

Trofická pojiva:

- 1. krev a krvetvorba**
- 2. lymfa,**
- 3. tkáňový mok**
- 4. lymfatické orgány**

Volné buňky pojivových tkání

Leukocyty

Vycestovávají do vaziva přes stěny kapiár – diapedeze

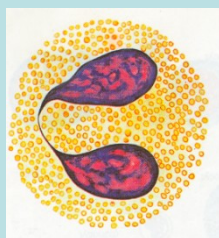
Hlavní součást trofických pojiv – krve

Granulocyty

Neutrofily



Eozinofily

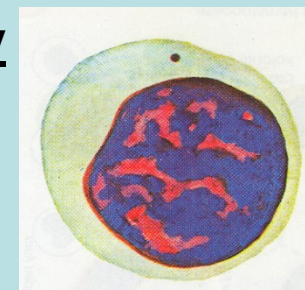


Bazofily



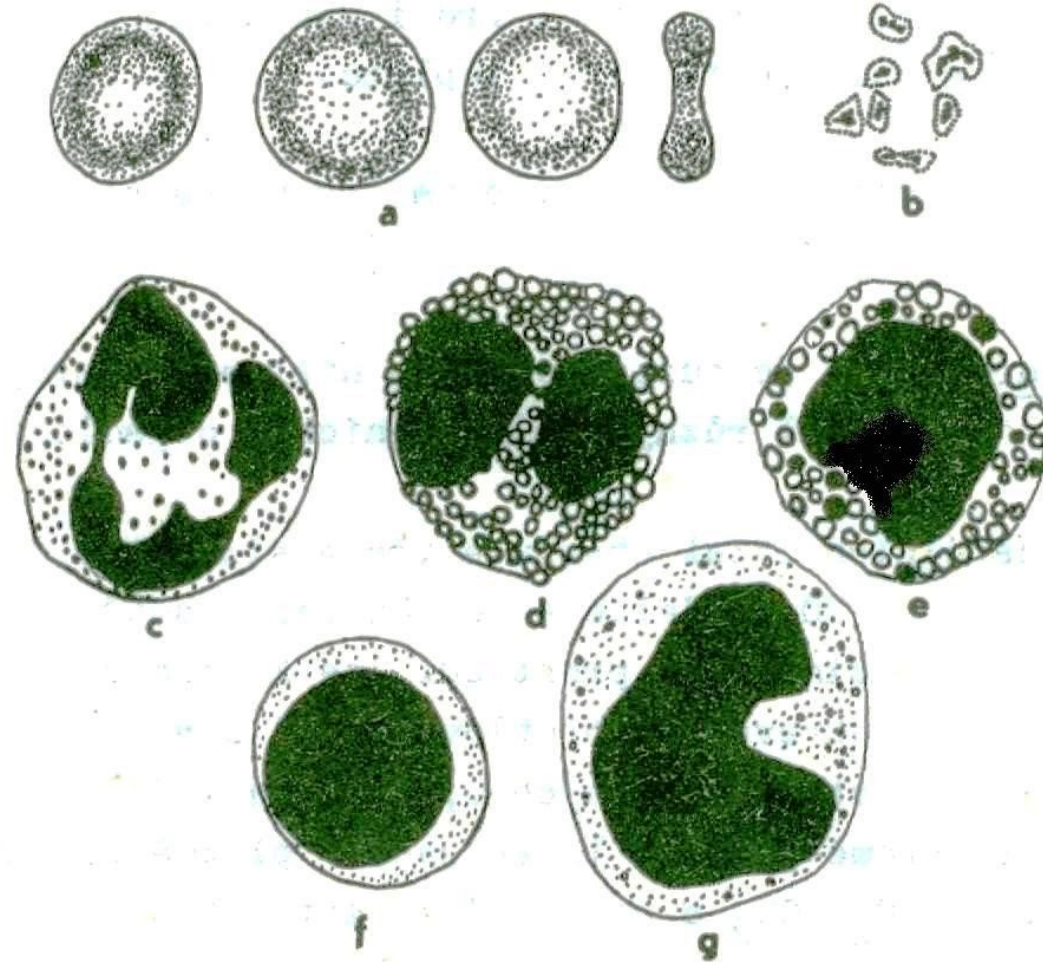
Agranulocyty

Lymfocyty



Monocyty





Obr. 120. Krvinky člověka

a = erythrocyty, b = trombocyty, c = neutrofilní granulocyt,
d = eosinofilní granulocyt, e = bazofilní granulocyt, f = lym-
focyt, g = monocyt.

Stanovení krevních skupin

Krátké ilustrativní video

<https://www.youtube.com/watch?v=J5xSUhyXyIE>

Aglutinace je imunitní děj, reaguje protilátka s korpuskulárním antigenem, která vede ke vzniku aglutinátu „vločkové konzistence. U reakce zv. hemaglutinace jsou korpuskulárním antigenem erythrocyty. Výsledný shluk erythrocytů je dobře pozorovatelný pouhým okem a je dostatečně pevný při standardním způsobu třepání. Nevýhodou hemaglutinace je nízká citlivost a omezená životnost erythrocytů.

Aglutinační reakce se obvykle hodnotí vizuálně tzv. na čtyři křížky a jsou to metody jednoduché a levné, ale také málo citlivé. Používají se hlavně pro průkaz antigenů erythrocytů a celé řady bakteriálních antigenů.

Základem je reakce:

Aglutinogen (tj antigen) reaguje s aglutininem (tj protilátka) za vzniku aglutinátu – sraženiny (imunokomplexu).

krevní skupina	antigen	A	B	0	AB
v membráně erythrocytů		A	B	H	A i B

Pomůcky: podložní víčka na diagnostiku krevních skupin s kulovitými otvory, desinfekce, vatičky, pero na odebírání krve z prstů, bodce, tubičky s heparinem, epiny, stojánek, roztírací umělohmotné tyčky, pipeta s rezměren 1 μ l - 10 μ l, rukavice; lahvičky s protilátkami proti krevním antigenům:

POUŽITÁ DIAGNOSTIKA

- Monoklonální diagnostikum anti-A (výrobce Sanquin, Holandsko; dodavatel EXBIO Olomouc s.r.o.)
- Monoklonální diagnostikum anti-B (výrobce Sanquin, Holandsko; dodavatel EXBIO Olomouc s.r.o.)
- Lektin anti-H (výrobce Sanquin, Holandsko; dodavatel EXBIO Olomouc s.r.o.)
- Monoklonální diagnostikum anti-H (výrobce Immucor Gama, Německo; dodavatel APR Praha s.r.o.)

Postup:

Odběrovým perem v rukavicích odebereme kapky krve z prstu do heparinové tyčinky

necháme krev stéci do epiny ve stojánku.

Z diagnostických lahviček protilátek odebereme asi 3 μ l a pipetou nakapeme na podložní sklíčko s kulovitými prostory.

Pak z odebrané krve nabereme asi 3 μ l krve a nakapeme na sklíčko do nakapaných protilátek. Vezmeme umělohmotné roztírátko a kapku krve s kapkou protilátek smícháme a čekáme na výsledek.

Výsledek: Pokud došlo k aglutinaci, tj srážení krvinky s protilátkami za vzniku anlutinátu, jde o danou krevní skupinu. Pokud nedošlo k tomuto ději, nejde o danou krevní skupinu.

Výsledek: Pokud došlo k aglutinaci, tj srážení krvinky s protilátkami za vzniku anlutinátu, jde o danou krevní skupinu. Pokud nedošlo k tomuto ději, nejde o danou krevní skupinu.

Vyhodnocení:

Vyhodnotíme citlivost reakce, tj. uvedeme, při kterém ředění byla reakce ještě pozitivní. Používáme hodnocení na čtyři křížky:

++++ (100% aglutinace) aglutinát se po protřepání vůbec nerozpadá
+++ (75 %) ++ (50 %) + (25 %) 0 (bez aglutinace) lze snadno roztřepat až na původní erytrocytární suspenzi

Krev patří do skupiny....

Barvení krevních roztěrů

V poslední době je na trhu několik typů tzv. souprav pro rychlé bavení, které jsou sice mnohem pohodlnější z hlediska vlastní manipulace i časové úspory, výsledky barvení však jsou zpravidla o něco horší (např. granula nejsou tolik výrazná, celkový odstín je našedlý apod.) Může tak snáze dojít k záměně např. neutrofilu za eozinofil apod. Ve cvičeních budeme používat sadu pro rychlé barvení Leukodif (Pliva Lachema a.s.). Barvení sestává ze 4 kroků a každý krok je tvořen sérií (v tabulce uvedena v závorce) několika ponoření do patřičného roztoku.

Nátěr vždy ponoříme jen na dobu 1 sekundy do patřičného roztoku podle následujícího předpisu:

1. Fixace v methanolu (5 x 1s)
2. Kyselé barvení v Eosinu Y (3 x 1s)
3. Zásadité barvení v Azuru II (5 x 1s)
4. Opláchnutí ve stabilizačním pufu (PBS). Poté necháme usušit a hodnotíme.