

**ПРОТОКОЛ № 5**

**КОМПЛЕМЕНТ - СВЪРЗВАЩИ РЕАКЦИИ. РЕАКЦИЯ НА СВЪРЗВАНЕ НА  
КОМПЛЕМЕНТА / РСК /.**

**1. РСК – същност и особености :**

Тази реакция е въведена от БОРДЕ и ЖАНГУ през 1901 г.

**Принцип:** При въздействие на имунен серум със специфичен Ag, в присъствие на комплемент, се образува комплекс Ag-At, който адсорбира и свързва комплемента.

●**Комплемент:** Той включва протеини и гликопротеини с ензимен характер, взаимодействащи по между си.

!!!ВАЖНО Кръвният серум на човека нормално съдържа комплемент!

Комплементът е термолабилен и се инактивира при 56°C за 30 мин.

●**Ag**, които участват в тази реакция могат да са *клетки, бактерии или Er*.

- Съответстващите на тях **At** се означават като *цитолизини, бактериолизини или хемолизини*.

●**Комплемент-лизирация ефект** се демонстрира като *цитолиза, бактериолиза или хемолиза*.

●**Приложение на реакцията:** При диагностиката на Lues /сифилис, с причинител T.pallidum-трепонема палидум-бледата трепонема/ тя се нарича „РЕАКЦИЯ НА ВАСЕРМАН”, при диагностиката на коклюш /магарешка кашлица/, на микоплазмени инфекции, ехинококоза и почти всички вирусни инфекции.

**РСК** се използва в практиката в *два варианта:*

- Най-често за доказване на неизвестни Ag /бактерии, вируси, паразити/.

- По-рядко за доказване на неизвестни At в серума на болен, както и за определяне на техния титър /количеството на At/.

!!! ВАЖНО Когато реакцията се извършва *in vitro* тя е невидима с просто око! За да стане видима се въвежда една втора индикаторна, хемолитична система Ag-At /а именно - овнешки Er като Ag и хемолизини като At/.

**2. РСК – техника на реакцията:**

Реакцията се провежда в два етапа:

●I етап = смесват се серум от болен /в който се търсят определени At/, известен Ag /хомоложен на търсените At/ и комплемент.

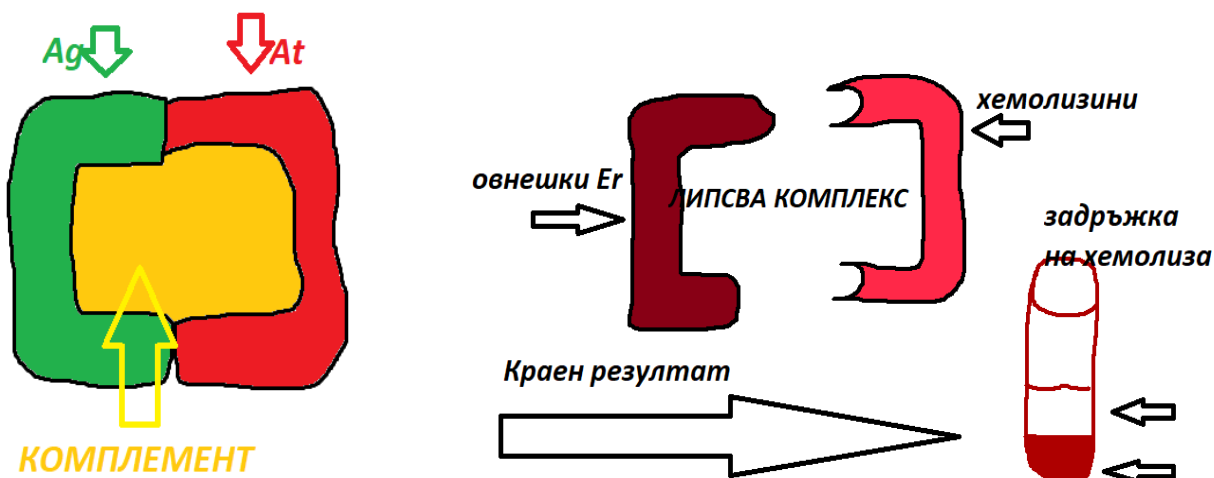
●II етап = Не може да се разбере дали протича реакция, затова се добавя втора хемолитична система Ag-At /за визуализиране на реакцията/.

*1-ви вариант:*

Ако в серума се съдържат търсените хомоложни At те ще се свържат с Ag, ще се образува комплекс Ag-At, който ще адсорбира комплемента.

С добавяне на втората система ще се извърши свързване на Eг-хемолизини, НО поради липса на комплемент няма да настъпи хемолиза, което е видимо с просто око.

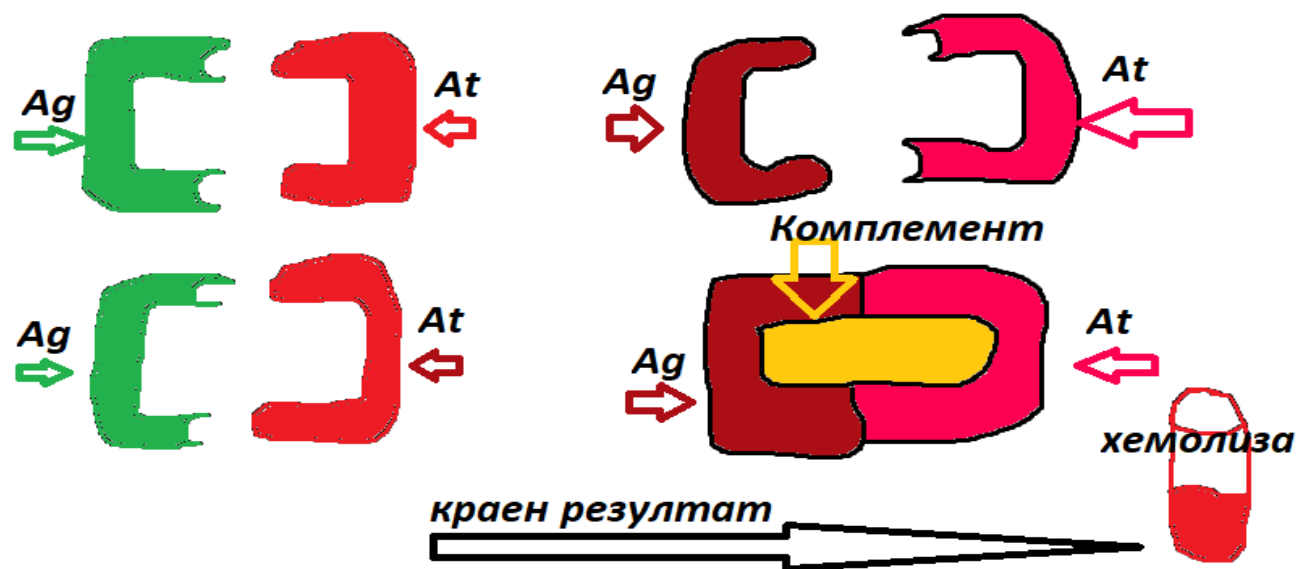
**ВАЖНО!!! В този случай се говори за задръжка на хемолизата и реакцията се отчита като /+!!!**



*2-ри вариант:*

Ако в серума на болния липсват хомоложни At, няма да се образува комплекс Ag-At и комплемента ще остане свободен. Щом е свободен ще може да се включи към комплекса Eг - хемолизини /на втората индикаторна система/, което ще доведе до хемолиза на Eг.

**ВАЖНО!!! В този случай се говори за наличие на хемолиза и реакцията се отчита като /-!!!**



**3.Техника на РСК тип Васерман (Wassermann)** – това е реакция, намираща приложение при диагностиката на сифилис.

За извършване на РСК са необходими:

а/ Серум от изследвания болен – обработва се 30 мин. на 56°С за инактивиране на собствения комплемент

б/ Антиген – използва се липоиден алкохолен екстракт от говежди сърца или причистена от тях фосфолипидна фракция /кардиолипиден Ag/. Този неспецифичен Ag е сходен с Ag на *T.pallidum*.

в/ Комплемент (пресен или лиофилизиран серум от морско свинче в разреждане 1:10).

г/ Суспензия от промити овнешки еритроцити /3%/. Целта е да се премахнат разрушените Ег и в реакцията да участват само целите.

д/ Хемолитичен серум срещу овнешки еритроцити /2-4ХЕ–хемолитични единици/. Това е заешки серум, съдържащ At срещу овнешки Ег.

е/ Физиологичен разтвор

Необходимо е всички ingredienti /съставки/ предварително да се титрират, тъй като те се използват в строго определени дози, обезпечаващи оптимални количествени съотношения.

Основният опит при РСК се провежда в два етапа. При първият етап се смесват изследвания серум, антигена и комплемента и се инкубират за 1 час при 37°С. През вторият етап се прибавя хемолитичната индикаторна система - овнешки еритроцити и хемолизини срещу тях, и се инкубира повторно 1 час на 37

°C. Поставят се контроли на серума и антигена, които се инкубират по същият начин.

Отчитането се извършва след повторното държане на 37°C. Когато между антителата в изследвания серум и антигена има хомоложност, се стига до образуване на специфичен комплекс антиген-антитяло, който адсорбира и изчерпва комплемента още при първият престой на 37°C. Поради това при добавяне на хемолитичната индикаторна система и повторното държане на 37°C не се стига до хемолиза. Резултатът се отчита като положителен.

Положителната реакция се проявява като задръжка на хемолизата на еритроцитите. Те се утаяват на дъното на епруветката, а надстоящата течност е безцветна.

Отрицателна реакция се проявява като наличие на пълна хемолиза. Течността е лаково червена.

### АЛГОРИТЪМ на Р С К

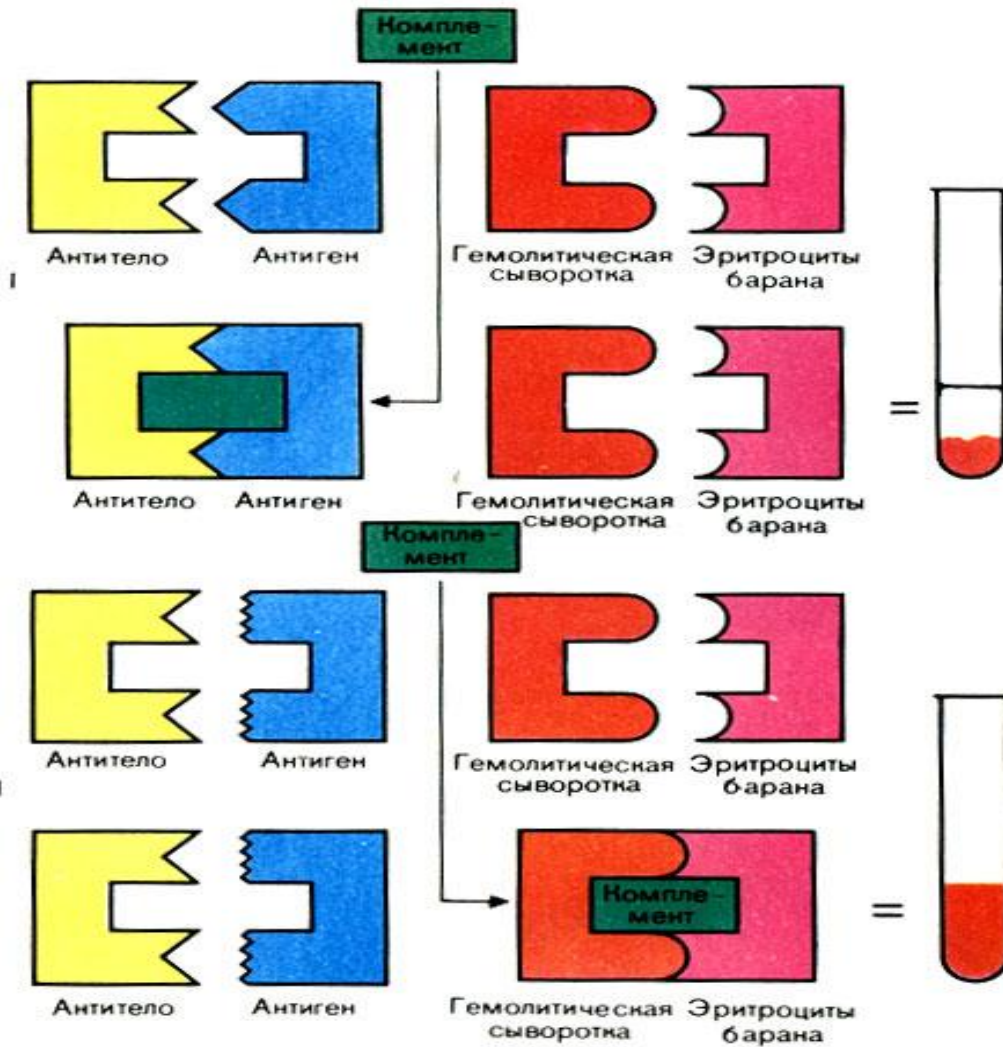
<i>Реактив</i>	<i>Проба</i>	<i>K<sub>At</sub></i>	<i>K<sub>Ag</sub></i>
<i>Серум /At/</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>	<i>-</i>
<i>Ag</i>	<i>0,5</i>	<i>-</i>	<i>0,5</i>
<i>Комплемент</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>Физ. р-р</i>	<i>-</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>

**1h на 37°C**

<i>Er</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>Хемолизин</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>

**1h на 37°C**

## СХЕМА НА РЕАКЦИЯ РСК



**4. Самостоятелна работа:** Напишете кратък реферат на тема – „Методи за диагностика на СИФИЛИС“. Използвайте учебници и ръководства по Микробиология и интернет медицински сайтове.