

Постановка реакции агглютинации на стекле и в пробирках

Во всех иммунологических реакциях основным компонентом является антиген, который обладает двумя свойствами:

- 1) способностью вызывать иммунологический процесс в организме;
- 2) способностью соединяться с антителами в серологических реакциях.

Реакции взаимодействия антитела с антигеном называются серологическими (от лат. *serum* — сыворотка). Серологические реакции используют:

- 1) для обнаружения в сыворотке крови антител к тому или иному микробу с помощью известного специфического антигена;
- 2) для установления вида или типа выделенного микроба по его антигенной структуре с помощью диагностической сыворотки, содержащей известные специфические антитела.

Посуда и аппаратура для постановки серологических реакций

Посуда:

- 1) пробирки химические и центрифужные;
- 2) колбы Эрленмейера и плоскодонные;
- 3) пипетки пастеровские объемом 10 и 5 мл с делениями на 0,1 мл;
- 4) градуированные цилиндры.

Посуда должна быть чистой и сухой. Для ее обработки нельзя применять дезинфицирующие средства (карболовая кислота, хлорамин), кислоты и щелочи. Посуду кипятят в простой воде. Стерилизовать серологическую посуду не обязательно.

Аппаратура:

1. Штативы с гнездами.
2. Термостат и водяная баня с терморегуляторами.
3. Центрифуга на 2000—3000 об/мин.
4. Агглютиноскоп.

Реакция агглютинации (РА)

Агглютинацией называется обнаруживаемое невооруженным глазом склеивание и выпадение в осадок микробных тел при взаимодействии их со специфическими антителами.

РА получила большое распространение в микробиологической практике для диагноза:

- 1) брюшного тифа;
- 2) паратифов А и В (реакция Видаля);
- 3) сыпного тифа;
- 4) бруцеллеза (реакция Райта);
- 5) туляремия и др.

Постановка развернутой реакции агглютинации объемным способом Для постановки реакции требуется:

- 1) сыворотка крови, подлежащая исследованию, 0,1—0,2 мл;
- 2) физиологический раствор;
- 3) корпускулярный антиген: взвесь живой 20-часовой культуры микробов.

Используются культуры только в S-форме (гладкие, блестящие колонии с ровными краями).

Приготовление разведений сыворотки больного:

Из сыворотки готовят ряд последовательных разведений, от 1:50— 1:100 до 1:1600— 1:3200. В отдельной пробирке готовят первое разведение сыворотки 1:50 или 1:100. Для этого градуированной пипеткой набирают 0,1 мл сыворотки, другой пипеткой прибавляют к ней 4,9 мл (1:50) или 9,9 мл (1:100) физиологического раствора. Основной раствор сыворотки используется

для приготовления последовательных, двукратных разведений. По окончании разведений во все пробирки ряда (кроме контрольной) прибавляют по 2—3 капли антигена. Пробирки встряхивают и ставят на 2 часа в термостат при температуре 37 °С. Затем учитывают предварительный результат реакции. Окончательный результат реакции агглютинации регистрируют через 18—20 часов стояния пробирок при комнатной температуре.

Положительный результат реакции агглютинации характеризуется образованием на дне пробирки осадка с выраженным просветлением надосадочной жидкости.

Осадок на дне пробирки, образовавшийся в результате склеивания микробных тел, называется агглютинатом.

Для регистрации результатов реакции агглютинации пользуются четырехкрестовой системой обозначения: + + + н— полная агглютинация, при которой большой осадок на дне располагается кучкой или в форме открытого перевернутого зонтика. Надосадочная жидкость прозрачная; + + + — почти полная агглютинация, осадок такой же, надосадочная жидкость почти прозрачная; + + — слабая агглютинация, осадок едва заметен, жидкость непрозрачная; + — отмечаются следы агглютинации;

— отрицательная реакция, содержимое пробирки равномерно мутное.

Последнее разведение сыворотки, в котором наблюдается агглютинация, считают ее титром.

Постановка реакции агглютинации на стекле

Эта реакция считается ориентировочной. Ею часто пользуются для определения вида микроба.

1. На поверхность обезжиренного предметного стекла наносят с помощью пастеровской пипетки 2 капли агглютинирующей сыворотки.

2. В сыворотку вносят исследуемую бактериальную культуру, снятую с поверхности плотной питательной среды.

3. Внесенную культуру тщательно перемешивают. Реакция протекает при комнатной температуре. Результат учитывают с помощью лупы через 5—10 мин.

При положительной реакции в капле отмечается окучивание бактерий в виде зернышек или хлопьев.