

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Лаповець Л. Є., Акімова В. М., Лебедь Г. Б.,
Мартьянова О. І., Половкович С. В.

ЛАБОРАТОРНА ІМУНОЛОГІЯ

Навчальний посібник

Львів
Видавець Марченко Т. В.
2024

УДК 612.017.1(075.8)
ЛП2

Відтворення цієї книги чи якоїсь її частини заборонено без письмової згоди видавництва. Будь-які спроби порушення авторських прав переслідуватимуться у судовому порядку.

Автори

ЛАПОВЕЦЬ Любов Євгенівна – завідувач кафедри клінічної лабораторної діагностики факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, академік АН ВО України, доктор медичних наук, професор;

АКІМОВА Віоріка Миколаївна – професор кафедри клінічної лабораторної діагностики факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, доктор біологічних наук, доцент;

ЛЕБЕДЬ Галина Богданівна – доцент кафедри клінічної лабораторної діагностики факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кандидат біологічних наук, доцент;

МАРТЬЯНОВА Ольга Ігорівна – доцент кафедри клінічної лабораторної діагностики факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кандидат медичних наук, доцент;

ПОЛОВКОВИЧ Святослав Володимирович – професор кафедри технології біологічно активних речовин, фармації та біотехнології, Національний університет «Львівська політехніка», доктор хімічних наук, доцент.

Рецензенти:

завідувач відділення гематології з лабораторною групою ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМНУ» д. мед. наук, ст. науковий співробітник **З. В. Масляк**;

професор кафедри функціональної і лабораторної діагностики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України д. мед. наук, професор **І. Я. Криницька**.

Лабораторна імунологія : навчальний посібник / Л. Є. Лаповець, В. М. Акімова, Г. Б. Лебедь та ін. – Львів : Видавець Марченко Т. В., 2024. – 318 с.
ISBN 978-617-7937-42-4

У навчальному посібнику описано сучасні методи імунодіагностики, які за двохетапним принципом аналізу імунного статусу, а також селективним використанням їхніх груп відповідно до клініки захворювання чи проявів патологічного процесу дозволяють не тільки охарактеризувати окремі ланки імунного «каскаду» в патології, а й оцінити стан системи імунного гомеостазу.

УДК 612.017.1(075.8)

Рекомендовано Вченою радою Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького як навчальний посібник для студентів медичних вузів, слухачів курсів факультетів післядипломної освіти, лікарів різних спеціальностей (протокол № 5 – ВР від 27 жовтня 2021 року)

© Лаповець Л. Є., Акімова В. М., Лебедь Г. Б.,
Мартьянова О. І., Половкович С. В., 2024
© Видавець Марченко Т. В., 2024

ISBN 978-617-7937-42-4

ПЕРЕДМОВА

Цей посібник має за мету допомогти студентам, слухачам і лікарям різних профілів зрозуміти можливості лабораторного імунологічного обстеження при багатьох хворобах. У ньому акцентовано увагу на різних ланках імунної системи (фактори природної резистентності, специфічні механізми захисту), схематично роз'яснено зв'язок між цими ланками.

Це четверте видання посібника українською мовою, доповнене й оновлене, охоплює широке коло питань, дозволяє зрозуміти масштабність застосування імунологічних методів обстеження. Різні гілки цих обстежень будуть розширюватись і вдосконалюватись.

Посібник виданий за власною ініціативою авторів, тому сподіваємося на зауваження й рекомендації, які з вдячністю приймемо.

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	3
1. ВИЗНАЧЕННЯ ІМУНОЛОГІЇ. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ	4
2. СТРУКТУРА Й ФУНКЦІЇ ІМУННОЇ СИСТЕМИ. ОРГАНИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ	7
2.1. ЦЕНТРАЛЬНІ ОРГАНИ ІМУНІТЕТУ	7
2.1.1. Тимус	7
2.1.2. Кістковий мозок	8
2.2. ПЕРИФЕРИЧНІ ОРГАНИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ	8
2.2.1. Селезінка	8
2.2.2. Лімфатичні вузли	11
2.2.3. Лімфоїдна тканина, асоційована зі слизовою оболонкою (MALT)	12
3. МЕХАНІЗМИ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ	12
3.1. КЛІТИННИЙ ВРОДЖЕНИЙ ІМУНІТЕТ	13
3.2. ГУМОРАЛЬНИЙ ВРОДЖЕНИЙ ІМУНІТЕТ	22
Патогенетична роль комплементу	25
3.3. ЛАБОРАТОРНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ КЛІТИННИХ І ГУМОРАЛЬНИХ ФАКТОРІВ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ	34
3.3.1. Оцінка фагоцитарної активності нейтрофілів /ФАН/	34
3.3.2. Оцінка фагоцитарної активності лейкоцитів периферичної крові людини з використанням мікроорганізмів, мічених флюорохромами	36
3.3.3. Визначення загальної окисно-відновної активності нейтрофілів у тесті відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) (метод Park B. H., Firkig S. M., Smitwick E. M., 1968) у модифікації (Бажора Ю. И., Тимошевский В. Н., Протченко П. З., Головченко А. Н., 1981)	40
3.3.4. Цитофлюориметрична оцінка продукування активних форм кисню фагоцитами периферичної крові	42
3.3.5. Виявлення катіонних лізосомальних білків (метод із бромфеноловим синім за М. Г. Шубічем)	45

3.3.6. Визначення активності мієлопероксидази	46
3.3.7. Визначення функціональної активності моноцитів	47
3.3.8. Визначення концентрації лізоциму (Пастер Е. У., Овод В. В., Позур В. К., Вихоть Н. Е., 1989)	48
3.3.8.1. Визначення кількості лізоциму в біологічних субстратах методом дифузії в агарі	48
3.3.8.2. Визначення кількості лізоциму в біологічних субстратах спектрофотометричним методом	49
3.3.9. Визначення загальної комплементарної активності сироватки крові.....	50
Стандартна шкала гемолізу	51
Шкала гемолізу	51
Коефіцієнт поправки за Мальтанером Ф.	53
3.3.10. Визначення різних компонентів комплементу	53
4. АНТИГЕНИ	53
5. АНТИТІЛА	56
5.1. ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ СИРОВАТКОВИХ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ ОСНОВНИХ КЛАСІВ МЕТОДОМ РАДІАЛЬНОЇ ІМУНОДИФУЗІЇ В ГЕЛІ ЗА МАНЧІНІ (1965).....	58
6. ЦИТОКІНОВА СІТКА	59
6.1. ІНТЕРЛЕЙКІНИ.....	65
6.1.1. Визначення людського інтерлейкіну -1 β (IL-1 β) у сироватці крові за допомогою набору реактивів «Cytelisa» (USA).....	77
6.2. ІНТЕРФЕРОНИ	80
6.3. ФАКТОРИ НЕКРОЗУ ПУХЛИН	82
6.4. РОСТОВІ ФАКТОРИ.....	83
6.5. ХЕМОКІНИ.....	84
7. МОЛЕКУЛИ АДГЕЗІЇ	84
8. ГОЛОВНИЙ КОМПЛЕКС ГІСТОСУМІСНОСТІ (ГКГС)	91
9. ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ОРГАНІВ	96
9.1. ІМУНОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ РЕЦИПІЄНТА ПІСЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ	100

9.2. ВИЯВЛЕННЯ НІА-ФЕНОТИПУ ДОНОРА Й РЕЦИПІЄНТА МЕТОДОМ ТИПУВАННЯ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ	101
9.2.1. Приготування суміші фікол-верографіну	101
9.2.2. Приготування маточного 5 % р-ну еозину	101
9.2.3. Приготування робочого розчину еозину	101
9.2.4. Виділення лімфоцитів	101
9.2.5. Постановка реакції типування лімфоцитів	102
9.3. ВИЯВЛЕННЯ ПОПЕРЕДНЬО ІСНУЮЧИХ АНТИТІЛ У ПЕРЕХРЕСНІЙ ПРОБІ (CROSS-MATCH)	103
9.4. МЕТОДИ ГЕНОТИПУВАННЯ НІА	103
9.4.1. Виділення ДНК	105
9.4.2. Вимірювання концентрації й чистоти ДНК	105
9.4.4. НІА- генотипування методом ПЛР-ССП (PCR-SSP) ..	106
9.4.5. НІА-генотипування методом ПЛР-ССОП	107
9.4.6. НІА-генотипування з використанням технології «Luminex»	109
9.4.7. НІА-генотипування з використанням секвенування ..	110
9.4.8. Контроль якості НІА-типування	112
10. ГРУПИ КРОВІ	116
Склад груп крові системи АВ0 (Гжегоцький М.Р., Заячківська О.С.)	117
10.1. ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ КРОВІ СИСТЕМИ АВ0 ЗА ДОПОМОГОЮ СТАНДАРТНИХ ЕРИТРОЦИТІВ	119
10.2. ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ КРОВІ СИСТЕМИ АВ0 ЗА ДОПОМОГОЮ СТАНДАРТНИХ СИРОВАТОК	120
10.3. ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ КРОВІ СИСТЕМИ АВ0 ЗА ДОПОМОГОЮ ЦОЛІКЛОНІВ АНТИ-А І АНТИ-В	122
10.4. ВИЗНАЧЕННЯ АГЛЮТИНІНІВ	123
10.5. ПРИЧИНИ ПОМИЛОК У ВИЗНАЧЕННІ ГРУП КРОВІ ЗА СИСТЕМОЮ АВ0 ТА ЇХ УНИКНЕННЯ (НОВАК В. Л. та ін., 1999)	124
10.5.1. Розбіжність результатів визначення груп крові системи АВ0 за антигенами еритроцитів і за ізоаглютинінами сироватки тестованої особи	124
10.5.2. Технічні помилки у визначенні груп крові	124
10.5.3. Помилки у визначенні груп крові, пов'язані з аномальними властивостями тестованих еритроцитів	125

10.5.4. Помилки, пов'язані з аномальними властивостями тестованої сироватки	126
11. СИСТЕМА КРОВІ РЕЗУС	127
11.1. ВИЗНАЧЕННЯ РЕЗУС-НАЛЕЖНОСТІ ЗА ДОПОМОГОЮ СТАНДАРТНИХ СИРОВАТОК	128
11.2. ВИЗНАЧЕННЯ АНТИГЕНІВ СИСТЕМИ РЕЗУС ЗА ДОПОМОГОЮ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ	129
11.2.1. Характеристика моноклональних тест-реагентів, призначених для виявлення антигенів системи резус у людей	129
11.2.2. Визначення D-антигену системи резус за допомогою тест-реагенту супер анти-D	130
11.2.3. Непрямий тест Кумбса для визначення D11 антигену.....	130
11.3. ДОСЛІДЖЕННЯ СИРОВАТКИ НА НАЯВНІСТЬ НЕПОВНИХ РЕЗУС-АНТИТІЛ МЕТОДОМ КОНГЛЮТИНАЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ЖЕЛАТИНУ	131
11.4. ВИЗНАЧЕННЯ ТИТРУ НЕПОВНИХ РЕЗУС-АНТИТІЛ МЕТОДОМ КОНГЛЮТИНАЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ЖЕЛАТИНУ	132
11.5. ПОМИЛКИ У ВИЗНАЧЕННІ Rh-ФАКТОРА	133
11.5.1. Помилки організаційно-технічного характеру	133
11.5.2. Помилки, пов'язані з використанням неякісних сироваток	133
11.5.3. Помилки, зумовлені біологічними особливостями дослідної крові	133
12. АДАПТИВНИЙ ІМУНІТЕТ	134
12.1. ДОЗРІВАННЯ Т- і В-ЛІМФОЦИТІВ	134
12.1.1. Субпопуляції Т-лімфоцитів	135
12.1.2. Походження й формування В-лімфоцитів	137
12.2. ІМУНОЛОГІЧНІ Й ЦИТОХІМІЧНІ МЕТОДИ ДЛЯ ТИПУВАННЯ ЛІМФОЇДНИХ І КРОВОТВОРНИХ КЛІТИН	138
12.2.1. Визначення популяцій і субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів	138
12.3. ОЦІНКА ПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ Т- і В-ЛІМФОЦИТІВ У РЕАКЦІЇ БЛАСТТРАНСФОРМАЦІЇ НА МІТОГЕНИ, АНТИГЕНИ, АЛОГЕННІ КЛІТИНИ.....	150

12.4. МЕТОД ОЦІНКИ ПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІМФОЦИТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ 5- і 6-КАРБОКСИФЛУОРЕСЦЕЇНДІАЦЕТАТ-СУКЦИНІЛМІДИЛ ЕФІРУ (ПИНЕГІН Б. В. и др., 2001)	153
12.5. ДОСЛІДЖЕННЯ В-ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ	154
13. СХЕМА ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ	155
13.1. ДИФЕРЕНЦІОВАННЯ Т-ЛІМФОЦИТІВ-ХЕЛПЕРІВ I і II ТИПІВ.....	156
13.2. Т-НЕЗАЛЕЖНЕ ПРОДУКУВАННЯ АНТИТІЛ	157
13.3. Т-ЗАЛЕЖНЕ ПРОДУКУВАННЯ АНТИТІЛ.....	157
14. ДИНАМІКА ГЕМО- ТА ІМУНОГРАМ ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ	158
14.1. ІМУННА ВІДПОВІДЬ ПРИ ВІРУСНИХ І БАКТЕРІЙНИХ ІНФЕКЦІЯХ	160
15. КЛАСИФІКАЦІЯ ГЕМОГРАМ ПРИ ЗАПАЛЬНОМУ ПРОЦЕСІ	162
16. ІМУНОПАТОЛОГІЧНІ СИНДРОМИ	163
17. ГІПЕРЧУТЛИВІСТЬ	164
17.1. ТИПИ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ (класифікація Джелла й Кумбса з доповненнями)	165
17.2. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКЦІЙ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ I ТИПУ	166
17.3. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКЦІЙ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ II ТИПУ	168
17.4. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКЦІЙ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ III ТИПУ	168
17.5. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКЦІЙ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ IV ТИПУ	172
17.6. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКЦІЙ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ V ТИПУ	173
КРІОПАТІЇ	174
17.7. КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА АЛЕРГІЧНИХ ХВОРОБ	181
17.7.1. Непряма дегрануляція базофілів (тест Шеллі).....	182

17.7.2. Реакція дегрануляції гладких клітин.....	182
17.7.3. Реакція гальмування міграції лейкоцитів (РГМЛ).....	183
17.7.4. Визначення концентрації сироваткового ІgЕ.....	183
17.7.5. Визначення рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦК) у сироватці крові.....	184
17.7.6. Показник ушкодження нейтрофілів (ПУН).....	185
17.7.7. Тест активації базофілів із використанням методу проточної цитометрії.....	186
17.7.8. Молекулярна діагностика алергії.....	188
18. ІМУНОДЕФІЦИТИ	189
18.1. ПЕРВИННІ ІМУНОДЕФІЦИТИ.....	190
18.2. ВТОРИННІ ІМУНОДЕФІЦИТИ.....	197
18.2.1. Класифікація вторинних імунодефіцитів (витяг із примірного положення про відділення клінічної імунології, імунотерапії, наказ МОЗ України від 19.11.02, № 422).....	199
18.2.2. Причини розвитку вторинних імунодефіцитів.....	201
18.2.2.1. Протокол для діагностики ВІД.....	202
18.2.2.2. Характеристика форм ВІД.....	202
18.2.2.3. Характеристика ступенів компенсації ВІД (за ступенем тяжкості).....	202
18.2.2.4. Характеристика клінічних синдромів ВІД.....	202
18.2.2.5. Характеристика видів дефектів у імунній системі.....	203
18.2.2.6. Характеристика варіантів перебігу ВІД.....	203
18.2.2.7. Характеристика ступенів імунної недостатності.....	204
18.2.2.8. Функціональна недостатність хворого.....	204
18.2.2.9. Протокол для діагностики ВІД.....	204
19. ІМУННА ТОЛЕРАНТНІСТЬ	207
19.1. МЕХАНІЗМИ ЗАХИСТУ ВІД АУТОРЕАКТИВНОСТІ.....	208
19.2. ІНДУКЦІЯ ТОЛЕРАНТНОСТІ.....	209
20. ІМУНОЛОГІЯ ВАГІТНОСТІ	212
20.1. ФАКТОРИ ІМУНОСУПРЕСІЇ ПРИ НОРМАЛЬНІЙ ВАГІТНОСТІ.....	214

21. ІМУНОАНДРОЛОГІЯ	215
21.1. МЕТОДИ ВИЯВЛЕННЯ АНТИСПЕРМАЛЬНИХ АНТИТІЛ.....	216
21.1.1. Тест аглютинації сперматозоїдів (Йегер Л.,1990)	216
21.1.2. Тест іммобілізації сперматозоїдів за Isojima і Lehmann (Йегер Л., 1990).....	217
21.1.3. Методи непрямой імуофлуоресценції за Coons і Kaplan (Йегер Л., 1990)	217
21.1.4. Якісні тести імунодіагностики безпліддя.....	218
21.1.5. Частота виявлення антиспермальних антитіл	218
21.1.6. Антиспермальні антитіла в жінок.....	219
22. ІМУНОДІАГНОСТИКА ПУХЛИН	219
22.1. ДІАГНОСТИКА ПУХЛИН КРОВОТВОРНОЇ Й ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИН	228
23. ОСНОВНІ ПРИНЦИПИ ОЦІНКИ ІМУНОГРАМИ	237
24. ОЦІНКА ІМУННОГО СТАТУСУ ЛЮДИНИ	240
25. СУЧАСНІ МЕТОДИ ІМУНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	242
25.1. ЗАСТОСУВАННЯ ПРОТОЧНОЇ ЦИТОМЕТРІЇ ДЛЯ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЛЮДИНИ	242
25.1.1. Кількісне визначення субпопуляцій лімфоцитів за допомогою проточної лазерної цитометрії з використанням моноклональних антитіл із подвійною міткою	244
25.2. МЕТОД ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ (ПЛР)	248
25.3. ІМУНОФЕРМЕНТНИЙ АНАЛІЗ.....	250
25.3.1. Зовнішній і внутрішній контроль якості в імуоферментному аналізі	255
25.4. ІМУНОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНИЙ АНАЛІЗ (ІХЛА)	271
Додаток 1	
Основні поняття про Міжнародну систему одиниць фізичних величин (СІ)	274

Додаток 2	
Внутрішньолабораторний контроль якості.....	275
Додаток 2а.....	276
Додаток 3	
Розчини й реактиви.....	277
Додаток 4	
Значення показників імунограми в практично здорових людей (17–35 років)	280
Додаток 5	
Перелік необхідного обладнання для імунологічних досліджень для діагностики неінфекційних хвороб і реакції неспецифічного імунітету	281
Додаток 6	
Нормативи витрати часу на імунологічні дослідження (витяг із примірного положення про імунологічну лабораторію, наказ МОЗ України № 422 від 19.11.2002 р.)	283
СХЕМИ	285
ЛІТЕРАТУРА	303

Навчальне видання

ЛАПОВЕЦЬ Любов Євгенівна
АКІМОВА Віоріка Миколаївна
ЛЕБЕДЬ Галина Богданівна
МАРТЬЯНОВА Ольга Ігорівна
ПОЛОВКОВИЧ Святослав Володимирович

Лабораторна імунологія

Навчальний посібник

Підписано до друку 27.10.2021 р.
Формат 60×84/16. Папір друк. № 2. Гарнітура Book Antiqua.
Умовн. друк. арк. 18,48.

Видавець Марченко Т. В.
м. Львів-53, 79053, Україна, тел. +38 (050) 370-19-57
e-mail: picha1938@ukr.net

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції: серія ДК № 2534 від 21.06.2006 року, видане Державним комітетом інформаційної політики, телебачення та радіомовлення України

Надруковано у друкарні видавця Марченко Т. В.