕЗИНАМИ ИЛИ ЛИГАНДАМИ, СПЕЦИФИЧЕСКИ СВЯЗЫВАЮТСЯ С КОМПЛЕМЕНТАРНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ НА ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТКИ ОРГАНИЗМА

СЕЛЕКТИВНОЕ ПРИКРЕПЛЕНИЕ ПАТОГЕННОЙ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ К ПОВЕРХНОСТИ КИШЕЧНИКА КРОЛИКА

БАКТЕРИИ, ПРИКРЕПИВШИЕСЯ К ПОВЕРХНОСТИ КОЖИ САЛАМАНДРЫ

Рис. 2. Адгезия микроорганизмов.

Рецепторы клеток тканей организма человека также неоднородны по своему составу. Их подразделяют на нативные, индуцированные и приобретенные.

Нативные рецепторы (есть заранее) располагаются на эпителиальных клетках, участвуя в адгезии соответствующих бактерий.

Индуцированные рецепторы образуются, например, после адсорбции вируса гриппа на чувствительных клетках, после чего на них могут адгезироваться стафилококки и другие бактерии. Следовательно, грипп может осложниться, например, стафилококковой инфекцией.

Приобретенные рецепторы появляются при определенных условиях. Они представляют собой «мостики», связывающие эпителиоциты и бактериальные клетки, которые состоят из иммуноглобулинов разных классов, альбуминов, фибронектина или других соединений,

способных взаимодействовать с комплементарными бактериальными адгезинами.

Адгезияявляется пусковым механизмом реализации патогенности, определяющим сигнал к микробной колонизации. Бактерии могут размножаться либо в клетках, либо на поверхности клеток слизистой (на их мембранах), либо проходить через них и далее распространяться по организму. Поэтому ни один возбудитель, в том числе и вирусы, не может реализовать свою патогенность, если он не способен прикрепиться к клетке (адсорбироваться на ней). В свою очередь и токсины, до тех пор, пока они не свяжутся с рецепторами мембран клеток-мишеней, также не смогут реализовать токсические функции. Поэтому адгезия и колонизация – начальные, пусковые механизмы развития болезни.

Факторы патогенности, обуславливающие инвазивность и агрессивность

С помощью факторов инвазии бактерии проникают в клетку (способность микроорганизмов проникать в клетку – пенентрация)и распространяются по организму, преодолевая тканевые и межтканевые барьеры.Эту функцию выполняют ферменты агрессии:

- Гиалуронидаза –фактор распространения по соединительной ткани (расщепляет протеогликаны – гиалуроновую кислоту или мукополисахариды), за счет чего микроб проникает вглубь по межклеточным пространствам.
- Протеазы– фактор распространения по соединительной ткани:
  - коллагеназа –расщепляет коллагеновые волокна;
  - эластаза – расщепляет эластиновые волокна. Эти ферменты способствуют выходу микробных возбудителей за пределы воспалительного очага.
- Нейраминидаза –расщепляет сиаловые кислоты, в частности нейраминовую кислоту, нарушает структуру и

функции цитоплазматической мембраны (ЦПМ),способствует проникновению микробов внутрь клетки.

- Фибринолизин – расщепляет фибрин, способствуя проникновению и распространению по сосудистому руслу.
- Лецитиназа –расщепляет лецитин плазмы и оболочки эритроцитов, способствует проникновению микробов внутрь клетки.

Факторы инвазии сопряжены с факторами, подавляющими клеточную активность и способствующими внутриклеточному размножению бактерий.

Факторы патогенности, оказывающие повреждающее действие (токсины и токсические продукты)

К факторам повреждения относятся токсины микроорганизмов и токсические продукты – ферменты агрессии-ДНК-аза и гепариназа, разрушающие клетки и компоненты тканей макроорганизма, чтобы обеспечить микроб питательными веществами. Микробные токсины – этосильнейшие яды, способные вызывать значительные нарушения в макроорганизме.

Различают эндотоксины и экзотоксины. *Эндотоксины*имеются только у грамотрицательных бактерий. Они представлены липополисахаридами (ЛПС) клеточной стенки и связанными с ними белками.

Особенность эндотоксинов заключается в том, что они термостабильны и высвобождаются из бактериальных клеток после их разрушения. Эндотоксины, в отличие от экзотоксинов, не обладают специфичностью действия (тропностью). Их действие неспецифично и проявляется следующими эффектами:

- пирогенный эффект;
- активация гранулоцитов и макрофагов;
- лимфопролиферативный эффект;

- активация свертывающей системы крови.

Токсичность и пирогенность эндотоксинов обусловлены липидом А, входящим в состав ЛПС и имеющим сходную структуру у разных грамотрицательных бактерий. Пирогенное действие эндотоксинов не связано с их непосредственным действием на терморегулирующие центры головного мозга. Они индуцируют выброс пирогенного вещества из полиморфно-ядерных лейкоцитов. Эндотоксины являются воспалительными агентами: они увеличивают проницаемость капилляров и оказывают разрушающее действие на клетки. Многообразие проявлений отравления эндотоксином обусловлено не только самим ЛПС, но и высвобождением многочисленных биологически активных соединений, синтез которых он индуцирует в организме человека и животных (гистамин, серотонин, простагландины, лейкотриены и др., всего более 20). Эти вещества и обусловливают нарушения в различных органах и тканях.

Все три компонента ЛПС – липид А, ядро полисахарида и его боковая цепочка из повторяющихся сахаров – обладают выраженными антигенными свойствами. ЛПС стимулирует синтез интерферонов, активизирует систему комплемента по классическому пути, оказывает митогенное действие на лимфоциты, а также аллергенное действие. Его токсические свойства, в отличие от экзотоксинов, не снимаются при обработке формалином, и ЛПС не превращается в анатоксин.

Экзотоксины. Их продуцируют как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии. У грамположительных бактерий экзотоксины активно секретируются черезклеточную стенку в окружающую среду с использованием специальных секретирующих систем. У грамотрицательных бактерий (холерный вибрион, токсигенные кишечные палочки, сальмонеллы) некоторые экзотоксины (энтеротоксины) синтезируются только при определенных условиях

непосредственно в инфицированном организме и нередко сохраняются в цитоплазме, освобождаясь из клетки только после ее разрушения.

По химической структуре экзотоксины, как правило, белки. В силу этого они обладают термолабильностью и специфичностью повреждающего действия. Они всегда имеют конкретную точку приложения и строго определенный механизм действия.

По механизму действия экзотоксины делят на следующие группы:

- ***Мембранотоксины***– нарушают целостность мембран клеток, например:
  - *гемолизины*– лизируют эритроциты, из которых во внешнюю среду выходит железо, необходимое для роста и размножения микроорганизмов, а также участвующее в запуске регулона вирулентности патогенного микроорганизма;
  - *лейкоцидины*– повреждают лейкоциты (нейтрофилы), иногда макрофаги, приводя к образованию гноя и препятствуя фагоцитозу.
- ***Цитотоксины***нарушают внутриклеточные процессы и вызывают в связи с этим гибель клеток. Среди этой группы наиболее распространены антиэлонгаторы, нарушающие синтез белков на этапе удлинения полипептидных цепей. К этой категории принадлежит, например:
  - *дермонекротоксин*–разрушает клетки эпителиальных и мышечных тканей, вызывая некроз.
- ***Функциональные блокаторы*** вмешиваются в работу ферментных систем, нарушая метаболизм клеток макроорганизма и изменяя их функциональное состояние, например:
  - *энтеротоксины* – реализуют своё повреждающее

действие на макроорганизм путём активации фермента аденилатциклазы, роста уровня цАМФ и изменения проницаемости мембраны энтероцитов, приводящих к обезвоживанию организма;

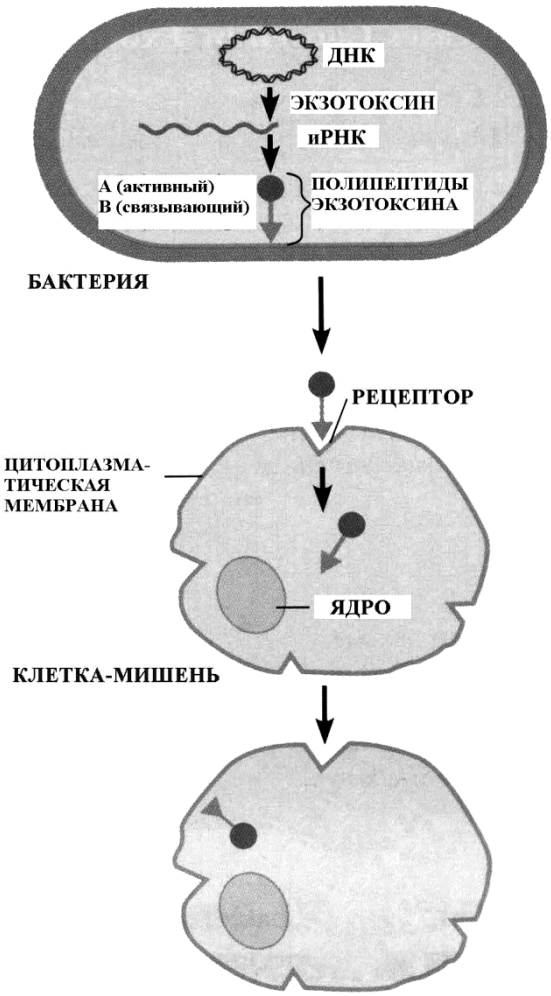
- *«мышиный токсин»* –экзотоксин возбудителя чумы наоборот инактивирует аденилатциклазу и делает клетку нечувствительной к стимулирующему действию катехоламинов;
- *нейротоксины* – блокируют высвобождение определённых нейромедиаторов.

➢ ***Модуляторы клеточной пролиферации***повышают способность клеток воспринимать митогенные и активирующие сигналы. Это приводит к усилению пролиферативной активности клеток, участвующих посредством медиаторов в развитии воспалительных и шоковых реакций, например:

- *токсин токсического шока (летальный токсин*) вызывает поражение миокарда и других органов;
- *эксфолиативный токсин* обусловливает симптом «ошпаренной кожи»;
- *эритрогенин* поражает капилляры кожи, приводя к возникновению мелкопетехиальной сыпи на коже и слизистых оболочках.

Схема взаимодействия экзотоксина с чувствительной клеткой макроорганизма представлена на рис. 3.Токсины являются важным фактором в патогенезе токсикоинфекций.Все токсины – хорошие иммуногены, но протективность антител лучше всего выражена в реакциях с экзотоксинами. Нейтрализовать эндотоксины труднее потому, что антигенные и токсические свойства ЛПС связаны с разными участками молекулы. В отличие от эндотоксинов, экзотоксины легко поддаются обезвреживанию без потери иммуногенности (например, формалином) и могут быть использованы в качестве вакцинных препаратов – анатоксинов. Од-

нако антитела нейтрализуют только свободные токсины.Ферменты агрессии усиливают действие токсинов.



1. Бактерия вырабатывает и секретирует экзотоксин
2. Связывающий (В) компонент экзотоксина присоединяется к рецептору клетки-мишени и экзотоксин проникает в клетку
3. Активный (А) компонент экзотоксина изменяет функционирование клетки, подавляя синтез белка

Рис. 3.Схема взаимодействия экзотоксина с чувствительной клеткой макроорганизма.

Факторы патогенности, обеспечивающие устойчивость к действию защитных механизмов организма хозяина (факторы «экранирования» в макроорганизме)

Факторы «экранирования» позволяют микробам противостоять защитным реакциям организма. К ним относятся:

- Слабая иммунная реакция и явление антигенной мимикрии.Антигенная мимикрия – сходство в строении антигенов бактерий и человека – вызывает образование антител, перекрестно реагирующих с клетками человека, что приводит к развитию аутоиммунных заболеваний.

➢ Образование L-форм приводит к персистенции, которая способствует длительному выживанию ряда патогенных бактерий в организме человека и животных (стрептококки, гонококки, листерии, бруцеллы, трепонемы и др.).

➢ Факторы, препятствующие фагоцитозу**,** т.е. защищающие от фагоцитоза. Они либо маскируют бактерии от фагоцитов, либо подавляют активность фагоцитов:

- *капсула* – обеспечивает отрицательный хемотаксис фагоцитов;
- *плазмокоагулаза*–фермент агрессии, который денатурирует белки плазмы вокруг микроба, делая его недоступным для фагоцитов;
- *различные белки, тормозящие фагоцитоз,* например, М-белок у стрептококков, антиген FraI у возбудителя чумы.

➢ Факторы, подавляющие фагоцитоз,обусловливают незавершенный характер фагоцитоза, хотя реализуют своё действие на разных стадиях фагоцитоза:

- *инактивация литических ферментов;*
- *препятствие слиянию фагосомы с лизосомой;*
- *лизис фаголизосомы;*
- *покидание фаголизосомы;*
- *индукция апоптоза фагоцитирующих клеток.*

Незавершенный фагоцитоз – одна из важных причин хронизации течения болезни (хрониосепсис).

➢ Внутриклеточное паразитирование.

➢ Формирование рецепторов для инактивации антимикробных факторов крови, например, белок А присоединяет антитела Fc-фрагментом вместо Fab-фрагмента, обеспечивая защиту от бактерицидного действия антител.

➢ Синтез антилизоцимных, антикомплементарных, антиинтерфероновых факторов – защита от бактерицидного действия системы комплемента, интерферона, лизоцима, β-лизинов и других.

Применение специфических микробиологических методов диагностики инфекционных заболеваний позволяет определить набор патогенных факторов микроба с помощью лабораторных животных, белковых систем *invitro*, а также путем клинического наблюдения. Определение вида микроорганизма по набору патогенных факторов называется патоидентификация. В таблице 2 представлены способы обнаружения используемых в лабораторной диагностике патогенных факторов.

Таблица 2. Способы обнаружения используемых в лабораторной диагностике патогенных факторов

Патогенный фактор	**Способ обнаружения**
Адгезины	Электронная микроскопия
Гиалуронидаза	При посеве испытуемого микроба в гиалуроновую кислоту не происходит образования плотного комочка слизи
Лецитиназа	При посеве на желточно-солевой агар, вокруг колоний образуется зона помутнения среды
Фибринолизин	При посеве в сгусток крови он расплавляется
Плазмокоагулаза	При посеве микроба в цитратную кроличью плазму, плазма превращается в гель
Гемолизин	При посеве на кровяной агар, вокруг колоний образуется зона β-гемолиза
Лейкоцидин	При микроскопии мазка гноя обнаруживаются разрушенные лейкоциты и лейкоциты, фагоцитирующие микроб
Дермонекротоксин	На лабораторных животных: внутрикожная дермонекротоксическая проба на кроликах

Нейротоксин	На лабораторных животных: при подкожном введении – гибель мышей с симптомом «осиной талии» (парез мышц брюшной стенки)
Эксфолиативный токсин	Путем клинического наблюдения: симптом «ошпаренной кожи»
Эритрогенин	Путем клинического наблюдения: петехиальная сыпь
Энтеротоксин	На лабораторных животных: пероральная проба приводит к рвоте
Летальный токсин	На лабораторных животных: гибель мышей при внутривенном введении испытуемой культуры
Капсула	Микроскопия мазка, окрашенного по Бури-Гинсу

На рис. 4 приведена схема диагностики инфекционных заболеваний на примере исследования при стафилококковых инфекциях.

Рис. 4. Схема диагностики инфекционных заболеваний (на примере исследования при стафилококковых инфекциях).

БЛОК КОНТРОЛЯ

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение понятиям «инфекционный процесс», «инфекция», «инфекционное заболевание» и перечислите условия возникновения инфекционного процесса.
2. Охарактеризуйте формы инфекции по всем принципам классификации.
3. Перечислите особенности инфекционных болезней.
4. Дайте определение понятиям «патогенность» и «вирулентность» микробов. Охарактеризуйте единицы вирулентности.
5. Источник инфекции. Механизмы и факторы передачи инфекции.
6. Перечислите и охарактеризуйте пути передачи инфекции.
7. Назовите стадии инфекционного заболевания.
8. Назовите периоды инфекционного заболевания.
9. Сформулируйте понятие патогенных факторов болезнетворных микробов.
10. Охарактеризуйте разрушительные патогенетические факторы.
11. Охарактеризуйте антифагоцитарные патогенетические факторы.
12. Охарактеризуйте патогенетические факторы распространения.

Тестовые задания для самоконтроля.

Назовите правильный ответ:

1. При развитии инфекционного процесса имеют значение все факторы, КРОМЕ:

а) восприимчивость организма к инфекции;

б) доза возбудителя;

в) размеры микроорганизма;

г) вирулентность возбудителя.

2. Способность микроба проникать через тканевые барьеры организма называется:

а) контагиозностью;

б) синтетической функцией;

в) токсигенностью;

г) инвазивностью.

3. Продромальный период заболевания – это:

а) период неспецифической клинической симптоматики;

б) период отсутствия клинической картины заболевания;

в) период специфической клинической симптоматики;

г) период угасания специфической клинической симптоматики.

4.Форма инфекционного процесса, характеризующаяся отсутствием клинических проявлений, называется:

а) микстинфекция;

б) бактерионосительство;

в) хроническая;

г) рецидив.

5. Отметьте токсины бактерий, имеющие чаще белковую природу:

а) эндотоксины;

б) экзотоксины;

в) адгезины;

г) гиалуронидаза.

6. Обозначьте название одновременного инфицирования ассоциацией микробов:

а) суперинфекция;

б) микстинфекция;

в) вторичная инфекция;

г) реинфекция.

7. Болезни, вызываемые возбудителями, паразитирующими только в организме человека, называются:

а) антропонозами;

б) антропозоонозами;

в) сапронозами;

г) зоонозами.

8.Условно-патогенные микроорганизмы:

а) поражают здоровых лиц;

б) поражают лиц с нарушениями иммунного статуса и микробного фона организма;

в) не оказывают поражающего действия.

9. Внутриклеточно размножаются микроорганизмы, КРОМЕ:

а) вирусы;

б) хламидии;

в) стафилококки;

г) микоплазмы.

10. Факторы, препятствующие адгезии бактерий, включают все, КРОМЕ:

а) фибронектин растворимый;

б) секреторный иммуноглобулин А;

в) капсула бактерий;

г) нормальная микрофлора организма.

11. Инфекционный процесс всегда проявляется:

а) токсикозом;

б) воспалительным процессом;

в) изменениями в иммунном ответе организма.

12. Охарактеризуйте DLMкак единицу измерения вирулентности:

а) не предусматривает учет индивидуальных особенностей животных;

б) выражается количеством среды, содержащей микробные клетки;

в) выражается количеством микробных клеток;

г) расчет единицы проводится с учетом статистических закономерностей.

13. Специфическим органоидом адгезии у бактерий являются:

а) жгутики;

б) фимбрии;

в) sex– пили;

г) капсула.

14. Факторы, препятствующие фагоцитозу бактерий, включают все, КРОМЕ:

а) капсула;

б) плазмокоагулаза;

в) фибринолизин;

г) лейкоцидины.

Вставьте пропущенное слово:

15. Патогенность – это характеристика данного _____ микроорганизмов

а) штамма;

б) рода;

в) вида;

г) семейства.

16. Вирулентность – это характеристика данного _____ микроорганизмов

а) штамма;

б) рода;

в) вида;

г) семейства.

17. При ботулизме, столбняке, газовой гангрене, дифтерии, коклюше, холере возбудитель, как правило, отсутствует в кровотоке. _____ является ведущим в патогенезе перечисленных инфекций.

18. У первого больного одновременно были обнаружены возбудители вирусных гепатитов В и С, инфекция носит название _____. У второго – инфицирование вирусным гепатитом С произошло при наличии в анамнезе вирусного гепатита В, данная инфекция будет называться _____.

Сгруппируйте цифры и буквы:

19. I. Эндотоксины
II. Экзотоксины

а. продуцируется во внешнюю среду живой клеткой;
б. освобождается после разрушения клетки;
в. белок;
г. липополисахарид;
д. инактивируется нагреванием;
е. не инактивируется нагреванием;
ж. инактивируется формалином;
з. не инактивируется формалином;
и. обладает специфическим механизмом действия;
к. механизм действия сходен, вне зависимости от вида бактерий.

20. Выберите диагностические приемы, позволяющие охарактеризовать патогенетические свойства микробных возбудителей по наличию следующих факторов:

1. Фибринолизин	а. посев на кровяной агар;
2. Нейротоксин	б. посев на сывороточный агар;
3. Гемолизин	в. посев на желточный агар;
	г. посев на цитратную плазму;
	д. посев в сгусток крови;
	е. внутрикожное введение возбудителя животному;
	ж. подкожное введение возбудителя животному;
	з. пероральное введение возбудителя животному;
	и. внутривенное введение возбудителя животному.

Выберите и расставьте в правильной последовательности:

21. Основные этапы получения эндотоксина (I) и экзотоксина (II):

а) вырастить культуру бактерий на плотной питательной среде;

б) вырастить культуру бактерий на жидкой питательной среде;

в) осадить токсин спиртом;

г) разделить бактерии и питательную среду фильтрацией;

д) освободиться от трихлоруксусной кислоты при помощи диализа;

е) смыть культуру бактерий с питательной среды;

ж) разрушить бактерии трихлоруксусной кислотой;

з) очистить токсин от балластных веществ и высушить.

22. Три звена эпидемической цепи:

а) окружающая среда;
б) механизм передачи;
в) источник инфекции;
г) здоровый организм;
д) инфекционный больной;
е) восприимчивый организм.

Выберите правильные утверждения:

23. Выберите правильные утверждения:

а) этиологическим агентом аутоинфекции могут быть условно-патогенные микроорганизмы;

б) этиологическим агентом аутоинфекции являютсямикроорганизмы – представители нормальной микрофлоры;

в) сапронозы – заболевания, источником инфекции при которых является объект окружающей среды;

г) токсигенными называются микроорганизмы, обладающие эндотоксинами;

д) патогенность – мера вирулентности;

е) хроническое заболевание всегда является следствием перенесенного острого заболевания.

Ситуационные задачи для самоконтроля

Задача 1.

При плановом бактериологическом обследовании клинически здоровых работников пищеблока у одного из них из организма выделен возбудитель бактериальной дизентерии.

1. О какой форме инфекции идет в данном случае речь? Охарактеризуйте по всем принципам классификации.

2.Какое название получила данная форма инфекции в эпидемиологической практике?

3.Надо ли изолировать и санировать данного человека (обосновать ответ)?

4.Какие факторы могли способствовать развитию данного состояния?

5.Каким термином правильнее назвать данное состояние – «инфекция» или «инфекционное заболевание»?

6.Дайте определение понятиям «инфекция» и «инфекционное заболевание».

7.Каков путь попадания возбудителя дизентерии в организм?

8.Дизентерия – антропонозная инфекция, каков источник этой инфекции?

Задача 2.

В клинику инфекционных болезней одновременно поступили двое больных. Оба находились в исключительно тяжелом состоянии. Из рассказов самих больных и объяснений родственников возникновению заболевания предшествовало следующее.

Больной А. в день поступления в клинику за ужином пробовал недавно засоленные грибы. Примерно через час после ужина у него появились внезапные резкие боли в области живота, рвота, профузный понос, развилась общая слабость. Температура при этом 36,1°.

При знакомстве с анамнезом больного Б. врач обратил внимание на то, что этот больной тоже употреблял в пищу соленые грибы, только за несколько дней до поступления в клинику. Заболевание в этом случае началось также остро со схваткообразных болей в области живота, рвоты, поноса за два часа до того момента, как больной был доставлен в клинику. Отмечалась выраженная слабость, расстройство зрения и глотания. Температура была 37,5°.

Познакомившись с анамнезом, врач у одного из больных заподозрил пищевое отравление инфекционной природы.

1.В котором случае мы вправе говорить об инфекционной природе заболевания?

2.Какие моменты в характере заболевания указывают на это?

3.Что послужило в данном случае входными воротами инфекции?

4.Что такое входные ворота инфекции?

5.Назовите путь передачи этой инфекции.

6.Инфекция или инфекционное заболевание имело место? Что такое «инфекция» и «инфекционное заболевание»?

7.Какие условия были необходимы для возникновения данного инфекционного процесса?

8.Дайте характеристику по всем принципам классификации инфекции.

Задача 3.

Несколько рыболовов-любителей отправились с ночевкой на рыбалку. На ночь расположились в палатке у реки. Поскольку питьевой водой они заранее не запаслись, пили речную воду, из которой санэпидслужбой неоднократно высевался возбудитель брюшного тифа.

Через две недели после рыбалки один из рыбаков был доставлен в инфекционную клинику. Из анамнеза выяснилось, что 3 дня назад больной почувствовал общую слабость, недомогание, головную боль, отсутствие аппетита, озноб, повышение температуры тела до 37,3°. Такое состояние наблюдалось в течение суток. На следующий день слабость заставила больного слечь в постель, температура поднялась до 38,8°. Вызванный участковый врач по целому ряду симптомов заподозрил брюшной тиф и направил больного в инфекционную клинику, где диагноз подтвердился. В течение месяца состояние больного оставалось тяжелым, но, наконец, оно улучшилось, и еще через две недели больной был выписан.

1.Какие особенности описанного заболевания позволяют отнести его к ряду инфекционных?

2.Какие периоды можно выделить в течение этой инфекции? Укажите их продолжительность в данном случае.

3.Каков путь заражения брюшным тифом в данном случае?

4.Где входные ворота инфекции?

5.Какие условия были необходимы для развития инфекционного процесса?

6. Какое из условий вероятнее всего привело к развитию заболевания у одного из рыбаков?

7. Дайте характеристику описанной инфекции по всем принципам классификации.

Задача 4.

В кожно-венерологический диспансер обратился больной с клиническими признаками гонореи. Из анамнеза выяснилось, что этот человек в прошлом перенес гонорею. Тогда лечение было начато своевременно, и выздоровление наступило уже на 5-й день от начала заболевания, причем полная излеченность была подтверждена лабораторными исследованиями.

Повторное заражение произошло через год. На этот раз больной своевременно за врачебной помощью не обратился, а попытался лечиться сам. Периоды улучшения сменялись нарастанием клинических симптомов, через полгода безуспешного лечения больной обратился к врачу.

1. Учитывая факт повторного заражения, о какой форме инфекции может идти в данном случае речь? Охарактеризовать по всем принципам классификации.

2. Чем отличаются клинические формы заболевания в первом и во втором случаях, какое они получили название?

3. Что такое входные ворота инфекции?

4. Каков путь заражения в данном случае?

5. Какие пути заражения Вы могли бы еще назвать?

6. Гонорея – антропонозная инфекция, можно ли применить для ее диагностики биологический метод – метод, основанный на экспериментальном заражении лабораторных животных?

7. Каков источник инфекции в данном случае?

Задача 5.

У одного из участников геолого-разведочной экспедиции при работе в местности, эпидемиологически неблагополучной по малярии, развилось это заболевание. Поскольку в аптечке экспедиции были противомалярийные препараты, заболевший принимал их, состояние его при этом улучшилось. Желая помочь товарищам, в межприступные периоды заболевший выполнял на воздухе посильную работу. В этот момент, когда заболевание уже почти было ликвидировано, вдруг вновь появились приступы жесточайшего озноба.

1. Если учесть возможность повторного заражения, то как назвать данную форму инфекции? Охарактеризуйте по всем принципам классификации.

2.Какие факторы могли способствовать повторному заражению?

3.Как назвать данный путь передачи инфекции?

4.Если предположить, что повторного заражения не произошло, то о какой форме инфекции идет в этом случае речь?

5.Какие факторы могли способствовать развитию последней (пункт 4) формы инфекции?

6.Какие общие признаки инфекционных болезней позволили заподозрить в данном случае малярию?

7.Каков путь распространения возбудителя малярии в организме?

8.Назовите входные ворота данной инфекции.

Задача 6.

В клинику инфекционных болезней поступил больной с диагнозом «грипп». При лабораторном обследовании в клинике диагноз подтвердился, но оказалось, что у больного имеются еще клинические и рентгенологические признаки пневмонии; из мокроты при этом был выделен патогенный стафилококк. В анамнезе у больного частые ангины.

1.Учитывая факт нахождения в организме больного одновременно двух возбудителей и последовательность развития клинических проявлений, укажите, о какой форме инфекции идет в данном случае речь? Охарактеризуйте по всем принципам классификации.

2.Как назвать место попадания вируса гриппа в организм человека?

3.Каков в данном случае путь передачи инфекции?

4.Почему не болеют гриппом животные?

5.Как называются инфекции, встречающиеся только у людей? У животных?

6.Какой общий признак инфекционных заболеваний обеспечивает циркуляцию вируса гриппа в людском контингенте?

7.Каким термином обозначается в клинической практике источник стафилококковой инфекции?

8.Как назвать форму стафилококковой инфекции до заболевания гриппом?

9.Какие факторы способствовали развитию стафилококковой инфекции?

Блок самоконтроля усвоения материала.

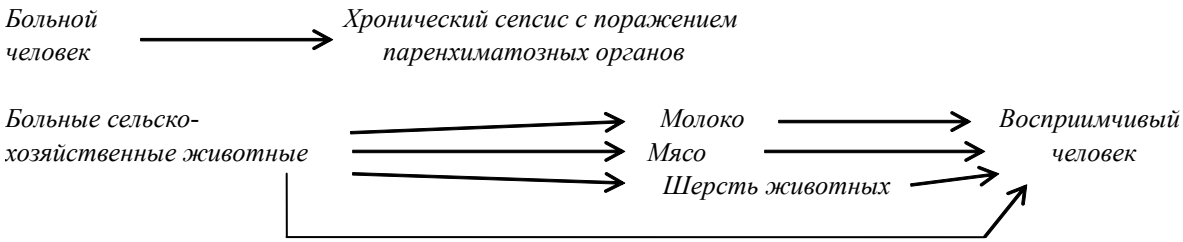
Задание1. В соответствии со схемой, отражающей эпидемиологию бруцеллеза, укажите:

1.источники инфекции;

2.факторы передачи инфекции;

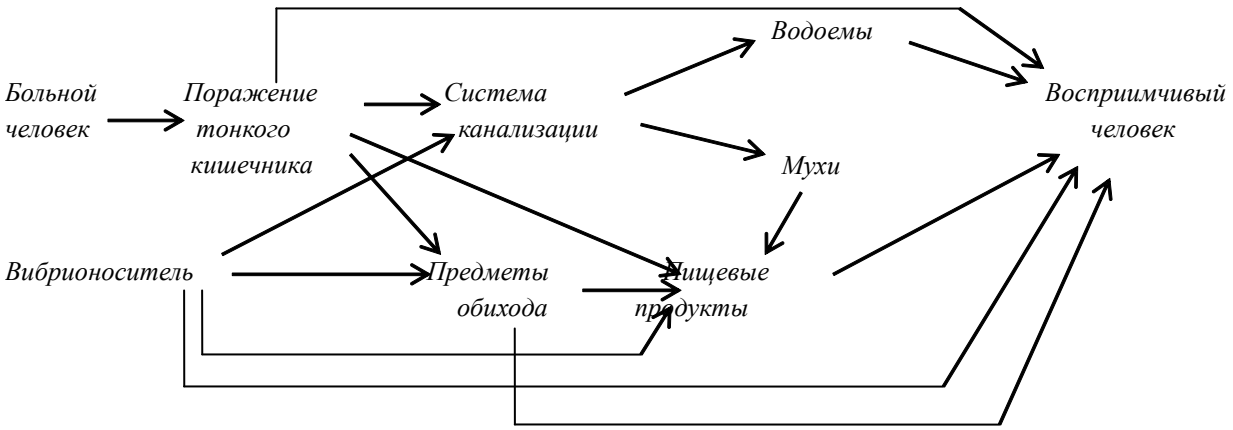
3.пути передачи инфекции;

4.входные ворота инфекции;
5.пути распространения возбудителя в организме.



Задание 2. В соответствии со схемой, отражающей эпидемиологию холеры, укажите:

1. источники инфекции;
2. факторы передачи инфекции;
3. пути передачи инфекции;
4. входные ворота инфекции;
5. пути распространения возбудителя в организме.



Задание 3.По аналогии с заданием №1 составьте схему эпидемиологии пневмонии, указав:

1. источники инфекции;
2. факторы передачи инфекции;
3. пути передачи инфекции;
4. входные ворота инфекции;
5. пути распространения возбудителя в организме.

Задание 4. Составьте таблицу по сравнительной характеристике бактериальных токсинов

Свойства	***Экзотоксины***	***Эндотоксины***
Способ выделения		
Химическая природа		
Отношение к температуре		
Тропность		
Способность превращаться в анатоксин		
Иммуногенность (способность вызывать выработку антител)		
Необходимость серотерапии		
Особенности антибактериальной терапии (механизм действия антибиотиков)		

ТЕМА 2

ВРОЖДЕННАЯ И АДАПТИВНАЯ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА: ФАКТОРЫ И МЕХАНИЗМЫ. ИММУНОДИАГНОСТИКА

Иммунитет – особое биологическое свойство многоклеточных микроорганизмов, обеспечивающее защиту от чужеродных факторов (инородных молекул, микроорганизмов и др.).

Совокупность органных, тканевых, клеточных и молекулярных факторов, функцией которых является реализация иммунной защиты, называется иммунной системой.

Иммунную защиту обеспечивают два механизма: врожденный и адаптивный.

Врожденный иммунитет – это генетически закрепленная способность противостоять инфекции (естественные, врожденные способы защиты).В процессе эволюции к врожденному иммунитету добавился адаптивный (специфический) иммунитет. Он формируется в течение жизни индивидуума.

Врожденная и адаптивная системы защиты организма включают клеточный и гуморальный компоненты и активно взаимодействуют друг с другом в процессе защитных реакций.

Естественный (врожденный) иммунитет обеспечивает первую линию защиты.

Факторы естественной защиты:

1) тканевые – кожа, слизистые оболочки;

2) клеточные – моноциты, макрофаги,дендритные клетки, нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, естественные киллеры;

3) гуморальные – секреты кишечника, лизоцим, ферменты и кислота в желудке, система комплемента, белки острой фазы, интерфероны, эндогенные пептиды с антимикробным действием.

Клетки, реализующие естественную защиту, характеризуются следующими особенностями:

1) активируются быстро, без дополнительной пролиферации и дифференцировки;

2) распознают разнообразные группы молекул, сигнализирующих о чужеродности их носителей;

3) ответная реакция возникает через 1-3 часа после контакта с чужеродным объектом.

Основная группа клеток естественной защиты – это фагоцитирующие клетки: микрофаги и макрофаги. Главная функция этих клеток – фагоцитоз. Однако у моноцитов (макрофагов) и микрофагов (нейтрофилов) есть и другие функции:

1. Внеклеточный цитолиз микробов и опухолевых клеток, благодаря выделению цитокинов, компонентов системы комплемента, ферментов;

2. Обработка и презентация антигенов лимфоцитам (макрофаги, дендритные клетки);

3. Участие в регуляции иммунного ответа за счет выработки и выделения цитокинов и хемокинов.

Фагоцитоз микроорганизмов этими клетками стимулируется под действием опсонинов, роль которых выполняют антитела, комплемент, белки острой фазы. Опсонины фиксируются на микроорганизме, а другая часть опсонизирующего фактора взаимодействует с фагоцитом, в результате чего фагоцит активируется. Это фагоцитоз опсонинзависимый.

Опсониннезависимый фагоцитоз осуществляется за счет распознавания фагоцитом молекулярных структур микробов. Это консервативные структуры микроорганизмов, характерные для больших групп микробов, сохраняющиеся у них в процессе эволюции. Также структуры называют патоген-ассоциированными паттернами микробов (ПАМП). Фагоциты распознают ПАМП с помощью паттерн распознающих рецепторов, активируются и реализуют свои функции. Разнообразие ПАМП у микробов невелико – всего несколько десятков:

- липополисахариды грамотрицательных бактерий;

- липотейховые кислоты грамположительных бактерий;

- пептидогликан (муреин);

- маннаны и глюканы грибов;

- бактериальная ДНК;

- двуспиральная РНК вирусов.

Макрофаги и нейтрофилы из костного мозга переходят в кровь, из которой поступают в очаг повреждения ткани организма. Сами эти клетки на этом этапе ещёне испытали влияния микроорганизмов и иных факторов. Центральную роль в процессе привлечения макрофагов и нейтрофилов в очаг играют клетки эндотелия сосудов. Эндотелиальные клетки в очаге активируются под действием различных факторов: бактериальные липополисахариды; цитокины, выделяемые клетками при их повреждении. На мембране активированных клеток эндотелия появляются молекулы селектинов и хемокинов – рецепторов для макрофагов и нейтрофилов. В результате фагоциты фиксируются на эндотелии в зоне очага повреждения, а под действием цитокинов, синтезируемых активированным эндотелием, изменяется форма клеток эндотелия. Они становятся кубическими

или цилиндрическими, между ними появляются просветы, через которые фагоциты из сосуда поступают в очаг воспаления. Здесь они активируются.

Активирующие стимулы для фагоцитов:

- бактериальные продукты (ЛПС, муреин);

- цитокины, особенно интерфероны;

- активированные компоненты комплемента;

- тканевые полисахариды, особенно содержащие концевую маннозу.

Основные проявления активации макрофагов:

- кислородный взрыв, т.е. накопление свободных радикалов (H_2O_2, O_2^-, OH^- – бактерицидные радикалы);

- генерация окиси азота (бактерицидное действие);

- усиление синтеза и экспрессии на мембране антигенов гистосовместимости, необходимых для формирования комплекса с антигенным пептидом для презентации специфическим лимфоцитам;

- усиление синтеза и секреции цитокинов (ИЛ-1, ФНОα и другие провоспалительные медиаторы);

- повышение активности фагоцитоза и его эффективности (завершенного фагоцитоза);

- повышение противоопухолевой активности;

- участие в регуляции иммунного ответа.

Этапы реализации фагоцитоза

I. Хемотаксис – направленное движение клеток по градиенту концентрации хемоаттрактанта.

Хемоаттрактанты: микробные продукты, компоненты комплемента (С3а, С5а), нейропептиды, фибрин, С-реактивный белок (СРБ).

Быстрее всех в очаг воспаления проникают нейтрофилы. У них более быстрая активация, и они в большом количестве присутствуют в пристеночном слое сосудов. Позже в очаг проникают моноциты и макрофаги.

II. Адгезия фагоцитов к объекту захвата реализуется за счет рецепторов.

Рецепторы фагоцитов обеспечивают фиксацию объекта захвата к фагоциту через следующие структуры*(рис. 5)*:

- рецептордля константного фрагмента молекулы антитела;

- рецептор для концевых сахаров;

- рецепторы для ламинина, коллагена, фибронектина;

- рецепторы для компонентов комплемента (эти компоненты одним участком молекулы фиксируются на объекте фагоцитоза, а другим участком – на фагоците).

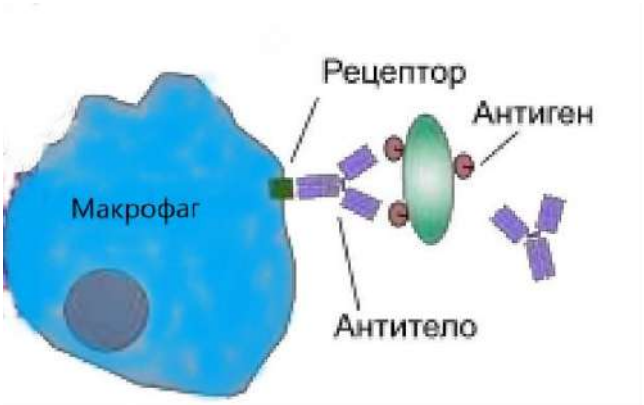


Рис. 5. Схема фиксации объекта захвата к фагоциту.

III. Образованием фагосомы и формирование фаголизосомы.

IV. Лизис и расщепление фагоцитированных клеток.

Секреторная активность фагоцитов

Реализуется двумя способами:

1. Дегрануляция – выброс гранул, содержащих ферменты, лизоцим, лактоферрин. Эозинофилы имеют в гранулах основной белок, токсичный для гельминтов.
2. Секреция – реализуется с участием аппарата Гольджи. Выделяются лизоцим, компоненты комплемента, ферменты, фибронектин, кислые гидролазы, провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНОα, ИФНα и ИФНβ).

Киллерная активность макрофагов

Реализуется под действием перфоринов и гранзимов, которые вводятся в объект и приводят к апоптозу и лизису. Кроме того, макрофаги могут убивать объекты с помощью ферментов, цитокинов (ФНОα).

Для реализации киллерного эффекта необходим контакт «макрофаг-мишень». Такой контакт может быть обеспечен через взаимодействие рецептора для антитела на макрофаге или через рецептор на комплементе.

Гуморальные факторы врожденной системы защиты

1) Комплемент.
2) Белки острой фазы воспаления (фибриноген, СРБ, маннозосвязывающий белок, сывороточный амилоидный белок).

Они синтезируются клетками печени при действии на них провоспалительных цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-6, ФНОα. СРБ и сывороточный амилоидный белок – пентраксины. По химической структуре это лектины (гликопротеины), которые могут связывать фосфорилхолин грамположительных микроорганизмов, но не собственных клеток. В результате этого взаимодействия происходит активация комплемента

(или классическая активация, или альтернативная) и лизис объекта.

3) Медиаторы воспаления – вырабатывают многие клетки: моноциты, макрофаги, клетки эндотелия, эпителия, синовиальных оболочек, дендритные клетки лимфоузлов, лимфоциты.

ИЛ-1:

– усиливает экспрессию молекул адгезии на эндотелии, повышает проницаемость капилляров, что приводит к отеку и инфильтрации очага;

– усиливает активность моноцитов/макрофагов и нейтрофилов в очаге;

– в костном мозге усиливает гемопоэз;

– стимулирует клетки печени к выработке СРБ и белков острой фазы воспаления.

ФНОα (фактор некроза опухоли α).

Синтезируется моноцитами, макрофагами, астроцитами, ретикулоэндотелиоцитами, Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами, NK-клетками в активированном состоянии.

Действие ИЛ-1 и ФНОα во многом перекрывается. Характер их действия:

- вызывают экспрессию молекул адгезии на клетках эндотелия и лейкоцитах;

- активируют нейтрофилы и моноциты/макрофаги;

- усиливают выработку цитокинов макрофагами и Т-лимфоцитами;

- активируют в клетках-мишенях липопротеиновую липазу, что приводит к расходованию запасов жира и может вызвать кахексию;

- являются основными гуморальными факторами развития септического шока;

- ФНОα вместе с ИФН повышают активность выработки фагоцитами активных метаболитов азота, губительных для микобактерий.

ИЛ-6 вырабатывается фибробластами и клетками эндотелия, макрофагами и Т-лимфоцитами.

Действие ИЛ-6:

- основной активатор выработки клетками печени белков острой фазы воспаления;

- стимулирует гемопоэз;

- действует на нейроэндокринную систему, что приводит к повышению температуры и усилению секреции АКТГ;

- подавляет выработку ИЛ-1, ФНОα, что приводит к завершению воспаления.

При увеличении синтеза АКТГ возрастает выработка глюкокортикостероидов, оказывающих противовоспалительное действие.

Интерфероны (ИФН)

α-интерферон вырабатывается макрофагами.

β-интерферон синтезируют макрофаги и фибробласты.

γ-интерферон вырабатывается NK-клетками и Т-лимфоцитами.

Синтез α- и β-интерферонов индуцируется под действием двухцепочечной РНК и вирусов.

Интерфероны подавляют репродукцию вирусов в клетках,стимулируют защиту организма от вирусов и других микроорганизмов, благодаря активирующему действию на моноциты/макрофаги, NK-клетки, Т-лимфоциты, В-лимфоциты.

Эндогенные пептиды (антибиотики)

Известно около 400 наименований. Эти пептиды образуются в клетках организма путем расщепления молекул белков-предшественников. Пептиды-антибиотики обнаружены в клетках растений, насекомых,млекопитающих (в том числе человека).

По структуре их подразделяют на 3 группы:

1) цекропины, магаинин и темпорины (у насекомых и лягушек);

2) тахиплезины у крабов, протегрины у свиней. У человека – дефензины. Дефензины синтезируют и содержат в гранулах нейтрофилы и клетки эпителия дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта.

3) апидецины – у пчел, свиней и коров.

При отсутствии таких пептидов (в следствие генетического дефекта) возможно развитие длительно текущей и прогрессирующей инфекционной патологии.

Кроме фагоцитов, базофилов, эозинофилов, тучных клеток, клеток эндотелия и эпителия, к числу реализующих врожденную ответную защитную реакцию относятся следующие клетки: дендритные клетки, NK-клетки, врожденные лимфоидные клетки (ILC-клетки).

Естественные киллеры (ЕК-клетки, NK- клетки)

Особенности NK-клеток:

1) функционируют без предварительной иммунизации;

2) распознают и убивают собственные измененные клетки;

3) продуцируют факторы антимикробного действия;

4) участвуют в регуляции деятельности клеток адаптивной (специфической) иммунной системы;

5) поверхностные рецепторы распознают вирусы и бактерии, мембранные структуры измененных клеток-мишеней, многие цитокины и хемокины;

6) содержат много цитокинов, обеспечивающих губительное действие на опухолевые или инфицированные клетки;

7) в периферической крови NK-составляют около10% от общего количества лимфоцитов;

8) не имеют CD3 и иммуноглобулиновых рецепторов.

Образование NK-клеток происходит в костном мозге из общего с В- и Т-лимфоцитами предшественника. Предшественник NK (пре-NK) – незрелая клетка – имеет рецепторы для ИЛ-2 и ИЛ-15. Под действием ИЛ-15 созревает, на клетке появляются CD56, NCR-рецепторы естественной цитотоксичности, KIR-киллерные рецепторы, лектиноподобные рецепторы. Клетки становятся способны продуцировать γ-интерферон, лимфотаксин и лизировать клетки.

Субпопуляции зрелых NK-клеток:

I. $CD56^{много}$ $CD16^{-}$. На таких клетках есть рецепторы для хемокинов и α-селектин для проникновения NKв лимфоузлы. Эти NK-клетки рецептируют ИЛ-1,2,10,12,15,18. Эти цитокины активируют NK, в результате естественные киллеры вырабатывают γ-ИФН, ФНОβ, ГМ-КСФ, ИЛ-10, ИЛ-13, участвуя таким образом в регуляции иммунного ответа. Перфоринов у этой субпопуляции клеток практически нет.

II. $CD56^{мало}CD16^{+}$

CD16 выполняет роль рецептора для константного фрагмента IgG (RFcγ). Такой рецептор обеспечивает возможность реализации антителозависимой клеточной цитотоксичности.

Рецептор для ИЛ-8 $NKCD16^{+}$-клетке необходим для её привлечения в очаг воспаления. Эта субпопуляция клеток обладает перфорином и высокой цитотоксической активностью. Рецепторы NK-клеток, распознающие клетки-мишени, делятся на активационные и ингибиторные. Ингибиторные рецепторы взаимодействуют с молекулами MHC-Iна клетках организма. Если плотность MHC-Iна клетке низкая (а это бывает у опухолевых, вирусных, аллогенных клеток), то сила ингибиторного сигнала снижена. Активационные рецепторы взаимодействуют с молекулами на своих измененных клетках, аллогенных клетках. Спектр распознаваемых молекул на клетках-мишенях очень широкий. В результате получения активационного сигнала NK-клетка реализует цитолитическое действие (некроз) или вызывает апоптоз.

При некоторых вирусных инфекциях эффективность деятельности NK-клеток снижается. Причины этого:

1. Вирусы подавляют способность NK-клеток к распознаванию инфицированных клеток и снижают их цитотоксический потенциал, действуя следующим образом:

- в клетке, пораженной вирусом, продуцируются кодируемые вирусом молекулы MHC-I;

- происходит изменение модуляции MHC-I на вирусинфицированной клетке в сторону увеличения;

- подавление функции активационных рецепторов естественного киллера (NK-клетки).

2. Вирусы кодируют в пораженной клетке синтез цитокин-связывающих белков для рецепторов NK-клеток. В результате цитокины не могут вызвать активацию NK-клеток.

3. Прямое негативное действие вируса на NK-клетку.

Пример: Цитомегаловирус (ЦМВ) индуцирует синтез белка ИЛ-18, структурно схожего с МНС-I. Этот белок фиксируется на мембране вирус-инфицированной клетки и вступает во взаимодействие с ингибиторным рецептором NK-клетки. ЦМВ нарушает процесс транспорта молекул МНС-I от эндоплазматического ретикулума до мембраны клетки.

Вирус простого герпеса (ВПГ) усиливает эндоцитоз МНС-I.

Врожденные лимфоидные клетки (InnateLymphoidcells–ILC)

Выделяют 3 подгруппы:

1. ILC-1– обладают цитотоксическим действием на опухолевые клетки. Имеют лектиновые рецепторы или иммуноглобулиноподобные рецепторы к различным молекулам. На каждой клетке – уникальная комбинация рецепторов. По функции эти клетки не отличаются от NK-клеток.

2. ILC-2 – называют естественными хелперами. Они секретируют ИЛ-4, 5, 9, 13 (как Т-лимфоциты хелперы). Играют большую роль в уничтожении гельминтов (ИЛ-5 активирует эозинофилы).

3. ILC-3 – одни клетки из этой подгруппы экспрессируют белок Nkp46 и способствуют активации NK-клеток, но сами гранулы с перфоринами и гранзимами не имеют. Другие клетки из этой подгруппы Nkp46 не имеют. Считаются индукторами формирования лимфоидной клетки.

Антигенпрезентирующие клетки

К их числу относятся дендритные клетки, моноциты, макрофаги, В-лимфоциты.

Все эти клетки несут так называемые лейкоцитарные антигены человека (HLA – HumanLeucocyteAntigens). Названы эти антигены так, потому что впервые были обнаружены на лейкоцитах. По химической структуре это гликопротеины. ОбразованиеHLAкодируется генами главного комплекса гистосовместимости (MajorHistocompatibility-Comlex – MHC). Молекулы HLA определяют биологическую индивидуальность каждого человека. В иммунной системе эти гликопротеины выполняют важнейшую функцию – они участвуют в презентации антигенпрезентирующими клетками пептидных антигенов Т-лимфоцитам.

HLA-молекулы подразделяют на продукты MHCкласса I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) и продукты MHC класса II (HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR). Продукты MHC класса I есть на всех ядерных клетках организма, а продукты MHCII класса – на клетках, участвующих в специфическом ответе на антигены. Комплекс из продуктов MHCI класса и антигена (пептида) распознается цитотоксическими Т-лимфоцитами. Комплекс из антигенного пептида и продукта MHC класса II распознается Т-хелперными лимфоцитами. Комплекс для презентации антигенов с продуктами MHCI класса формируется на ядерных соматических клетках организма. Комплекс из антигена и продукта MHCII класса формируется на антигенпрезентирующих клетках.

У каждого человека имеется определенный набор генов MHC – на всю жизнь без изменений. Рекомбинации генов MHC нет. На каждой из гомологичных хромосом генов MHCI – по 3 (A, B, C) и генов MHC II – тоже по 3. Всего этих генов у человека 12.

Неклассические гены МНС располагаются в области генов МНСI класса: E, F, G, H, J, X. За пределами генов МНС есть такие гены, которые обеспечивают презентацию антигенов некоторым Т-лимфоцитам (Tγδ, NKT). Это гены, кодирующие синтез CD1. В комплексе с CD1 Tγδ-лимфоциты распознают небелковые антигены микобактерий. В области МНСII неклассические молекулы – DM и DO.

Гены МНСIII располагаются между МНС I и МНС II. Они кодируют синтез компонентов комплемента (C4A, C4B, C2, фактор В), ФНО, лимфотоксина, а также фермента для биосинтеза стероидных гормонов (21-гидроксилазы).

CD-1 – антигенпрезентирующие молекулы «неМНС». По структуре это белки, похожие на МНС класса I. Существует 5 изоформ CD-1.

Tαβ-лимфоциты ($CD4^-CD8^-$, $CD4^-CD8^+$), Т-клеточный рецептор (TCR) которых содержит сегмент Vα24, распознают липидные антигены в комплексе с CD-1 a, b, c. Взаимодействие Т-лимфоцитов с антигеном в комплексе с CD-1dприводит к синтезу ИЛ-4.

Молекулы CD-1a локализованы на дендритных клетках (ДК), тимоцитах, клетках Лангерганса. CD-1b – на ДК, тимоцитах; CD-1c – на ДК, тимоцитах, клетках Лангерганса и В-лимфоцитах; CD-1d–на В-лимфоцитах, эпителии кишечника.

Дендритные клетки (клетки с отростками)

К профессиональным антигенпрезентирующим дендритным клеткам относятся только клетки костномозгового происхождения. Это интердигитальные дендритные клетки (ИДК). На всех антигенпрезентирующих клетках (ИДК, моноциты/макрофаги, В-лимфоциты) есть антигены гистосовместимости и первого, и второго класса (продукты МНС I и II класса). Для взаимодействия с лимфоцитами в процессе

презентации им антигена антигенпрезентирующие клетки имеют корецепторные молекулы.

Функции антигенпрезентирующих клеток могут выполнять и клетки эндотелия. Комплекс из АГ (пептида) и молекулы МНС класса I презентируется лимфоцитам, циркулирующим в крови.

У ИДК функция одна – презентация антигена и передача стимулирующего сигнала лимфоциту.

ИДК костномозгового происхождения: клетки Лангерганса в покровных тканях (слизистых оболочках дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, в коже, в лимфоузлах).

Также клетки способны презентировать антигены в комплексе с МНС I класса цитотоксическим Т-лимфоцитам, а комплекс из антигенного пептида в совокупности с продуктом МНС класса II – Т-лимфоцитам-хелперам.

Миелоидные ДК (МДК) происходят из моноцитов. Плазмоцитарные ДК происходят от общей лимфоидной клетки-предшественника, из которой развиваются также Т- и В-лимфоциты, NK-клетки. Из костного мозга они выходят неактивированными. Активируются они при проникновении патогена и превращаются в зрелые ДК (антигенпрезентирующие). Распознавание патогенов происходит через рецепторы для липополисахаридов бактерий и других продуктов грамположительных, грамотрицательных бактерий и вирусов. Активированные патогеном дендритные клетки мигрируют из покровных тканей в регионарные лимфоидные органы (лимфоузлы), где и презентируют антигены лимфоцитам.

В-лимфоциты также могут выступать в роли АПК, так как на их мембране есть продукты МНС Iи II классов. Однако эти клетки имеют и другиефункции.

Макрофаги также являются АПК, но у них у всех есть другие функции. ДК – профессиональные АПК, других функций не имеют.

Клетки адаптивного иммунитета

1) Т-клетки $CD3^+CD4^+$

2)Т-клетки$CD3^+CD8^+$

3) В-клетки$CD19^+CD5^-$

Т-лимфоциты реализуют клеточный иммунный ответ и выступают в роли помощников В-лимфоцитов при гуморальном иммунном ответе. Каждый клон Т-лимфоцитов несет на мембране рецептор Т-клетки строго одной специфичности (TCR –T-cellreceptor), взаимодействующий с антигеном.

МаркерныеантигеныCD (ClusterDifferentiation – кластеры дифференцировки):

1. $CD3^+$ – у всех Т-лимфоцитов;

2. $CD4^+$ – у Т-лимфоцитов хелперов;

3. $CD8^+$ – у цитотоксических Т-лимфоцитов.

Субпопуляции Т-хелперов (Тх):

1. Тх0 – эти клетки называются «наивными». Они созрели в тимусе и поступили в периферическую систему, но не встречались с антигеном, к которому специфичны. Продуцируют только ИЛ-2 (митоген для всех лимфоцитов).

2.Тх1 – продуцируют ИФНγ, ФНОβ, ИЛ-2.

Функции: - регуляция клеточного иммунитета, включая гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ);

- активация Т-цитотоксических лимфоцитов;

- стимулируют продукцию В-лимфоцитами опсонизирующих антител IgG, запускающих каскад активации комплемента;

- при избыточной активации Тх1 развивается избыточное воспаление с последующим повреждением тканей.

3. Тх2 – вырабатывают ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13.

Функции: - активация В-лимфоцитов, что приводит к секреции большого количества антител разных классов;

- активация эозинофилов;

- развитие аллергических реакций и бронхиальной астмы;

- развитие воспаления при патологическом гуморальном ответе;

- подавление функций Тх1, что приводит к снижению воспаления, вызываемого избыточной реакцией Тх1.

4. Тх9 – продуцируют ИЛ-9.

ИЛ-9 способен вызывать пролиферацию Т-хелперов при отсутствии антигенной стимуляции, усиливает секрецию В-лимфоцитами IgG, IgM, IgE.

ИЛ-9 оказывает поддерживающее действие на Treg (Т-регуляторы), что усиливает иммуносупрессивные свойства Treg.

При бронхиальной астме Тх9 продуцирует еще и ИЛ-10. Считают, что Тх9 – это Тх2, переключившиеся на синтез ИЛ-9.

5. Тх17 – специализируются на выработке ИЛ-17 (ещё ИЛ-22).

Функции: - противогрибковая и антибактериальная защита эпителиальных и слизистых барьеров;

- участвуют в развитии аутоиммунных заболеваний;

- привлекают и активируют клетки врожденного иммунитета, секрецию этими клетками противовоспалительных цитокинов (ФНО, ГМ-КСФ, ИЛ-1β), дефензинов.

6. Тх22 – отдельная субпопуляция. Продуцируют ИЛ-22, который играет важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний.

В норме необходим для поддержания гомеостаза в отношении микрофлоры кишечника.

При остром воспалении ИЛ-22 обладает защитным действием на гепатоциты. При системном воспалении, вызванном грамотрицательными бактериями (ЛПС таких бактерий, если их очень много), ИЛ-22 индуцирует экспрессию липополисахаридсвязывающего белка (LBP).

7. Т-регуляторы (Treg) – $CD4^{+}CD25^{+}$.

Подавляют активность других клеток иммунной системы посредством выработки ИЛ-10 (вызывает подавление макрофагов и Тх1) и ТФРβ (ингибитор пролиферации лимфоцитов). На мембране Treg есть индукторы апоптоза (FasL – фас-лиганд) «отработавших» лимфоцитов.

Treg естественные – созревают в тимусе.

Treg индуцированные возникают в процессе ответа на антиген. Локализованы преимущественно в слизистых оболочках.

Синтезируют ТФРβ – это Тх3.

Синтезируют ИЛ-10 – это Treg1.

8. $Т_{fx}$–фолликулярный хелпер.

Располагается в основном в лимфоидных фолликулах. Синтезирует ИЛ-21, способствующий созреванию В-

лимфоцитов и их терминальной дифференцировке в плазматические клетки. Те же цели достигаются благодаря выработке этими клетками ИЛ-4 и ИЛ-10.

В-лимфоциты

В процессе созревания В-лимфоцитов из общей лимфоидной клетки-предшественника (потомка стволовой кроветворной клетки – СКК) происходит перестройка генов иммуноглобулинов и формирование их антигенраспознающего рецептора; экспрессия молекул, необходимых для взаимодействия с Т-лимфоцитами и фолликулярными дендритными клетками.

Выделяют 3 главные субпопуляции В-лимфоцитов: В1, В2 и В-клетки маргинальной зоны (MZB). Из костного мозга выходят зрелые наивные В-лимфоциты, у которых на мембране экспрессируются два типа В-клеточного рецептора (BCR) – IgD и IgM. Наивные В-лимфоциты постоянно мигрируют через фолликулы лимфоидных органов, где и встречаются с антигеном. После распознавания антигенаи вступления в иммунный ответ В-лимфоцит проходит в фолликулах лимфоузла додифференцировку. Они пролиферируют, удерживаясь связями с ФДК. Затем происходит выбор дальнейшего пути: В-лимфоцит либо становится В-лимфоцитом памяти, либо превращается в плазматическую клетку, синтезирующую антитела.

Предшественники В1-лимфоцита ещё в эмбриональном периоде из фетальной печени мигрируют в брюшную и плевральную полости, где существуют как самоподдерживающаяся популяция. В небольших количествах эти клетки есть в селезенке и лимфоузлах. Назначение В1-клеток – быстрый ответна широко распространенные патогены, проникающие в организм; секреция естественных антител. Эти антитела полиспецифичны и способны перекрестно связывать мно-

жество антигенов. Эти антитела называют «нормальными иммуноглобулинами».

В-клетки маргинальной зоны (MZB) развиваются из костномозговых предшественников, находятся в маргинальных синусах селезенки. Их основной задачей является ответ на тимуснезависимые антигены, находящиеся в крови. Функционально они похожи на В1-клетки. Ответ развивается быстро. Рецептор этих клеток – IgM, распознают они полисахариды и фосфолипиды бактерий. После встречи с антигеном быстро превращаются в плазматические клетки.

Регуляторные В-лимфоциты (Breg) называют еще В10-клетками. За счет секреции ИЛ-10 они обладают иммуносупрессивными свойствами и играют важную роль в сохранении иммунного гомеостаза. Поверхностные маркеры Breg (В10): CD48, CD148, CD24, CD27, CD38. Происходят эти клетки из тех же предшественников, что и MZB.

В-лимфоциты памяти находятся в неактивированном состоянии, сохраняют длительную жизнеспособность. Маркеры В-клеток памяти: $CD19^{+}$, $CD27^{+}$.

Плазматические клетки интенсивно продуцируют иммуноглобулины разных классов.

Существуют субпопуляции Т-лимфоцитов со свойствами, «промежуточными» между неклонотипных механизмов врожденного иммунитета и клонотипных лимфоцитов адаптивного иммунного ответа. Такие лимфоциты с «промежуточными» свойствами после связывания с антигеном не пролиферируют, но сразу реализуют эффекторный ответ. К этим клеткам относятся Tγδ-лимфоциты, NKT-клетки.

NKT-клетки – естественные киллерные клетки, составляют 0,1% от общего количества Т-лимфоцитов периферической крови.

Имеют TCRαβ, взаимодействующий с широким спектром чужеродных и собственных антигенов. Распознают липиды и гликолипиды в комплексе с CD1d (подобна MHC I).

По свойствам TCR-NKT-клетки делятся на 2 типа:

Iтип – iNKT – рецептор инвариантный. Распознает гликолипиды собственного и микробного происхождения.

IIтип – рецептор распознает другие гликолипиды. Клетки с таким рецептором имеют отношение к противоопухолевой защите.

Роль NKT: - регуляция иммунного ответа – как стимулирующее действие за счет выработки ИФНγ, ГМ-КСФ, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, так и репрессивное – при выделении ИЛ-13, ИЛ-17, ИЛ-21, ИЛ-22, ФНОα.

Реализуют на ранних этапах инфекционного процесса антимикробную защиту. Участвуют в развитии воспаления, особенно при вирусных поражениях печени.

Tγδ-внутриэпителиальные Т-лимфоциты, имеют TCR, связывающий разнообразные антигены (белки теплового шока, фосфолипиды). Маркеры Tγδ-клеток – молекулы, свойственные NK-клеткам и антигенпрезентирующим клеткам (CD16, TLR– толл-рецептор). После распознавания и образования комплекса антиген-TCR эти клетки презентируют антиген αβ-Т-лимфоцитам. TCR-клетки Tγδ связывает антигены как молекула иммуноглобулина – без предварительного процессинга антигена и без участия антигенпрезентирующих клеток. На части Tγδ-клеток имеется $CD8^+$, но построена из αα-цепей. CD4 на этих клетках нет. Распознавать антиген Tγδ могут в комплексе с CD1.

В тимусе Tγδ-лимфоцитов меньше 1%. Дифференцируются они вне тимуса – в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта. В эпителии кожи, желудочно-кишечного

тракта, репродуктивного тракта, легких их больше 50% лимфоцитов. В эмбриогенезе они появляются раньше αβT-лимфоцитов. Распознаваемые антигены: аутоантигены, бактериальные суперантигены, фосфолипиды микобактерий, белки теплового шока; стресс-протеины, выделяемые травмированными кератиноцитами. Оказывают цитотоксическое действие, вырабатывают цитокины, стимулирующие иммунный ответ на проникающие при травме микроорганизмы.

NK-клетки составляют 15% от общего количества Т-лимфоцитов крови. Локализация этих клеток в наибольшем количестве – в печени, красной пульпе селезенки, слизистых оболочках (особенно репродуктивного тракта). Циркулируют только в крови, рециркуляции между лимфой и кровью нет.

Функции NK-клеток: - цитотоксическое действие;

- продукция ИФНγ, ФНО, ГМ-КСФ, ИЛ-5, ИЛ-8.

Рецепторы: 1) для ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15,

ИФНγ;

2) для MHCI (KIR-киллерингибирующий рецептор);

3) для FcIgG (FcγRIIIA=CD16) – для участия в антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ).

4) ингибиторы активности NK-клеток (CD94 иgp49B).

$CD3^+$ на мембране NK-клетки нет.

Субпопуляции зрелых NK-клеток:

I. $CD56^{много}$ $CD16^-$ локализуются в печени. В синусоидах печени эти клетки уничтожают лимфоциты, активированные пищевыми антигенами. В слизистой оболочке матки и децидуальной оболочке обеспечивают толерантность мате-

ри к антигенам эмбриона. Эти NK-клетки несут CD69, MHCII, CD45RO, VLA-1, ICAM-1.

II. $CD56^{мало}CD16^{+}$. Эта субпопуляция NK-клеток обеспечивает реализацию антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) – уничтожение вирусинфицированных, опухолевых клеток.

Иммунный ответ

Адаптивный иммунный ответ возникает только на появление антигена. В развитии иммунного ответа выделяют две стадии: индуктивную и эффекторную.

Индуктивная фаза заключается в презентации процессированного антигена антигенпрезентирующими клетками Т-лимфоцитам-хелперам, а затем выбирается путь иммунного ответа по клеточному или гуморальному типу. Выбор типа иммунного ответа реализуется при участии различных клеток – как клеток врожденного иммунитета, так и различных клеток адаптивного иммунитета (различных вариантов Т-хелперов). При участии различных Т-хелперов происходит дифференцировка эффекторных клеток и выполнение ими функций, для которых эти эффекторы предназначены. Возникает та или иная форма иммунного ответа. Кроме того, параллельно дифференцируются клетки памяти, которые будут активироваться и превращаться в эффекторы только при повторной встрече с тем же антигеном.

Лимфоциты имеют антигенраспознающие рецепторы – каждый клон имеет рецептор к конкретному антигену. У Т-лимфоцитов возможно 10^{18} вариантов специфичностей, у В-лимфоцитов 10^{16} вариантов.

Для инициации ответа необходимо взаимодействие антигенраспознающего рецептора лимфоцита с антигеном. Однако только этого взаимодействия недостаточно – лимфоциту необходимо получить еще один сигнал – через коре-

цепторные молекулы, имеющиеся на мембране этих клеток. С корецеторами на лимфоцитах взаимодействуют молекулы, синтезируемые дендритными клетками, макрофагами, эндотелиальными клетками, т.е. АПК. Проникающий в покровные ткани патоген поглощают дендритные клетки и/или макрофаги при помощи эндоцитоза (фагоцитоза). Это профессиональные АПК, мигрирующие с поглощенными и переработанными антигенами в лимфоидными органы. АПК презентируют антигены в комплексе с молекулами МНС и корецепторными молекулами. Также комплексы взаимодействуют с антигенраспознающими рецепторами Т-лимфоцитов в Т-зависимых зонах периферических лимфоидных органов. Среди Т-клеток, проходящих через лимфоузлы, рано или поздно встретится лимфоцит, несущий рецептор к конкретному антигену на поверхности АПК. Такой лимфоцит получает активационный сигнал, начинает пролиферировать и дифференцироваться в эффекторную клетку. Активированный Т-лимфоцит может взаимодействовать с активированными под действием антигена В-лимфоцитом, который после этого тоже будет пролиферировать и дифференцироваться в плазматическую клетку – антителопродуцент. Часть плазматических клеток остается в лимфоузле, а синтезируемые ими антитела связываются константным фрагментом с фолликулярными дендритными клетками (ФДК) и сохраняются в таком виде в течение длительного времени (иммунная память).

Остальные плазматические клетки из лимфоузлов мигрируют в костный мозг или слизистые оболочки, где секретируют антитела, поступающие затем в кровь. Активированные Т-лимфоциты (ЦТЛ, Тх1, Тх2) из регионарных лимфатических узлов через лимфатические сосуды поступают в кровь, с током которой доходят до очага воспаления. Если Тцтл в очаге воспаления находят соответствующий антиген, они синтезируют цитотоксины, вызывающие гибель клеток-

мишеней. Т-хелперы при распознавании антигена реализуют свои функции: Тх1 вовлекает для деструкции антигена другие лейкоциты (макрофаги, эозинофилы и др.), а Тх2 выделяют цитокины для активации В-лимфоцитов.

Если организм в результате освобождается от патогена, то в норме происходит остановка продуктивного иммунного ответа – супрессия ответа. Формирование иммунной памяти – еще один результат.

В основе феномена иммунной памяти лежит следующий факт: часть лимфоцитов антигенспецифичного клона сохраняется в неизменном состоянии в течение неопределенного времени (от недель до многих лет).

В-лимфоцит памяти – $CD19^+CD27^+$

Т-лимфоцит памяти: Тцтл - $CD8^+CD45RO$

Т-хелперы - $CD4^+CD45RO$

Антитела

Способность специфически распознавать антигены есть у двух групп молекул:

- у антител;

- у Т-клеточных рецепторов.

Уникальное свойство антител, отличающее их от рецептора Т-лимфоцитов, – это их способность связывать антиген в том виде, в каком он проникает в организм (в нативной конформации). При этом предварительной метаболической обработки антигена не требуется. Они сразу связывают поступившие антигены, что способствует их элиминации. Биохимическая структура антител – гликопротеин, называемый иммуноглобулином (Ig). Антитела определенной специфичности синтезируются В-лимфоцитами одного клона.

На мембране В-лимфоцита молекула иммуноглобулина выполняет роль антигенраспознающего рецептора. Свободная (растворимая) форма иммуноглобулина – это антитела в сыворотке крови и других жидкостях организма.

Молекула Ig построена из двух тяжелых цепей полипептидов (Н-цепи) и двух лёгких (L-цепи). Тяжелые цепи содержат 4-5 доменов, легкие по 2 домена. Концевые домены легких и тяжелых цепей имеют вариабельный состав – для распознавания антигена. Остальные домены имеют постоянную структуру и называются константными. Эти участки взаимодействуют с рецепторами клеток, с комплементом и др.

По константному домену легких цепей (C_L) определяют изотип иммуноглобулина – κ или λ. По константным доменам тяжелых цепей (C_H) определяют изотип тяжелых цепей (μ, γ, δ, ε, α) и соответствующий класс иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgD, IgE, IgA.

Вариабельные домены содержат 4 участка, имеющие почти стабильный состав – это каркасные участки. В промежутках между каркасными участками располагаются три очень вариабельных участка. Именно эти фрагменты играют ключевую роль в распознавании и связывании антигена. Вариабельные участки легкой и тяжелой цепей направлены на встречу друг другу. Между ними формируется канал, который и представляет собой активный центр Ig для распознавания и связывания конкретного антигена.

Поскольку антитело – это белок, то оно обладает антигенностью. Антигенная специфичность вариабельных участков иммуноглобулинов уникальна. В вариабельный зоне можно выделить несколько уникальных антигенных детерминант, которые называются идиотопами. Совокупность идиотопов иммуноглобулинов называют идиотипом. В организме могут синтезироваться антитела к идиотипу – антиидиотипи-

ческие антитела. Они играют важную роль в регуляции иммунного ответа.

Шарнирный участок в молекуле Ig – часть полипептидной цепи, не входящая в состав доменов. Благодаря этому участку угол между активными центрами может быть изменен, и в этом случае оба активных центра могут связываться с двумя антигенами.

Антитела классов G, E, D имеют мономерную структуру (по 2 легкие и 2 тяжелые цепи, 2 активных центра). Молекула сывороточного IgM – пентамер. Общая j-цепь соединяет 5 мономерных молекул через константные фрагменты. IgA может быть сывороточным и секреторным. При секреции через слизистые оболочки формируется димер – две мономерные молекулы IgA через константные участки объединяются секреторным компонентом и фиксируются на эпителии слизистой оболочки кишечника, бронхов, урогенитального тракта. Содержится IgA в секреторной форме и в секретах слезных, слюнных, потовых, молочных желез. Активные центры IgA при этом «смотрят» в просвет кишечника, дыхательных путей и могут связывать поступающие антигены.

Роль иммуноглобулинов различных классов в иммунном ответе

IgM:

- синтезируются первыми при первичном иммунном ответе;

- агглютинируют клетки-мишени;

- связывают комплемент;

- являются антителами экстренной защиты в основном против бактерий.

IgG:

- по количеству в организме это основная часть антител;

- обладают высоким сродством к антигенам;

- обеспечивают защиту от микроорганизмов и токсинов;

- активно связываются с рецепторами для них на различных клетках (моноцитах, макрофагах, нейтрофилах, лимфоцитах и др.), что приводит к активации этих клеток.

IgA:

- основной иммуноглобулин слизистых оболочек.

IgD:

- рецептор В-лимфоцитов для распознавания антигена.

Рецепторы для антигенов на В-лимфоцитах

1) Рецептор – это комплекс из мембранного иммуноглобулина и нескольких дополнительных полипептидных цепей.

2) На мембране зрелого В-лимфоцита до первого контакта с антигеном в качестве распознающего рецептора локализована мономерная форма IgM и IgD.

3) После встречи В-лимфоцита с антигеном в процессе иммунного ответа в качестве распознающих антиген молекул появляются IgG, IgE, IgA.

4) Все рецепторы одной клетки (клона) идентичны по специфичности.

5) Дополнительные молекулы В-клеточного рецептора (BCR) не связаны с распознаванием антигена, но важны для передачи активационного сигнала достаточной интенсивности в ядро В-лимфоцита. Это молекулы CD79a, CD79b, CD19, CD22, CD81. Кроме распознавания и связывания антигена, антитела участвуют в регуляции деятельности многих клеток организма.

Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, тромбоциты, клетки Лангерганса, лимфоциты, NK-клетки имеют рецепторы к константному фрагменту IgG (RFcγ). Фиксация IgG к этим клеткам вызывает изменение их активности.

Рецепторы к FcIgE есть на тучных клетках, базофилах, моноцитах, макрофагах, эозинофилах, В-лимфоцитах. Рецепторы к FcIgA локализуются на Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах, моноцитах, макрофагах. При взаимодействии иммуноглобулинов с рецепторами клеток возникает ответная реакция клеток разного характера.

Антиген

Антиген (АГ) – любая молекула, несущая признаки генетически чужеродной информации, способная вызвать ответные реакции иммунной системы (белки, углеводы, полифосфаты, стероиды). Способность вызывать иммунный ответ обусловлена особой частью молекулы – антигенной детерминантой (эпитопом). У большинства белковых антигенов эпитоп образуется последовательностью из 4-8 аминокислотных остатков, у полисахаридных антигенов – из 3-6 гексозных остатков. Число детерминант (эпитопов) у одного вещества различное. У яичного альбумина их не менее 5, у дифтерийного токсина – 80.

Поступающие извне антигены – экзогенные. Продукты собственных клеток организма – эндогенные антигены (аутоантигены). Антигены, вызывающие аллергические реакции – аллергены.

По локализации в организме можно выделить антигены, локализованные (связанные) на клетках организма, и антигены, не связанные с клетками.

Антигенная детерминанта (эпитоп) связывается с активным центром антитела при зеркальной конфигурации этих участков («ключ-замок»). Между эпитопом и активным цен-

тром связь обусловлена ионными, ван-дерваальсовыми, водородными и гидрофобными силами. Сила химической связи одного эпитопа с одним активным центром антитела называют аффинностью связи антитела с антигеном. Силу связи целой молекулы антитела со всеми эпитопами, которые ей удалось связать, называют авидностью связи антитела с антигеном.

Антигены подразделяются на тимусзависимые и тимуснезависимые. Тимуснезависимые антигены способны вызывать иммунный ответ В-лимфоцитов без помощи Т-лимфоцитов. Тимусзависимые антигены вызывают иммунный ответ при обязательном участии Т-лимфоцитов.

Тимуснезависимые антигены подразделяются на 2 класса (ТН-1 и ТН-2):

1. ТН-1 индуцируют поликлональную активацию зрелых и незрелых лимфоцитов, выступая в роли митогена для В-лимфоцитов. Например, бактериальные полисахариды (ЛПС) взаимодействуют не с антигенраспознающим иммуноглобулиновым рецептором В-лимфоцитов, а с рецептором, распознающим характерные молекулы для группы микроорганизмов (ПАМП).

2. ТН-2 – это полисахаридные длинные молекулы с повторяющимися структурами. Они могут за счет этих одинаковых структур вызывать перекрестную сшивку рецепторов на В-лимфоците. В результате В-лимфоцит получает достаточно сильный сигнал. Активируются ТН-2 антигенами, как правило, В1-лимфоциты и MZB-лимфоциты (В-клетки маргинальной зоны в маргинальных синусах селезенки).

Иммунная память на тимуснезависимые антигены не формируется.

Рецепторы для распознавания антигена

B-лимфоциты

BCR – это молекула иммуноглобулина и еще два полипептида, называемые Igα (CD79a) и Igβ (CD79b). Молекула иммуноглобулина связывает антиген как в растворе, так и в фиксированном на клетке состоянии. Молекулы CD79 служат для передачи сигналов в ядро в клетке. В цитоплазматических участках CD79 a и b есть последовательности аминокислотных остатков, называемые иммунорецепторными тирозинсодержащими активирующими последовательностями (ITAM – ImmunoreceptorTyrosine-basedActivationMotif). Взаимодействие BCR с антигеном, у которого эпитопы повторяются и связываются с несколькими BCR, «сшивая» их, приводит к активации B-лимфоцита. Однако в большинстве случаев для активации B-лимфоцита недостаточно сигнала, поступающего только от BCR. Требуется еще сигнал, поступающий от активированного T-лимфоцита через корецепторы. Это молекулы на мембране B-лимфоцита: CD19, CR2 (CD21) и TAPA-1 (CD81).

Антигенраспознающий рецептор T-лимфоцитов

T-лимфоциты распознают только антигены на мембране собственных клеток организма в комплексе с MHC I, или MHC II, или CD1.

TCR состоит из двух цепей-полипептидов. Два варианта TCR: αβTCR и γδTCR. Вариабельные домены α- и β-цепей имеют вариабельный аминокислотный состав. Они гомологичны V-области молекул иммуноглобулинов и составляют V-область TCR. Вариабельные области α- и β-цепей – константные. Цитоплазматический участок и α, и β цепей короткий. Он не может обеспечить проведение активационного сигнала. Для этого служат 6 дополнительных полипептидных цепей: δ, γ, 2ε и 2ζ.

Цепи δ, γ, ε образуют гетеродимеры γε и δε – вместе это комплекс CD3. Этот комплекс необходим для экспрессии α- и β-цепей, их стабилизации и проведения сигнала внутрь клетки. Проведение сигнала в клетку реализуют и 2 ζ-цепи.

Кроме TCR каждый зрелый Т-лимфоцит экспрессирует одну из корецепторных молекул – CD4 или CD8. Эти молекулы взаимодействуют с молекулами МНС на клетках-мишенях или антигенпрезентирующих. CD4 связывается с β2-доменом МНС II. CD8 связывается с α3-доменом молекулы МНС I.

Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов

При первичном иммунном ответе В-лимфоциты связывают растворимый антиген, эндоцитируют его, подвергают процессингу и презентируют антигенные эпитопы в комплексе с молекулами МНС II. Т-лимфоцит через TCR распознает антиген на мембране В-лимфоцитов в комплексе с МНС II. Такое взаимодействие происходит в Т-зависимых зонах лимфоидной ткани.

Если распознавание антигена реализуется в одно время и В-лимфоцитом, и Т-лимфоцитом независимо друг от друга, то взаимодействие этих клеток может ограничиться восприятием В-лимфоцитом цитокиновых сигналов от Т-лимфоцита.

При вторичном иммунном ответе в процесс вовлекаются Т-клетки памяти и обязательно происходит взаимодействие мембранной молекулы В-лимфоцита CD40 с мембранной молекулой Т-лимфоцита CD40L. Это взаимодействие инициирует переключение с IgM на другие изотипы антител.

Характер активации АПК зависит от нескольких факторов:

- биохимическая характеристика патогена;

- доза патогена;

- биологические свойства патогена;

- путь попадания патогена в организм.

Th1-опосредованный ответ развивается при следующих условиях.

При контакте с антигеном внутриклеточных микроорганизмов и опухолевыми антигенами ДК вступают во взаимодействие с Т-лимфоцитами лимфоузлов и продуцируют ИЛ-12 и ФНОα, стимулируют Т-лимфоциты к выработке ИФНγ. Макрофаги и нейтрофилы тоже продуцируют ИЛ-12.

ИФНγ и ИФНα – кофакторы для превращение Тх0 в Тх1. Активированные $CD8^+$ Т-лимфоциты тоже синтезируют ИФНγ и ИФНα, способствуя таким образом дифференцировке Тх1. В свою очередь Тх1 активируют цитотоксические $CD8^+$ Т-лимфоциты и макрофаги.

Иммунный ответ Th2-типа контролируется в основном другим цитокином – ИЛ-4. Продуценты ИЛ-4 – это $CD4^+$ Th2-клетки, дважды негативные $CD4^-8^-$ Т-лимфоциты, тучные клетки. Цитокин ИЛ-4 служит для стимуляции В-лимфоцитов к образованию антител. Th2-лимфоциты поддерживают переключение синтеза иммуноглобулинов в В-лимфоцитах на IgE, IgG_4, IgA.

Направление терминальной дифференцировки наивных $CD4^+$ Т-лимфоцитов (Тх0) в сторону преобладания Th1 или Th2 называют иммунным отклонением.

Антителозависимые механизмы защиты

Связывание антител с антигеном является защитным. Если антиген – яд, то антитело нейтрализует его действие. Если антиген локализован на вирусе, бактерии, то антитело, связав его, препятствует распространению в организме.

Однако образованные комплексы затем расщепляются до мелких компонентов с помощью системы комплемента.

FcR– семейство мембранных рецепторов клеток иммунной системы. Через эти рецепторы к клетке-носителю рецептора фиксируется молекула иммуноглобулина – либо свободной молекулы Ig, либо в составе комплекса с антигеном. FcR есть не только на лимфоцитах, но и на всех известных лейкоцитах.

Комплексы, состоящие из антигена, антитела и комплемента транспортируются эритроцитами в синусоиды селезенки и печени, где макрофаги фагоцитируют и расщепляют их.

Антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦТ)

Этот феномен реализуется, когда иммуноглобулин активным центром взаимодействует с эпитопом на поверхности клетки-мишени. Fc-фрагмент молекулы антитела служит для взаимодействия с NK-клеткой. В результате NK-клетка активируется и разрушает клетку-мишень за счет перфорин-гранзимового механизма.

Гиперчувствительность немедленного типа

На фоне воспаления активированные тучные клетки и базофилы выделяют цитокины, поддерживающие иммунный сдвиг в сторону Th2 и активацию эозинофилов. На тучных клетках и базофилах имеются рецепторы для FcIgE. Через эти рецепторы базофилы и тучные клетки фиксируют молекулы IgE в свободной форме (без антигена). В этом состоянии клетки готовы при взаимодействии IgE с соответствующим антигеном на их поверхности активироваться и дегранулироваться.

В гранулах базофилов и тучных клеток содержатся лейкотриены, гистамин, фактор активации тромбоцитов (ФАТ),

ферменты и цитокины (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10), ГМ-КСФ, ФНОα и др. Эти вещества действуют на окружающие клетки, вызывая соответствующую клиническую картину.

Эффекторные механизмы, опосредованные клетками

Эти механизмы в первую очередь реализуют ЦТЛ. К ним относятся $CD8^+$ Tαβ-лимфоциты и NKT-клетки. Есть Т-киллеры и среди Tγδ-лимфоцитов.

Главная функция ЦТЛ – санация организма от внутриклеточных патогенов, опухолевых и других измененных клеток. Киллерная функция ЦТЛ реализуется с помощью особых белков – цитотоксинов (перфорина, гранзимов и цитолизина). Синтез и накопление цитотоксинов происходит в ЦТЛ после вовлечения в иммунный ответ. Они накапливаются в гранулах, сконцентрированных в клетке вблизи TCR. Дегрануляция ЦТЛ происходит в области межклеточного контакта при связывании TCR с антигеном на поверхности клетки-мишени при наличии ионов кальция. Перфорин в виде полипептидных цепей проникает в мембрану клетки-мишени и в присутствии Ca^{2+} полимеризуется, образуя цилиндрическую структуру с каналом диаметром около 16 нм. Через образованную пору в клетку-мишень попадают выделенные ЦТЛ гранзимы A, B и C. Это сериновые протеазы, которые запускают реализацию апоптоза клетки-мишени. При этом разрушается ДНК клетки, белков клетки и прекращается репродукция вируса. Если апоптоз мишени не реализуется, то она разрушается в результате осмотического лизиса. Однако в этом случае вирусные частицы, если они сформированы, могут инфицировать соседние клетки.

$CD8^+$ ЦТЛ продуцируют цитокины: ИФНγ, ФНОα и LTα. Эти цитокины подавляют репликацию вирусов, индуцируют экспрессию молекул МНС I и МНС II на клетках-мишенях, что способствует презентации вирусных антиге-

нов Т-лимфоцитам; активируют макрофаги и NK-клетки; способствуют дифференцировке Th0 в Th1.

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ)

ГЗТ – продуктивное воспаление, организуемое $CD4^+$Th1 – продуцентами ИФНγ. Клетками-исполнителями являются макрофаги. Для активации макрофагов лимфоциты реализуют следующие взаимодействия:

- контакт молекулы CD40L на Т-лимфоцитах с молекулой CD40 на макрофагах;

- ИФНγ связывается с рецептором на макрофагах;

- Th1 распознает антиген на макрофагах (если макрофаг уже образовал комплекс с антигеном) и активируется, а в результате усиливает активацию макрофага. Микробицидные возможности активированного Т-лимфоцитом макрофага возрастают. На его мембране увеличивается количество FcγR, при помощи которых макрофаг связывает комплекс антиген-антитело и фагоцитирует их. В макрофаге усиливается образование перекиси водорода, супероксидных радикалов, NO-синтазы, лейкотриенов; факторов усиления воспаления.

- на активированных макрофагах экспрессируется большое количество МНС II, что активизирует роль макрофагов в качестве АПК.

Очаг воспаления – это плотный узелок, плотность которого обусловлена выпотом из сосудов фибриногена и превращением его в фибрин. Первые 6-8 часов в очаге преобладают нейтрофилы, потом – макрофаги, Th1-лимфоциты. До развития плотного воспаления должно пройти не менее 24-48 часов.

Аллергические заболевания

Аллергические реакции – реакции гиперчувствительности иммунной системы, не имеющие защитного значения для организма. Развивается в ответ на воздействие антигенов, называемых аллергенами. Эти реакции – основа патогенеза аллергических заболеваний. Сенсибилизация организма, тканей, клеток – это «подготовленность» к ответу на аллерген реакцией гиперчувствительности.

Аллергическая реакция высокоспецифичная – исключительно на антигены, вызвавшие сенсибилизацию – истинная аллергия.

Псевдоаллергические реакции – антиген-независимая дегрануляция с теми же патофизиологическими последствиями, что и при истинной аллергии.

Псевдоаллергические реакции возникают под действием:

- продуктов деградации коллагена;

- хемокинов ИЛ-8, MIP-1a, RANTES (вырабатываются Т-лимфоцитами);

- цитокинов ИЛ-3, ГМ-КСФ;

- анафилатоксинов С5а, С3а;

- лекарственных средств (опиаты, НПВП, цитостатики);

- пищевых продуктов – гистаминолибераторов (рыба, овощи, фрукты);

- физических факторов.

Аллергены:

- Белки;
- Полисахариды.

Свойства аллергенов:

- молекулярная масса от 10 до 70 кДа;

- способность сорбироваться или агрегироваться в мелкие частицы и в таком виде диффундировать в секреты слизистых оболочек и покровных тканей (без травмирования тканей);

- высокая растворимость;

- химическая стабильность invivo;

- проявляют свое действие в крайне малых дозах;

- небелковые вещества – не аллергены. Однако при соединении с собственными белками организма могут становиться аллергенами.

Классификация аллергенов:

- Ингаляционные;
- Пищевые;
- Парентеральные (лекарства, сыворотки, вакцины, яды и слюна кровососущих насекомых).

Экзогенные аллергены делятся на инфекционные и неинфекционные (бактерии, грибы, вирусы, гельминты).

Типы реакций

I. IgE-зависимый, анафилактический.

IgE – гомоцитотропные антителак тучным клеткам, базофилам.

Аллерген → в организм → фагоцитируется АПК → процессинг АГ → презентация Тх2 → активация Тх2. Активация Тх2 приводит к синтезу цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13) и экспрессии на их мембране CD40L. Это способствует активации В-лимфоцитов и синтезу ими IgE. В свою очередь иммуноглобулины класса Е:

1) Взаимодействует с FcεRI на тучных клетках слизистых оболочек и базофилах;

2) взаимодействуют с FcεRII (CD23) – эти рецепторы есть на В-лимфоцитах, моноцитах, эозинофилах. CD23 может отделяться от мембраны клетки, циркулировать и стимулировать В-лимфоциты к продукции IgE.

При повторном поступлении антиген связывается с IgE на мембране клеток. Это вызывает активацию тучных клеток или базофилов, в результате эти клетки дегранулируются. Цепь биохимических реакция при этом приводит к накоплению в гранулах медиаторов: простагландина D2, лейкотриенов С4, D4, Е4, ФАТ, гистамина. Всё это приводит к развитию патофизиологической фазы реакции (повышение проницаемости сосудов и отек тканей, сокращение гладкой мускулатуры, гиперсекреция слизистых желез, раздражение нервных окончаний). Это быстрая (ранняя) фаза аллергической реакции.

Поздняя (отсроченная) фаза аллергической реакции.

В результате повышения проницаемости сосудов из них в ткани поступает не только жидкая часть крови, но и клетки. Активация клеток эндотелия приводит к экспрессии молекул клеточной адгезии на эндотелии и инфильтрации тканей базофилами, эозинофилами, тучными клетками, клетками Лангерганса. Активация перечисленных клеток приводит к секреции ими медиаторов, обладающих провоспалительным (проаллергическим) действием. Результат: поздняя, или отсроченная, фаза аллергической реакции. Типичные примеры таких реакций: бронхиальная астма, аллергический ринит, аллергический конъюнктивит, крапивница.

Цитокины тучных клеток и базофилов:

- ИЛ-4, ИЛ-13 – дифференцировка Тх0 в Тх2;

- ИЛ-5, ИЛ-3, ГМ-КСФ – поддержание дифференцировки и активации эозинофилов.

У тучных клеток и базофилов на мембране FcεRI.

Тучные клетки слизистых оболочек содержат лейкотриен С4 (LTC4) и в них мало гистамина.

Тучные клетки соединительной ткани содержатся в серозных оболочках, в них много гистамина и простагландин D2.

Базофилы циркулируют в крови. В ткани мигрируют только при наличии очага воспаления. Молекулы адгезии для хоминга в ткани: LFA-1 (CD11a/CD18), CD44, Mac-1 (CD116/CD18).

Активация тучных клеток и базофилов происходит при:

1. Образовании комплекса IgE-антиген

2. Присоединении антител к рецептору FcεRI. FcεRI связывает IgE (без связи с антигеном)

При взаимодействии IgE с антигеном на мембране тучные клетки за секунды или минуты дегранулируются.

Медиаторы:

- С3а и С5а - анафилатоксины

- медиаторы из активированных нейтрофилов;

- нейромедиаторы (норадреналин, вещество Р);

- гистамин;

- липидные медиаторы (фосфолипаза А2);

- простагландин D2;

- лейкотриены (С4, D4, Е4). Этот комплекс – медленно реагирующий компонент анафилаксии (констрикция бронхов при бронхиальной астме);

- ФАТ – фосфолипид (вызывает бронхоконстрикцию, релаксацию гладких мышц сосудов и ретракцию эндотелия).

Цитокины тучных клеток и базофилов: ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ГМ-КСФ, ФНОα.

Тип II – цитотоксический – антителозависимая цитотоксическая гиперчувствительность

При этой реакции гиперчувствительности антигенами являются внеклеточные структуры (базальная мембрана почечных клубочков), или АГ сорбированные на клетке, или естественные АГ клеточных поверхностей. Присоединение антител к этим антигенам вызывает активацию комплемента по классическому пути и лизис клетки.

АТ соединяются своим активным центром с АГ на клетке. Клеточная поверхность покрыта FcIg (опсонизирована).

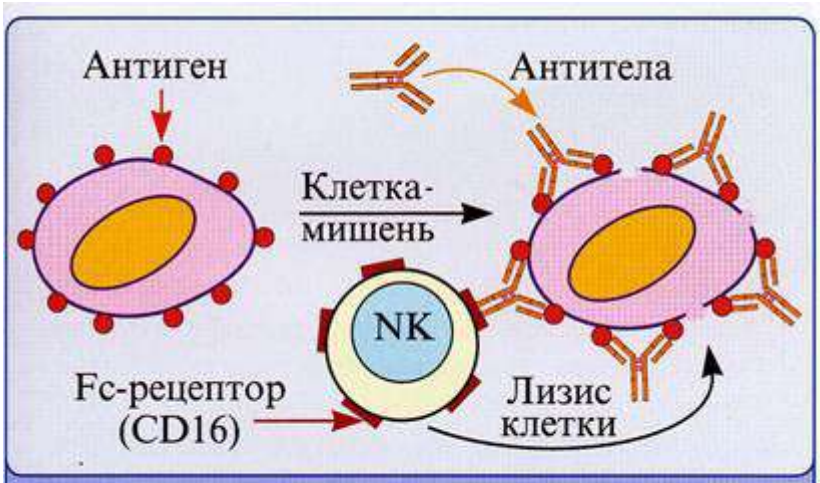


Рис. 7.48. Антителозависимая клеточная цитотоксичность

Тип III – иммунокомплексный механизм (сывороточная болезнь)

Прицепитиноген $^{+}$ АТ → мелкие комплексы в растворимой форме.

Присоединение С1 компонента комплемента к этим комплексам приводит к активации комплемента и агрегации тромбоцитов. FcγR на клетках приводит к активации эндотелия, клеток синовии и воспалению.

Тип IV ГЗТ

После сенсибилизации антигеном происходит активация Т-лимфоцитов и превращение их в бластные клетки-киллеры.

Гранулемы из макрофагов и лимфоцитов образуются при контактном дерматите, инфекционной аллергии, реакции отторжения трансплантата, аутоиммунных поражениях.

Тх1 вырабатывают ИФНγ, что приводит к активации макрофагов.

Для активации макрофагов необходимо:

1. Контакт CD40L на Тх1 с CD40 на макрофагах;

2. Связывание ИФНγ с рецепторами на макрофагах;

3.Макрофаг, связавший микробный АГ. Взаимодействие с рецептором Тх1 → Тх1 выделяет ИФНγ и экспрессирует CD40L.

Ингибитор активации макрофагов – ИЛ-10.

Антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ).

Является защитной реакцией.

АТ связывает АГ на клетке-мишени. Через Fc-фрагмент антитела присоединяются NK-клетки, макрофаги, эозинофилы, нейтрофилы и другие клетки.

Присоединение IgE к FcεRII (низкоаффинный рецептор) или IgA к FcαRII (низкоаффинный рецептор) и ИЛ-5 на поверхности эозинофила вызывает синтез и секрецию токсичных для гельминтов белков, цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4,

ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-13, ГМ-КСФ, ФНОα), что приводит к развитию воспаления.

Тип V – антирецепторный

Антитела против рецепторов клетки не связывают комплемент.

После взаимодействия таких антител с рецепторами собственных клеток возможно два варианта событий:

1. Активация клетки. Например, АТ к рецептору тиреотропного гормона. Их конфигурация аналогична ТТГ, соответственно, и действие таких антител аналогично ТТГ. Появление таких антител приводит к развитию тиреотоксикоза.

2. Блокирование передачи сигнала в клетку. Например, при блокировке антителами ацетилхолиновых рецепторов развивается миастения.

Система комплемента

Систему комплемента составляют более 20 различных белков, среди которых 9 основных и 3 ингибитора. Компоненты комплемента циркулируют в крови в неактивном состоянии.

Функции системы комплемента:

1. Опсонизация – процесс, при котором фагоцитозу способствуют связанные с антигеном опсонины (антитела, C3b-компонент комплемента, фибронектин, лейкотриены и др.).

2. Участие в воспалительных реакциях.

3. Цитотоксическая – действие мембраноатакующего комплекса, образующегося на поздних стадиях активации

системы комплемента, на мембрану бактериальной или любой другой клетки и ее разрушение.

Активация системы комплемента осуществляется двумя путями:

1. Классическим (иммунным).
2. Альтернативным (пропердиновым).

Классический путь активации системы комплемента.

Особенности:

1. Необходимо образование специфических IgM, IgG и иммунных комплексов, что требует определенного времени.
2. Классический путь активации системы комплемента начинается с первых компонентов: C1, который состоит из 3 субкомпонентов (C1q, C1r, C1s), и далее C4, C2 и C3.

Активация комплемента по классическому пути начинается с C1q субкомпонента, который фиксируется к Fc-фрагменту иммуноглобулина. Затем к нему фиксируется C1r, затем C1s. Образуется активный комплекс из составных частей C1, который активирует C4. Образованию активного C1 препятствует C1-ингибитор, при врожденном дефиците которого развивается ангионевротический отек (*рис. 6*). Для терапии врожденного ангионевротического отека используется рекомбинантный C1-ингибитор (руконест).

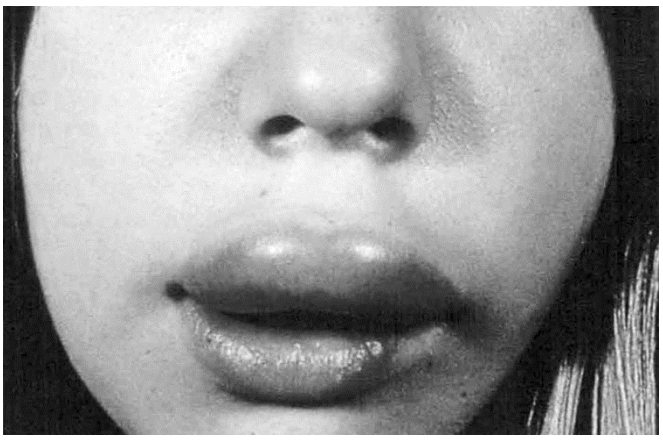


Рис. 6. Наследственный ангионевротический отек.

C4 распадается на C4a и C4b. C4b активирует C2. C2 распадается на C2a и C2b. C2a присоединяется к C4b, обра-

зуя конвертазу 3 компонента комплемента классического пути активации. Она расщепляет C3 на C3a и C3b. На этом этапе действует C3b-инактиватор.

C3b связывается с C4b и C2a, образуя конвертазу 5 компонента комплемента. C5 расщепляется на C5a и C5b. C5b присоединяется к C6 и C7, затем присоединяются C8 и C9. Образуется мембраноатакующий комплекс, вызывающий осмотический лизис клетки.

Альтернативный путь активации системы комплемента.

Особенности:

1. Не требуется образование иммунных комплексов, поэтому не уходит время на продукцию иммуноглобулинов.

2. Не требуется участие первых компонентов комплемента – C1, C4 и C2.

3. Срабатывает сразу после внедрения антигена. Активаторами являются полисахариды, липополисахариды, вирусы, опухолевые клетки, паразиты.

Пропердиновая система состоит из факторов D и B. Фактор D – активный фермент, субстратом для которого является фактор B. C3b связывается с фактором B. Затем фактор D оказывает протеолитическое воздействие на образовавшийся комплекс. Фактор B расщепляется на Ba и Bb. Bb взаимодействует с C3b, образуя конвертазу 3 компонента комплемента альтернативного пути активации. Она стабилизируется пропердином. Активируется C3, затем образуется C5-конвертаза. Далее идет сборка мембраноатакующего комплекса. Обобщенная схема классического и альтернативного путей активации системы комплемента приведена на рисунке 7.

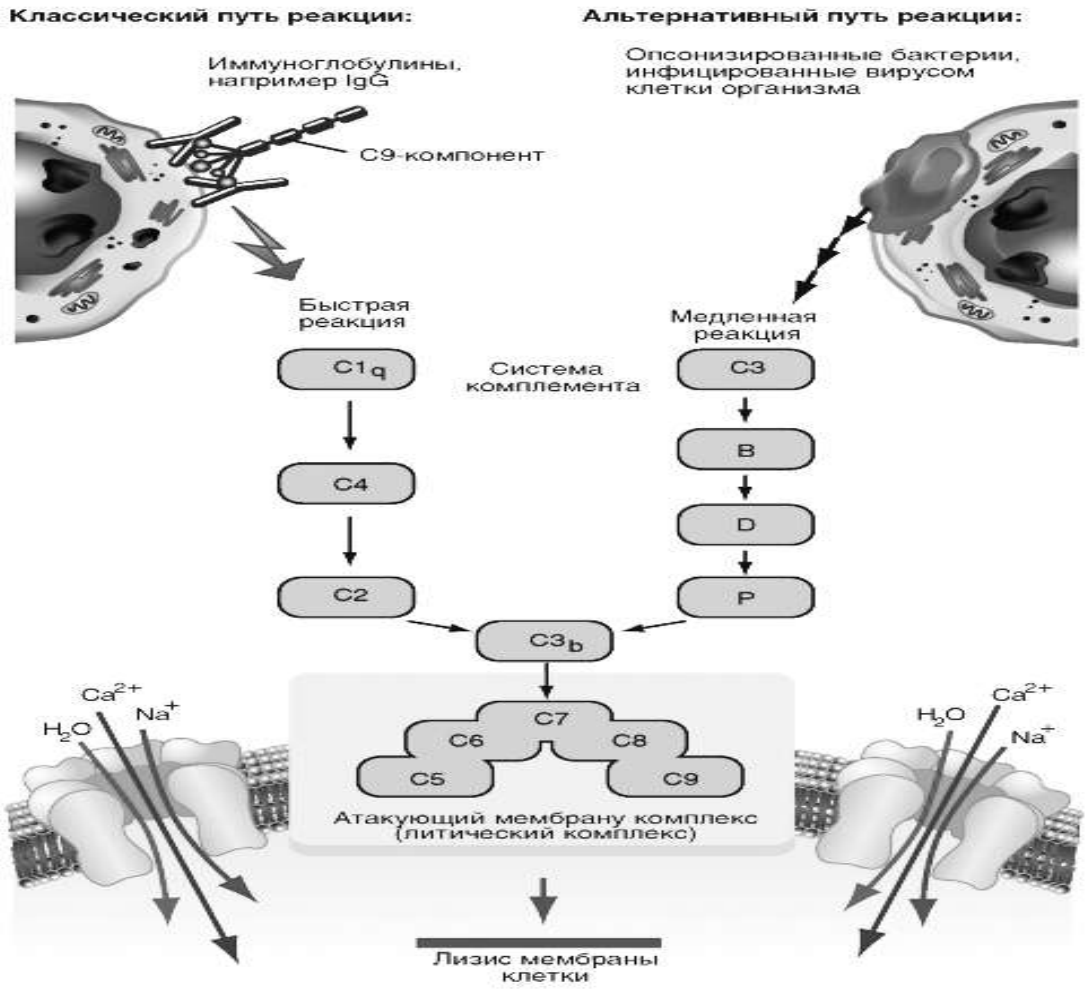


Рис. 7. Обобщенная схема классического и альтернативного путей активации системы комплемента.

<u>Маннозосвязывающий белок</u>

Синтезируется печенью. По структуре напоминает C1q (субкомпонент системы комплемента). Маннозосвязывающий белок способен взаимодействовать с C1r и C1s и активировать классический путь активации комплемента независимо от присутствия антител.

Маннозосвязывающий белок присоединяется к мембране тех микробов, на поверхности которых имеется манноза и N-ацетилглюкозаминогликаны. Затем присоединяются C1r и C1s, и запускается классический путь активации комплемента.

Оценка иммунного статуса

Иммунный статус – совокупность количественных и качественных характеристик, отражающих состояние иммунной системы в конкретный момент времени. Оценка иммунного статуса включает:

1. Общий анализ крови (нейтрофилы, моноциты, лимфоциты, эозинофилы, базофилы).

2. Оценка фагоцитоза:

• Лейковзвесь инкубируют с объектами фагоцитоза (латекс, стафилококк и др.). Затем готовят мазок, окрашивают по Романовскому-Гимзе и микроскопируют. Определяют *фагоцитарный индекс* – процент клеток, способных к фагоцитозу (норма 75-90%); *фагоцитарное число* – среднее количество частиц (латекс, стафилококк и др.), поглощенное одним фагоцитом (норма 1-5). Если фагоцитируемые объекты помечены флюорохромом, то результаты можно учитывать с помощью проточной цитофлюориметрии.

• Функциональную активность нейтрофилов изучают с помощью НСТ-теста в спонтанном и индуцированном вариантах. Спонтанный тест с НСТ (нитросиний тетразолий) позволяет оценить состояние кислородзависимого механизма бактерицидности фагоцитов (гранулоцитов) крови *in vitro*. Он характеризует состояние и степень активации внутриклеточной НАДФ-Н-оксидазной антибактериальной системы.

Принцип метода основан на восстановлении поглощённого фагоцитом растворимого красителя НСТ в нерастворимый диформазан под влиянием активных форм кислорода (предназначены для внутриклеточного уничтожения инфекционного агента после его поглощения).

Спонтанный НСТ-тест показывает, что клетки образовали агрессивные формы кислорода и обладают микробицидной активностью. Индуцированный НСТ-тест должен быть больше, чем спонтанный, он показывает наличие бак-

терицидного резерва. Учёт результатов проводят микроскопией мазка или с помощью проточной цитофлюориметрии.

3. Оценка системы комплемента. Существует ряд методов определения:

- активации комплемента разными путями (*рис. 8*);
- общего содержания отдельных компонентов;
- функциональной активности отдельных компонентов.



Рис. 8. Определение состояния активации системы комплемента.

4. Оценка гуморального звена иммунной системы.

Включает определение абсолютного и относительного числа В-лимфоцитов и синтезируемых ими основных классов иммуноглобулинов: IgA, IgM, IgG, IgE, IgD. При этом содержание иммуноглобулинов является более важным параметром, чем абсолютное и относительное число В-

лимфоцитов. Для определения содержания общих и специфических иммуноглобулинов (антител) используются следующие методы:

- Радиоиммунный анализ.
- Иммуноферментный анализ.
- Радиальная иммунодиффузия по Манчини и др.

5. Определение Т- и В-лимфоцитов.

Клетки крови можно дифференцировать с помощью метода проточной цитофлюориметрии, который основан на регистрации флюоресценции и светорассеяния от каждой отдельной клетки, пересекающей лазерный луч в потоке жидкости. Лимфоциты крови предварительно инкубируют с определенными моноклональными антителами (CD4+, CD8+ и др.), меченными различными флюорохромами, например, флуоресцеинизотиоцианатом, дающим зеленую флуоресценцию, или фикоэритрином, дающим красное свечение.

Образец крови после обработки меченными моноклональными антителами пропускают в потоке жидкости через тонкую трубку проточного цитофлюориметра. Сквозь исследуемый образец проходит лазерный луч, который возбуждает свечение флуорохрома. Фотоумножитель улавливает светорассеивание и флюоресцентный сигнал, по которому судят о количестве клеток, меченых тем или иным антителом (*рис. 9*).

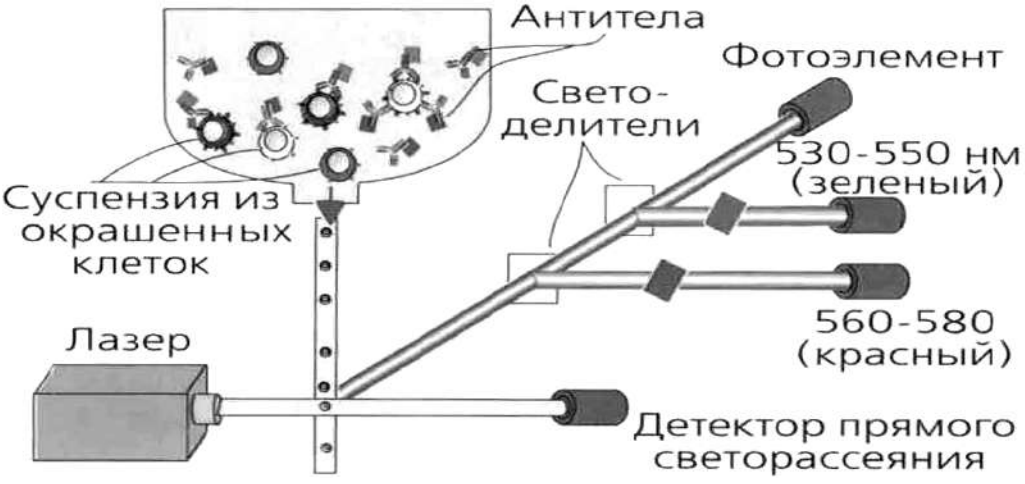


Рис. 9. Принцип проточной цитофлюориметрии.

6. ***Оценка интерферонового статуса.***

- Уровень циркулирующего интерферона (сывороточный интерферон).
- Спонтанная продукция интерферона *in vitro*.
- Индуцированный синтез α-интерферона *in vitro*.
- Индуцированный синтез γ-интерферона *in vitro*.

7. Оценка цитокинового статуса.

Основана на количественном определении различных цитокинов, продуцируемых различными клетками (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8 и др.) методами иммуноферментного анализа, проточной цитофлюориметрии и др.

БЛОК КОНТРОЛЯ

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите факторы неспецифической защиты.

2.Перечислите этапы фагоцитоза.

3. Дайте определение понятию «незавершенный фагоцитоз».

4. Расшифруйте аббревиатуру «CD».

5. Расшифруйте аббревиатуру «HLA».

6. Перечислите функции системы комплемента.

7. Перечислите свойства антигенов с их краткой характеристикой.

8. Дайте определение понятию «гаптен».

9. Охарактеризуйте строение молекулы иммуноглобулина.

10. Перечислите классы иммуноглобулинов с их краткой характеристикой.

11. Назовите формы иммунного ответа с их краткой характеристикой.

12. Что в себя включает оценка иммунного статуса?

Тестовые задания для самоконтроля.

Выберите один или несколько правильных ответов:

1. К клеткам-эффекторам неспецифической иммунной защиты относят все, кроме:

а) нейтрофилы;
б) Т-лимфоциты;
в) макрофаги;
г) NK-клетки;
д) все указанное.

2. К тканевым макрофагам относят все, кроме:

а) купферовские клетки;
б) базофилы и тучные клетки;

в) клетки Лангерганса;
г) альвеолярные макрофаги;
д) остеокласты;
е) клетки микроглии.

3. Для системы комплемента характерно следующее:

а) комплемент состоит более чем из 20 иммунологически различных белков;
б) компоненты комплемента синтезируются в печени;
в) классическая активация обеспечивается комплексом антиген-антитело;
г) активный комплемент способен лизировать вирусы и бактерии;
д) все перечисленное верно.

4. Показатели активности фагоцитоза

а) процент фагоцитирующих нейтрофилов (процент фагоцитоза);
б) среднее число поглощенных микробов (фагоцитарное число);
в) абсолютный фагоцитарный показатель (АФП) – количество микробов, которое могут поглотить фагоциты 1 литра крови;
г) спонтанный и индуцированный НСТ-тест;
д) все перечисленное.

5. Центральные органы иммунной системы:

а) тимус;
б) печень;
в) лимфатические узлы;
г) селезенка;
д) костный мозг;
е) Пейеровы бляшки подвздошной кишки.

6. *К периферическим органам иммунной системы относятся:*

а) миндалины;
б) лимфатические узлы;
в) селезенка;
г) Пейеровы бляшки;
д) все перечисленное верно.

7. *В секретах различных желез и слизи желудочно-кишечного тракта в норме преобладают следующие иммуноглобулины:*

а) IgG;
б) IgD;
в) IgM;
г) секреторные IgA;
д) IgE.

8. *Иммуноглобулины продуцируются:*

а) лейкоцитами;
б) лимфоцитами;
в) макрофагами;
г) нейтрофилами;
д) дендритными клетками.

9. *Т-хелперы распознают чужеродный антиген:*

а) на любой клетке собственного организма;
б) лейкоцитах;
в) в макрофагах;
г) на тучных клетках;
д) на мембране антигенпрезентирующих клеток в ассоциации с белками II класса главного комплекса гистосовместимости (HLA-DR, DP, DQ и др.).

10. Иммунофенотип цитотоксических Т-лимфоцитов:

а) CD4+CD8-;
б) CD4-CD8+;
в) CD4-CD8-;
г) CD3-CD16+;
д) CD19+CD20+.

11. Основным критерием деления Т-лимфоцитов на субпопуляции является:

1. физические параметры клетки (размер, форма и пр.);
2. функциональные особенности;
3. особенности морфологической структуры клетки;
4. антиген клеточной поверхности;
5. количественное соотношение.

12. Макрофаг:

1. обеспечивает защиту от облигатных внутриклеточных микроорганизмов;
2. удаляет (разрушая) неметаболизируемые неорганические материалы;
3. является активно секретирующей клеткой;
4. является антигенпрезентирующей клеткой;
5. не способен к специфическому распознаванию антигена.

13. Оценка иммунной системы включает оценку состояния:

1. В-системы иммунитета;
2. Т-системы иммунитета;
3. системы фагоцитоза и комплемента;
4. системы гемостаза;
5. системы кининов.

14. Оценка клеточного иммунитета включает определение:

1. CD3;
2. CD4;
3. CD8;
4. CD19;
5. CD23.

15. Иммуноглобулины – сывороточные белки, относящиеся преимущественно к классу:

1. α-глобулинов;
2. β-глобулинов;
3. альбуминов;
4. γ-глобулинов;
5. β- и γ-глобулинов.

16. Иммуноглобулин G

1. проходит через плаценту;
2. имеет 4 подкласса;
3. обеспечивает защиту против инфекции;
4. участвует в формировании немедленных аллергических реакций;
5. формирует блокирующие антитела.

17. Иммуноглобулин А участвует в

1. немедленных аллергических реакциях;
2. реакциях замедленной гиперчувствительности;
3. иммунокомплексных аллергических реакциях;
4. формировании местного иммунитета (sIgA);
5. цитотоксических реакциях.

Найдите соответствие:

18. I. Т-лимфоциты. 1. Тимус.
II. В-лимфоциты. 2. Бурса птиц.
3. Созревание в красном костном мозге.

19. Клетки:
I. Эозинофилы.
II. Т-лимфоциты.
III. В-лимфоциты.
IV. Нейтрофилы.
V. Макрофаги.
VI. Тучные клетки.

Функции клеток:
1. Антипаразитарная.
2. Киллинг пораженных клеток.
3. Антителообразование.
4. Фагоцитарная.
5. Презентация антигена.
6. Аллергическая реакция.

20. I. Неспецифическая защита.
II. Специфическая (= иммунная) защита.

1. HCl желудочного сока.
2. Комплементарный лизис.
3. Естественная цитотоксичность.
4. Фагоцитоз.
5.АТ-зависимый комплементарный лизис.
6. Киллинг CD8 клетками.

21. I. Клетки, активизирующиеся однократно.
II. Клетки, способные активизироваться неоднократно.

1. Нейтрофилы.
2. Тучные клетки.
3. Макрофаги.
4. Лимфоциты.
5. Тромбоциты.
6. Эозинофилы.

22.	I. Врожденный иммунитет. II. Приобретенный иммунитет.	1. Не требует иммунизации. 2. Требуется иммунизация. 3. Действует немедленно. 4. Ответ занимает более 96 часов. 5. Не имеет памяти. 6. Имеется иммунологическая память. 7. Индукция усиления функции под влиянием инфекции занимает 4-96 часов.

23.	I. IgA. II. IgM. III. IgG. IV. IgE.	1. Эффективная элиминация деструктивных элементов. 2. Участие в местном иммунитете. 3. Участие в аллергических реакциях. 4. Способность проникать через плаценту.

Ситуационные задачи для самоконтроля

Задача 1.

Пациент А., 28 лет. Обратился с жалобами на рецидивирующий фурункулез. Врач предположил, что заболевание протекает на фоне вторичного иммунодефицитного состояния. Проведено иммунологическое обследование. Результаты представлены в таблице.

Показатель	*Результат пациента*	*Референсное значение*
Лейкоциты, мм^3	3700	4000-9000
Нейтрофилы, %	45	55-60
Лимфоциты, %	44	19-37
Моноциты, %	1	1-6
Т-лимфоциты, %	49	55-80
В-лимфоциты, %	3	5-19
Фагоцитоз, %	45	80-90
IgA, г/л	0,2	0,4-3,5
IgM, г/л	0,5	0,7-2,7
IgG, г/л	7,3	8-18

1. Какие тесты позволяют оценить состояние факторов неспецифической защиты, клеточного и гуморального иммунитета?
2. Есть ли иммунодефицит у данного пациента? Если да, то какие звенья иммунной системы дефектны? Почему Вы так решили?
3. Какие иммунологические показатели Вы бы дополнительно оценили у данного пациента?
4. Каковы возможные причины для развития иммунодефицитного состояния у данного пациента?

Задача 2.

На прием к аллергологу-иммунологу обратилась женщина 30 лет с жалобами на периодическую заложенность носа, чихание и зуд в носу, слизистые выделения из носа, периодические хрипы и свисты в грудной клетки, усиливающиеся при контакте с домашними животными, частые респираторные заболевания по типу бронхита в течение года, требующие повторных курсов антибактериальной терапии. Перед походом к врачу пациентка самостоятельно сдала иммунограмму.

Исследование	Результат		Единицы	Референсные значения	Комментарий
Ig A	3.34		г/л	0.40 - 3.50	
Ig M	2.1		г/л	0.7 - 2.8	
Ig G	11.9		г/л	8.0 - 18.0	
Ig E	851	*	Ед/мл	< 100	

Исследование	Результат		Единицы	Референсные значения	Комментарий
Фагоцитоз (гранулоциты)	97	*	%	82 - 90	
Фагоцитоз (моноциты)	90	*	%	75 - 85	
Акт.Т-лц. (CD3+CD69+), %	50		%	50 - 69	
Акт.В-лц.+ЕКК (CD3-CD69+)	29		%	15 - 34	
ЦИК (общие)	0.063		усл. ед.	0.055 - 0.110	
ИММ. ОБСЛ. РАСШИРЕННОЕ	.				
Лейкоциты	5170		10^6/л	4000 - 9000	
Лимфоциты, %	36		%	19 - 37	
Лимфоциты	1861		10^6/л	1200 - 3000	
Гранулоциты, %	52		%	40 - 60	
Гранулоциты	2688		10^6/л	1800 - 7700	
Моноциты, %	12	*	%	1 - 6	
Моноциты	620		10^6/л	0 - 800	
Т-лимфоциты (CD3), %	61		%	55 - 80	
Т-лимфоциты (CD3)	1135		10^6/л	800 - 2200	
Т- хелперы (CD3CD4), %	27	*	%	31 - 49	
Т-хелперы (CD3CD4)	502	*	10^6/л	600 - 1600	
Т- цитотокс. (CD3CD8), %	22		%	12 - 30	
Т-цитотокс. (CD3CD8)	409		10^6/л	190 - 650	
Иммунорегуляторный индекс	1.2			1.0 - 2.5	
В-лимфоциты (CD19), %	18		%	5 - 19	
В-лимфоциты (CD19)	335		10^6/л	100 - 500	
ЕКК (CD3-CD16+CD56+), %	18		%	6 - 20	
ЕКК (CD3-CD16+CD56+)	335		10^6/л	150 - 600	
Т-ЕК (CD3+CD16+CD56+), %	5		%	<10	
Акт.кл. (CD3-HLA DR+), %	2	*	%	5 - 20	
Акт.Т-лц (CD3+HLA DR+), %	18	*	%	<12	
Акт.кл. (CD3-HLA DR+)	335		10^6/л	60 - 600	

1. Прокомментируйте представленные результаты иммунограммы? В каких звеньях иммунной системы у пациентки имеются нарушения?
2. Ваши предположения по поводу диагноза?
3. Какие дополнительные обследования Вы бы назначили данной пациентке?

Задача 3.

При семейном анализе было установлено, что 3 детей из 7 с раннего возраста страдали рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей. У одного ребенка возник бактериальный менингит, другой погиб от септицемии. Уровень сывороточных антител находился в пределах нормы. Однако функциональный тест на гемолитическую активность комплемента (CH50) показал, что у всех трех больных детей имеется дефицит

комплемента. Для уточнения характера дефекта определили уровни отдельных компонентов комплемента:

Компонент комплемента	**Диапазон значений у больных детей (мкг/мл)**	**Референсное значение (мкг/мл)**
C4	480-520	600
C2	15-22	20
C3	10-80	1300
Фактор В	Не определяется	210

1. Почему недостаточность комплемента делает детей особенно восприимчивыми к бактериальным инфекциям?
2. Каков основной дефицит в этой семье?
3. Как следует лечить этих детей?

Блок самоконтроля усвоения материала

Задание 1.

Зарисуйте схемы незавершенного фагоцитоза гонококка и завершенного фагоцитоза стафилококка.

Задание 2.

Изобразите в тетради схему строения молекулы иммуноглобулина (на примере иммуноглобулина G), покажите на схеме цепи тяжелую и легкую; домены; фрагменты; участки.

Задание 3.

Заполните таблицу по характеристике отдельных классов иммуноглобулинов.

Признак	**IgG**	**IgA**	**IgM**	**IgD**	**IgE**
Молекулярная масса					
Структура					
Легкие цепи					
Тяжелые цепи					
Число антиген-связывающих мест (Fab-фрагментов) — валентность					
Период полувыведения из сыворотки					
Фиксация комплемента					
Прохождение через плаценту					
Функция основная					
Присутствие в биологических жидкостях					

Задание 4.

Изобразите в тетради схемы строения молекул иммуноглобулинов: мономера, димера, пентамера.

Задание 5.

Изобразите в тетради схему соединения антигена с антителом и образование иммунного комплекса. Обозначьте на схеме эпитоп и паратоп.

Задание 6.

Зарисовать схему гуморального и клеточного иммунного ответа.

ТЕМА 3
ОСНОВЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ И ИММУНОТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Иммунопрофилактика и иммунотерапия являются разделами иммунологии, которые изучают и разрабатывают способы и методы специфической профилактики и лечения инфекционных и неинфекционных болезней с помощью иммунобиологических препаратов, оказывающих влияние на функцию иммунной системы.

Иммунопрофилактика направлена на создание активного или пассивного иммунитета к возбудителю инфекционной болезни с целью предупреждения возможного заболевания путем формирования невосприимчивости к нему организма. Иммунотерапия направлена на лечение уже развившейся болезни.

Для иммунотерапии и иммунопрофилактики инфекционных заболеваний применяются две группы препаратов: вакцины и сыворотки.

Вакцины – это иммунобиологические препараты, содержащие антигены. Они предназначены для создания искусственного, активного антимикробного или антитоксического иммунитета у человека, нуждающегося в защите от инфекции. Вакцины, в большинстве случаев, используются как средства плановой профилактики инфекционных заболеваний.

Требования, предъявляемые к современным вакцинам:

- Иммуногенность (способность антигена вызывать иммунный ответ);
- Низкая реактогенность (аллергенность);
- Не должны обладать тератогенностью, онкогенностью;

- Штаммы, из которых приготовлена вакцина, должны быть генетически стабильны;
- Длительный срок хранения;
- Производство вакцины должно быть технологичным;
- Простота и доступность в применении.

Классификация вакцин по способу получения представлена на рисунке 10.

Живые вакцины представляют взвесь вакцинных штаммов микроорганизмов (бактерий, вирусов, риккетсий), выращенных на различных питательных субстратах. Вакцины готовят на основе аттенуированных в искусственных или естественных условиях возбудителей.

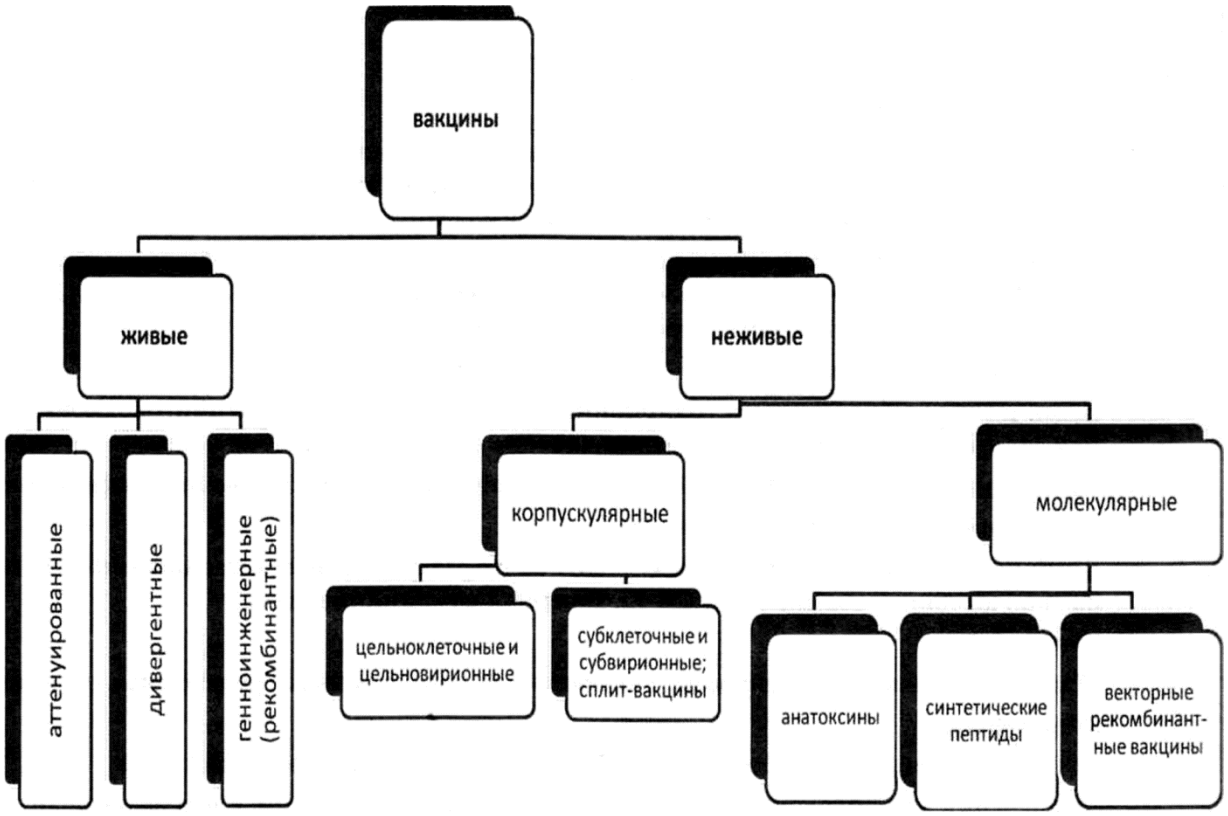


Рис. 10. Классификация вакцин по способу получения.

Живые вакцины получают путем ослабления вирулентности. Целенаправленное ослабление вирулентности – аттенуация. Аттенуация возможна путем длительного воздействия на штамм химических (мутагены) или физических (температура, радиация) факторов или же путем длитель-

ных пассажей через организм невосприимчивых животных или другие биообъекты (эмбрионы птиц, культуры клеток). В результате таких воздействий на культуры патогенных бактерий или вирусов селекционируются штаммы со сниженной вирулентностью, но способные при введении в организм человека размножаться и создавать стойкий и длительный иммунитет, приближающийся по напряженности к постинфекционному. Ослабление вирулентности микроорганизмов впервые было предпринято Луи Пастером (созданы живые вакцины против куриной холеры, сибирской язвы, бешенства).

Недостатки живых вакцин – они могут вызвать сенсибилизацию организма, содержат большой набор антигенов, среди которых могут встречаться и перекрестно-реагирующие с антигенами человека, вызывают большую нагрузку на иммунную систему, могут стать причиной развития инфекционных заболеваний. Примеры живых вакцин: вакцина бруцеллезная живая сухая, вакцина туляремийная живая сухая.

Убитые (инактивированные) вакцины готовят из инактивированных вирулентных штаммов бактерий и вирусов. Надежной инактивации достигают путем нагревания (гретые вакцины), обработки формалином (формоловые), ацетоном или спиртом (спиртовые). Убитые вакцины обладают в целом более низкой эффективностью по сравнению с живыми, однако при повторном введении создают достаточно стойкий иммунитет. Примеры убитых вакцин: вакцина клещевого энцефалита культуральная очищенная концентрированная инактивированная сухая, вакцина против вирусного гепатита А инактивированная «Хаврикс». Живые и инактивированные вакцины представляют собой I поколение вакцин.

Химические вакцины (*сплит-вакцины*, *субъединичные вакцины*, *полимер-субъединичные* (*иммуноадъювантные*) *вакцины*) состоят из антигенов, полученных из микроорга-

низмов химическими методами. Основной принцип получения химических вакцин заключен в выделении протективных антигенов (обеспечивают развитие стойкого иммунитета) и очистке этих антигенов от балластных веществ. Химические вакцины обладают слабой реактогенностью.

Повышает эффективность вакцинации применение *адъювантов* (от англ. *adjuvant*– помогающий, поддерживающий – это компонент препарата, необходимый для более длительного его сохранения в организме в месте введения, для повышения иммуногенности, например, гидроксид алюминия, фосфат алюминия и др.).

Сплит-вакцины представляют собой IIпоколение вакцин, которые содержат в своем составе как поверхностные, так и внутренние антигены возбудителя.

Субъединичные вакциныпредставляют собой III поколение вакцин, которые содержат в своем составе только поверхностные антигены возбудителя.

Полимер-субъединичные (иммуноадъювантные) вакцины представляют собой IV поколение вакцин, которые содержат в своем составе только поверхностные антигены, как правило, в уменьшенном количестве, соединенные с иммуноадъювантом (полимер-субъединичная с полиоксидонием вакцина против гриппа «Гриппол плюс»).

Анатоксины готовят из экзотоксинов различных видов микроорганизмов. Токсины обезвреживают формалином, при этом они не теряют иммуногенных свойств и способности вызывать образование антител. Очищенный от балластных веществ и концентрированный анатоксин сорбируют на гидроксиде алюминия. Примеры анатоксинов: АДС: анатоксин дифтерийно-столбнячный адсорбированный жидкий; АС:столбнячный анатоксин.

Рекомбинантные (генно-инженерные) вакцины получают в несколько этапов: клонирование генов, обеспечивающих синтез необходимых антигенов, введение этих генов в вектор, введение векторов в клетки-продуценты (бак-

терии, грибы и др.), культивирование клеток *invitro*, отделение антигена и его очистка. Второй путь – применение клеток-продуцентов в качестве вакцины. Рекомбинантные вакцины безопасны и достаточно эффективны (вакцины против вирусного гепатита В –«Энджерикс В», «Регевак В»).

По составу вакцины подразделяют на моновакцины и поливакцины. Моновакцины – это вакцины, содержащие антиген возбудителя какой-либо одной инфекционной болезни. Поливакцины – это вакцины, состоящие из нескольких антигенов возбудителей разных болезней, на введение которых в организм вырабатывается иммунитет против соответствующих им болезней. Поливакцины могут быть ассоциированные – содержат антигены, различающиеся по способу получения и комбинированные – содержат антигены, одинаковые по способу получения.

Вакцинацию в различных странах проводят в соответствии с национальным календарем профилактических прививок, разработанным с учетом специфики наиболее распространенных заболеваний в данном регионе. Национальный календарь профилактических прививок – нормативный правовой акт, устанавливающий сроки и порядок проведения прививок гражданам (*рис. 11*).

Национальный календарь профилактических прививок РФ

Приказ Минздрава России №125н от 21.03.2014



	Дети до 18 лет													
	Месяцы										Годы			
	0	1	2	3	4,5	6	12	15	18	20	6	7	14	15-17
Туберкулез	3-7 дн.										RV			
Гепатит В	V1	V2				V3								
	V1	V2	V3				V4							
Пневмококковая инфекция			V1		V2			RV						
Коклюш				V1	V2	V3			RV1		АДС-м RV2		АДС-м RV3	
Дифтерия														
Столбняк														
Полиомиелит				ИПВ	ИПВ	ОПВ			ОПВ	ОПВ			ОПВ	
						ИПВ			ИПВ	ИПВ			ИПВ	
Гемофильная инфекция				V1	V2	V3			RV					
Корь							V1				RV			
Краснуха														
Эпидемический паротит														
Грипп						Ежегодно								

Все лица данной возрастной группы

Лица из групп риска по показаниям, призывники (грипп)

Ранее не привитые, не болевшие, не имеющие сведений и однократно привитые (для кори и краснухи)

V1, V2, V3 – порядковый номер вакцинации, RV – ревакцинация, ИПВ – инактивированная полиомиелитная вакцина, ОПВ – оральная полиомиелитная вакцина, АДС-м – анатоксин, дифтерийно-столбнячный очищенный с уменьшенным содержанием антигенов

Рис 11. Национальный календарь профилактических прививок Российской Федерации.

Вакцинотерапия основана на введении больному вакцины с целью стимуляции иммунитета. Вакцинотерапию используют обычно при хронических, рецидивирующих инфекциях или при тех заболеваниях, при которых естественно приобретенный иммунитет развивается медленно и непрочен.

На рисунке 12 представлен календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям РФ.



Рис. 12.Календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям Российской Федерации.

Иммунные сыворотки и получаемые из них иммуноглобулины – это иммунобиологические препараты, содержащие антитела. Они предназначены для создания пассивного антимикробного или антитоксического иммунитета у

человека, нуждающегося в защите от инфекции (рисунок 13).

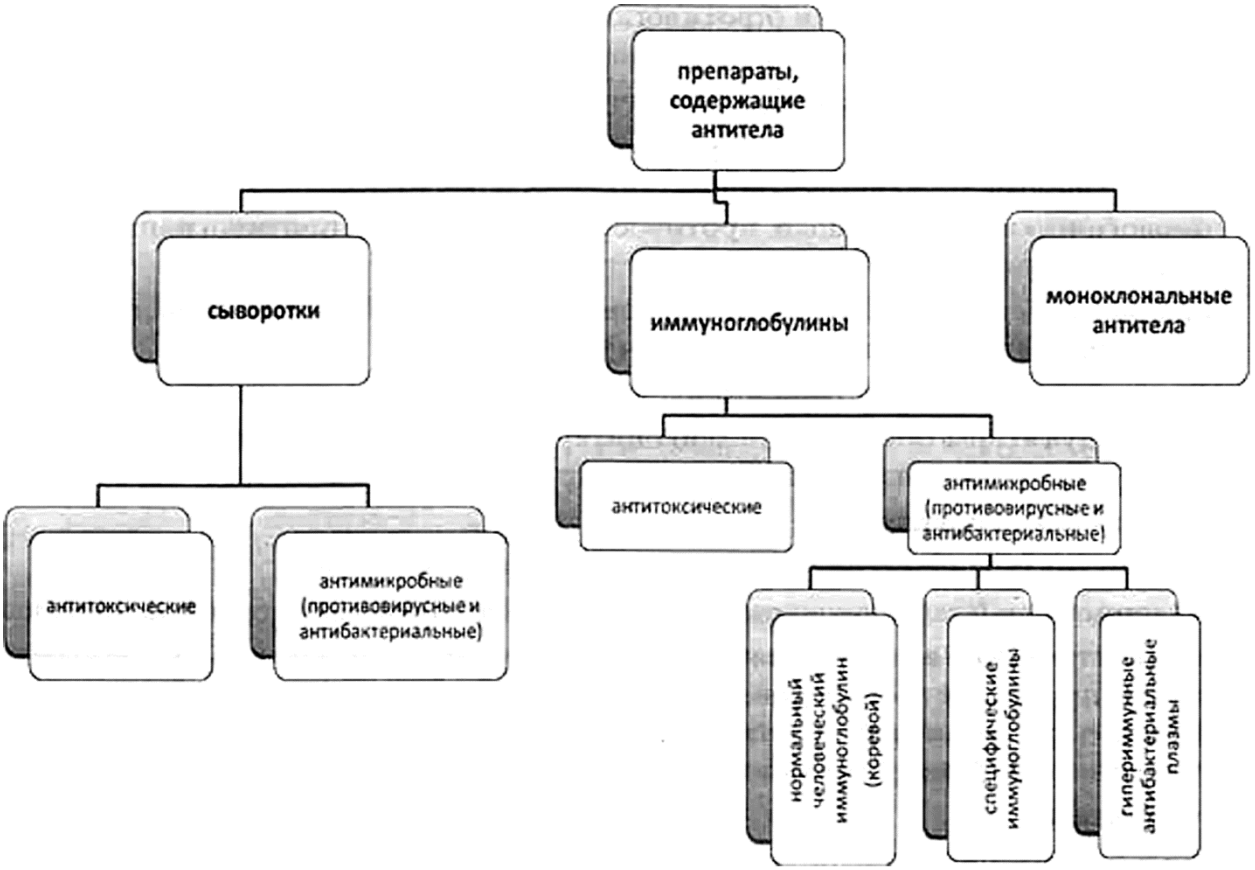


Рис. 13. Препараты для создания искусственно-приобретенного пассивного иммунитета.

Иммунные сыворотки и иммуноглобулины используются как средства экстренной профилактики и серотерапии инфекционных заболеваний, не обеспечивают длительного иммунитета.

Все сывороточные препараты делятся на две группы: гетерологичные, полученные из крови животных, и гомологичные, получение из крови человека.

Гетерологичные иммунные сыворотки получают из крови животных (чаще лошадей), подвергнутых интенсивной иммунизации анатоксином или другим антигеном (гипериммунизации). Преимущество гетерологичных препаратов в том, что интенсивная иммунизация животных позволяет достичь высокой концентрации антител.

Активность антитоксических сывороток измеряют в международных единицах по способности нейтрализовать определенную дозу токсина.

С целью предупреждения развития анафилактического шока и других аллергических реакций при введении антитоксических сывороток используют метод Безредки для определения реакции больного на препарат.

БЛОК КОНТРОЛЯ

Вопросы для самоконтроля

1. Что входит в понятие «иммунопрофилактика»?
2. Что входит в понятие «иммунотерапия»?
3. Дайте определение понятию «вакцина».
4. Перечислите требования, предъявляемые к современным вакцинам.
5. Дайте определение понятию «аттенуация».
6. Перечислите недостатки живых вакцин.
7. Назовите способ получения химических вакцин.
8. Что такое «адъювант»?
9. Что такое «сплит-вакцина»?
10. Что такое «субъединичная вакцина»?
11. Дайте определение понятию «анатоксин»?
12. Назовите способ получения рекомбинантных вакцин.

Тестовые задания для самоконтроля.

Выберите один или несколько правильных ответов:

1. Вакцинами называются:

а) препараты, которые используются для создания приобретенного искусственного активного иммунитета;

б) препараты, которые содержат антитела против антигенов возбудителя;

в) препараты, которые содержат убитых возбудителей.

2. По способу приготовления вакцины классифицируют на следующие группы:

а) живые;

б) моновакцины;

в) убитые;

г) химические.

3. По количеству компонентов вакцины классифицируют на следующие группы:

а) аттенуированные;

б) моновакцины;

в) поливакцины;

г) субклеточные.

4. В состав живых вакцин входят следующие компоненты:

а) аттенуированные штаммы возбудителя;

б) инактивированные культуры возбудителей;

в) химические компоненты возбудителей;

г) анатоксины возбудителей.

5. В состав убитых вакцин входят:

а) аттенуированные штаммы возбудителей;

б) инактивированные культуры возбудителей;

в) химические компоненты возбудителей, обладающие иммуногенностью.

6. В состав химических вакцин входят:

а) аттенуированные штаммы возбудителей;

б) инактивированные культуры возбудителей;

в) химические компоненты возбудителей, обладающие иммуногенностью;

г) антитела к идиотипу иммуноглобулина, специфического в отношении соответствующего антигена.

7. Иммунотерапия представляет собой:

а) введение различных иммунных препаратов с терапевтической целью;

б) применение иммунных препаратов для предотвращения развития инфекционных заболеваний;

в) введение различных иммунных препаратов с терапевтической целью и для предотвращения развития инфекционных заболеваний.

8. Иммунопрофилактика представляет собой:
а) введение различных иммунных препаратов с терапевтической целью;
б) применение иммунных препаратов для предотвращения развития инфекционных заболеваний;
в) введение различных иммунных препаратов с терапевтической целью и для предотвращения развития инфекционных заболеваний.

9. Вакцины представляют собой:
а) иммунобиологические препараты для создания активной специфической невосприимчивости макроорганизма;
б) иммунобиологические препараты для создания пассивной специфической невосприимчивости макроорганизма;
в) иммунобиологические препараты для создания неспецифической невосприимчивости макроорганизма.

10. Сыворотки представляют собой:
а) иммунобиологические препараты для создания активной специфической невосприимчивости макроорганизма;
б) иммунобиологические препараты для создания пассивной специфической невосприимчивости макроорганизма;
в) иммунобиологические препараты для создания неспецифической невосприимчивости макроорганизма.

11. Аттенуированые вакцины представляют собой:
а) самый современный класс препаратов, состоящий из пептидных последовательностей, образующих эпитопы, распознаваемые нейтрализующими антителами;
б) препараты, в состав которых входят штаммы микроорганизмов с ослабленной вирулентностью, либо лишенные вирулентных свойств, но полностью сохранившие иммуногенные свойства;
в) препараты, в состав которых входят вакцинные штаммы микроорганизмов, находящиеся в близком родстве с возбудителем данного заболевания.

12. Субъединичные вакцины представляют собой:
а) препараты, которые содержат полный набор антигенов убитых микроорганизмов;
б) препараты, которые состоят из отдельных главных антигенов, способных вызвать развитие протективного иммунного ответа;
в) препараты, содержащие токсины, лишенные токсических свойств, но сохранивших иммуногенность.

13. Конъюгированные вакцины представляют собой:
а) комплексы бактериальных полисахаридов и токсинов;
б) препараты, которые состоят из отдельных главных антигенов, способных вызвать развитие протективного иммунного ответа;
в) препараты, содержащие токсины, лишенные токсических свойств, но сохранившие иммуногенность.

14. Выберите верные положения:
а) в каждой стране действует календарь прививок;
б) календарь прививок в РФ утвержден Министерством здравоохранения;

в) в календаре прививок регламентируется обоснованное проведение во все возрастные периоды человека вакцинаций против определенных инфекционных болезней;

г) в календаре прививок указывается, какими вакцинами и по какой временной схеме должен быть привит каждый человек в детском возрасте и во взрослом периоде.

15. Первая вакцинация против туберкулеза в России проводится в возрасте:

а) 12 ч;

б) 3-7 день;

в) 3мес.

16. Иммунные сыворотки представляют собой:

а) препараты из крови животных и человека (доноров), предназначенные для лечения и профилактики инфекционных заболеваний;

б) препараты, содержащие смесь антител, их получают осаждением из сыворотки крови, что освобождает их от балластных компонентов;

в) иммуноглобулины, полученные сорбцией антител на антигенных сорбентах;

г) препараты, на 100% состоящие из специфических антител, обладающие высокой специфичностью действия.

17. Иммуноглобулины представляют собой:

а) препараты из крови животных и человека (доноров), предназначенные для лечения и профилактики инфекционных заболеваний;

б) препараты, содержащие смесь антител, их получают осаждением из сыворотки крови, что освобождает их от балластных компонентов;

в) иммуноглобулины, полученные сорбцией антител на антигенных сорбентах;
г) препараты, на 100% состоящие из специфических антител, обладающие высокой специфичностью действия.

18. Рекомбинантные вакцины представляют собой:
а) препараты, которые содержат полный набор антигенов убитых микроорганизмов;
б) препараты, которые состоят из отдельных главных антигенов, способных вызвать развитие протективного иммунного ответа;
в) препараты, содержащие токсины, лишенные токсических свойств, но сохранившие иммуногенность;
г) препараты, сочетающие антигенные свойства одного возбудителя, но сорбированные на другом носителе.

19. Иммунобиологические препараты:
а) вакцины;
б) иммуноглобулины;
в) адъюванты;
г) диагностикумы.

20. Вакцина БЦЖ относится к типу:
а) инактивированных корпускулярных;
б) химических;
в) синтетических;
г) живых аттенуированных;
д) генно-инженерных.

21. Для создания искусственного активного иммунитета используют:
а) вакцины;
б) иммунные сыворотки;
в) антитоксины;
г) аллергены.

22. Анатоксины используют для создания:

а) искусственного активного антимикробного иммунитета;

б) искусственного активного антитоксического иммунитета;

в) искусственного пассивного антитоксического иммунитета;

г) искусственного пассивного антимикробного иммунитета.

23. Y. pestis– патогенный для человека микроорганизм. Штамм Y. pestisEV, используемый в качестве живой вакцины:

а) непатогенный;

б) авирулентный;

в) автотрофный.

Найдите соответствие:

24.	I. Свойства вакцины.	1. Антигенные (индукция активного иммунного ответа).
	II. Свойства адювантов.	2. Пролонгирование представления АГ.
		3.Иммуностимулирующиесвойства.

Ситуационные задачи для самоконтроля

Задача 1.

Больному с хронической вялотекущей формой бруцеллеза врач решил ввести иммунный препарат.

1. Какой иммунный препарат рационально применить для лечения в данном случае?
2. Какой иммунный препарат можно применить для профилактики бруцеллеза у работников животноводства? Обоснуйте ответ по схеме: мероприятие, препарат, иммунитет, цель применения?

Задача 2.

Как предупредить стафилококковое осложнение у плода, если беременная женщина является стафилоносителем? Обоснуйте ответ по схеме: мероприятие, препараты, для иммунных препаратов – характеристика иммунитета и цель применения.

Задача 3.

Студенты стройотряда направляются на работу в местность, эпидемиологически неблагополучную по такой вирусной инфекции, как клещевой энцефалит.

1. Каким иммунным препаратом лучше всего воспользоваться для профилактики этого заболевания?
2. Какой иммунный препарат Вы применили бы для профилактики клещевого энцефалита, если человека уже укусил клещ? Обоснуйте ответ по схеме: мероприятие, препарат, иммунитет, цель применения.

Задача 4.

В травмпункт поступил человек с обширным травматическим повреждением конечности. Рана загрязнена почвой, поэтому врач счел нужным провести специфическую профилактику газовой гангрены.

1. Каким иммунным препаратом лучше всего воспользоваться для этой цели?
2. Какой иммунный препарат Вы применили бы для профилактики газовой гангрены у здорового человека?

Задача 5.

Больному с пневмонией стафилококковой этиологии, протекающей с явлениями высокой температуры, интоксикации, общим тяжелым состоянием, проводится химиотерапия.

1. Как Вы считаете, достаточно ли здесь ограничиться химиотерапией?
2. Какой иммунный препарат Вы применили бы для терапии данного больного? Обоснуйте ответ по схеме: мероприятие, препарат, для иммунных препаратов – характеристика иммунитета и цель применения.

Задача 6.

У больного ребенка диагностирована тяжелая токсическая инфекция – дифтерия.

1. Какой иммунный препарат рационально применить для лечения дифтерии?
2. Какой препарат Вы применили бы для профилактики дифтерии у детей, бывших в контакте с больным? Обоснуйте ответы.

Блок самоконтроля усвоения материала

Задание 1.Заполните таблицу«Алгоритм лечения и профилактики инфекционных заболеваний»:

Категории нуждающихся	*Больные*	*Контактные*	*Здоровые люди из группы риска*
Мероприятие			
Препараты			

Задание 2. Сопоставьте иммунобиологический препарат и характер вырабатываемого иммунного ответа:

Иммунный ответ	Вакцины	Сыворотка антимикробная	Сыворотка антитоксическая	Анатоксины
Врожденный				
Приобретенный				
Естественный				

Искусственный				
Активный				
Пассивный				
Антимикробный				
Антитоксический				

Задание 3.Студент должен дать ответ по 2 иммунобиологическимпрепаратам по следующей схеме:

1. Название препарата.
2. Тип препарата:

- диагностический;
- лечебно-профилактический.

Диагностические: диагностические сыворотки, диагностикумы, антигены, аллергены, токсины, комплемент, диагностические бактериофаги	Лечебно-профилактические: сыворотки, иммуноглобулины, вакцины, бактериофаги
3. Для какой реакции или пробы используется	3. Разновидность
4. Направлениепостановки данной реакции или пробы	4. Способ получения препарата
5. Способ постановки реакции или пробы	5. Назначение
6. Положительный видимый эффект реакции или пробы, когда реакцию считают «положительной»	6. Характер вырабатываемого иммунитета
7. Способ получения данного препарата	7. Определение титра, если он есть

8. Определение титра, если он есть	

9. Ответ по препарату «Бактериофаг»:
   - что такое бактериофаг;
   - способ получения;
   - определение титра;
   - назначение:
     - фаготерапия;
     - фагопрофилактика;
     - фагоиндикация;
     - фагоидентификация;
     - фаготипирование.

ТЕМА4

СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ В ИММУНОДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Серология (от латинского *serum*– сыворотка) – раздел иммунологии, изучающий закономерности взаимодействия антигенов (АГ) с антителами (АТ) сыворотки крови. Серология имеет огромное прикладное и практическое значение в современной клинической лабораторной диагностике инфекционных, аутоиммунных, эндокринных и других заболеваний.

Реакции АГ+АТ, происходящие *in vitro*, называются серологическими реакциями (СР). В зависимости от решаемых с помощью серологических реакций диагностических задач, их можно поставить в нескольких направлениях: сероидентификация, сероиндикация, серодиагностика. В таблице 3 перечислены серологические реакции, которые ставятся в указанных направлениях.

Таблица 3. Направления в постановке серологических реакций

Сероидентификация **–** определение вида микробного возбудителя, выделенного в чистой культуре из материала от больного	***Сероиндикация –*** обнаружение микробов, антигенов микробного возбудителя или токсиновв биоматериале от больного	***Серодиагностика –*** обнаружение антител к микробному возбудителю в сыворотке крови и прочем биоматериале от больного
Реакция агглютинации (РА)	Реакция преципитации (РП)	Реакция агглютинации (РА)
Реакция латекс-агглютинации (РЛА)	Прямой метод иммунофлуоресценции (пРИФ)	Реакция латекс-агглютинации (РЛА)
Реакция обратной непрямой	Прямой иммуноферментный	Реакция пассивной (непрямой)

гемагглютинации (РОНГА)	метод (пИФА)	гемагглютинации (РПГА/РНГА)
Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)	Реакция флокуляции (РФ)	Реакция связывания комплемента (РСК)
Реакция связывания комплемента (РСК)	Реакция нейтрализации токсинов (РН)	Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)
Прямой метод иммунофлуоресцеции (пРИФ)	Реакция нейтрализации вирусов (РН)	Реакция нейтрализации токсинов (РН)
Прямой иммуноферментный метод (пИФА)		Реакция нейтрализации вирусов (РН)
Радиоиммунный анализ (РИА)		Непрямой иммунофлуоресцентный метод (нРИФ)
		Непрямой иммуноферментный метод (нИФА)
		Радиоиммунный анализ (РИА)

В серологических реакциях один компонент (ингредиент) должен быть всегда известен. При сероидентификации и сероиндикации определяемым компонентом является АГ, а известным ингредиентом реакции – АТ (иммунная сыворотка). Иммунные диагностические сыворотки получают гипериммунизацией лабораторных животных (например, кроликов) соответствующей вакциной. Под гипериммунизацией понимают 5-6-кратное введение АГ в виде вакцины в организм животных с интервалом между инъекциями в 5-6 дней под контролем титра антител. Число инъекций при этом выбрано с таким расчётом, чтобы снизить риск гибели животного от аллергического шока, а интервал между инъекциями определяется сроком, необходимым для выработки АТ (накопление достаточных количеств АТ в

сыворотке наступает примерно на 5-6 сутки).

При серодиагностике известным компонентом реакции будет служить АГ (диагностикум), а определяемым – АТ в сыворотке крови или других биологических жидкостях больного (слюна, ликвор и др.).

Диагностикум– взвесь убитых микробов. Это стандартные препараты, которые получают из чистых культур микроорганизмов определенных видов или их антигенов. Микроорганизмы выращивают, затем инактивируют, стандартизируют. Титр диагностикума – количество микробов в единице объема. Инактивацию проводят следующим образом: нагреванием, формалином, спиртом и т.д. Диагностикум теряет патогенность, но сохраняет антигенные свойства.

Серологические реакции с целью сероидентификации ставят при микробиологическом методе диагностики. Постановка серологических реакций с целью сероиндикации относится к методам экспресс-диагностики. Наконец, постановка серологических реакций с целью серодиагностики представляет собой серологический метод диагностики.

Основные характеристики серологических реакций

1) Взаимодействие АГ и АТ строго специфично.

2) Серологическая реакция проходит при эквивалентных (соответствующих друг другу) соотношениях количества АГ и АТ.

3) Серологическая реакция проходит по типу физико-химической реакции в коллоидной системе.

4) Серологическая реакция имеет двухфазный характер:

• специфическая фаза (невидимая) – специфическое взаимодействие АГ с АТ;

• неспецифическая фаза – образование видимых феноменов взаимодействия АГ с АТ.

Весь смысл при постановке любой диагностической иммунной реакции сводится к тому, чтобы сделать процесс взаимодействия АГ с АТ видимым, регистрируемым. В зависимости от того, каким способом (феноменом) мы сделаем взаимодействие АГ с АТ видимым, выделяют различные серологические реакции. При этом феномен регистрации определяется характером АГ, участвующего в серологической реакции.

АГ может быть клеточным (корпускулярным) и в виде отдельных молекул (молекулярным или некорпускулярным). В качестве некорпускулярных АГ в серологических реакциях могут участвовать низкомолекулярные вещества – гаптены (неполноценные АГ, которые при введении в организм сами по себе выработки АТ не вызывают, но могут взаимодействовать с готовыми АТ). Это имеет огромное значение, так как очень многие патогенные микробы содержат в своем составе гаптены, а извлечение гаптена из микробной клетки, когда мы хотим работать с некорпускулярным АГ, подчас гораздо легче осуществить, чем извлечение полноценных АГ, т.к. гаптен, благодаря своей липидной, углеводной или неорганической природе, более стоек к самым разнообразным воздействиям, в частности, температурным, чем полноценные АГ (белки).

Реакция агглютинации (РА)

Агглютинация (лат. *agglutinatio*– склеивание) – это склеивание корпускулярных АГ (агглютиногенов) в присутствии специфических АТ (агглютининов) с образованием крупных иммунных комплексов (агглютината). Реакция агглютинации широко применяется в инфекционной практике, как с целью серодиагностики, так и с целью сероидентификации. При серодиагностике некоторых инфекций РА имеет авторское название (например, при бруцеллезе – реакция Райта-Хеддельсона,

при брюшном тифе – реакция Видаля и др.).

Условия проявления феномена агглютинации:

1) Многовалентность АТ.

2) Корпускулярный АГ.

3) Присутствие электролита (изотонический раствор натрия хлорида).

4) Эквивалентное соотношение агглютиногенов и агглютининов.

Механизм реакции агглютинации

АТ, присоединяясь к поверхности микробной клетки одним из активных центров, нарушают гидратную оболочку, что способствует адсорбции в этом участке положительно заряженных ионов электролита. Это в свою очередь вызывает приближение соседней отрицательно заряженной микробной клетки, которая взаимодействует со свободной валентностью АТ. Так постепенно формируется пространственная решетка, состоящая из клеток АГ, склеенного АТ. В результате в системе выпадает хлопьевидный или зернистый осадок.

Разные родственные бактерии могут агглютинироваться одной и той же диагностической неадсорбированной агглютинирующей сывороткой, что затрудняет их идентификацию. Поэтому пользуются адсорбированными агглютинирующими сыворотками, из которых удалены перекрестно реагирующие групповые антитела путем адсорбции их родственными бактериями. В таких сыворотках сохраняются антитела, специфичные только к данной бактерии. Получение таким способом монорецепторных диагностических адсорбированных агглютинирующих сывороток было предложено А. Кастелляни (1902) и получило название «метод истощения». Адсорбированные агглютинирующие сыворотки не титруют.

РА имеет два способа постановки:

1. Развернутая в пробирках (сероидентификация,

серодиагностика).

2. На стекле (сероидентификация, серотипирование).

В первом случае используются неадсорбированные агглютинирующие сыворотки, а во втором случае – адсорбированные агглютинирующие сыворотки.

Развернутая РА с целью серодиагностики: к разведениям сыворотки крови больного добавляют диагностикум и через 2 часа инкубации при 37 °С или 18-20 часов при комнатной температуре отмечают разведение сыворотки, при котором произошла агглютинация. Реакция считается положительной, если она прошла в диагностическом титре. *Диагностический титр*– наименьший титр специфических антител у больного данной инфекцией человека, при котором реакция может считаться специфической (положительной).

Развернутая РА с целью сероидентификации: в пробирки с увеличивающимися разведениями неадсорбированной агглютинирующей сыворотки добавляют по 2-3 капли взвеси чистой культуры возбудителя. Агглютинацию учитывают по количеству осадка и степени просветления жидкости. Реакцию считают положительной, если агглютинация отмечается в разведении, равном титру или половине титра диагностической сыворотки. Титр неадсорбированной агглютинирующей сыворотки – наибольшее разведение сыворотки, при котором ещё наблюдается положительная реакция агглютинации.Одновременно учитывают контроли: сыворотка, разведенная изотоническим раствором натрия хлорида, должна быть прозрачной, взвесь микробов в том же растворе – равномерно мутной, без комков.

Реакция агглютинации на стекле: к капле диагностической агглютинирующей адсорбированной

сыворотки в разведении с физиологическим раствором 1:10 или 1:20 добавляют чистую культуру возбудителя, выделенного от больного. Рядом ставят контроль: вместо сыворотки наносят каплю изотонического раствора натрия хлорида. РА считается положительной при появлении в капле с сывороткой и микробами хлопьевидного осадка, а в контроле – сохранение мутности.

Реакция Кумбса

По природе все антитела имеют, как минимум, две валентности. Но при некоторых заболеваниях, например, при бруцеллезе, в организме появляются так называемые неполные антитела– это антитела, у которых функционирует только один активный центр, а вторая валентность по каким–то причинам заблокирована. Такие неполные антитела феномена агглютинации не дают, и отрицательный ответ реакции агглютинации может привести к ошибке в диагнозе. В этих случаях, после получения отрицательного ответа по агглютинации, к системе АГ-АТ добавляют сыворотку, содержащую антитела к γ-глобулинам человека, т.е. антитела к антителам. Такую сыворотку получают гипериммунизацией кролика глобулинами человека и называют ее антиглобулиновой.

Антиглобулиновая сыворотка, соединяя неполные антитела, зафиксированные на поверхности антигенов, вызывает вторичную агглютинацию антигенов и выпадение иммунного комплекса в осадок. Реакцией Кумбса пользуются преимущественно в серодиагностике бруцеллеза.

Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, РПГА)

В связи с тем, что реакция агглютинации очень проста в постановке и демонстративна, в тех случаях, когда АГ

растворим, т.е. некорпускулярен, прибегают к постановке не прямой, а пассивной агглютинации. В этом случае АГ заранее адсорбируют на каких-нибудь клетках или крупных частицах. АТ, вступая во взаимодействие с АГ на поверхности таких корпускул-носителей, вызывают их склеивание, т.е. дают феномен агглютинации. Носители АГ в реакциях такого типа получили название иммуносорбентов. В качестве иммуносорбентов используют латекс, окись бария, целлюлозу, нитроцеллюлозу, глутаральдегид, сефадекс и т.д.

В инфекционной практике в качестве иммуносорбентов чаще всего используют эритроциты. Для этой цели берут обычно человеческие эритроциты 0 группы (не содержащие изоантигенов), обрабатывают их танином, после чего они начинают интенсивно адсорбировать АГ при погружении в раствор такого АГ. Полученный таким образом антигенный препарат называют эритроцитарным диагностикумом. Количество сенсибилизированных эритроцитов в единице объёма препарата называется титром эритроцитарного диагностикума.

Если эритроцитарный диагностикум смешать с сывороткой больного, то при наличии в сыворотке АТ к адсорбированному на эритроцитах АГ произойдет реакция, которая будет проявляться склеиванием эритроцитов, или гемагглютинацией*(рис.14)*.

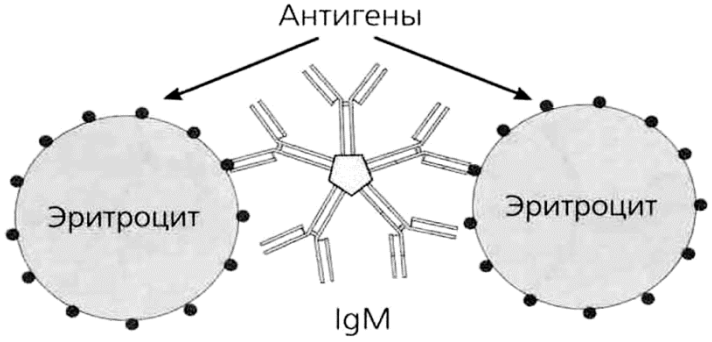


Рис.14.Механизм РНГА.

Гемагглютинация проявляется выпадением

эритроцитов на дно лунки в виде фестончатого осадка – «зонтик». При отрицательной реакции эритроциты оседают в виде осадка с ровными краями – «пуговка». РПГА ставят в пластиковых планшетах (*рис. 15*).

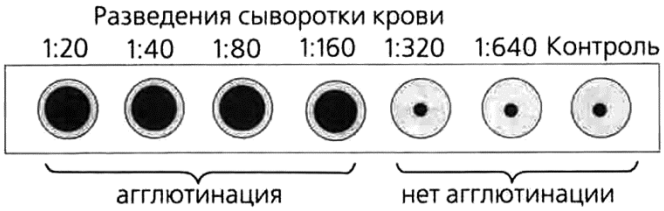


Рис. 15. Постановка и учет РНГА.

Такую РПГА применяют с целью серодиагностики инфекционных заболеваний и считают положительной, если она прошла в диагностическом титре.

Иногда применяют антительные эритроцитарные диагностикумы с адсорбированными на эритроцитах антителами. Например, можно обнаружить ботулинический токсин, добавляя к нему эритроцитарный антительный ботулинический диагностикум. Такую реакцию называют реакцией обратной непрямой гемагглютинации – РОНГА (*рис. 16*).

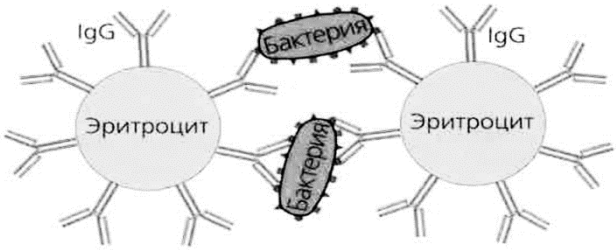


Рис. 16. Схема реакции обратной непрямой гемагглютинации.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)

*Механизм реакции торможения гемагглютинации*основан на блокаде, подавлении антигенов (гемагглютининов) вирусов антителами иммунной сыворотки, в результате чего вирусы теряют свойство агглютинировать эритроциты, ко-

торые выпадают в осадок. Положительным результат считается при выпадении компактного с ровными краями осадка, занимающего центр лунки (осадок в виде «пуговки»), отрицательным – при образовании рыхлого с фестончатыми краями осадка, покрывающего все дно лунки (осадок в виде «зонтика»).

РТГА применяют для диагностики многих вирусных болезней, возбудители которых (вирусы гриппа, кори, краснухи, клещевого энцефалита и др.) могут агглютинировать эритроциты различных животных. При этом РТГА может быть поставлена в двух направлениях: сероидентификация вирусов и серодиагностика вирусных заболеваний. РТГА ставится в пластиковых лунках.

Ингредиенты РТГА для идентификации вирусов: вируссодержащий материал, диагностические иммунные сыворотки (содержащие антивирусные антитела), суспензия куриных эритроцитов и 0,9% р-р NaCl*(рис.17)*.

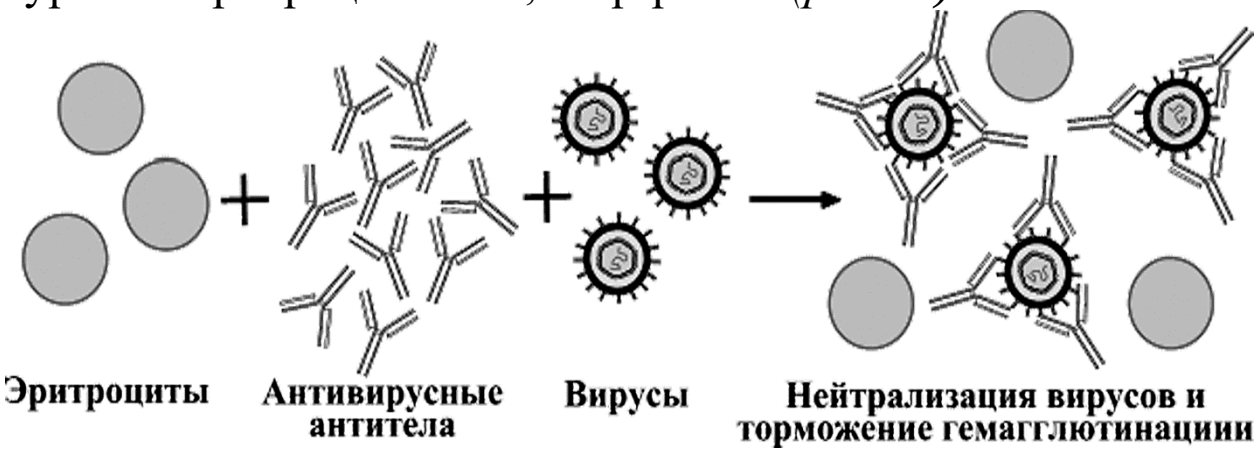


Рис. 17. РТГА для идентификации вирусов.

Ингредиенты РТГА для серодиагностики: парные сыворотки больного, вирусный диагностикум, суспензия куриных эритроцитов и 0,9% р-р NaCl. Парные сыворотки – сыворотки, взятые у больного с интервалом в 5-10 дней. Парные сыворотки титруют в двух рядах лунок плексигласового планшета с двукратными разведениями. В контрольную лунку добавляют равный объем изотонического раствора хлорида натрия. Во все лунки

вносят одинаковые объемы вирусного диагностикума. После инкубации при 37ºС в течение 2 часов добавляют взвесь эритроцитов, после инкубации проводят учет реакции и определяют титры специфических антител в обеих парных сыворотках и сравнивают их. Положительное заключение о наличии инфекционного заболевания делают, если в парных сыворотках наблюдается феномен нарастания титра специфических антител в четыре и более раз.

Реакция преципитации (РП)

РП отличается от агглютинации характером антигенов: в реакции агглютинации они корпускулярные, а в реакции преципитации – молекулярные, находящиеся в растворимом состоянии. Антигенами могут быть экстракты микроорганизмов, тканей, органов, химические вещества.

Феномен преципитации (от лат. *praecipito* – осаждать) заключается в том, что антитела (преципитины), соединяясь с растворимыми антигенами (преципитиногенами), предопределяют образование преципитата в виде помутнения раствора или питательной среды.

Феномен преципитации широко используется в микробиологической практике. В судебно-медицинской экспертизе его применяют для определения видовой принадлежности крови. С помощью специфических преципитирующих сывороток против белка человека, разных животных и птиц можно установить, какому виду принадлежит выявленная кровь. Таким же образом определяют возможную фальсификацию продуктов (мясо, мед). Эта реакция применяется для экспресс-диагностики эпидемического цереброспинального менингита, чумы, дизентерии, определения инфицированности возбудителем сибирской язвы продуктов и материалов животного происхождения (кожа, мех, щетина). Реакцию Оухтерлони используют для определения антигенного состава органов и

тканей, как нормальных, так и опухолевых, количества антигенов в сложных системах. Она имеет большое значение в диагностике дифтерии, оспы и других заболеваний.

РП ставят в пробирках (реакция кольцепреципитации), в гелях, питательных средах.

Реакцию *кольцепреципитации*проводятв узких преципитационных пробирках: на иммунную сыворотку наслаивают растворимый антиген. При положительном результате на границе этих двух растворов образуется мутное кольцо преципитата (*рис. 18*).

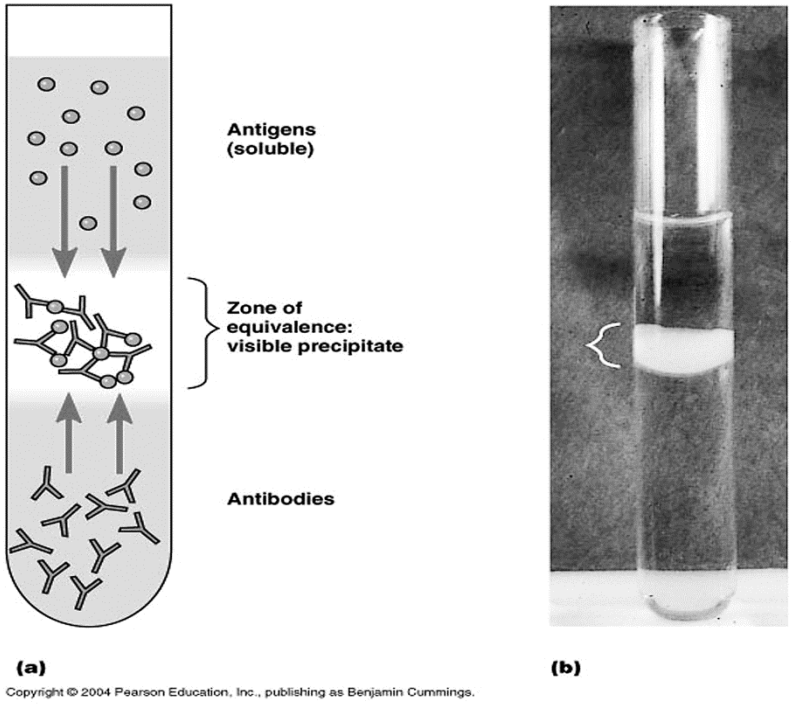


Рис. 18. Схема постановки и учета реакции кольцепреципитации.

Если в качестве АГ в реакции используют прокипячённые и профильтрованные экстракты тканей (гаптены), то такая реакция называется реакцией термопреципитации (например, реакция Асколи, при которой выявляют сибиреязвенный гаптен).

Широкое распространение получили разновидности РП в полужидком геле агара или агарозы: иммунодиффузия, иммуноэлектрофорез.Методы иммунодиффузии

характеризуются высокой специфичностью и чувствительностью. Различают простую (радиальная иммунодиффузия по Манчини) и двойную (по Оухтерлони) иммунодиффузию. В первом случае диффундирует один компонент, во втором – оба. Основная функция геля – локализация преципитата, основана на том, что растворимые антигены и антитела легко диффундируют в геле, а образующиеся иммунные комплексы ввиду их большей величины задерживаются внутри ячеек геля, образуя линии и полосы преципитации.

Реакция радиальной иммунодиффузии по Манчини

Метод простой иммунодиффузии основан на взаимодействии антисыворотки, содержащейся в геле агар-агара, с раствором антигена. Иммунную сыворотку с расплавленным агаровым гелем равномерно наливают на стекло. После застывания в геле делают лунки, в которые помещают антиген в различных разведениях. Антиген, диффундируя в гель, образует с антителами кольцевые зоны преципитации вокруг лунок. Диаметр кольца преципитации пропорционален концентрации антигена. В зависимости от специфичности заключенных в геле антител в ходе иммунодиффузии возникает одна или несколько полос преципитации, длина «пробега» которых от «линии старта» пропорциональна концентрации антигена.Реакцию используют для определения в сыворотке крови иммуноглобулинов различных классов, компонентов системы комплемента и др.*(рис. 19).*

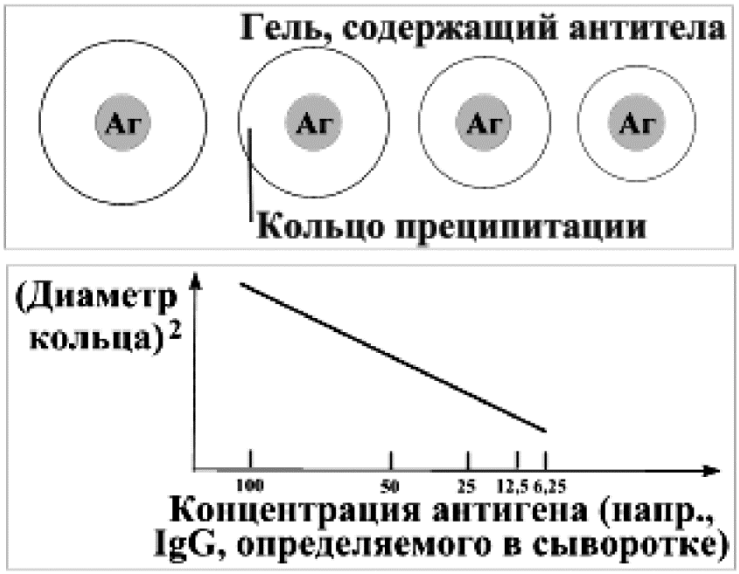


Рис19. Схема реакции радиальной иммунодиффузии.

Реакция двойной иммунодиффузии по Оухтерлони

Для постановки реакции растопленный агаровый гель тонким слоем выливают на стеклянную пластинку,а после затвердевания в нем вырезают лунки. В лунки геля раздельно помещают антигены и иммунные сыворотки, которые диффундируют навстречу друг другу. В месте встречи в эквивалентных соотношениях они образуют преципитат в виде белой полосы. У многокомпонентных систем между лунками с антигенами и антителами появляется несколько линий преципитата.Взаимное расположение линий преципитации в тестах двойной и встречной иммунодиффузии позволяет оценивать иммунохимическое сходство или различие антигенных компонентов: у идентичных АГ линии преципитата сливаются, у неидентичных АГ – пересекаются. На *рис. 20* приведена схема реакции преципитации по Оухтерлони.

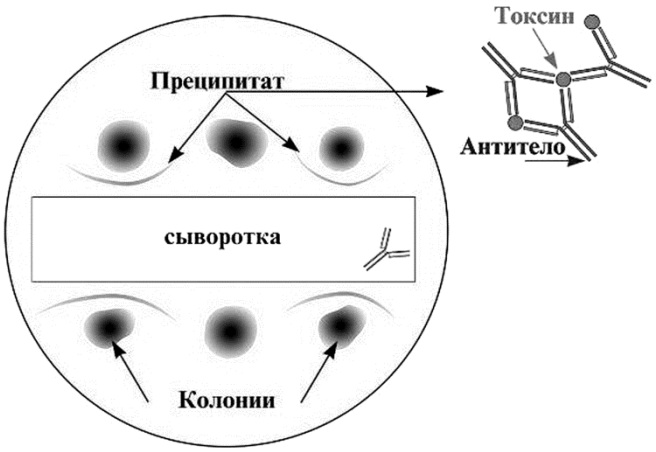


Рис. 20. Схема реакции преципитации по Оухтерлони.

Обычно тесты иммунодиффузии используют для идентификации белков в биологических жидкостях, таких как сыворотка крови, цереброспинальная жидкость, секреты желез или экстракты различных органов и т.д.

Иммуноэлектрофорез является сочетанием двух методов – электрофореза в геле и иммунопреципитации (двойной иммунодиффузии): смесь антигенов вносится в лунки геля и разделяется в геле с помощью электрофореза, затем в канавку параллельно зонам электрофореза вносят иммунную сыворотку, антитела которой диффундируют в гель и образуют в месте «встречи» с антигеном линии преципитации*(рис. 21)*.

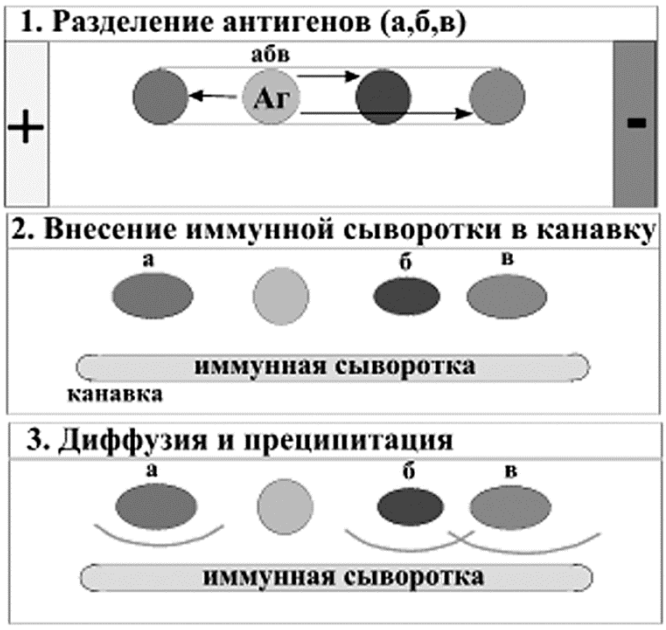


Рис. 21. Схема иммуноэлектрофореза.

Реакция флоккуляции

Реакция флоккуляции(по Рамону, РФ) (лат. *floccus*– хлопья шерсти) – появление опалесценции или хлопьевидной массы (иммунопреципитации) в пробирке при реакции токсин – антитоксин или анатоксин – антитоксин. РФ была предложена Рамоном в 1923 г. и представляет собой частный случай иммунологической реакции преципитации, антигеном в которой является токсин.Ее применяют для определения активности (титрования) иммунобиологических препаратов: антитоксической сыворотки и анатоксина.

Реакция состоит в том, что при смешении токсина с соответствующей иммунной сывороткой происходит помутнение в ряде пробирок. Сначала в одной из них, а затем и в других ближайших к ней выпадает хлопьевидный осадок (флоккулят). Этот ряд пробирок, давших помутнение и осадок, называется «зоной флоккуляции», а пробирка, в которой раньше других выпал флоккулят, называется пробиркой «инициальной» флоккуляции, где АГ и АТ содержатся в эквивалентных соотношениях*(рис. 22)*. Выпадение осадка происходит при условии полной нейтрализации токсина антитоксином.



Рис. 22. Схема постановки реакции флоккуляции.

*Титрование антитоксической сыворотки.*Титр антитоксической сыворотки выражается количеством антитоксических (АЕ) или международных (МЕ) единиц в 1 мл. За АЕ(МЕ) принимают наименьшее количество сыворотки, которое нейтрализует определённое число DLMтоксина.

Для титрования антитоксической сыворотки её разливают в ряд пробирок в увеличивающихся количествах (0,1мл; 0,2мл; 0,3мл и т.д.), в которые затем добавляют по 2мл токсинаизвестной силы. Пробирки инкубируют при 45ºС в течение 30 минут до «инициальной» флоккуляции. «Инициальная» флоккуляция проявляется в той пробирке, где количество токсина соответствует количеству МЕ сыворотки. Например, при титровании антитоксической противодифтерийной сыворотки *(табл. 4)* инициальная флоккуляция произошла в пробирке с 0,4 мл сыворотки. Следовательно, в этой пробирке каждые 100 DLM дифтерийного токсина нейтрализовались1 МЕ сыворотки.В 1 мл 10000 DLMтоксина, значит в 2 мл 20000 DLMтоксина, которые нейтрализованы 200 МЕ сыворотки. Если в 0,4 мл сыворотки 200МЕ, значит в 1мл – 500 МЕ. Титруемая противодифтерийная антитоксическая сыворотка имеет титр 500 МЕ/мл.

Таблица 4. Титрование противодифтерийной сыворотки

Ингредиенты	Номер пробирки, мл							
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Противодифтерийная сыворотка, мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Дифтерийный токсин силой 10000 DLM/мл	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Инкубация при 45ºС в течение 30 минут								
Результаты по инициальной флоккуляции				+				

Титрование анатоксина. Титр анатоксина – это количество ИЕ (иммуногенных единиц) в 1 мл. За 1 ИЕ анатоксина принимается количество анатоксина, которое нейтрализуется 1 МЕ соответствующей сыворотки.

Для титрования анатоксина антитоксическуюпротиводифтерийную сыворотку известного титра разливают в ряд пробирок в увеличивающихся количествах (0,1мл; 0,2мл; 0,3мл и т.д.), в которые затем добавляют по 2мл титруемого анатоксина. Пробирки инкубируют при 45ºС в течение 30 минут до «инициальной» флоккуляции. «Инициальная» флоккуляция проявляется в той пробирке, где количество ИЕ анатоксина соответствует количеству МЕ сыворотки. Например, при титровании дифтерийного анатоксина *(табл. 5)* инициальная флоккуляция произошла в пробирке с 0,4мл сыворотки. Следовательно, в этой пробирке на каждую ИЕ анатоксина приходится МЕ сыворотки. Титр сыворотки 3000 МЕ/мл, следовательно, в 0,4 мл сыворотки содержится 1200 МЕ. По инициальной флоккуляции в этой пробирке содержится такое же количество ИЕ, т.е. 1200 ИЕ в 2 мл анатоксина. Следовательно, в 1 мл будет 600 ИЕ. Титруемый анатоксин имеет титр 600ИЕ/мл.

Таблица 5. Титрование дифтерийного анатоксина

Ингредиенты	Номер пробирки, мл							
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Противодифтерийная сыворотка (титр 3000 МЕ), мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Дифтерийный анатоксин, мл	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Инкубация при 45ºС в течение 30 минут								
Результаты по инициальной флоккуляции				+				

Реакция связывания комплемента

Это сложная серологическая реакция, состоящая из двух этапов.

1 фаза– инкубация смеси, содержащей антиген + антитело + комплемент. При соответствии друг другу антигенов и антител образуются иммунные комплексы, к которым через Fc-фрагмент антител присоединяется комплемент (С), т.е. происходит связывание комплемента комплексом антиген-антитело. При этом происходит расходование комплемента и уменьшение его содержания в смеси. Комплемент может соединяться только с иммунными комплексами и не способен связываться с антигенами или антителами по отдельности.

2 фаза(индикаторная) – выявление в смеси свободного комплемента. Это достигается путем добавления к смеси из фазы 1 гемолитической системы (эритроциты барана + гемолитическая сыворотка), представляющей собой иммунные комплексы, с которыми должен соединяться комплемент, при его наличии. Присоединение комплемента к гемолитической системе сопровождается гемолизом.

Если в 1 фазе реакции при образовании комплекса

антиген-антитело происходит связывание им комплемента, то во 2 фазе гемолиза не происходит и реакция считается положительной.

Если антиген и антитело в 1 фазе не соответствуют друг другу, то комплемент остается свободным, а во 2 фазе он присоединяется к комплексу эритроцит-антиэритроцитарное антитело (гемолитическая система), вызывая гемолиз. В этом случае реакция считается отрицательной (*рис. 23*).

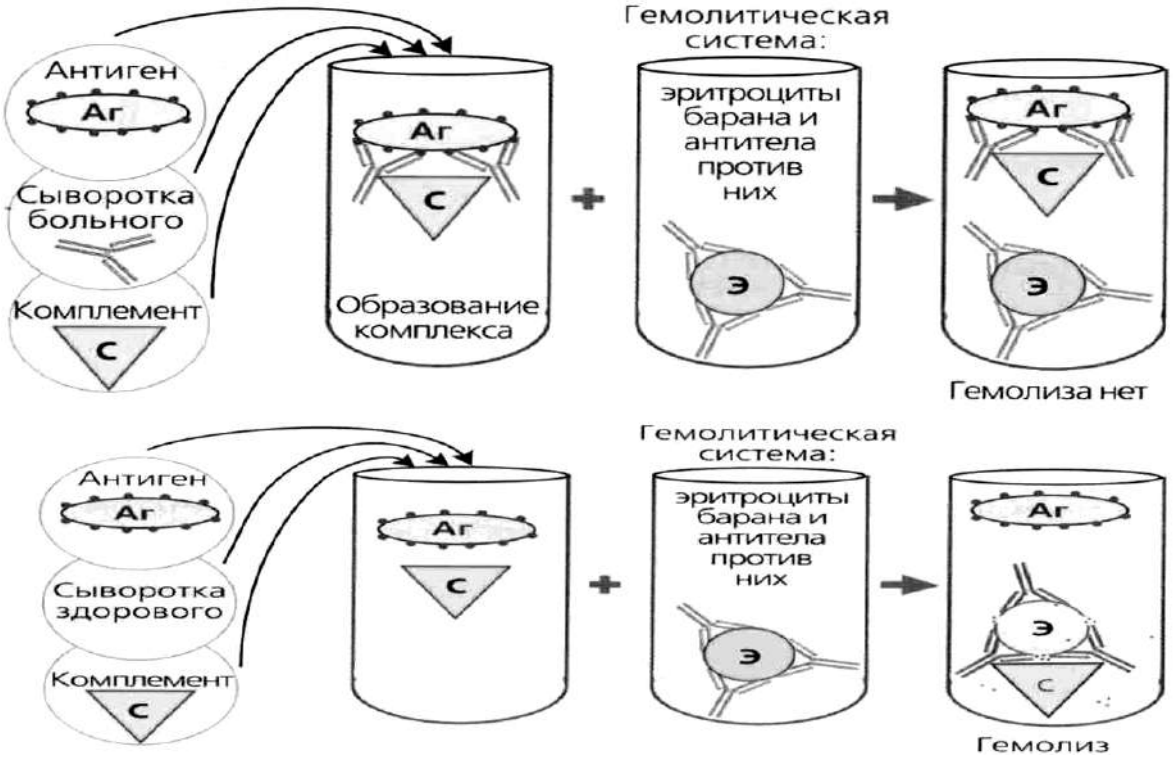


Рис. 23. Схема механизма реакции связывания комплемента (положительный (вверху) и отрицательный (внизу) результаты).

РСК ставится в направлении серодиагностики и сероидентификации. Перед постановкой реакции каждый ингредиент реакции титруют и определяют рабочую дозу для реакции.

Гемолитическую сыворотку получают гипериммунизацией кроликов эритроцитами барана. Титр гемолитической сыворотки – наибольшее разведение

сыворотки, которое даёт полный гемолиз сенсибилизированных эритроцитов барана в присутствии рабочей дозы комплемента. Рабочая доза гемолитической сыворотки равна тройному титру.

Диагностический препарат комплемента представляет собой лиофильно высушенную сыворотку крови морской свинки. Титр комплемента – это наименьшее его количество, которое вызывает полный гемолиз 3% взвеси эритроцитов барана в гемо-системе. Рабочая доза комплемента на 20-30% больше титра.

Титр АГ для РСК – это его наибольшее количество, которое не нарушает гемолиз 3% взвеси эритроцитов барана в гемо-системе в присутствии рабочей дозы комплемента. Рабочая доза АГ составляет ½ титра.

Сыворотку крови больного перед постановкой РСК прогревают на водяной бане для инактивирования собственного комплемента.

Реакция нейтрализации

Различают две разновидности данной реакции: реакция нейтрализации токсина и реакция нейтрализации вируса.

Реакция нейтрализации токсина (РНт)может применяться для обнаружения экзотоксина или антител к нему, то есть и с целью сероидентификации, и с целью сероиндикации, и с целью серодиагностики. Реакция ставится на чувствительных лабораторных животных. Суть реакции заключается в том, что экзотоксин в присутствии специфической к нему сыворотки теряет способность токсического воздействия на организм животного. Видимый эффект реакции: при введении в организм животного токсинсодержащего материала наблюдается повреждающий эффект (контрольная группа), если же к токсинсодержащему материалу предварительно добавить

антитоксическую сыворотку, то повреждающий эффект не наступит (опытная группа).РНт считается положительной, если «опытная» группа животных выживает, а «контрольная» погибает. РНт считается отрицательной, если обе группы выжили или погибли.

Подобную реакцию нейтрализации токсина в определенной модификации можно воспроизвести в организме человека. В этом случае ее называют *токсической пробой*. Подобные пробы применяют для того, чтобы установить наличие или отсутствие у человека антитоксического иммунитета к дифтерии и скарлатине. Обследуемому внутрикожно в область внутренней поверхности нижней трети предплечья вводят 1/40DLM(0,2 мл) токсина. При отсутствии антитоксического иммунитета токсин в месте введения обусловливает развитие воспаления, при наличии антитоксического иммунитета воспаления в месте введения токсина не наблюдается. Токсическая проба при дифтерии получила название пробы Шика. Данную пробу используют для решения вопроса о необходимости ревакцинации против дифтерии.Токсическая проба при скарлатине получила название пробы Дика.

Реакция нейтрализации вирусов(рис. 24).В сыворотке крови людей, иммунизированных или перенесших вирусное заболевание, обнаруживаются антитела, способные нейтрализовать действие вируса. Эти антитела выявляются при смешивании сыворотки с соответствующим вирусом и последующим заражением живого объекта (восприимчивых лабораторных животных, куриных эмбрионов или культуры клеток).

Первая группа живых объектов в зависимости от направления реакции заражается живым вирусным диагностикумом (серодиагностика) или исследуемым материалом (сероиндикация). Вторая группа живых объектов заражается тем же материалом, смешанным с

противовирусной сывороткой (диагностической или исследуемой).

Реакция считается положительной, если в первой группе живых объектов наблюдается повреждающий эффект вируса, а во второй группе живых объектов происходит его нейтрализация.

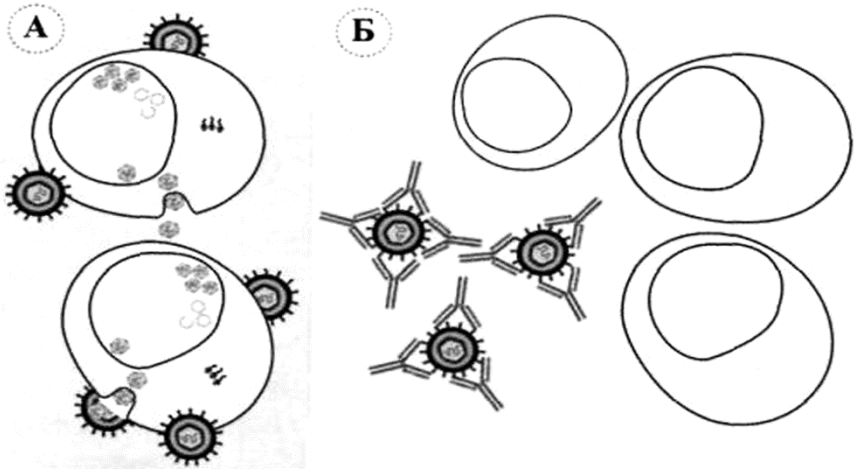


Рис. 24. Реакция нейтрализации вирусов в культуре клеток.
А – цитопатогенное действие в результате размножения вирусов.
Б – цитопатогенное действие отсутствует в результате предварительной нейтрализации вирусов антителами.

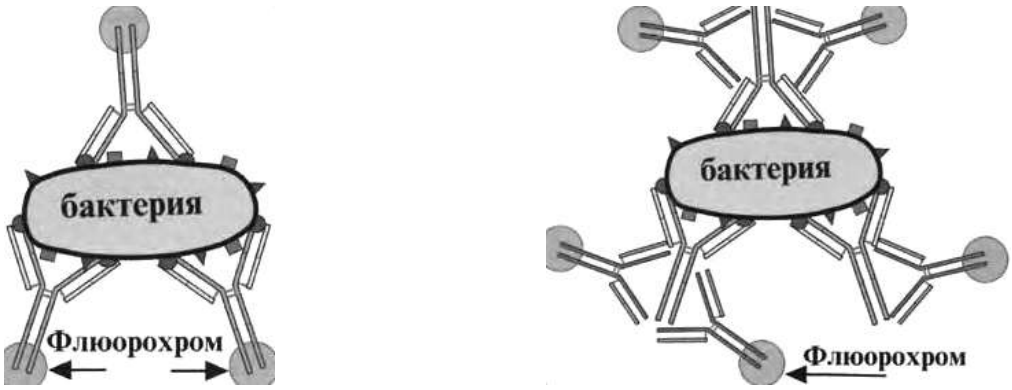
Опсоно-фагоцитарная реакция (ОФР)

Это еще одна реакция, в которой используются целые микробные клетки (корпускулярный антиген). Сущность ее заключается в следующем: защитное действие АТ заключается в том, что они способствуют фагоцитозу, с одной стороны, и активируют систему комплемента с другой стороны. В свою очередь активированный комплемент тоже способствует фагоцитозу. Причем в неиммунном организме фагоцитозу способствуют так называемые нормальные АТ и комплемент, поскольку эти факторы присутствуют в сыворотке еще до встречи с АГ. Эти факторы, содержащиеся в нормальной неиммунной сыворотке и способствующие фагоцитозу, объединяют

общим термином «опсонины». В иммунном организме к опсонинам в качестве агентов, способствующих фагоцитозу, присоединяются выработанные в процессе иммунизации АТ. Благодаря этим АТ, в присутствии иммунной сыворотки фагоцитоз идет намного интенсивней, чем при неиммунной. То есть среднее количество фагоцитированных одним нейтрофильным гранулоцитом микробов будет тем больше, чем больше АТ содержится в сыворотке. На определении такого среднего количества фагоцитированных микробов и основана опсоно-фагоцитарная диагностическая реакция. ОФР используют для серодиагностики инфекций, оценки эффективности вакцинации и применения терапевтических препаратов.

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)

Данную разновидность серологических реакций можно использовать даже в тех случаях, когда корпускулы АГ очень малы, например, представлены вирусными частицами. В настоящее время РИФ широко распространены. Используют их в двух направлениях 1) для сероиндикации АГ в исследуемом материале и 2) для серодиагностики инфекций. В первом случае пользуются так называемым прямым люминесцентным методом – прямая РИФ (метод Кунса), а во втором случае – непрямым методом (непрямая РИФ,*рис. 25*). При использовании прямой РИФ из исследуемого материала готовят мазок и обрабатывают его иммунной сывороткой, иммуноглобулины которой помечены флюорохромами. Если в исследуемом материале содержатся микробы, соответствующие по специфичности сыворотке, то АТ из сыворотки оседают на поверхности таких микробных клеток и при исследовании в люминесцентном микроскопе обнаруживаются ярко светящиеся микробные клетки.



Прямая РИФ **Непрямая РИФ**

Рис. 25. Механизм реакции иммунофлюоресценции (РИФ).

При непрямой РИФ мазок делают из известной микробной культуры, обрабатывают его сывороткой больного, а затем люминесцирующей сывороткой против глобулинов человека. Если в сыворотке больного есть искомые АТ, то они осядут на поверхности микробных клеток, а на них, в свою очередь, будут адсорбироваться меченные флюорохромом антиглобулиновые АТ, в результате мы получим свечение микробных клеток при люминесцентной микроскопии.РИФ применяется в качестве метода экспресс-диагностики инфекционных заболеваний.

Иммуноферментный анализ (ИФА)

В основе метода ИФА лежит сорбция антител (для обнаружения неизвестного антигена) или антигенов (для обнаружения специфических антител), меченных ферментом. Этот метод может быть использован для диагностики практически любого инфекционного заболевания. С помощью ИФА можно определить как антигены любого возбудителя, так и антитела к ним. Наиболее широкое применение находит твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). Он основан на том, что белки прочно адсорбируются на пластинках, например, из поливинилхлорида. В процессе инкубации на твердой фазе образуются специфические комплексы антиген – антитело.

Обнаружение антигенов с помощью ИФА

Первый этап– адсорбция специфических антител на поливинилхлоридной поверхности лунок пластиковых панелей. Антитела нековалентно связываются со стенками лунок, у них сохраняются свободные активные центры, и поэтому они способны специфически реагировать с соответствующим антигеном.

Второй этап– связывание антигенов из суспензии исследуемого материала за счет реакции антитело + антиген, происходящей на границе «твердая фаза – жидкость». После этого лунки промывают от не связавшихся компонентов.

Третий этап– обработка твердой фазы с фиксированными на ней комплексами антитело + антиген специфическими антителами против данного антигена, но меченными ферментом. Такие меченые антитела присоединяются к антигенам, а их избыток удаляется из системы промыванием. Таким образом, в случае присутствия в исследуемом материале искомого антигена на поверхности твердой фазы формируется комплекс: антитело + антиген + меченое антитело. Для ИФА антитела метят ферментом, чаще всего пероксидазой или щелочной фосфатазой. Субстратом для пероксидазы служит H_2O_2 в смеси с ортофенилендиамином, используемые в виде раствора в цитратно-фосфатном буфере (pH 5,0). Добавление в опытную лунку раствора субстрата приводит к тому, что он подвергается действию пероксидазы, фиксированной на антителах образующиеся продукты реакции имеют желтую окраску, интенсивность которой может быть определена путем фотометрирования.

Обнаружение специфических АТ с помощью ИФА

Первый этап– адсорбция специфических антигенов на стенках лунок. Планшеты в коммерческих тест-системах уже имеют сенсибилизированные лунки, т.е. на

их дне и стенках антигены уже адсорбированы.

Второй этап– добавление в лунки образцов исследуемой сыворотки для обнаружения в ней специфических антител к данному антигену. Если они имеются, то образуется комплекс антиген + антитело.

Третий этап– после отмывания лунок в них добавляют специфические антиглобулиновые АТ (антивидовые, т.е. против человеческих иммуноглобулинов), но меченые ферментом. В качестве контроля используют образцы заведомо положительные и заведомо отрицательные (*рис.*26, 27).

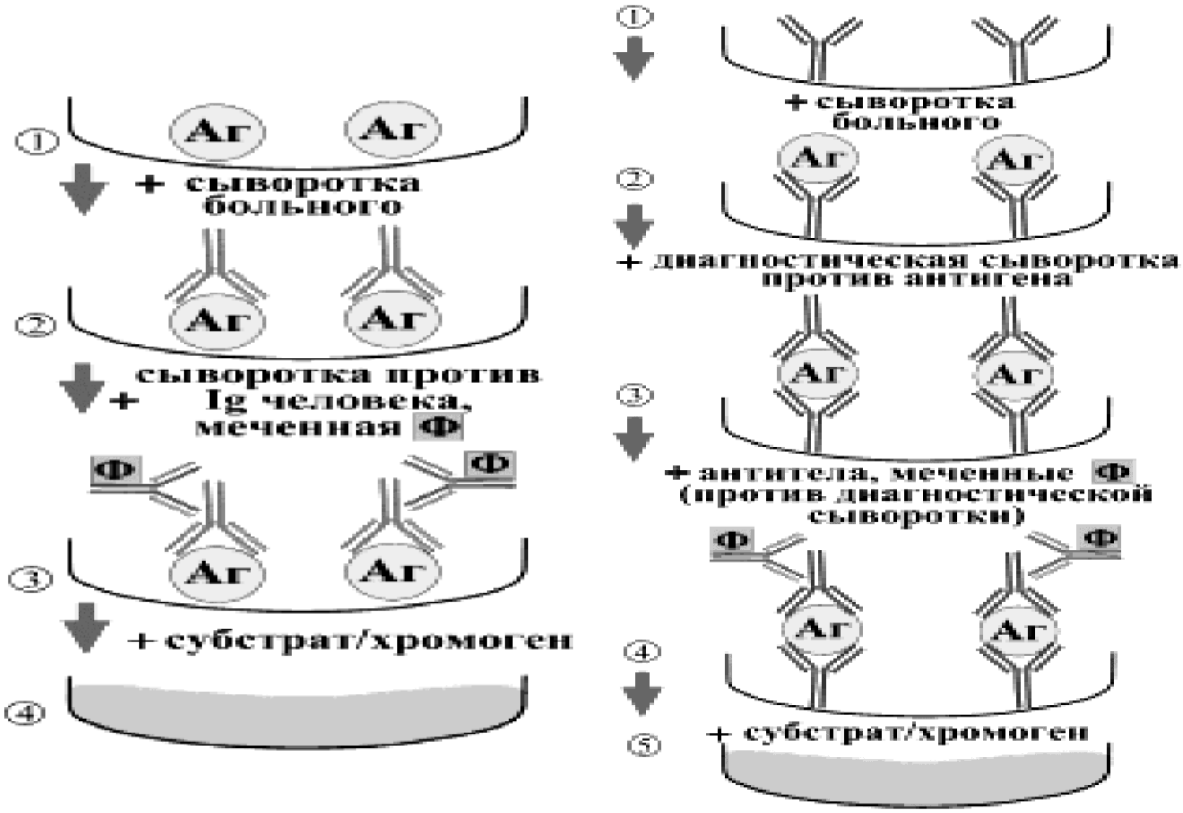


Рис. 26. Схема механизма иммуноферментного анализа.

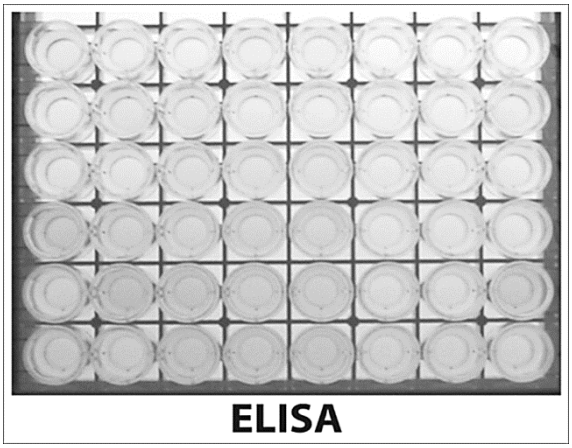


Рис. 27. Учет результатов иммуноферментного анализа.

Иммуноблоттинг (ИБ)

Иммуноблоттинг (ИБ)– высокочувствительный метод, основанный на сочетании электрофореза и ИФА. Смесь антигенов микроорганизма (родовых, видовых, групповых) разделяют на фракции, содержащие отдельные антигены с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Затем переносят его (блоттинг – от англ. *blot,* пятно) из геля на нитроцеллюлозную мембрану и проявляют с помощью ИФА. Фирмы выпускают такие полоски с «блоттами» антигенов. На эти полоски наносят сыворотку больного. Затем после инкубации отмывают от несвязавшихся антител больного и наносят сыворотку против иммуноглобулинов человека, меченую ферментом. Образовавшиеся на полоске комплексы «антиген + антитело больного + антитело против Ig человека, меченое ферментом», выявляют добавлением субстрата и хромогена, изменяющих окраску под действием фермента. ИБ используют как диагностический метод при ВИЧ-инфекции, сифилисе, листериозе и других инфекциях.

Радиоиммунный анализ (РИА)

РИА применяют для выявления антигенов микробов, иммуноглобулинов, а также иных веществ, содержащихся в исследуемом материале. Этот высокочувствительный метод основан на реакции антиген – антитело с применением

антигенов или антител, меченных радионуклидом (^{I25}J, ^{14}C, ^{3}H, ^{51}Cr и др.). После их взаимодействия отделяют образовавшийся радиоактивный иммунный комплекс и определяют его радиоактивность: интенсивность излучения прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.

С целью максимального упрощения использования ИФА разрабатываются так называемые «безреагентные» системы, в которых все необходимые компоненты иммобилизованы или импрегнированы в пористую поверхность. Для проведения анализа необходимо только нанести на носитель образец и визуально наблюдать изменение окраски носителя, происходящее вследствие образования продукта ферментативной реакции.

Области применения и чувствительность ИФА аналогичны РИА. Однако ИФА по сравнению с РИА обладает целым рядом преимуществ: не используются радиоактивные изотопы, стабильность конъюгатов позволяет хранить их в течение длительного времени, измерение оптической плотности проводят в оптическом диапазоне, результаты ИФА можно оценивать полуколичественно без применения аппаратуры (визуально). ИФА очень легко поддается автоматизации.

Полимеразная цепная реакция

Основана на амплификации, т.е. увеличении количества копий специфического (маркерного) гена возбудителя. Для этого двунитевую ДНК, выделенную из исследуемого материала, денатурируют (расплетают при нагревании около 90 ºС) и достраивают к расплетенным нитям ДНК новые комплементарные нити (при охлаждении-отжиге при 50 ºС).

Достраивание новых комплементарных нитей ДНК происходит при добавлении к искомым генам праймеров (короткие фрагменты однонитевых ДНК, комплементарные

3’-концам искомого гена), ДНК-полимеразы и нуклеотидов. В результате достраивания комплементарных нитей ДНК из одного гена образуются два. Этот цикл копирования генов многократно повторяется при заданных температурных режимах.

Продукты ПЦР отделяют с помощью гель-электрофореза и выявляют с помощью добавленного бромида этидия, который флуоресцирует в УФ-лучах. Положительный результат реакции (обнаружение нуклеиновой кислоты возбудителя в исследуемом материале) проявляется видимым свечением, при отрицательном результате (отсутствие нуклеиновой кислоты возбудителя в исследуемом материале) свечения нет.

Иммунная электроннаямикроскопия (ИЭМ)

Иммунная электронная микроскопия – электронная микроскопия микробов, чаще вирусов, обработанных соответствующими антителами. Вирусы, обработанные иммунной сывороткой, образуют иммунные агрегаты (микропреципитаты). Вокруг вирионов образуется «венчик» из антител, контрастированный фосфорно-вольфрамовой кислотой или другими электронно-оптическиплотными препаратами. То есть этот метод представляет собой непосредственную визуализацию взаимодействия антигена и антител методом электронной микроскопии.

Методически тест ИЭМ выполняется в следующей последовательности:

1. Материал, в котором предполагается наличие искомого вируса, смешивается и инкубируется со стандартной иммунной сывороткой.

2. Комплекс вирус-антитело осаждается центрифугированием в подходящих для него режимах.

3. К ресуспендированному осадку добавляется контрастирующее вещество, и полученный препарат исследуется

под электронным микроскопом. В качестве данного вещества используется ферритин – белок, содержащий до 23% железа, хорошо контрастирующий и поэтому применяющийся в качестве метки. После обработки мечеными АТ изучаемых объектов (вирусов, бактерий, срезов инфицированных клеток) они становятся электронно-плотными и могут быть выявлены при электронной микроскопии.

В случае положительной реакции выявляются характерные агрегаты, состоящие из вирусных частиц, соединенных между собой мостиками из антител. Порог чувствительности ИЭМ невысок: надежное выявление вируса осуществимо, когда его концентрация в исходном материале составляет 10^4–10^6 частиц в мл. Преимуществом метода является возможность оценивать не только исход серологической реакции, но и идентифицировать ее морфологический субстрат, т.е. определить форму и размер вирусных частиц. При наличии препаратов вируса с известным содержанием частиц ИЭМ может применяться и для количественного определения антител в сыворотках, для чего предложена специальная система учета интенсивности взаимодействия вируса и антител.

БЛОК КОНТРОЛЯ

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение понятию «сероидентификация».
2. Дайте определение понятию «сероиндикация».
3. Дайте определение понятию «серодиагностика».
4. Дайте определение понятию «диагностикум».
5. Назовите фазы серологических реакций с их краткой характеристикой.
6. Дайте определение понятию «парные сыворотки».
7. Назовите два способа постановки реакции агглютинации с их краткой характеристикой.
8. Механизм реакции торможения гемагглютинации.
9. Перечислите участников реакции связывания комплемента.
10. Назовите две фазы реакции связывания комплемента с их краткой характеристикой.
11. Назовите видимый эффект реакции нейтрализации токсина.
12. Опишите реакцию нейтрализации вирусов.

Тестовые задания для самоконтроля.

Выберите несколько правильных ответов:

1. Выберите необходимые для постановки реакции связывания комплемента компоненты, укажите автора(ов) реакции:

а) гемолитическая сыворотка;
б) сыворотка морской свинки;
в) антиген растворимый;
г) антиген корпускулярный;
д) эритроциты барана;
е) морская свинка;
ж) живая культура бактерий;
з) антимикробная сыворотка кроличья;
и) сыворотка больного;

к) сыворотка антимикробная люминесцирующая;
л) сыворотка против глобулинов кролика люминесцирующая;
м) краситель люминесцирующий;
н) агглютинирующая сыворотка;
о) сыворотка против глобулинов человека люминесцирующая;
п) Кумбс;
р) Кунс;
с) Борде, Жангу;
т) Исаев, Пфейффер.

2. Укажите назначение реакции связывания комплемента:
а) идентификация бактерий;
б) индикация бактерий;
в) обнаружение антител;
г) обнаружение вирусов.

3. Выберите необходимые для постановки реакции бактериолиза компоненты, автора(ов) реакции:
а) гемолитическая сыворотка;
б) сыворотка морской свинки;
в) антиген растворимый;
г) антиген корпускулярный;
д) эритроциты барана;
е) морская свинка;
ж) живая культура бактерий;
з) антимикробная сыворотка кроличья;
и) сыворотка больного;
к) сыворотка антимикробная люминесцирующая;
л) сыворотка против глобулинов кролика люминесцирующая;
м) краситель люминесцирующий;
н) агглютинирующая сыворотка;

о) сыворотка против глобулинов человека люминесцирующая;
п) Кумбс;
р) Кунс;
с) Борде, Жангу;
т) Исаев, Пфейффер.

4. Укажите назначение этой реакции:
а) идентификация бактерий;
б) индикация бактерий;
в) обнаружение антител;
г) обнаружение вирусов.

5. Выберите необходимые ингредиенты для иммунолюминесцентного метода, автора (ов) этого метода:
а) гемолитическая сыворотка;
б) сыворотка морской свинки;
в) антиген растворимый;
г) антиген корпускулярный;
д) эритроциты барана;
е) морская свинка;
ж) живая культура бактерий;
з) антимикробная сыворотка кроличья;
и) сыворотка больного;
к) сыворотка антимикробная люминесцирующая;
л) сыворотка против глобулинов кролика люминесцирующая;
м) краситель люминесцирующий;
н) агглютинирующая сыворотка;
о) сыворотка против глобулинов человека люминесцирующая;
п) Кумбс;
р) Кунс;
с) Борде, Жангу;

т) Исаев, Пфейффер.

6. Укажите назначение этой реакции:
а) идентификация бактерий;
б) индикация бактерий;
в) обнаружение антител;
г) обнаружение вирусов.

7. Реакцией флоккуляции является:
а) специфическое склеивание и осаждение корпускулярных антигенов под действием антител в присутствии электролита;
б) появление опалесценции или хлопьевидной массы при реакции токсин-антитоксин;
в) реакция с использованием эритроцитарных диагностикумов.

8. Реакция нейтрализации основана на:
а) способности антител иммунной сыворотки нейтрализовывать повреждающее действие микроорганизмов или их токсинов;
б) способности специфически склеивать и осаждать корпускулярные антигены под действием антител в присутствии электролита;
в) осаждении антигена из раствора под действием антител в присутствии электролита.

9.Реакция иммунофлюоресценции представляет собой:
а) высокочувствительный метод диагностики инфекционных заболеваний, основанный на выявлении антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом;
б) высокочувствительный метод диагностики инфекционных заболеваний, основанный на выявлении антиге-

нов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с флюорохромом;
в) количественное определение антигенов или антител, меченных радионуклидом.

10. Радиоиммунологический анализ представляет собой:

а) высокочувствительный метод диагностики инфекционных заболеваний, основанный на выявлении антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом;
б) высокочувствительный метод диагностики инфекционных заболеваний, основанный на выявлении антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с флюорохромом;
в) количественное определение антигенов или антител, меченных радионуклидом.

11. Иммуноферментный анализ представляет собой:

а) высокочувствительный метод диагностики инфекционных заболеваний, основанный на выявлении антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом;
б) высокочувствительный метод диагностики инфекционных заболеваний, основанный на выявлении антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с флюорохромом;
в) количественное определение антигенов или антител, меченных радионуклидом.

12. К реакциям преципитации относятся:

а) непрямая реакция Кумбса;
б) реакция флоккуляции;
в) иммуноферментный анализ;
г) реакция Видаля;

д) реакция по Асколи.

13. Иммуноблоттинг представляет собой:
а) высокочувствительный метод диагностики инфекционных заболеваний;
б) метод, основанный на сочетании электрофореза и ИФА;
в) метод, основанный на сочетании двойной иммунодиффузии и РИФ;
г) метод, основанный на сочетании электрофореза и РИА;
д) диагностический метод при ВИЧ-инфекции.

14. Реакцией преципитации является:
а) специфическое склеивание и осаждение корпускулярных антигенов под действием антител в присутствии электролита;
б) осаждение антигена из раствора под действием антител в присутствии электролита;
в) реакция с использованием эритроцитарных диагностикумов.

Найдите соответствие:

15. I. РА. 1. Склеивание клеток (бактерий, эритроцитов).
II. РНГА. 2. Связывание молекул.
III. РТГА. 3. Использование агентов, склеивающих эритроциты (вирусов).
IV. РП. 4. Использование диагностикумов.

16. I. РСК. 1. Использование гемолитической системы.
II. ИФА. 2. Использование АТ, меченных флюорохромом.
III. РИФ. 3. Использование АТ, меченных
IV. РИА.

пероксидазой.
4. Использование АТ, меченных радиоактивным изотопом.

Ситуационные задачи для самоконтроля

Задача 1.

С целью диагностики гриппа у больного, поступившего в стационар, была поставлена РТГА. Реакция прошла до титра 1:40. Можно ли утверждать, что диагноз подтвердился? Обоснуйте ответ.

Задача 2.

У предполагаемого бактерионосителя брюшнотифозной палочки взята желчь, из нее выделена культура грамотрицательной палочки. Для определения вида культуры использована диагностическая брюшнотифозная сыворотка с титром 1:12800. Реакция агглютинации прошла в разведениях 1:800, 1:1600, 1:3200. Можно ли утверждать, что из желчи выделена брюшнотифозная палочка? Обоснуйте ответ.

Задача 3.

Для подтверждения диагноза брюшного тифа у больного была поставлена РА, которая прошла до разведения 1:400. Диагностический титр реакции 1:200, можно ли подтвердить диагноз брюшного тифа у данного больного? Обоснуйте ответ.

Задача 4.

У больного из носоглоточного смыва выделен вирус, который в РТГА с использованием противогриппозной сыворотки дал положительный результат (т.е. задержка гемагглютинации) до титра сыворотки. Можно считать, что у больного в носоглотке находится вирус гриппа?

Обоснуйте ответ.

Задача 5.

Для постановки реакции нейтрализации токсина в опыт было взято 4 группы белых мышей, массой 18-20 грамм.

1 группе внутрибрюшинно ввели 1 мл фильтрата исследуемого материала от больного.

2 группе внутрибрюшинно ввели 1 мл фильтрата исследуемого материала от больного и 500 МЕ противоботулинической сыворотки типа А.

3 группе внутрибрюшинно ввели 1 мл фильтрата исследуемого материала от больного и 500 МЕ противоботулинической сыворотки типа В.

4 группе внутрибрюшинно ввели 1 мл фильтрата исследуемого материала от больного и 500 МЕ противоботулинической сыворотки типа Е.

В итоге в живых осталась только 2 группа мышей, 1, 3, 4 – умерли.

Оцените результат реакции нейтрализации, укажите направление в постановке реакции. Сделайте вывод.

Задача 6.

Для постановки реакции нейтрализации токсина в опыт было взято 4 группы белых мышей, массой 18-20 грамм.

1 группе внутрибрюшинно ввели 1 мл фильтрата пищевого продукта.

2 группе внутрибрюшинно ввели 1 мл фильтрата пищевого продукта и 500 МЕ поливалентной противоботулинической сыворотки.

3 группе внутрибрюшинно ввели 1 мл фильтрата исследуемого материала от больного.

4 группе внутрибрюшинно ввели 1 мл фильтрата исследуемого материала от больного и 500 МЕ поливалентной противоботулинической сыворотки.

В итоге 1 и 2 группа мышей выжили, 3, 4 группы –

погибли.

Оцените результат реакции нейтрализации, укажите направление в постановке реакции. Сделайте вывод.

Задача 7.

При постановке реакции флоккуляции для титрования столбнячного анатоксина в ряд пробирок внесены различные количества антитоксической сыворотки с титром 800 МЕ: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 мл. Затем в каждую пробирку добавили по 5 мл анатоксина. Инициальная флоккуляция произошла в пробирке с 0,5 мл сыворотки. Определите титр анатоксина.

Блок самоконтроля усвоения материала

*Задание 1.*Изучите схему постановки развернутой РА с целью серодиагностики, оцените данный преподавателем результат реакции и сделайте вывод по реакции.

Ингредиенты	**Пробирки**						
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**Контроль сыворотки**	**Контроль антигена**
Изотонический раствор, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0
Сыворотка больного в исходном разведении 1:25, мл	1,0	->	->	->	-> вылить	1,0	
Разведение сыворотки	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:25	-
Бруцеллезный диагностикум (в каплях)	3	3	3	3	3	3	3
Термостат при 37°С в течение 2 ч, затем при комнатной температуре 24 ч							
Результат:							
ВЫВОДЫ: Реакция агглютинации положительная/отрицательная, так как прошла/не прошла в диагностическом титре. Следовательно, у больного можно/нельзя подтвердить диагноз.							

*Задание 2***.** Изучите схему постановки развернутой РА с целью сероидентификации, оцените данный преподавателем результат реакции и сделайте вывод по реакции.

Ингредиенты	Пробирки					
	1	2	3	4	Контроль сыворотки	Контроль антигена
Изотонический раствор, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0
Неадсорбированная агглютинирующая сыворотка *S.typhi* (титр 1:12000) в исходном разведении 1:750, мл	1,0	->	->	-> вылить	1,0	-
Разведение сыворотки	1:1500	1:3000	1:6000	1:12000	1:1500	-
Взвесь чистой культуры возбудителя, выделенного от больного (в каплях)	3	3	3	3	3	3
Термостат при 37°С в течение 2 ч, затем при комнатной температуре 24 ч						
Результат:						
ВЫВОДЫ: Реакция агглютинации положительная/отрицательная, так как прошла/не прошла в титре (половине титра) диагностической сыворотки. Следовательно, чистая культура относится/не относится к виду *S. typhi*.						

*Задание 3.*Поставьте РА на стекле с адсорбированными агглютинирующими сыворотками, оцените результат и сделайте вывод по реакции.



Вывод: Реакция агглютинации положительная с сывороткой …, так как наблюдается образование агглютината. Реакция агглютинации отрицательная с сывороткой …, так как не наблюдается образование агглютината. Следовательно, чистая культура относится к виду ….

*Задание 4.*Изучите схему постановки развернутой РПГА с цельюсеродиагностики, оцените данный преподавателем результат реакции и сделайте вывод по

реакции.

Ингредиенты	**Пробирки**					
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**Контроль антигена**
Изотонический раствор, мл	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Сыворотка больного в исходном разведении 1:5, мл	0,25	->	->	->	-> вылить	--
Разведения сыворотки	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	--
Эритроцитарный туляремийный диагностикум, мл	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Инкубация при комнатной температуре в течение 30-60 минут						
Результат:						
ВЫВОД: Реакция пассивной гемагглютинации положительная/отрицательная, так как прошла/не прошла в диагностическом титре. Следовательно, у больного можно/нельзя подтвердить диагноз_____. Титр антител в исследуемой сыворотке против данного антигена_____						

*Задание 5.*Изучите схему постановки реакции обратной непрямой гемагглютинации для определения типа ботулинического токсина (серотипирование), оцените данный преподавателем результат реакции и сделайте вывод по реакции.

Ингредиенты	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Контроль
Изотонический раствор натрия хлорида, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Исследуемый материал (промывные воды желудка, разведение 1:5), мл	0,5	->	->	->	->	->	Вылить 0,5	--
Антительный эритроцитарный диагностикум соответствующего серотипа, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
РЕЗУЛЬТАТЫ:								
с поливалентным диагностикумом АВЕ								
с диагностикумом А								
с диагностикумом В								
с диагностикумом Е								
ВЫВОД:								

*Задание 6.*Изучите схему постановки развернутой РТГА с целью сероидентификации вируса гриппа, оцените данный преподавателем результат реакции и сделайте вывод по реакции.

Ингредиенты	Разведения сыворотки					Контроли		
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	вируса	сыв.А1/А3	эритр.
Изотонический раствор хлорида натрия, мл	--	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0
Исследуемый вирус 4 АЕ*, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	--	--
Первый ряд: Сыворотка к вирусу H1N1 в разведении 1:10, мл	0,5	0,5	0,5	0,5 ->	0,5 вылить	--	0,5	--
Второй ряд: Сыворотка к вирусу H3N2 в разведении 1:10, мл	0,5	0,5 ->	0,5 ->	0,5 ->	0,5 вылить	--	0,5	--
1% суспензия эритроцитов, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Результаты:								
С сывороткой к вирусу гриппа H1N1								
С сывороткой к вирусу гриппа H3N2								
ВЫВОД: РТГА положительная с диагностической сывороткой против вируса гриппа подтипа _____ до титра _____. Идентифицирован подтип вируса гриппа								

*Задание 7.*Поставьте реакцию кольцепреципитации с бактериальным гаптеном с целью сероиндикации, оцените результат и сделайте вывод по реакции.

Ингредиенты	**Неизвестный гаптен**
Преципитирующая сыворотка *Shigella flexneri*	
Преципитирующая сыворотка *Shigella zonnei*	
ВЫВОД: в исследуемом материале обнаружен/не обнаружен гаптен _____	

Задание 8. Изучите схему постановки РСК с целью серодиагностики, оцените данный преподавателем результат реакции и сделайте вывод по реакции.

Ингредиенты		**Опыт**	**Контроль сыворотки**	**Контроль антигена**
		1	**2**	**3**
Исследуемая сыворотка в разведении 1:25, мл		0,5	0,5	
Антиген (диагностикум), мл		0,5	-	0,5
Комплемент в рабочей дозе, мл		0,5	0,5	0,5
Изотонический раствор, мл		-	0,5	0,5
Инкубация при 37°С в течение 45-60 минут				
Гемолитическая система, мл		1,0	1,0	1,0
Инкубация при 37°С в течение 45-60 минут				
Результаты: (гемолиз/отсутствие гемолиза):	Сыворотка больного			
	Сыворотка здорового			
ВЫВОДЫ: РСК положительная/отрицательная с сывороткой здорового, т.к._____ _____ РСК положительная/отрицательная с сывороткой больного т.к._____				

Задание 9. Изучите схему постановки ИФА с целью серодиагностики, оцените данный преподавателем результат реакции и сделайте вывод по реакции.

Ингредиенты	**Опыт**	**«Положительный контроль»**						**«Отриц. контроль»**
	A1 A2	**B1 B2**	**C1 C2**	**D1 D2**	**E1 E2**	**F1 F2**	**G1 G2**	**HI H2**
1. Буфер А (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация при комнатной температуре 10 мин.								
2. Сыворотка больного (мл)	0,1	--	--	--	--	--	--	--
3. Стандартный антиген 100 мкг/мл (мл)	--	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1 вылить	--

4.Отрицательный контроль (мл)	--	--	--	--	--	--	--	0,1
Инкубация при 37°С в течение 20 мин.								
5. Конъюгат (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация при 37°С в течение 20 мин.								
6. Субстрат (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация при комнатной температуре 20 мин.								
7. 50%H_2SO_4(мл)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Результаты:								
ВЫВОДЫ: ИФА _____ (положительная/отрицательная) Концентрация HBsантигена в исследуемой сыворотке мкг/мл _____								

Задание 10. Изучите схему постановки ИФА с целью сероиндикации, оцените данный преподавателем результат реакции и сделайте вывод по реакции.

Ингредиенты	**Опыт**	**«Положительный контроль»**						**«Отриц. контроль»**
	A1 A2	**B1 B2**	**C1 C2**	**D1 D2**	**E1 E2**	**F1 F2**	**G1 G2**	**H1 H2**
1. Буфер А (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация при комнатной температуре 10 мин.								
2. Исследуемый антиген (мл)	0,1	--	--	--	--	--	--	--
3. Стандартный антиген 100 мкг/мл (мл)	--	0,1 ->	0,1 ->	0,1 ->	0,1 ->	0,1 ->	0,1 вылить	--
4. Отрицательный контроль (мл)	--	--	--	--	--	--	--	0,1
Инкубация при 37°С в течение 20 мин. Отмывка								
5. Конъюгат (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация при 37°С в течение 20 мин.								
6. Субстрат (мл)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация при комнатной температуре 20 мин. Отмывка								
7. 50%H_2SO_4(мл)	0,05	0,05	0;05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Результаты:(отметить цветом)								
ВЫВОДЫ: ИФА_____(положительная/отрицательная). Концентрация искомого антигена_____мкг/мл								

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Тема 1: «Инфекционный процесс и патогенность микроорганизмов».

1 – в	2 – г	3 – а	4 – б
5 – б	6 – б	7 – а	8 – б
9 – в	10 – в	11 – в	12 – в
13 – б	14 – в	15 – в	16 – а
17 – экзотоксин	18: у первого – коинфекция, у второго – суперинфекция	19 – I: б, г, е, з; кII: а, в, д, ж, и	20 – 1: д; 2: ж; 3:а
21 – I: а, е, ж, д,в; II: б, г, з	22 – в, б, е	23 – а, б, в	

Тема 2: «Врожденная и адаптивная системы защиты организма: факторы и механизмы. Иммунодиагностика».

1 – б	2 – б	3 – д	4 – д
5 – а, д	6 – д	7 – г	8 – б
9 – д	10 – б	11 – 2,4	12 – 1,2,3,4,5
13 – 1,2,3	14 – 1,2,3	15 – 4	16 – 1,2,3,4,5
17 – 4	18–I-1; II–2,3	19 – I–1,4; II–2; III–3,5; IV–2,4; V–4,5; VI–1,6	20 – I–1,2,3,4; II–5,6
21 – I–1,5,6; II–2,3,4	22 – I–1,3,5,7; II–2,4,6	23 – I–2; II–1; III–1,4; IV–3	

Тема 3: «Основы специфической иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных заболеваний».

1 – а	2 – а, в, г	3 – б, в	4 – а
5 – б	6 – в	7 – а	8 – б
9 – а	10 – б	11 – б	12 – б
13 – а	14 – а, б, в, г	15 – б	16 – а
17 – б	18 – г	19 – а, б, г	20 –г
21 – а	22 – б	23 – б	24–I – 1, II – 2,3

Тема 4: «Серологические реакции в иммунодиагностике инфекционных заболеваний».

1– а, б, в, г, д, з, и, с	2– а, в, г	3– б, е, ж, з, т	4– а, в
5– з, и, к, л, о, р	6– а, б, в, г	7 – б	8 – а
9 – б	10 – в	11 – а	12 – б, д
13 – а, б, д	14 – б	15 –I – 1, II – 4, III – 3, IV – 2	16 –I – 1, II – 3, III – 2, IV – 2

ПРИМЕРЫ ОТВЕТОВ НА СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Тема 1: «Инфекционный процесс и патогенность микроорганизмов»

Задача №1

1. Инфекция бактериальная, экзогенная, местная, моноинфекция, первичная, микробоносительство, бессимптомная, антропоноз.
2. Микробоносительство.
3. Да, так как данный человек может служить источником инфекции.
4. Малая вирулентность возбудителя, малая инфицирующая доза возбудителя, измененная иммунологическая реактивность макроорганизма.
5. Инфекция, так как отсутствуют клинические проявления.
6. Инфекция – это совокупность физиологических и патологических восстановительно-приспособительных реакций, возникающих в восприимчивом макроорганизме при определённых условиях окружающей внешней среды в результате взаимодействия с микробами и направленных на гомеостаз.Инфекционное заболевание – крайняя степень развития инфекционного процесса, характеризующаяся клинической симптоматикой.
7. Фекально-оральный, контактно-бытовой, алиментарный.
8. Больной человек и/или микробоноситель.

Тема 2:«Врожденная и адаптивная системы защиты организма: факторы и механизмы. Иммунодиагностика»

Задача №1

1. Для оценки факторов неспецифической защиты (врожденного иммунитета) используется ОАК с лейкоформулой, оценка фагоцитоза (фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, спонтанный и индуцированный НСТ-тесты, процент НСТ-положительных клеток) и др.

С целью оценки состояния клеточного иммунитета определяют основные фенотипы лимфоцитов, а оценку гуморального иммунитета проводят по уровням основных классов иммуноглобулинов и количеству В-лимфоцитов.

2. У данного пациента имеется иммунодефицитное состояние. При этом отмечается дефект фагоцитоза, клеточного и гуморального иммунитета.

3. С целью дополнительной оценки состояния иммунной системы у данного пациента можно рекомендовать изучение системы комплемента.

4. Причинами развития иммунодефицитного состояния у данного пациента может быть комбинированный первичный иммунодефицит, а также вторичный иммунодефицит различной этиологии (стресс, прием некоторых медикаментов, облучение и т.д.). Также требуется исключение ВИЧ-инфекции.

Тема 3: «Основы специфической иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных заболеваний»

Задача №1

1. Вакцинотерапия хронической формы бруцеллеза. Препарат – убитая бруцеллезная вакцина. Создание искусственного, приобретенного, активного иммунитета. Цель применения – стимуляция специфического антимикробного иммунитета.

2. Плановая вакцинопрофилактика. Живая бруцеллезная вакцина. Создание искусственного, приобретенного, активного иммунитета. Цель применения – предотвратить возможность заражения бруцеллезом в группе риска.

Тема 4:«Серологические реакции в иммунодиагностике инфекционных заболеваний»

Задача №1

РТГА с целью серодиагностики гриппа ставят с парными сыворотками и считают положительной, если титр АТ во второй сыворотке увеличился в 4 и более раз. В данном случае РТГА у больного поставлена с одной сывороткой. Поэтому нельзя утверждать, что у обследуемого грипп. Необходимо повторить РТГА через 5 – 7 дней.

ПРИМЕРЫ ОТВЕТОВ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Гемолитическая сыворотка

Препарат диагностический.

Для РСК.

Реакция ставится с целью серодиагностики и сероидентификации.

РСК ставится в пробирках.

РСК положительна при отсутствии гемолиза гемосистемы в опытной пробирке и наличии гемолиза в контрольной пробирке.

Препарат получен гипериммунизацией кроликов эритроцитами барана.

Титр гемолитической сыворотки – максимальное разведение сыворотки, при котором наблюдается полный гемолиз эритроцитов барана в присутствии рабочей дозы комплемента. В реакцию гемолитическая сыворотка берется в рабочей дозе, равной тройному титру сыворотки.

БЦЖ

Лечебно-профилактический препарат.

Живая моновакцина.

Препарат из вакцинного штамма *Mycobacteriumtuberculosis* бычьего типа, полученного Кальметом и Гереном в результате 230 пассажей на картофельно-глицериновой среде с желчью.

Препарат для плановой профилактики туберкулеза.

Создание искусственного, приобретенного, активного иммунитета.

Титр – количество аттенуированных бактерий в одной дозе препарата.

ПРИЛОЖЕНИЕ

МЕДИЦИНСКИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

(препараты для специфической профилактики, лечения и диагностики инфекционных болезней)

1. Лечебно-профилактические препараты

а. Вакцины

Для профилактики:

• Живые (БЦЖ, БЦЖ-М, сибиреязвенная, чумная, бруцеллёзная, туляремийная, против лихорадки Ку, полиомиелитная, оспенная, коревая, паротитная, против желтой лихорадки, против краснухи, гриппозные, против венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ).

• Убитые (цельновирионные/цельноклеточные инактивированные) – брюшнотифозная спиртовая, холерная, лептоспирозная, гриппозная, антирабическая, против клещевого энцефалита, полиомиелитная, против ветряной оспы.

• Сплит-вакцины (гриппозные).

• Химические (субклеточные/субвирионные) – брюшнотифозная, менингококковая, холерная, гриппозная полимер-субъединичная).

• Анатоксины (АД-М, АС, АДС, АДС-М, тетраанатоксин, секстаанатоксин, стафилококковый).

• Генно-инженерные (против вирусного гепатита В).

• Комбинированные (АКДС, АДС-М, тетраанатоксин, секстаанатоксин, сыпнотифозная комбинированная (ЖКСВ-Е), холерная комбинированная).

Для лечения:

• Убитые (гонококковая, стафиловакцина, протейная, дизентерийная, бруцеллёзная, герпетическая).

b. Бактериофаги

• для профилактики (брюшнотифозный, сальмонеллёзный, дизентерийный);

• для лечения (стафилококковый, стрептококковый, синегнойный, клебсиеллёзный, коли-бактерийный, протейный, пиобактериофаг, интестибактериофаг).

c. Пробиотики (лактобактерин, ацилакт, бифидумбактерин, колибактерин, бификол и др.)

d. Иммунные сывороточные препараты

• антитоксические сыворотки (противогангренозная поливалентная, противоботулинические A,B,E, противостолбнячная, противодифтерийная);

• антитоксические иммуноглобулины гомологические (противостолбнячный, противоботулинический);

• антимикробные иммуноглобулины:

- гомологические (нормальный, противостафилококковый, противогриппозный, против клещевого энцефалита);

- гетерологические (противолептоспирозный, противосибиреязвенный, против клещевого энцефалита, антирабический, противочумный);

• иммунная плазма (антистафилококковая, антипротейная, антисинегнойная).

e. Иммуномодуляторы (интерферон лейкоцитарный человеческий, интерфероны рекомбинантные (α, β, γ), Т-активин, циклоспорин и др.)

2. Диагностические препараты

• Диагностикумы (бактериальные, вирусные, эритроцитарные).

• Бактериофаги (стафилококковые типовые, брюшнотифозные типовые, холерные).

• Диагностические антительные препараты (диагностические иммунные сыворотки – агглютинирующие адсорбированные и неадсорбированные, преципитирующие, гемолитические; эритроцитарные антительные диагностикумы; моноклональные антитела; антитела, меченные флюорохромами, ферментами, изотопами; антиглобулиновые антитела).

• Комплемент.

• Аллергены (туберкулин, бруцеллин, тулярин, антраксин).

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Аллергология и иммунология: Национальное руководство: учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей / Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов, АСМОК; Главный редактор Р.М. Хаитов, Н.И. Ильина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 649с.Вакцинация взрослых с бронхолегочной патологией: Руководство для врачей. Под ред. Костинова М.П. М.: Арт студия «Созвездие», 2013.

2. Вакцинопрофилактика в аллергологии и иммунологии: Н.Ф. Снегова, Р.Я. Мешкова, М.П. Костинов, О.О. Магаршак – М.: Гэотар-Медиа, 2011.

3. Вакцины и вакцинопрофилактика: Нац. рук-во / Под р. Зверева В.В., Хаитова Р.М. – М.: Гэотар–Медиа, 2014. – 640 с.

4. Доказательная аллергология-иммунология / П.В. Колхир. – М.: Практическая медицина, 2010. – 527 с.

5. Земсков А.М. и др. Клиническая иммунология: Учебник / Караулов А.В. / Под ред. Земскова А.М. – М.: Гэотар-Медиа, 2005. – 320 с.

6. Иммуногены и вакцины нового поколения / Петров Р.В., Хаитов Р.М. – М.: Гэотар-Медиа, 2011.

7. Иммунология и аллергология (цветной атлас): учебное пособие для студентов медицинских ВУЗов / под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова, А.В. Караулова. – М.: Практическая медицина, 2006. – 288 с.

8. Иммунология: Практикум: Учеб. пособие / Под ред. Ковальчука Л.В., Игнатьевой Г.А., Ганковской Л.В. – М.: Гэотар–Медиа, 2015. – 176 с.

9. Иммунотерапия: Руководство / Под ред. Хаитова Р.М., Атауллаханова Р.И. – М.: Гэотар-Медиа, 2011. – 672 с.

10. Клиническая иммунология для врачей /Лесков В.П., Чередеев А.Н., Горлина Н.К. и др. – М.: Медицина, 2005. – 144 с.

11. Костинов М.П., Черданцев А.П., Шмитько А.Д., Праулова Д.А., Протасов А.Д., Дагиль Ю.А., Костинова Т.А., Ахматова Н.К., Хромова Е.А., Рыжов А.А., Благовидов Д.А., Полищук В.Б., Магаршак О.О., Коровкина Е.С. Иммуногенность иммуноадъювантной вакцины против гриппа у беременных. *Инфекция и иммунитет.* 2017; 7(2): 193-202. http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2017-2-193-202

12. Кулакова Н.А., Протасов А.Д., Жестков А.В., Костинова Т.А. Вакцинация против вирусных инфекций пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (Обзор литературы). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2012; 5 (66): 60-66.

13. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: в 2 т. Том 1.: учебник / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016.

14. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: в 2 т. Том 2.: учебник / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016.

15. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник / Под ред. Воробьева А.А. – М.: МИА, 2004. – 691 с.

16. Мейл Д. Иммунология / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д.Б. Рот, А. Ройтт / Пер. с англ. – М.: Логосфера, 2007. – 568 с.

17. Патент РФ на изобретение №2544168/17.01.2014. Бюл. №7. Протасов А.Д., Жестков А.В., Костинов М.П., Золотарев П.Н., Тезиков Ю.В. Способ формирования иммунологической памяти к антигенам *Streptococcus pneumoniae* у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких.

18. Протасов А.Д. Вакцинация против пневмококковой инфекции больных с хронической бронхолегочной патологией (обзор литературы). *Вестник современной клинической медицины.* 2013; 6(2): 60-65.

19. Протасов А.Д. Клинико-иммунологические аспекты вакцинопрофилактики бактериальных и вирусных

инфекций у больных хронической обструктивной болезнью легких (обзор литературы). *Аспирантский вестник Поволжья.* 2010; 3-4; 229- 235.

20. Протасов А.Д. Сравнительная оценка эффективности вакцинации против пневмококковой инфекции у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких при использовании 13-валентной конъюгированной и 23-валентной полисахаридной вакцин. *Российский Аллергологический Журнал.* 2014; 4: 12-17.

21. *Респираторная медицина: руководство в 3 томах.* Под ред. А.Г. Чучалина. 2-е изд., перераб. и доп. М.: «Литтера»; 2017.

22. Руководство по клинической иммунологии в респираторной медицине.Под ред. Костинова М.П., Чучалина А.Г. 1-е изд. М.: ООО «АТМО»; 2016.

23. Руководство по клинической иммунологии, аллергологии, иммуногенетике и иммунофармакологии (для врачей общ. клинич. практики): В 2-х т. / Михайленко А.А., Коненков В.И., Базанов Г.А. и др. / Под ред. Покровского В.И. – Тверь: Триада, 2005. – Т. 1 – 512 с.

24. Учайкин В.Ф., Шамшева О.В. Руководство по клинической вакцинологии: Руководство для врачей – М.: Гэотар-Медиа, 2006. – 592 с.

25. Хаитов Р.М. и др. Иммунология: Атлас – М.: Гэотар–Медиа, 2011. – 624 с.

26. Хаитов Р.М. Иммунология: Учебник – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Гэотар–Медиа, 2015. – 528 с.

27. Kostinov M.P., Cherdantsev A.P., Shmitko A.D., Akhmatova N.K., Kostinova A.M., Praulova D.A., Polyschuk V.B., Protasov A.D., Zhestkov A.V., Tezikov Yu.V. The Efficacy of Immunoadjuvant-Containing Influenza Vaccines in Pregnancy. In: Farhat Afrin, Hassan Hemeg and Hani Ozbak, eds. *Vaccines.* InTech; 2017: 67-93. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69271

28. Protasov A.D., Kostinov M.P., Zhestkov A.V., Shteiner

M.L., Kazharova S.V., Tezikov Yu.V, Lipatov I.S. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD): Clinical and Immunological Effects of Mono-Vaccination Against Influenza Using an Immunoadjuvant Vaccine of a New Class Versus Combined Administration S. Pneumoniae, H. Influenzae, and Influenza Vaccines. In: Baddour M.M., eds. *Steps Forwards in Diagnosing and Controlling Influenza.* InTech; 2016: 239-253. http://dx.doi.org/10.5772/64292

29. Protasov A.D., Zhestkov A.V., Tezikov Yu.V, Lipatov I.S., Kostinov M.P., Lavrent'eva N.E. Anogenital Warts: New Opportunities for Prevention and Treatment. In: Farhat Afrin, Hassan Hemeg and Hani Ozbak, eds. *Vaccines.* InTech; 2017: 55-66. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69263

Посвящается 100-летию Самарского государственного медицинского университета

Жестков А.В., Протасов А.Д., Козлова О.С., Танаева Н.И., Железнова Е.А., Никитина Т.Р., Решетникова В.П., Золотов М.О.

УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ. ОСНОВЫ ИММУНОДИАГНОСТИКИ И ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Учебное пособие

Подписано в печать
Бумага офсетная. Формат 60 x $84^{1}/_{16}$. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 8,95. Тираж 500 экз. Заказ

Издательство ООО «Офорт».
443011, г. Самара, ул. Потапова, 78В, оф. 102.
Тел.: 973-70-80, 973-70-55
e-mail: ofort-samara@mail.ru

Отпечатано в ООО "Издательско-полиграфический комплекс "Право"
г. Самара, ул. Санфировой, 95.
Тел. 373-65-03