

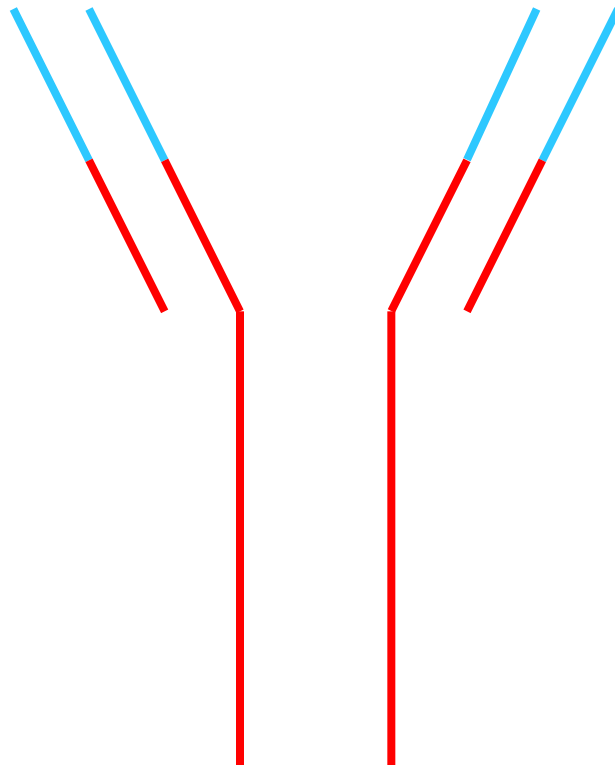
# Aglutinace

**Mgr. Jana Nechvátalová**

Ústav klinické imunologie a alergologie

FN u sv. Anny v Brně

# Protilátka



Hypervariabilní úseky

Lehký řetězec

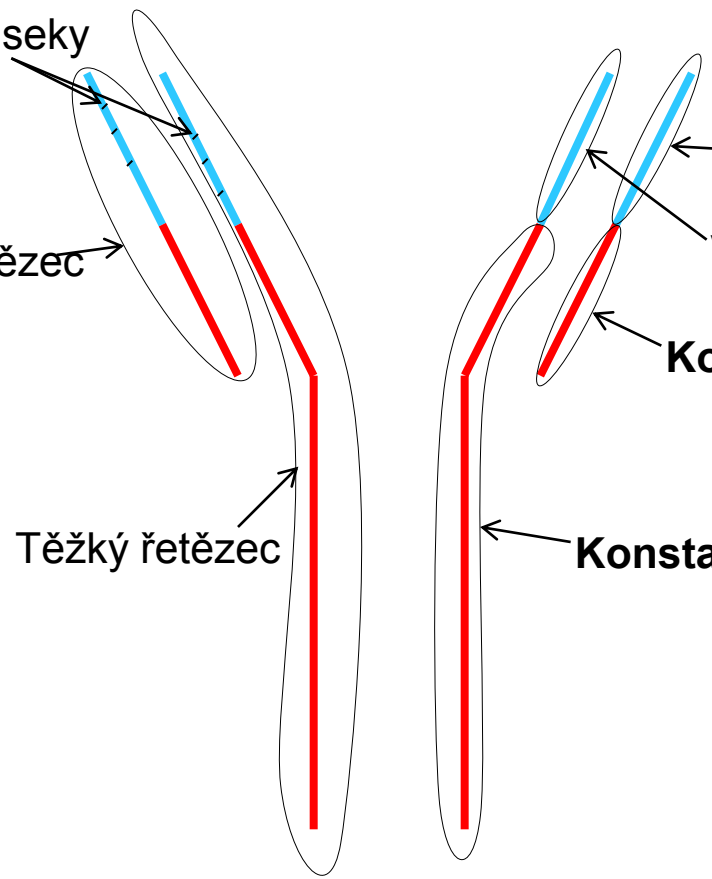
Těžký řetězec

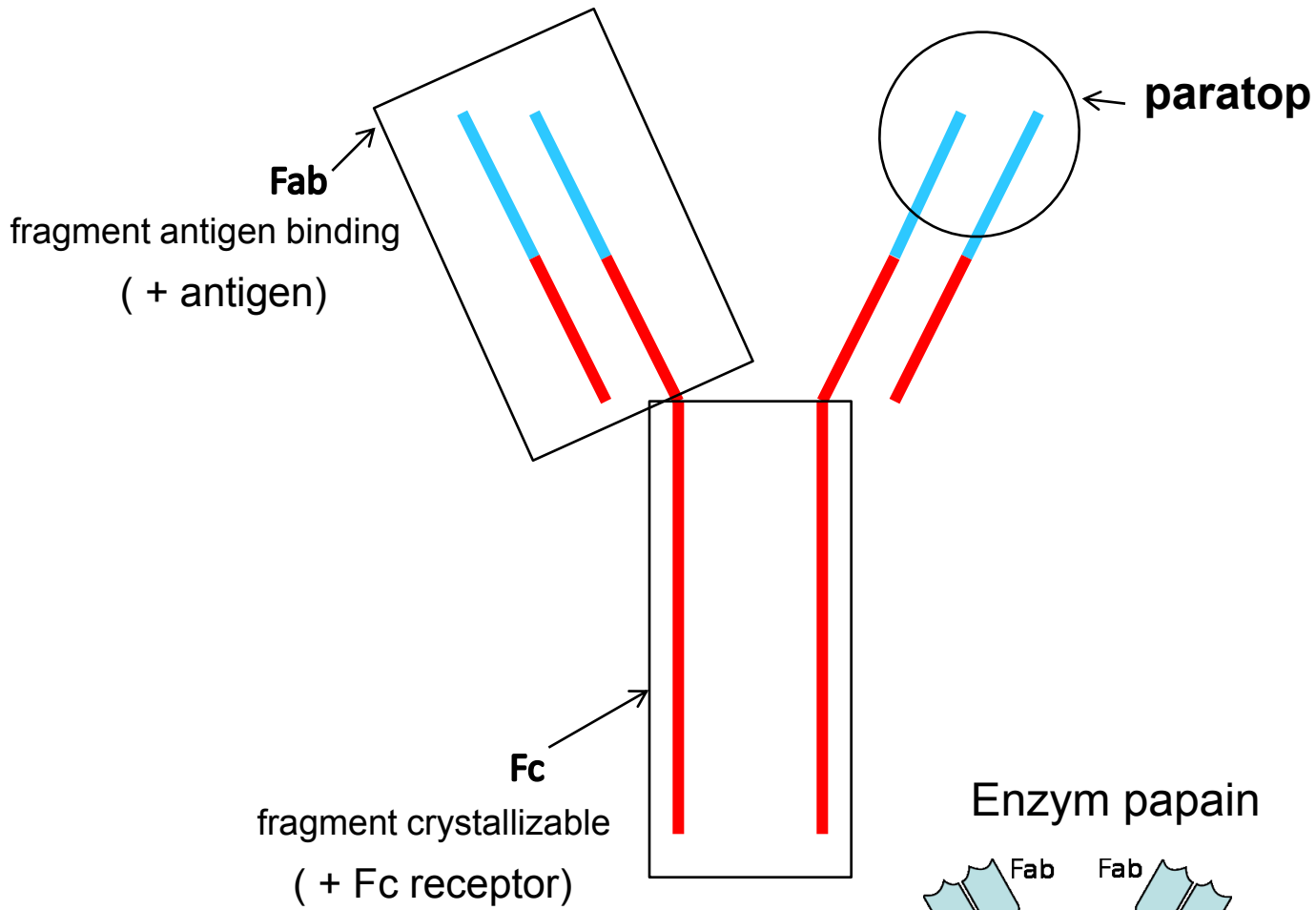
Variabilní oblast **lehkého** řetězce

Variabilní oblast **těžkého** řetězce

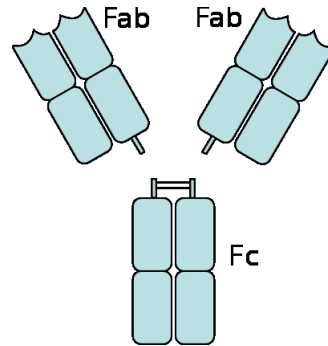
Konstantní oblast **lehkého** řetězce

Konstantní oblast **těžkého** řetězce

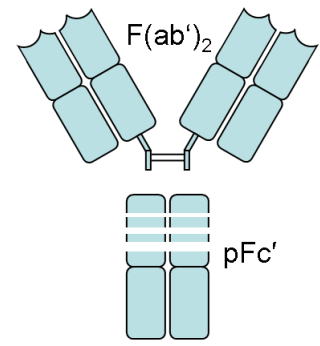




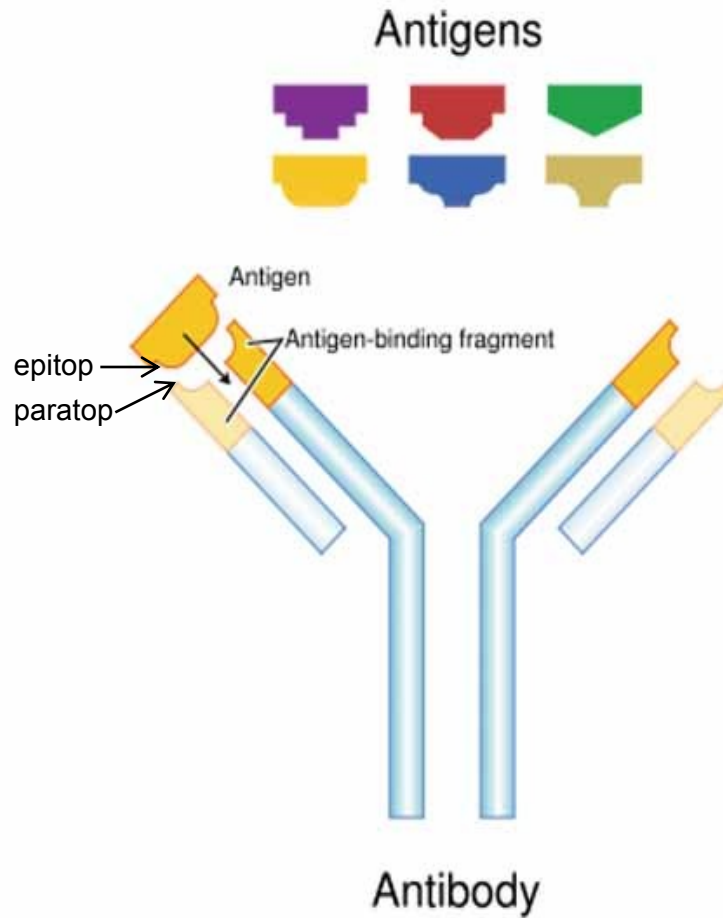
Enzym papain



Enzym pepsin



# Ag – Ab imunokomplex



# afinita $\neq$ avidita

- afinita - síla interakce mezi jedním paratopem a jedním epitopem
- avidita - závislá na afinitě
  - vazebná energie mezi komplexním antigenem a protilátkou
  - bere v úvahu valenci Ag a Ab

# Klasické serologické reakce

Aglutinace – reakce mezi korpuskulárním Ag a Ab s následnou aglutinací částic; proběhne 1.+ 2.fáze interakce Ag a Ab

Precipitace – reakce mezi solubilním Ag (nízkomolekulární) a Ab s následným vznikem precipitátu proběhne 1.+ 2.fáze interakce Ag a Ab

Imunoeseje – reakce mezi Ag a Ab vizualizována enzymem, fluorochromem n. radioaktivním zářičem (EIA, RIA n. FIA) ; většinou proběhne jen 1. fáze inter. Ag a Ab

## Metodiky využívající efektorového účinku Ab:

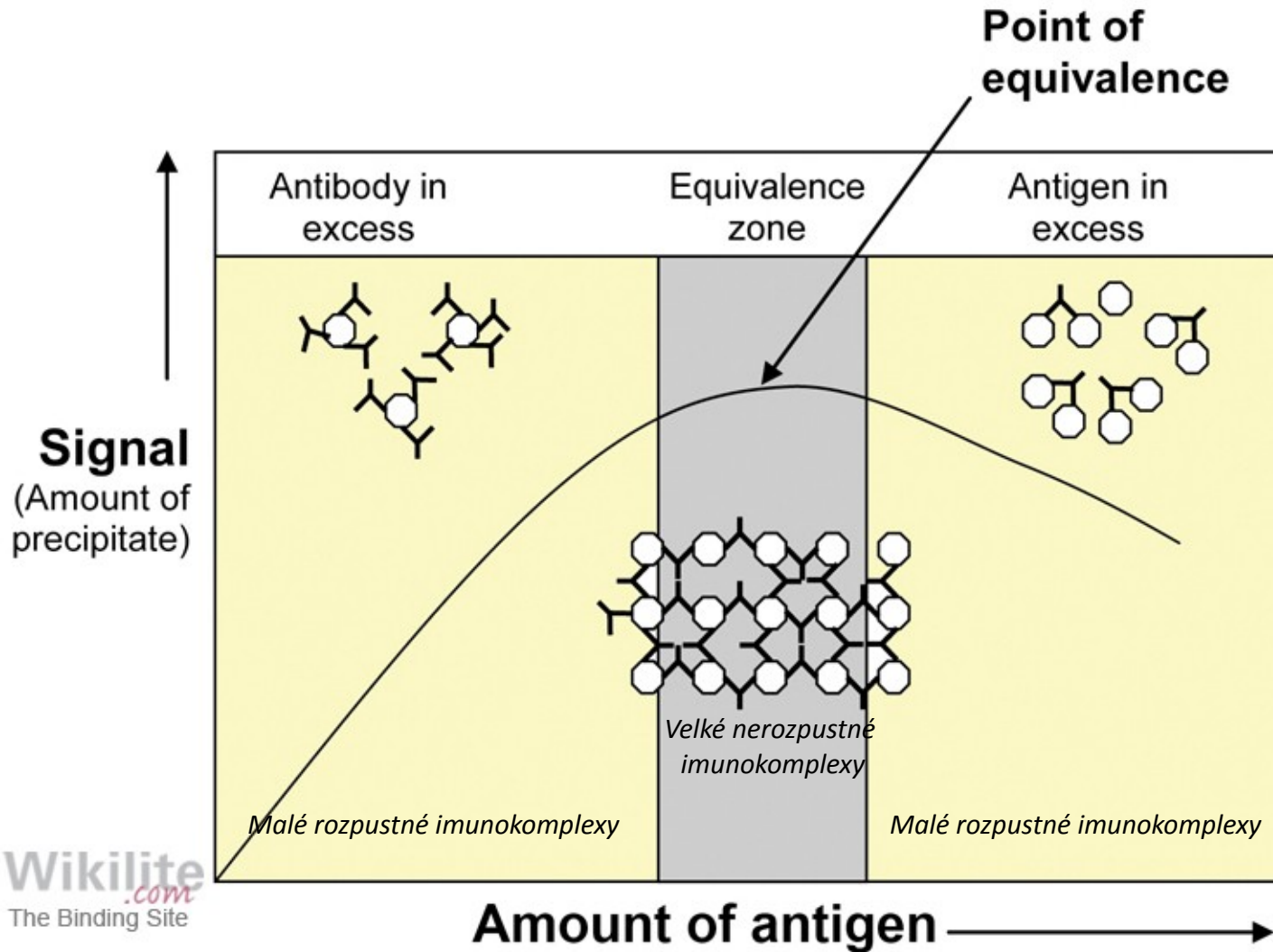
Metodiky s **aktivací komplementového systému** komplexem Ag – Ab, např. komplement-fixační reakce (KFR)

Metodiky s **inhibicí biologických účinků** některých Ag, např. neutralizační test, hemaglutinačně inhibiční test (HIT)

REAKCE Ag a Ab



# Dynamika tvorby imunokomplexů

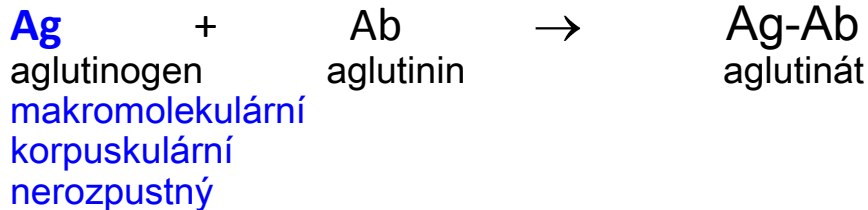


# Reakce Ag - Ab

- primární fáze – rychlá; vznik vazby jednotlivých epitopů s vazebnými místy protilátek; není patrná okem
- sekundární fáze – vznik prostorového komplexu; uplatňuje se multivalence Ag a polyvalence Ab (IgM-pentamer=10 vazeb.míst, ovšem reálně je k dispozici 5-6); patrné okem nebo koloidní roztok → analyzátory

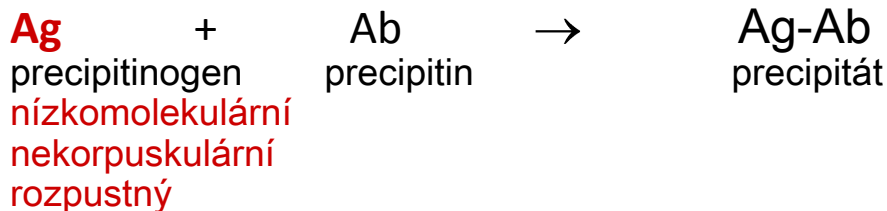
# Aglutinace x precipitace

- Aglutinace



Protilátky namířené proti epitopům antigenních částic vytváří mezi korpuskulami můstky, které vedou ke vzniku shluků – aglutinátů. jako Ag slouží např. těla bakterií

- Precipitace



Reakce mezi solubilním antigenem a protilátkou s následným vznikem precipitátu (hydrofobní vazby – vzniká nerozpustný komplex).

# Aglutinace

## Přímá

Ag jsou přirozeně součástí povrch. struktur reagujících částic (antigeny krevních skupin)

Př. hemaglutinace

### Hemagglutination

serum from individuals of type	red blood cells from individuals of type			
	AB	O	B	A
<b>A</b> Anti B antibodies				
<b>B</b> Anti A antibodies				
<b>O</b> Anti A + B antibodies				
<b>AB</b> no antibodies to A or B				

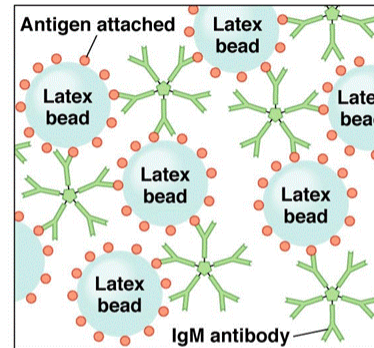
## Nepřímá

Ag navazujeme na povrch částice uměle

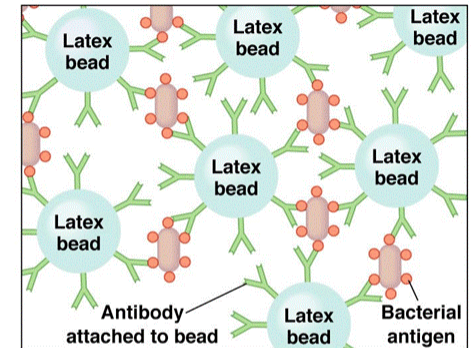
Př. latex-fixační test – Ag nebo Ab navázaný na latex. částici, pokud dojde k aglutinaci, dokazujeme přítomnost Ab nebo Ag

### Vyšetření revmatoidního faktoru (RF)

Latexové částice potažené lidským gamaglobulinem. Při zvýšené konc. Rf dojde k aglutinaci (pozitivní výsledek)



(a) Reaction in a positive indirect test for antibodies. When particles are coated with antigens, agglutination indicates the presence of antibodies, such as the IgM shown here.



(b) Reaction in a positive indirect test for antigens. When particles are coated with monoclonal antibodies, agglutination indicates the presence of antigens.

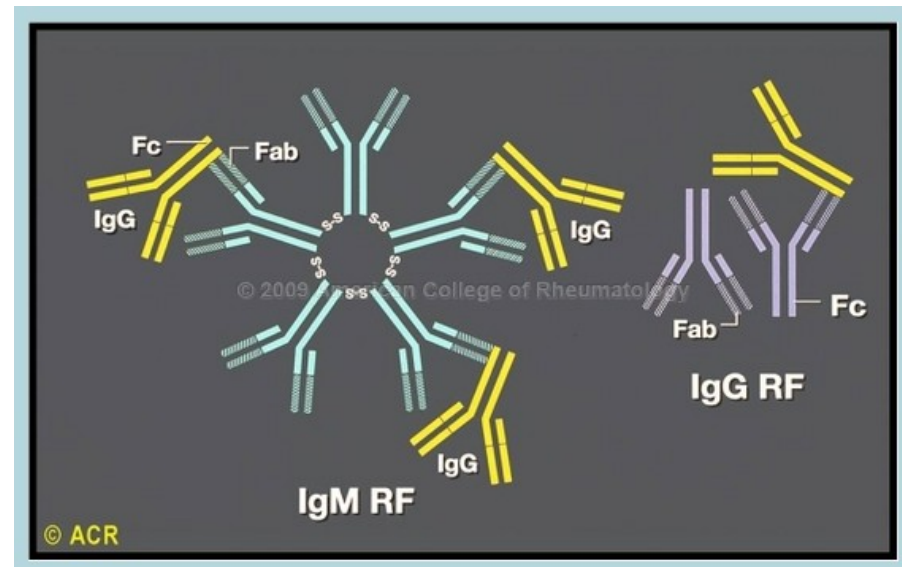
Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

# Revmatoidní faktor (RF)

- je protilátka proti Fc fragmentu molekuly IgG
- běžně se vyskytuje v séru ve vysokých koncentracích zejména u pacientů trpících revmatoidní artritidou (70-90% má pozitiv. RF)
- při RA mají prognostický význam: vysoké koncentrace RF asociují s těžkým průběhem onemocnění.



- systémové imunopatologické choroby
  - lupus erythematoses
  - Sjögrenův syndrom aj.



# Antistreptolysin O (ASLO)

- **streptolysin O** je produkovaný  $\beta$  hemolytickými streptokoky skupiny A
- zvýšení titru protilátek proti streptolysinu O je známkou nedávné infekce  $\beta$  hemolytickými streptokoky skupiny A
- diagnostika:
  - streptokokové anginy (80 – 85 % jedinců s probíhající streptokokovou infekcí nebo následným onemocněním má zvýšený titr ASLO)
  - spály, akutní revmatické horečky a akutní glomerulonefritidy

# Coombsův test

## (antiglobulinový test, AGT)

- umožňuje detekci červených krvinek, pokrytých imunoglobuliny (antierytrocytární protilátky) nebo složkami komplementu

### přímý

umožňuje detekci červených krvinek senzibilizovaných imunoglobuliny a složkami komplementu „in vivo“

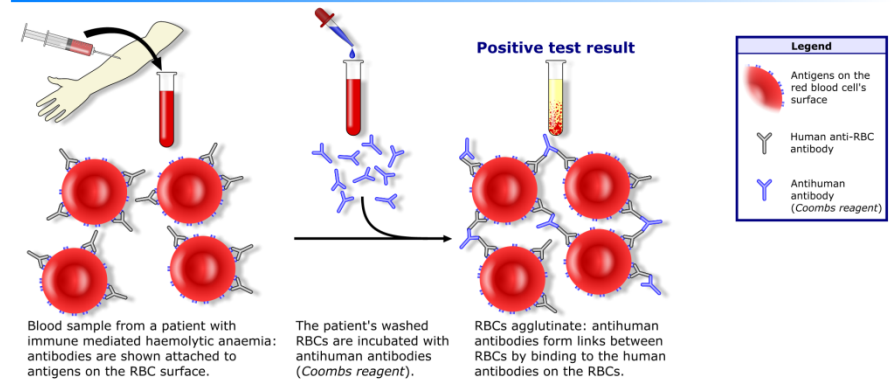
přímý Coombsův test se užívá k detekci protilátek či proteinů komplementu, které jsou navázány na povrch červených krvinek. Odebraný vzorek krve je zpracován tak, že přítomné červené krvinky jsou promyty (čímž se odstraní pacientova plazma) a následně se inkubují s protilátkami proti lidským imunoglobulinům (Coombsovo reagens). Pokud dojde k viditelné aglutinaci červených krvinek, přímý Coombsův test je považován za pozitivní, což je důkazem, že protilátky či proteiny komplementu jsou navázány na povrch erytrocytů.

### nepřímý

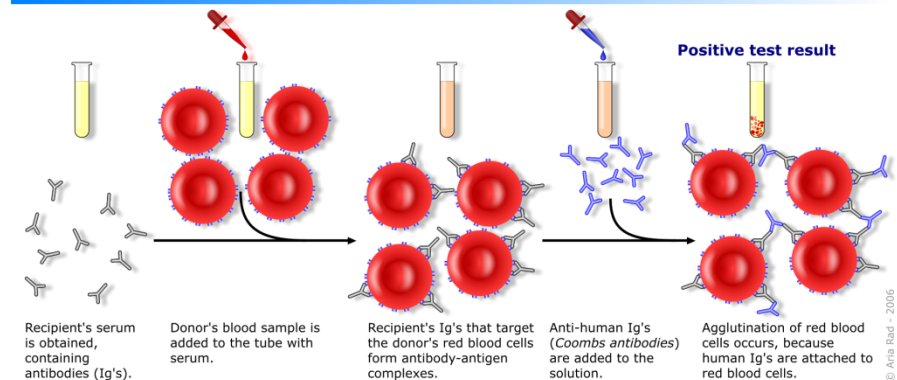
umožňuje detekci antierytrocytárních protilátek přítomných v pacientově séru či plazmě z důvodu „in vitro“ senzibilizace červených krvinek

nepřímý Coombsův test je užíván k prenatálnímu testování těhotných žen a k testování krve před krevní transfúzí. Slouží k detekci protilátek proti červeným krvinkám, které jsou přítomny volně nenavázané v séru pacienta. V tomto případě je sérum extrahováno z krve a následně inkubováno s erytrocyty se známou antigenicitou. Pokud dojde k aglutinaci, je nepřímý Coombsův test pozitivní.

### Direct Coombs test / Direct antiglobulin test



### Indirect Coombs test / Indirect antiglobulin test



# Přirozené protilátky

- tvoří se již brzy po narození, spontánně, bez záměrné imunizace, jako odpověď na přirozené stimuly (izohemaglutininy – anti-A, anti-B)
- jsou polyreaktivní s nízkou aviditou
- většina patří do isotypu IgM (IgM také nejvíce aglutinuje, je to pentamer)
- normální sérum zdravých jedinců obsahuje přirozené protilátky IgM, IgG a IgA
- jejich fyziologický význam se předpokládá:
  - v časných stádiích infekčních procesů
  - při regulaci rozvoje autoimunitních chorob
  - též při odstraňování stárnoucích, fyziologicky degradovaných molekul a buněk