Таблица. Иммунологическая диагностика вирусных болезней

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Наименование реакции | Аббревиатура | Достоинства | Недостатки | Компоненты | Учет реакции | Использование в вирусологии |
| Реакция иммунофлуоресценции | РИФ | Иммунофлуоресцентный метод является универсальным иммунохимическим методом, сочетающим в себе достаточно точный морфологический анализ со специфичностью и высокой разрешающей способностью иммунологических методов. Высокая чувствительность, простота техники постановки, требуется минимальное количество компонентов, в течении нескольких часов уже можно получить ответ. | К недостаткам данного вида диагностики можно отнести необходимую высокую квалификацию лабораторного работника, недостаточную точность диагностики, исследуемого материала должно быть достаточно много, заболевание должно находиться уже в активной фазе. | В качестве объекта исследования могут быть мазки - отпечатки, срезы органов и тканей, соскобы, гистологические срезы, препараты тканевых культур. | Результаты учитывают по интенсивности и специфичности свечения объекта в крестах, с учетом его локализации, по шкале флуоресценции: яркая сверкающая – «+++»; средняя – «++»; слабая – «+»; полное отсутствие – «-«. Признаком положительной РИФ является свечение, оцениваемое от «+++» до «++». | РИФ широко применяют в диагностике вирусных болезней животных. |
| Иммуноферментный анализ | ИФА | Иммуноферментный анализ крови имеет преимущества:  антитела связываются лишь с определёнными антигенами, и ни с какими другими веществами, что придает специфичность диагностики до 95-98%-в,  Точность метода,  Отличная чувствительность позволяет найти необходимое вещество, даже при низкой концентрация в материале,  Повтор анализа для определения эффективности лечения и стадий заболевания,  относительно низкая цена,  скорость получения ответов,  простота методов регистрации,  возможность автоматизации проведения анализа сводит к минимуму влияние человека, что снижает вероятность ошибки.  способ ранней диагностики болезней при выявлении иммуноглобулинов определенного класса,  широкая доступность метода в медицинских учреждениях и частных лабораториях. | Относительный недостаток ИФА заключается в том, что метод выявляет только иммунный ответ - антитела, но не находит самого возбудителя.  Иммуноферментный анализатор может выдать ложноотрицательные или ложноположительные ответы. | 1) исследуемый материал сыворотка или плазма крови;  2) антитела к НВз Ад, адсорбированные на поверхности лунки полистиролового микропланшета;  3) коньюгат — мышиные моноклониальные антитела к НВз Ад, меченые пероксидазой,  4) ортофенилендиамин (ОФД) -субстрат;  5) фосфатно-солевой буфер;  6) контрольные сыворотки:  — положительная (сыворотка с НВе Ад);  — отрицательная (сыворотка без НВз Ад). | Учет результатов проводят на ИФА-ридере | Выявление специфических антител с помощью специальных биохимических реакций |
| Реакция диффузной преципитации | РДП | Простота техники постановки; быстрота получения ответа; не требует стерильной работы, особой чистоты компонентов; возможность документирования результата путем фотографирования | Низкая чувствительность | В качестве объекта исследования используют: сыворотка крови положительная, сыворотка крови отрицательная, антиген положительный, антиген отрицательный | Учет результата проводят визуально по линии преципитации | Позволяет обнаружить и идентифицировать неизвестный выделенный вирус путем исследования его с различными заведомо известными сыворотками (антителами) |
| Реакция торможения гемагглюитинации | РТГА | Достоинствами РТГА являются: простота техники, быстрота, не требуется стерильной работы, специфичность, дешевизна. | Реакция возможна только с гемагглютинирующими вирусами. | Вакцинный штамм вируса ньюкаслской болезни в рабочем титре 4 ГАЕ; сыворотка крови кролика, иммунизированного вакцинными штаммом вируса ньюкаслской болезни; 1,0%-ная суспензия эритроцитов петуха. | Учет реакции проводят после оседания эритроцитов в контроле.  При правильном определении рабочей дозы в первой, второй лунках должна быть полная агглютинация («зонтик»), в третьей - частичная, в четвертой - отсутствие агглютинации («пуговка»). | РТГА позволяет решать следующие задачи: определять титр антител к гемагглютинирующему вирусу в сыворотке; идентифицировать неизвестный гемагглютинирующий вирус по известным сывороткам; установить степень антигенного родства двух вирусов. |
| Реакция нейтрализации | РН | Достоинства РН заключаются в ее универсальности и высокой специфичности | К недостаткам РН относятся высокая трудоемкость, необходимость строго соблюдать стерильность материалов, инструментов, высокая стоимость живых биологических систем и относительная длительность биологической пробы. | 1. Исследуемый вирус (при идентификации выделенною вируса) или исследуемая сыворотка (при серодиагностике инфекции). 2. Диагностическая (группе-, видо-, типоспецифическая) сыворотка (при идентификации вируса) или известный вирус — диагностикум (при серодиагностике). 3. Индикаторный объект: животные, куриные эмбрионы, культуры тканей или эритроциты. | Учёт реакции проводят путём сопоставления количества погибших опытных и контрольных биоматериалов от соответствующего разведения вируса | Особенно широкое применение они получили в вирусологической практике как для серологической диагностики вирусных заболеваний, так и для идентификации вирусов. |
| Полимеразная цепная реакция | ПЦР | Прямое определение наличия возбудителей;  Высокая специфичность;  Высокая чувствительность;  Универсальность процедуры выявления различных возбудителей;  Высокая скорость получения результата анализа;  Возможность диагностики не только острых, но и вялотекущих, скрытых инфекций. | Соблюдение строжайших правил оснащения лаборатории;  Возможность получения ложноположительного;  Контаминирование реакционной смеси;  Ложноотрицательные результаты;  Дороговизна | Taq-ДНК-полимераза; Дезоксирибонуклеотидтрифосфаты; буферный раствор; «прямой» и «обратный» праймеры, а также ДНК-матрица. | Учет результатов ПЦР-анализа проводится по наличию или отсутствию на электрофореграмме специфических полос амплифицированной ДНК.  Положительными считаются образцы, которые содержат специфическую светящуюся полосу, отрицательными – отсутствие полосы. | Широко применяется в науке, медицине и криминалистике |