

Занятие 17

Иммунитет и его виды: врожденный (неспецифический) и приобретенный (специфический).

Неспецифические факторы защиты организма. Фагоцитоз. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов.

**Ст. препод. С. Мурадова
Проф. А. Гурбанов**

Обсуждаемые вопросы:

- 1. Понятие об иммунитете, виды и формы: неспецифический (врожденный) и специфический (приобретенный)
- 2. Факторы неспецифической резистентности организма:
 - неспециализированные факторы защиты (кожа и слизистые оболочки, нормальная микрофлора) .
 - клеточные факторы неспецифического иммунитета (фагоциты, дендритные клетки, эозинофилы, тучные клетки, эритроциты и тромбоциты).
 - гуморальные факторы неспецифического иммунитета (комплемент (активация системы комплемента), лизоцим, трансферрин, С-реактивный белок, кинины, цитокины, факторы некроза опухоли, интерферон).
- 3. Фагоцитоз и его стадии: заверченный и незавершенный фагоцитоз.
- 4. Феномен опсонизации.
- 5. Киллинг микроорганизмов при фагоцитозе: кислородзависимый и кислороднезависимый механизмы.
- 6. Процессинг и его механизм.
- 7. Определение фагоцитарной активности (фагоцитарный показатель, фагоцитарное число, опсоно-фагоцитарный показатель, опсонический индекс, киллинговая способность фагоцитов).

Цель занятия:

- дать студентам информацию об иммунитете, его видах и формах. Ознакомить их с неспецифической резистентностью организма, клеточными и гуморальными факторами неспецифической защиты. Объяснить фагоцитоз и его стадии, опсоно-фагоцитарный индекс, и его роль в диагностике.

Иммунитет

- От греч. «*immunitas*» - освобождение от чего-либо, неприкосновенность.
- *Иммунитет* –это способ защиты организма от генетически чужеродных веществ- антигенов экзогенного и эндогенного происхождения, направленный на поддержание и сохранение гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма.

Виды иммунитета

- **Врожденный или видовой иммунитет** – передающаяся по наследству невосприимчивость данного вида и его индивидов к какому-либо антигену.
- **Приобретенный иммунитет** – это невосприимчивость приобретаемая в процессе онтогенеза в результате естественной встречи с этим антигеном организма. От поколения к поколению не передается.

Приобретенный иммунитет

Приобретенный иммунитет делят на две группы активный и пассивный .

- Активный иммунитет
 - естественный
 - искусственный
- Пассивный иммунитет
 - естественный
 - искусственный

Формы проявления иммунитета

- антибактериальный
- противовирусный
- антитоксический
- антифунгальный
- антипаразитарный
- трансплацентарный
- противоопухолевый
- стерильный и нестерильный иммунитет

Неспецифический и специфический иммунитет

Стерильный и нестерильный иммунитет

- **Стерильный иммунитет** – обеспечивает полную элиминацию возбудителя из организма.
- **Нестерильный иммунитет** - не обеспечивает полное удаление возбудителя из организма, он сопровождается присутствием возбудителя, н-р при туберкулезе , сифилисе и др. болезнях. Его называют также **инфекционным иммунитетом**

Специфический иммунитет

- Выработка специфических факторов зависит от вида антигенов, попадающих в организм .
- Факторы защиты образованные против одного вида антигена , не защищают от других, точнее эти факторы обладают специфичностью.

Факторы неспецифического иммунитета

- Неспецифические факторы защиты можно подразделить на: гуморальные и клеточные , специализированные и неспециализированные.
- **Специализированные факторы защиты** первым делом выражают функцию защиты в то время как **неспециализированные факторы** или неспецифическая резистентность , выполняют другую функцию, при этом защитная функция играет второстепенную роль
- **Гуморальные факторы** – представлены растворимыми веществами.
- **Клеточные факторы** – представлены различными клетками.

Неспециализированные факторы защиты, или неспецифическая резистентность

- Кожа и слизистые оболочки –наружные защитные барьеры организма.
- Обязательным условием для выполнения защиты от поступающих снаружи антигенов является- целостность кожи и слизистых .
- При нарушении целостности кожи и слизистых облегчается проникновение микроорганизмов в организм.

Неспецифические гуморальные факторы защиты

- Неспецифические факторы защиты обнаруживаются во всех тканях организма и в крови в большом количестве.
- Обычно они обладают антимикробным действием , или же участвуют в активации других факторов иммунитета .
- К неспецифическим гуморальным факторам защиты относятся **секреторные иммуноглобулины, белки системы комплемента, лизоцим, С-реактивный белок, трансферрин, интерферон (ИФН) и др.**

Лизоцим

- Лизоцим – вещество с ферментативной активностью, имеет молекулярную массу около 14 кДа.
- Разрушает гликозидные связи между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозамином клеточной стенки бактерий.
- В результате нарушается синтез клеточной стенки бактерий, образуются сферопласты и протопласты.

Лизоцим

- Лизоцим вырабатывается в основном моноцитами, макрофагами, нейтрофилами.
- Относительно в больших концентрациях содержится в яичном белке, в слезной жидкости, в слюне, мокроте, в секрете слизистой носа, сыворотке крови.
- Высокие концентрации лизоцима обнаруживаются в тканях – хрящевой ткани, желудке, в меньшей концентрации- в кишечнике, почках, печени, миндалинах и мозге.
- Лизоцим не обнаруживается в спинно-мозговой жидкости, его содержание в слезе в 100-160 раз превышает содержание в сыворотке крови.

Комплемент

- Приблизительно 130 лет назад В. Исаев и Р. Пфейффер в свежей сыворотке крови животных обнаружили вещество обладающее бактериолитическим действием.
- В последствии этот сывороточный антимикробный фактор называли алексином или комплементом (от лат. *complementum* – пополнение) .
- По современным представлениям система комплемента представлена более чем 20 термолабильными и термостабильными компонентами (C1,C2,C3 и др.) и составляют до 10% глобулиновой фракции крови.

Комплемент

Активация комплемента происходит вследствие взаимных биологических превращений протеаз в определенной последовательности.

Система комплемента обладает достаточно широкой биологической активностью, но основная функция заключается в лизисе клеток.

Комплемент

- Систему комплемента можно представить в виде 3 групп белковых комплексов .
- Две из них обеспечивают разными путями активацию C3-компонента. Этот компонент обладает свойством опсонинов и участвует в фагоцитозе.
- Один из фрагментов C3-C3b активирует третий комплекс (C5-C9). Последний в свою очередь действуя на мембрану клетки-мишени вызывает ее осмотический лизис. Этот комплекс получил название мембраноатакующий комплекс.
- Одновременно фрагменты компонентов C3a и C5a участвуют в хемотаксисе
- C3a и C5a анафилотоксины, вызывают дегрануляцию тучных клеток и базофилов, а это в свою очередь вызывает аллергическую реакцию.

Активация системы комплемента

Известны три пути активации системы комплемента:

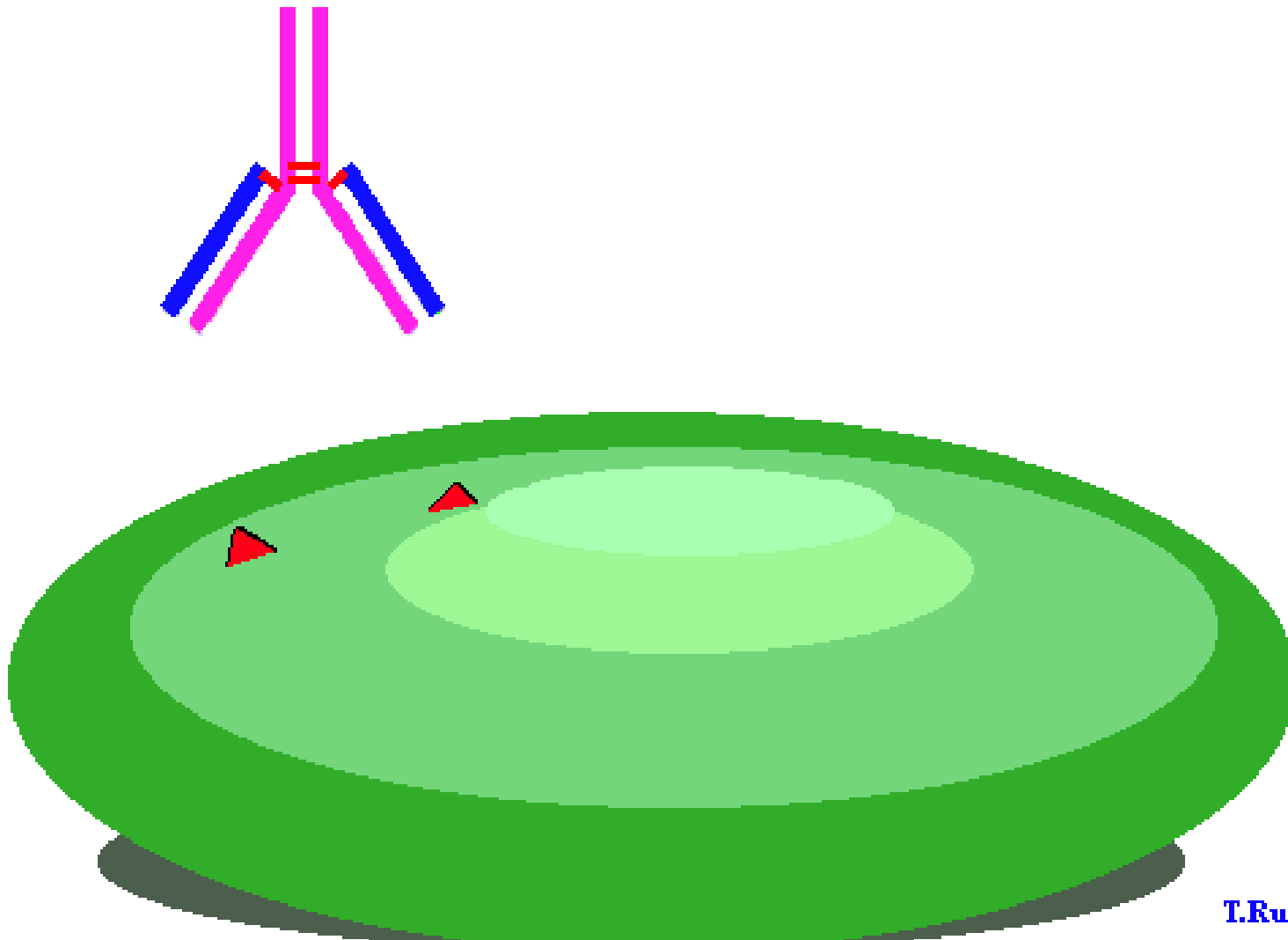
- **Классический путь**
- **Альтернативный путь**
- **Лектиновый путь**

Активация системы комплемента

- *По классическому пути* - первый компонент (C1) системы комплемента активируется комплексом антиген-антитело.
- В результате C1 компонент приобретает ферментативные свойства и расщепляет следующие компоненты системы C2 и C4 .
- Образованные из C2 и C4 субкомпоненты (C2a и C4b) формируют протеазный комплекс и расщепляют C3 компонент с образованием C3 конвертазы классического пути
- В результате образуется мембраноатакующий комплекс.

Активация системы комплемента

1



Активация системы комплемента

- **Альтернативный путь** активации комплемента проходит без участия антител. Этот путь характерен для защиты от грамотрицательных микробов.
- Каскадная реакция при альтернативном пути начинается с взаимодействия антигена (полисахарида) с протеинами В, D и пропердином Р с последующей активацией компонента С3. Далее реакция идет как при классическом пути – образуется мембраноатакующий комплекс.

Активация системы комплемента

- Лектиновый путь активации комплемента также происходит без участия антител.
- Он инициируется особым **маннозосвязывающим белком** сыворотки крови, который после взаимодействия с остатками маннозы на поверхности микробных клеток катализирует C4. Дальнейший каскад реакций сходен с классическим.
 - **маннозосвязывающий белок**- нормальный протеин сыворотки крови. Прочно связываясь с маннозой на поверхности микробной клетки, способна опсонизировать их.

С - реактивный белок

- Во время острого воспалительного процесса в сыворотке крови наблюдается резкое возрастание количества белков острой фазы, н-р, С-реактивного белка
- С-реактивный белок получил название из-за способности взаимодействовать с полисахаридом С клеточной стенки пневмококков .
- Вместе с пропердином С-реактивный белок является инициатором активации комплемента по альтернативному пути.
- Количество С-реактивного белка в крови увеличивается при различных инфекционных заболеваниях.

Простагландины

- Простагландины синтезируются в процессе фагоцитоза, под действием гормонов тимуса, компонентов комплемента (C3b), антител и др.
- Способствуют миграции нейтрофилов в очаг воспаления и их дегрануляции, обладают пирогенной активностью.

Кинины

- Кинины — это щелочные протеины. Образуются в плазме или тканях из высокомолекулярных белков (кининогенов) под действием специальных ферментов — калликреинов при активации процессов свертывания крови и протеолизе
- Они меняют тонус сосудов, снижают артериальное давление, способствуют выработке лейкоцитами растворимых факторов.

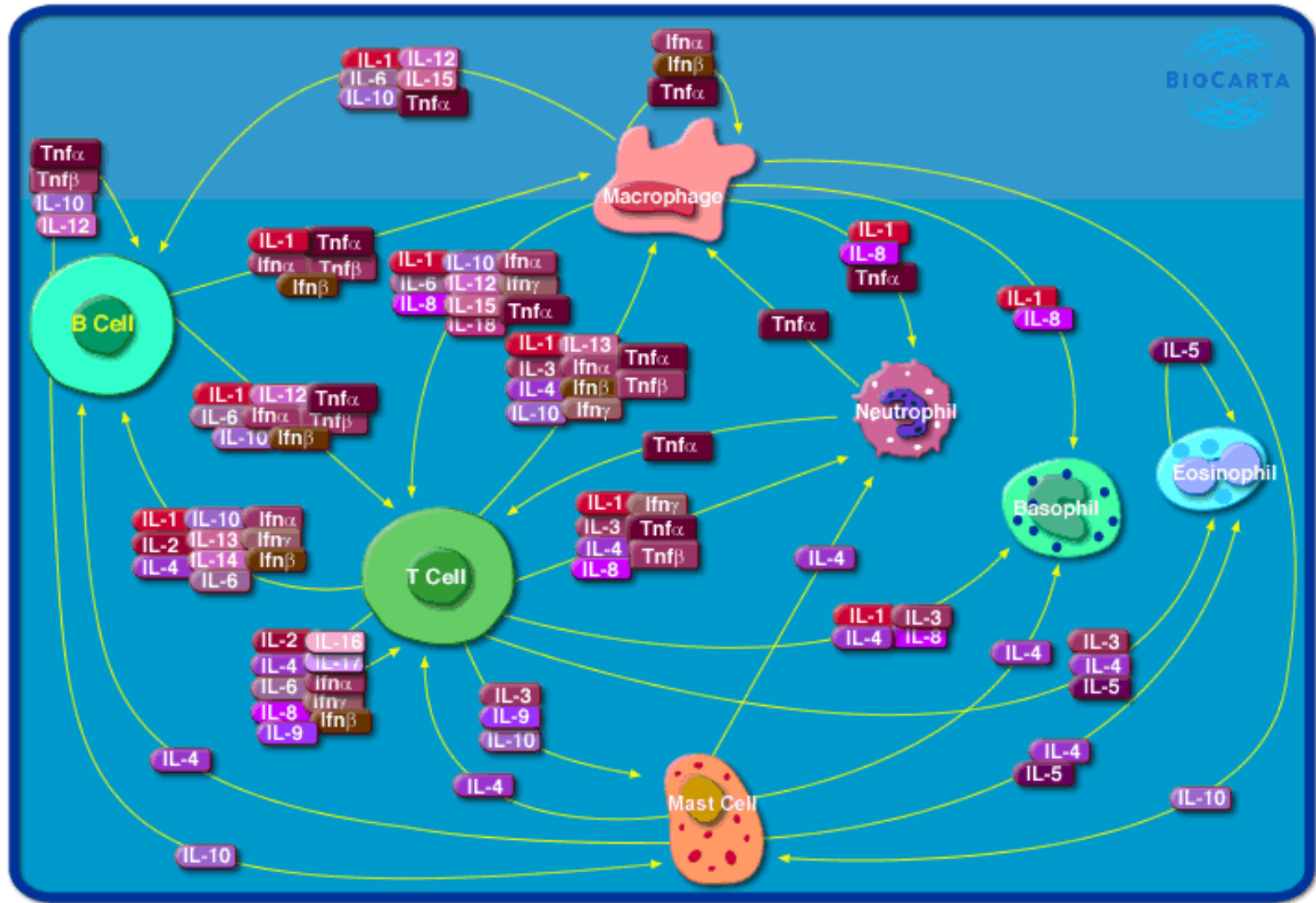
Цитокины

- Цитокины - это низкомолекулярные иммуномедиаторы белковой природы, синтезируемые клетками иммунной системы и *обеспечивающие межклеточную кооперацию.*
- При отсутствии антигенной стимуляции цитокины не синтезируются.
- В результате антигенной стимуляции соответствующих клеток, в них происходит индукция генов, запускающих синтез цитокинов .

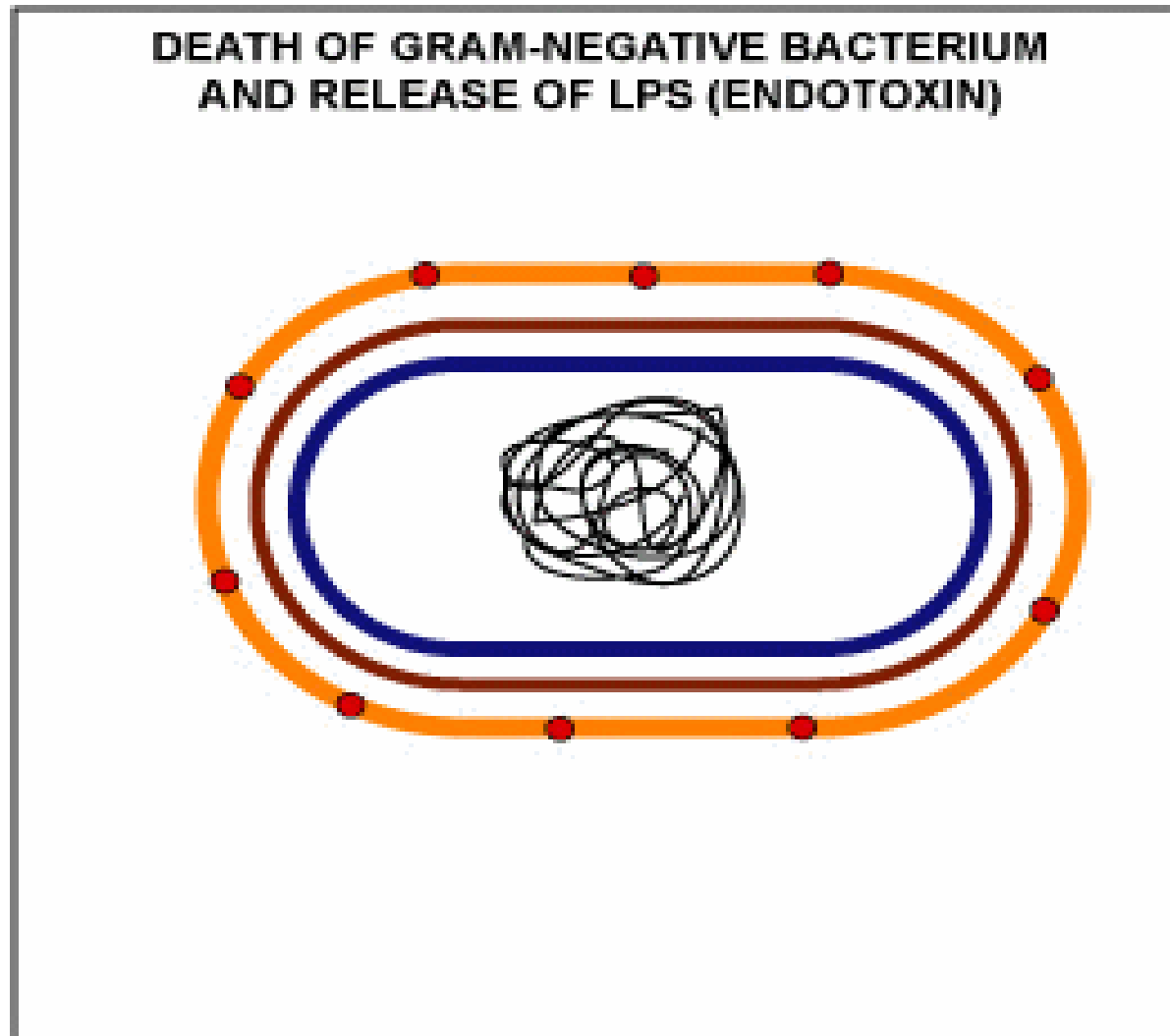
Цитокины

- Для восприятия цитокинового сигнала клетка экспрессирует соответствующие рецепторы, которые могут взаимодействовать с несколькими различными цитокинами;
- Цитокины не депонируются в клетке, а синтезируются после соответствующего стимула;
- Цитокины могут воздействовать как на рядом расположенную клетку, так и на клетку-продуцент;
- Цитокиновая регуляция носит каскадный характер: активация клетки одним цитокином вызывает синтез другого;
- В отличие от гормонов внутренней секреции, в подавляющем большинстве это короткодистантные медиаторы- их эффекты проявляются на месте выработки. Вместе с тем ряд провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, -6, α -ФНО и др.) могут оказывать действие системного характера.

Цитокины



Индукция синтеза цитокинов



Классификация цитокинов

По биологическому действию и структуре различают:

- интерлейкины (ИЛ),
- интерфероны (ИФН),
- фактор некроза опухоли (ТНФ),
- колониестимулирующий фактор,
- хемокины и др. цитокины.

Классификация цитокинов

В зависимости от клетки-продуцента различают:

- синтезируемые моноцитами и макрофагами- **монокины** ,
- синтезируемые лимфоцитами- **лимфокины** и т.д.

Лимфокины

- Основной продуцент лимфокинов Т-хелперы.
- Стимуляция Т-хелпера (Th) антигеном приводит к активации и синтезу ИЛ-2, дифференциации на Th1 и Th2 лимфоциты.
- Th1 лимфоциты синтезируют интерферон, ИЛ-2, TNF.
- Th2 лимфоциты синтезируют ИЛ-4,5,6,9,10,13.

Цитокины классифицируются в зависимости от выполняемой функции

- Провоспалительные иммунные медиаторы (ИЛ-1, -6, -12, TNF- α и др.);
- Воспалительные иммунные медиаторы (ИЛ-5, -9, -10, γ -ИФН и др.);
- Регуляторы пролиферации и дифференциации лимфоцитов (ИЛ-2, -4, -13 и др.);
- Факторы развития клеток и колониестимулирующие факторы (ИЛ-3, -7, ГМ-КСФ и др.);
- Хемокины , или клеточные хемоаттрактанты (ИЛ-8 и др.);

Интерлейкины (ИЛ-1)

К настоящему времени известно более 20 видов. Их обозначают арабскими цифрами.

- Одним из первых был открыт ИЛ-1, главными продуцентами которого являются моноциты и макрофаги.
- На первых этапах реакций иммунного ответа – играют роль неспецифических переносчиков информации об антигенной стимуляции от макрофагов Т-хелперам.

Интерлейкины (ИЛ-2)

- ИЛ-2 изучен также одним из первых. Основные продуценты Т-хелперы, основными объектами действия являются активированные Т- и В-лимфоциты и естественные киллеры.
- Способствует пролиферации Т-лимфоцитов, стимулируют дифференциацию Т-киллеров, усиливают цитотоксическую активность естественных киллеров.
- ИЛ-2 считается одним из факторов роста активированных В-лимфоцитов. Под его действием усиливается синтез иммуноглобулинов.

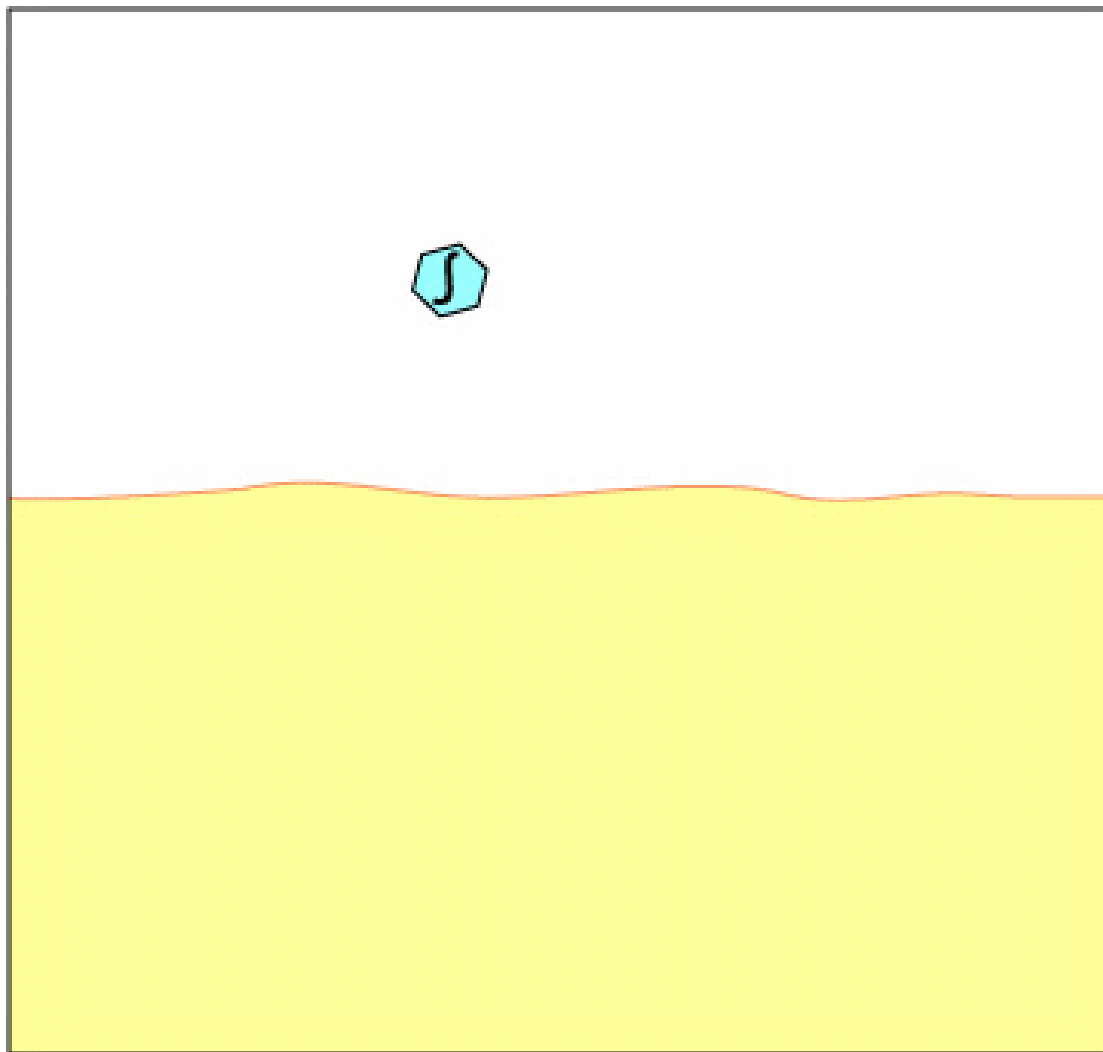
Факторы некроза опухоли

- *Факторы некроза опухоли (ФНО)* получили название из-за способности индуцировать лизис опухолевых клеток .
- α -ФНО и β -ФНО, β -лимфотоксины – гликопротеины этой группы.
- β -ФНО также называется α -лимфотоксином. Главными продуцентами α - и β -лимфотоксинов являются Т-киллеры.
- Эти цитокины имеют соответствующие рецепторы на клетках-мишенях. Через рецепторы они передают сигнал во внутрь клеток, в результате происходит апоптоз клетки-мишени.

Интерферон

- *Интерферон (ИФН)* – синтезируется не только в иммунокомпетентных клетках, но и в соматических клетках.
- Обладает видовой специфичностью- интерферон, образованный клетками человека, функционально активен только в организме человека
- Индуктором синтеза ИФН в первую очередь являются вирусы. Бактерии, грибы, микоплазмы и другие микроорганизмы , их антигены и неспецифические стимуляторы типа фитогемагглютенина также могут быть его индукторами.
- Интерферон замедляет репликацию вирусов внутри клетки-хозяина воздействуя на тРНК и синтез белков.

Синтез интерферона



Виды интерферонов

- В зависимости от того, какими клетками синтезируется интерферон, различают:
- Лейкоцитарный (альфа),
- Фибробластный (бета),
- Иммунный (гамма) .

Альфа-ИФН (α -ИФН)

- α -ИФН вырабатывается лейкоцитами.
- α -ИФН влияя на функциональную активность иммунокомпетентных клеток играет роль медиатора иммунной системы.
- Под его действием активируются макрофаги, лимфоциты, натуральные киллеры.

Бета-ИФН (β -ИФН)

Вырабатывается соматическими клетками (фибробластами) организма в ответ на вирусную инфекцию.

Гамма-ИФН (γ -ИФН)

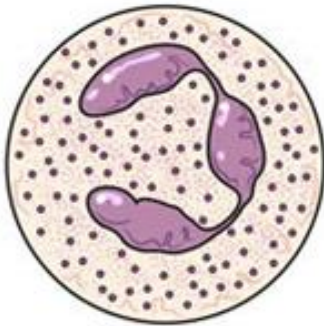
- Синтезируется в результате активации митогенами или же рестимуляцией антигенами Т- и В-лимфоцитов.
- γ -ИФН ослабляет пролиферацию лейкоцитов и других клеток, снижает биосинтез антител *in vitro*.

Клеточные факторы неспецифической защиты.

- В первую очередь неспецифическая клеточная защита осуществляется фагоцитами. Фагоциты разделяют на микро- и макрофаги.
- К микрофагам в первую очередь относятся нейтрофильные гранулоциты, а к макрофагам относятся моноциты и тканевые макрофаги.
- Все эти клетки относятся к моноцитарно-фагоцитарной системе.

Фагоциты

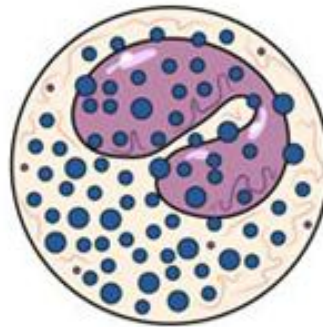
Neutrophil



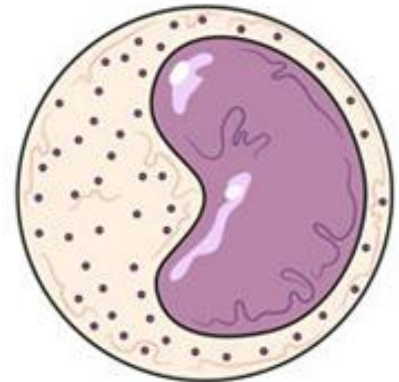
Eosinophil



Basophil



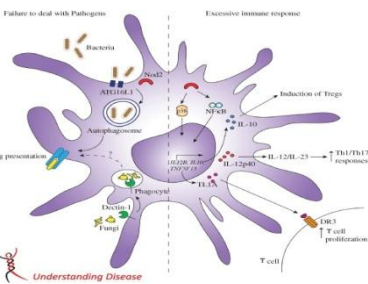
Monocyte



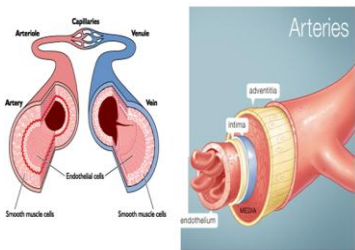
Другие клетки, обладающие фагоцитарной активностью.

- эндотелиальные клетки крови и лимфатических сосудов,
- клетки плевральной и перитонеальной оболочек,
- звездчатые ретикулоэндотелиоциты печени (Купферовские клетки),
- дендритные клетки лимфатических узлов (клетки Лангерганса),
- гистиоциты,
- фибробласты и др.

Другие клетки обладающие фагоцитарной активностью



**Купферовские
клетки**



**Эндотелиальные
клетки**

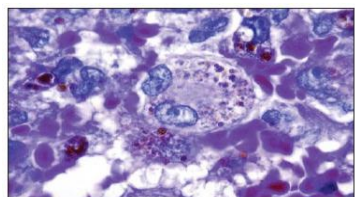
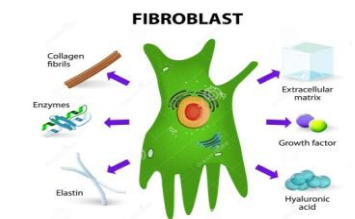
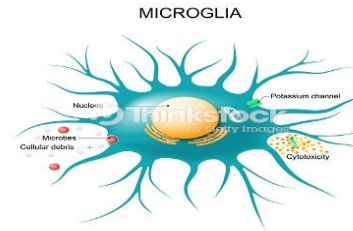


Figure 2. Hematoxylin eosin staining demonstrates phagocytosis of hematoxylin by Langerhans cells recognizable by their irregular nuclei with a round or elongated contour, frequently with cleavage and indentation, loose and well-distributed chromatin.

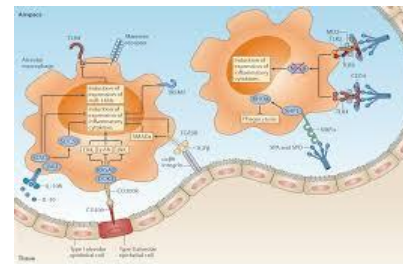
**Клетки
Лангерганса
(кожа)**



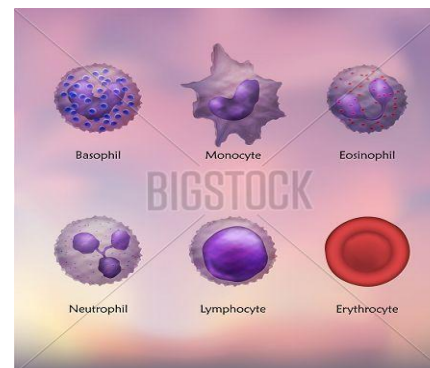
Фибробласты



**Клетки
микроглии**



**Альвеолярные
макрофаги**



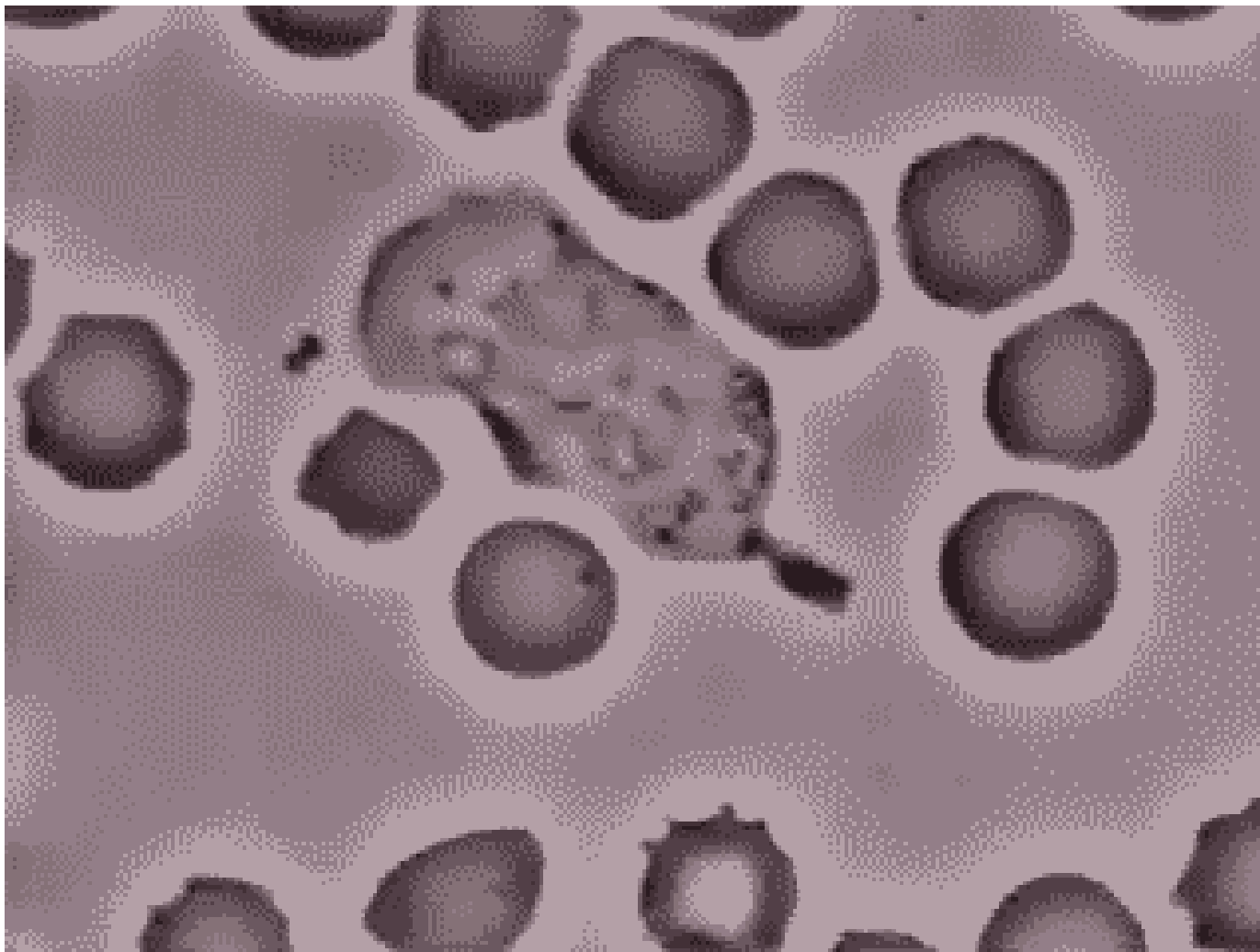
www.bigstock.com · 204898522

**Мезенхиальные
клетки
Остеокласты
(кости)
Дендритные
клетки**

Фагоцитоз

- (от греч. *phagos*- пожираю, *cytos*-клетка) процесс поглощения и обезвреживания, в основном нейтрофильными гранулоцитами и макрофагами, попавших в организм микроорганизмов, чужеродных частиц, измененных по антигенным свойствам клеток организма.

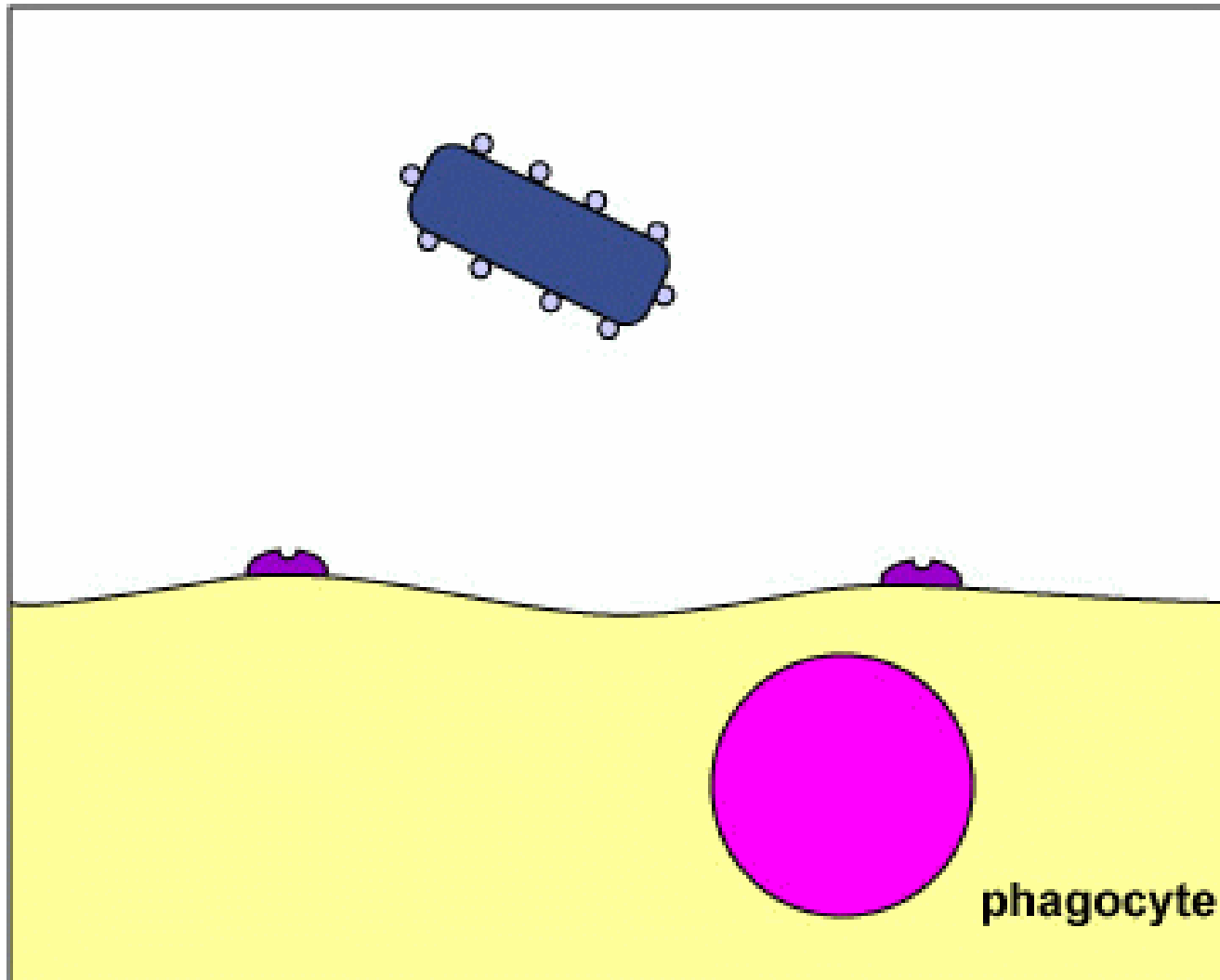
Фагоцитоз



Этапы фагоцитоза

- Процесс фагоцитоза состоит из трех этапов- миграция, поглощение, гибель (киллинг) .
- Процесс начинается с приближения- миграции фагоцита к объекту поглощения.
- Хемоаттрактанты – продукты деятельности микроорганизмов , вещества образующиеся в результате повреждения тканей и разрушения клеток. Под их воздействием происходит хемотаксис (от греч. *chymēia*- искусство сплавливания металлов, *taxis*-расположение, построение).

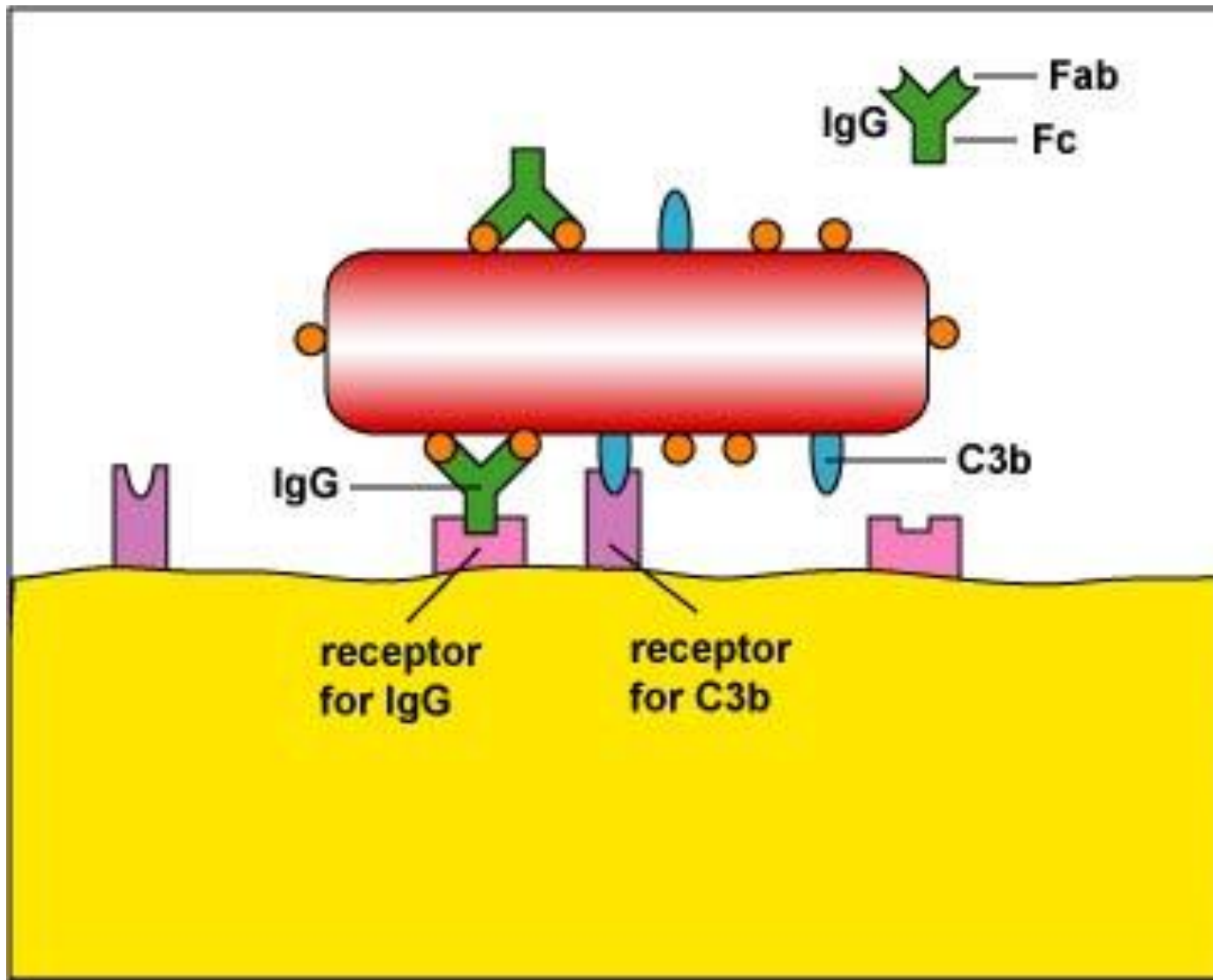
Процесс фагоцитоза



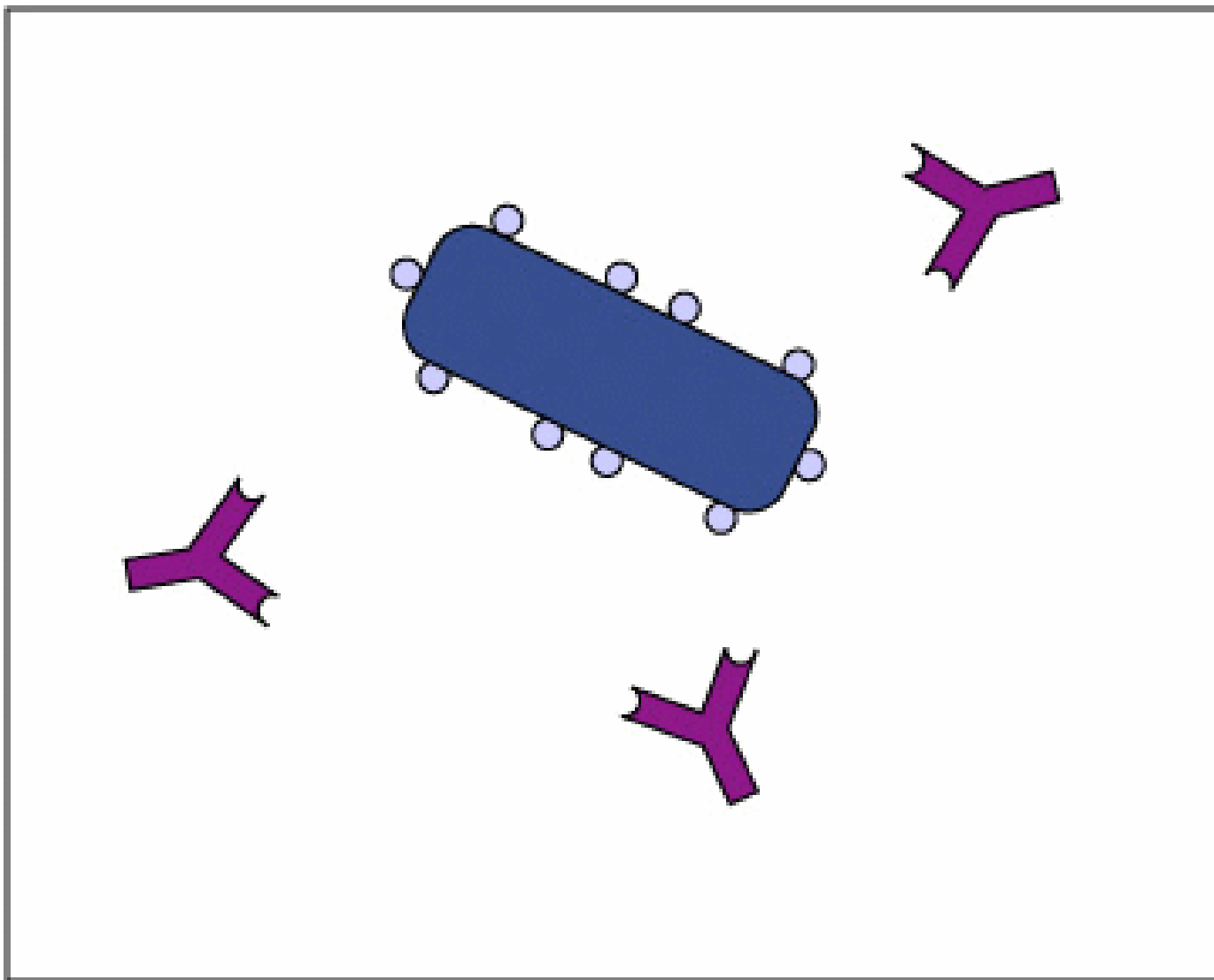
Опсонизация

- Опсонизация объекта подвергнутого фагоцитозу, т.е. соединение его с иммуноглобулинами и комплементом имеет большое значение в процессе фагоцитоза.
- Объект подвергающийся опсонизации с легкостью адгезируется либо адсорбируется на поверхности фагоцита, так как на мембранах фагоцитов имеются рецепторы для опсонинов.
- Процесс фагоцитоза может протекать и без опсонизации объекта, в этом случае эффективность его низкая.

Опсонизация



Опсонизация



Механизм фагоцитоза

- Объекты адгезированные на мембране фагоцита окружаются псевдоподиями, заглатываются. И в результате в их протоплазме фагоцита образуются **фагосомы** (вакуоли).
- В следующей стадии внутри фагоцита происходит слияние фагосомы с лизосомами – образуется **фаголизосома**, в которой происходит обработка объекта ферментами, дезинтеграция и переваривание.
- Полное переваривание поглощенных фагоцитами микроорганизмов носит название **завершенного фагоцитоза**.

Механизм фагоцитоза

- Обработка , **процессинг** , некоторых микроорганизмов внутри фагоцита может происходить и без процесса опсонизации.
- В некоторых случаях в активированных фагоцитах объекты не подвергаются процессингу . Это явление наблюдается при гранулематозных инфекциях (н-р, туберкулезе, бруцеллезе) и носит название **незавершенного фагоцитоза**.

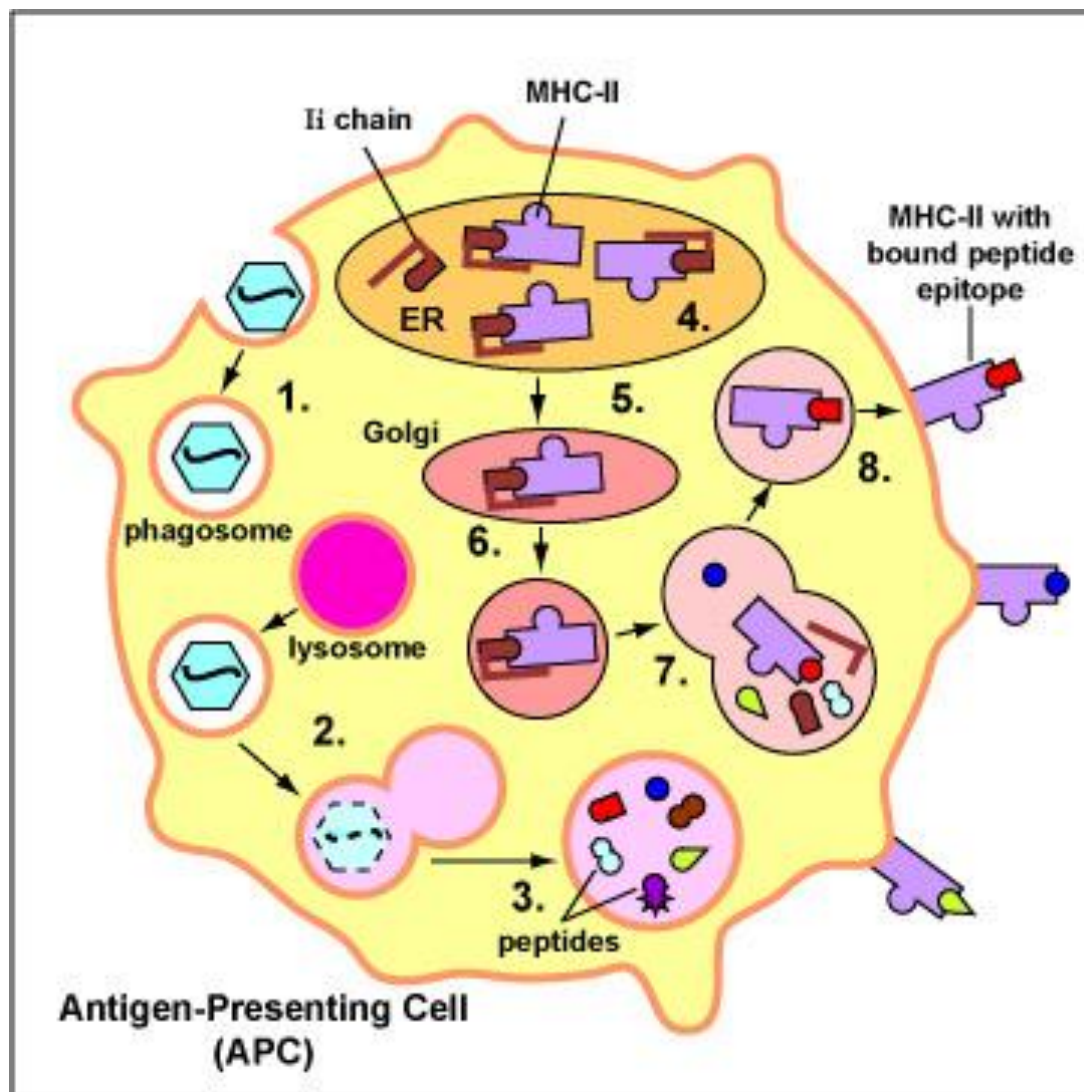
Киллинг микроорганизмов в фагоцитах

- Киллинг микроорганизмов в фагоцитах протекает по нескольким механизмам. Их можно подразделить на два вида - кислородзависимый и кислороднезависимый.
- Кислородзависимый механизм начинается сразу после формирования фагосомы, гибель микробов происходит за счет кислородных радикалов.
- Поглощение объектов фагоцитами сопровождается «респираторным взрывом»- выработкой свободных кислородных радикалов (супероксидного радикала и пероксида водорода).

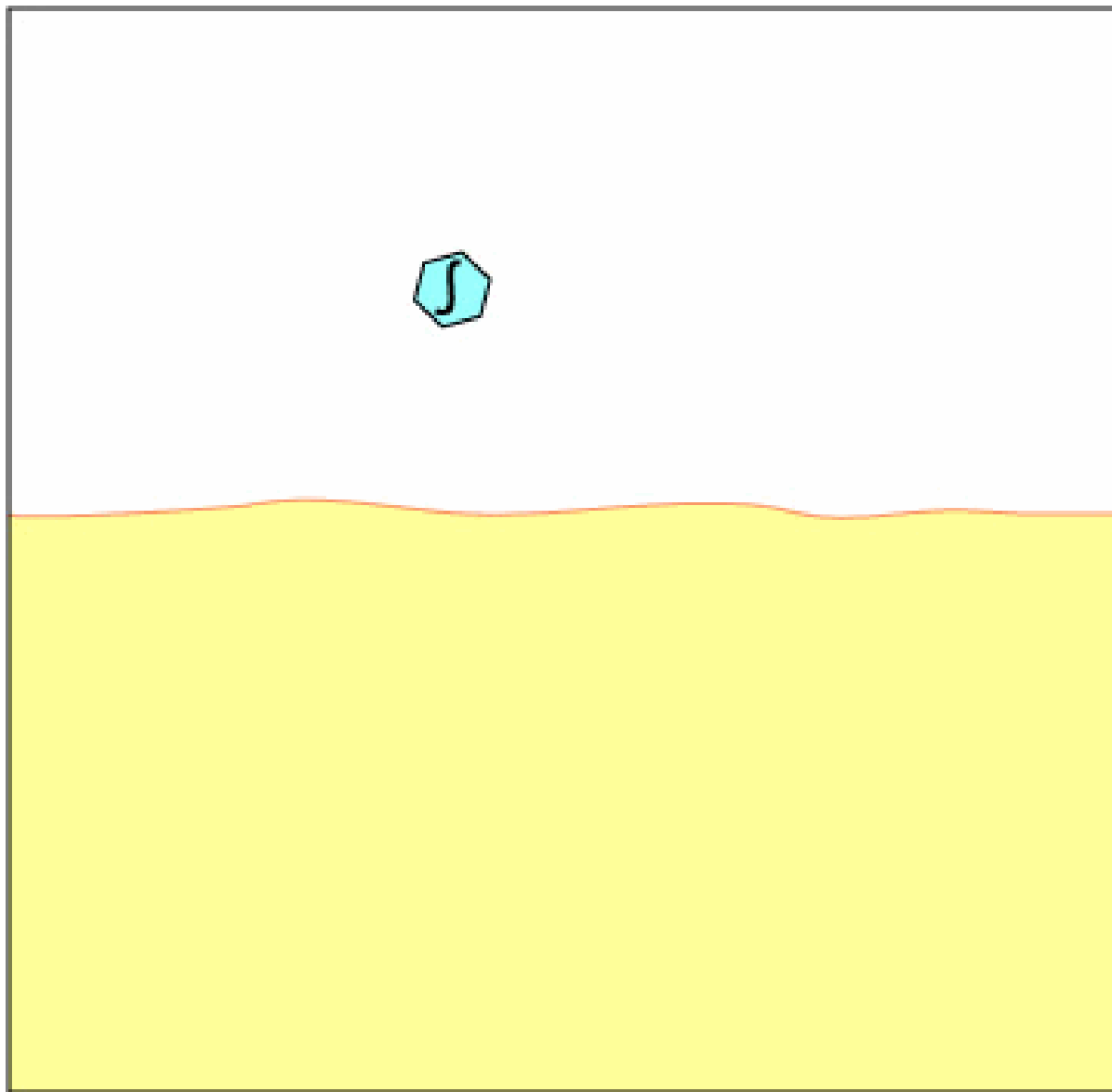
Киллинг микроорганизмов в фагоцитах

- *Кислородзависимый механизм (свободные кислородные радикалы- O_2^- , $1O_2$, OH^- , OCl^- , HO^- и др., также H_2O_2)*
- *Кислороднезависимый механизм - ферменты лизосом фагоцитов после формирования фаголизосом оказывают литическое действие (лактоферрин, лизоцим, дефенсины, катионные белки, эластаза, коллагеназа и др.).*

«переваривание» - процессинг микроорганизмов внутри фагоцитов



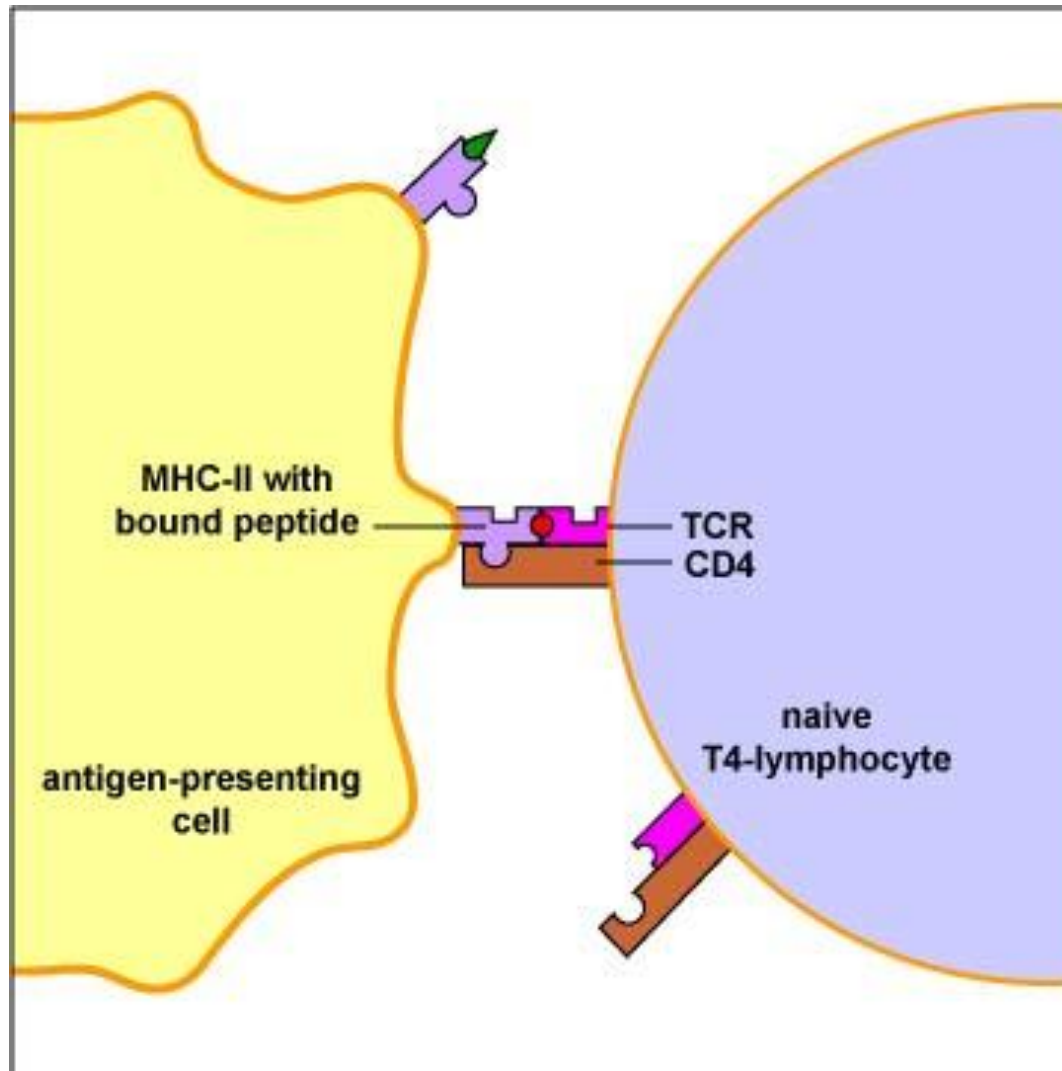
Процессинг



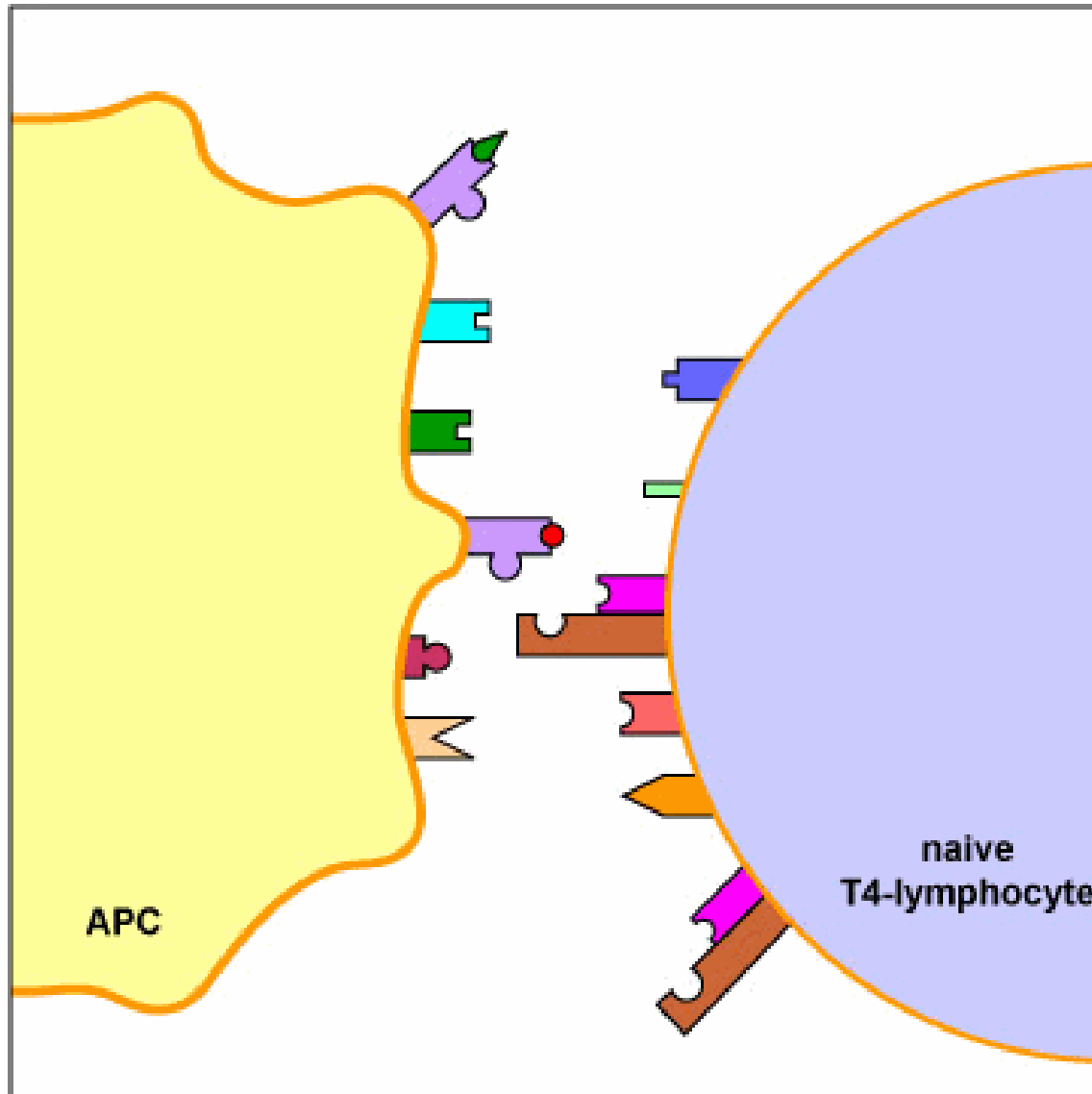
Антигенпрезентирующие клетки (АПК)

- Макрофаги и моноциты выполняют не только фагоцитарную функцию. По функциональной активности их делят на 2 большие субпопуляции:
- Первые участвуют только в процессе фагоцитоза, вторые участвуют в фагоцитозе и презентации антигена лимфоидным клеткам.
- Эти клетки получили название антигенпрезентирующих. Они обрабатывают антиген, подвергают процессингу и презентуют клеткам иммунного ответа - Т- и В-лимфоцитам, таким образом участвуют в формировании специфического иммунитета.

Презентация



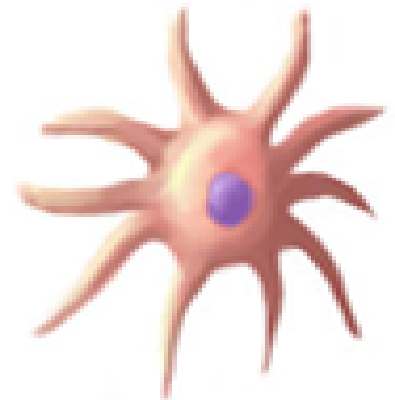
Презентация



Дендритные клетки

- Дендритные клетки – отростчатые клетки (отсюда и название), локализуются в лимфоидных органах и барьерных тканях -в основном в эпидермисе кожи (клетки Лангерганса), в лимфатических узлах (интердигитальные клетки) и дендритные клетки тимуса.
- На поверхности этих клеток экспрессируется МНС II класса. Являются наиболее активными антигенпрезентирующими клетками. Способны поглощать путем эндоцитоза, перерабатывать (процессировать) и представлять (презентировать) антиген Т-хелперам в комплексе с МНС II класса .

Dendritic Cell



Эозинофилы

- Эозинофилы – гранулярные лейкоциты крови, содержатся в соединительной ткани. Относятся к эффекторным клеткам-участникам иммунного ответа.
- В большом количестве накапливаются в очагах местных воспалений, вызванных гельминтами и выполняют функцию киллеров (антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность).
- На мембранах эозинофилы несут рецепторы к IgA и IgE, «распознающие» паразитов, отмеченные такими антителами.
- Активированная клетка выделяет ряд токсических субстанций, губительно действующих на гельминты.



Базофилы

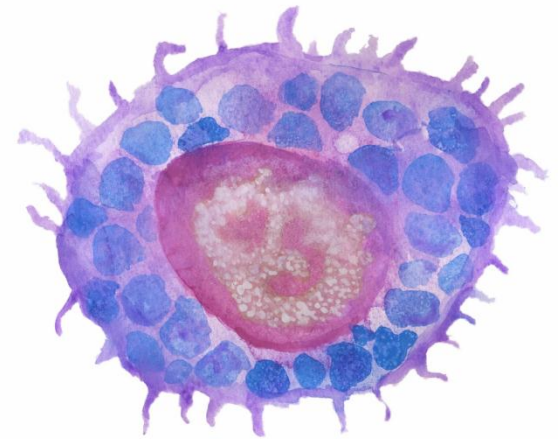
- К клеткам участвующим в неспецифической защите можно отнести базофилы - гранулярные лейкоциты, циркулирующие в крови.
- Различают базофилы слизистых и соединительной ткани.
- Наибольшее их количество содержится в коже, где в совокупности с иммунной системой участвуют в реакциях иммунного ответа, выполняя эффекторную функцию.

Basophil



Тучные клетки

- Клетки миелоидного ряда, располагающиеся вдоль барьерных тканей - слизистых оболочек и подкожной соединительной ткани.
- По набору синтезируемых биологически активных соединений и локализации выделяют две разновидности тучных клеток - клетки слизистых оболочек и клетки соединительной ткани.



Эритроциты и тромбоциты

- Эритроциты вырабатывая эритропоэтин участвуют в иммунной защите. Стимулируя гемопоэз способствуют образованию не только эритроцитов, также других клеток крови в том числе иммунокомпетентных клеток.
- Тромбоциты также относятся к категории защитных клеток, благодаря выработке больших количеств серотонина и участию в противоопухолевой защите



Определение функциональной активности фагоцитарных клеток.

- Функциональная активность фагоцитарных клеток оценивается по способности к фагоцитозу, дегрануляции, внутриклеточному киллингу, способности образовывать активные формы кислорода.
- Для определения активности фагоцитирующих клеток подсчитывают фагоцитарный показатель, фагоцитарное число, опсоно-фагоцитарный индекс, ставят тест с нитросиним тетразолием (НСТ) и др.

Фагоцитарная активность и фагоцитарный индекс

- **Фагоцитарная активность**- относительное количество клеток участвующих в фагоцитозе.
- Для его определения инкубируют лейкоциты больного с различными микроорганизмами или другими частичками (латекс и др).
- Затем готовят мазки из смеси, окрашивают по Гимзе, подсчитывают 100 лейкоцитов и определяют количество клеток, поглотивших микроорганизмы.
- В приготовленных препаратах также возможно определить **фагоцитарный индекс (число)** –среднее количество микроорганизмов поглощенных одним фагоцитом

Определение фагоцитарной активности лейкоцитов

- В пробирку с 2 % цитратом натрия в объеме 0,2мл добавляют 0,1мл исследуемой крови и перемешивают.
- Добавляют 0,05 мл микробной массы (0,5 млрд микробных клеток в 1 мл)
- Выдерживают 30 минут при температуре 37°C.
- Центрифугируют (2000-3000 об/мин), пастеровской пипеткой забирают осадок.
- Готовят мазки (3-5 шт.), окрашивают по Романовскому-Гимзе. Под микроскопом просматривают 100 лейкоцитов и количество проглоченных ими микробных клеток. Результат выражают в процентах.

Определение фагоцитоза *in vivo*

- В брюшную полость белой мыши вводят 2-3 мл стерильного мясо-пептонного бульона.
- Спустя 3-4 часа вводят 0,5-1 мл суспензии стафилококка (в 1 мл 2 млрд.микробных клеток)
- Спустя 10-15 минут из брюшной полости отбирают жидкость, готовят мазок, окрашивают метиленовым синим и микроскопируют.
- Лейкоциты окрашиваются в голубой цвет, а внутриклеточно расположенные стафилококки - в темно-синий цвет.
- Среди просмотренных 100 клеток, определяют количество лейкоцитов, поглотивших стафилококки



Определение опсонического индекса

- Фагоцитарная активность меняется в зависимости от количества опсопинов в сыворотке крови. Для оценки степени активности опсопинов вычисляют **опсонический индекс**.
- Для этого проводят тест фагоцитоза с сывороткой больного и контрольной сывороткой и оценивают опсонический индекс для каждой сыворотки.
- Отношение фагоцитарного показателя сыворотки больного к таковому в контрольной сыворотке называется **опсоническим индексом**.
- При наличии в сыворотке больного опсопинов, индекс бывает больше единицы. Более высокий показатель опсонического индекса указывает на благоприятное течение инфекционного процесса.

Определение «киллинговой» активности фагоцитов

- Для оценки способности фагоцитов к «киллингу», необходимо знать первоначальное количество фагоцитов и микробных клеток в проводимом тесте.
- Изменение количества микробных клеток до и после фагоцитоза позволяет судить о «киллинговой» способности фагоцитов.
- Количество выживших после фагоцитоза микроорганизмов определяют культивированием на соответствующих питательных средах.

Определение активных форм кислорода

- С этой целью определяют способность фагоцитов образовывать H_2O_2 , которая отображает активность их миелопероксидазной системы. Наиболее простым способом среди множества имеющихся тестов считается тест с **нитросиним тетразолием (НСТ-тест)**
- Принцип теста заключается в редукции нитросинего тетразолия до формазана под воздействием образованной лейкоцитами H_2O_2 .
- Исследуемую кровь инкубируют с нитросиним тетразолием при $37^{\circ}C$ в течении 20 минут. Включения формазана внутри фагоцитов определяют микроскопически, количество формазан позитивных клеток фагоцитов с вычисляют в процентах

Тест с нитросиним тетразолием (НСТ)

- Кровь больного инкубируют в присутствии нитросинего тетразолия при температуре 37°C в течении 20 минут
- Микроскопией выявляют включения (гранулы) формазана в фагоцитах.
- Вычисляют процентное содержание формазан позитивных клеток.
- Норма- 10-30%.

Параметры характеризующие состояние фагоцитоза.

- **Фагоцитарное число:** норма 5-10 микробных клеток. Характеризует поглотительную способность нейтрофилов.
- **Фагоцитарный показатель:** норма 65-95% . Процентный показатель нейтрофилов участвующих в фагоцитозе.
- **Число активных фагоцитов:** норма $1,6-5,0 \times 10^9$. Количество активных фагоцитов - число фагоцитирующих нейтрофилов в 1 л крови
- **Индекс завершенности фагоцитоза** – выражает переваривающую активность фагоцитов. Норма более 1.
 - активность нейтрофилов повышается в начале воспалительного процесса.
 - снижение активности нейтрофилов способствует хронизации процесса и развитию аутоиммунных процессов.