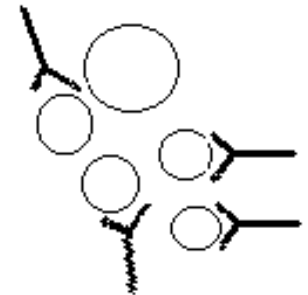


Aglutinační metody

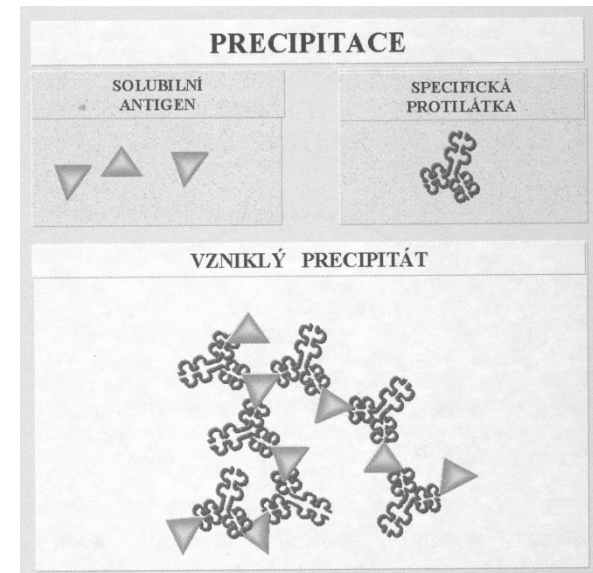
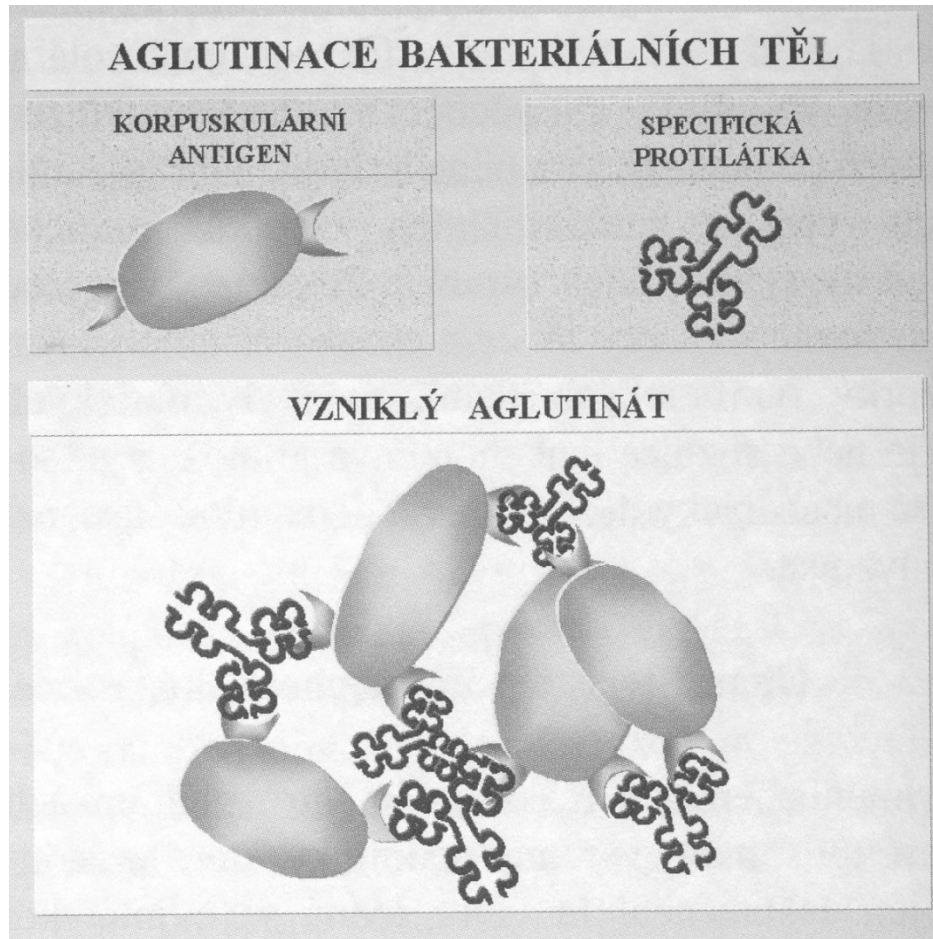
- $Ag + Ab \rightarrow Ag-Ab$
- *aglutinogen* *aglutinin* *aglutinát*
- korpuskulární-
- *princip* : **KORPUSKULÁRNÍ** / částicový / Ag
- při reakci dochází ke shlukování Ag a Ab na základě vytváření můstků
- Ab mezi buňkami za vzniku shluků
- **přímá** – použití bakterií, buněk
- **nepřímá, pasivní** – na jejich povrch je Ag uměle navázán, *př.latex-fixační test, HIT*
- **Předpoklady ke vzniku vazeb:**
 1. dostatek Ab, 2. přítomnost Ab proti různým epitopům 3. vzdálenost mezi částicemi co největší 4. Ab funkčně jednovazebné nevytváří aglutinaci (IgA, IgE) – inkompletní Ab viz hemaglutinace
- - *hodnocení*: **kvalitativně** - odečtení okem
- **kvantitativně** : a, zjištěním *množství aglutinátu*
- b, zjištěním *množství Ag* v aglutinátu či supernatantu



Aglutinace

- *využití* : ke stanovení **Ag, Ab, H** (viz precipitační metody)
 1. K určování izolovaných bakteriálních kmenů
 2. K průkazu Ab proti patogenům –Widalova reakce – průkaz tyfu, paratyfu, Weil-Felixova – skvrnitého tyfu, Ab proti *Francisella tularensis*
 3. K Průkazu Treponema p., EBV - mononukleóza
 3. Nepřímá - k průkazu auto Ab proti štítné žláze, Ab proti autoAg –

Rozdíl mezi aglutinací a precipitací

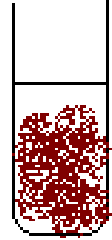


- *Tyfus* - *Salmonella typhimurium*
- *Paratyfus* - *Salmonella paratyphi A,B,C*
podobné příznaky jako tyfus
- *Skvrnitý tyfus*, blechy, veš šatní, klíště -
Rickettsia prowazekii - *Proteus vulgaris*,
horečka, třesavka, vyrážka
- *Adenovirus, Rotavirus* *gastrointestinální*
infekce

Latexová aglutinace, latex-fixační test

- **rychlé kvalitativní stanovení**
- **Ag nebo Ab imobilizován na latexových kuličkách**
- **Stanovení Ab proti IgG – revmatoidní faktor**
- **Průkaz patogenních Antigenů (Helicobacter pylori, Adeno- a Rotavirus)**

Hemaglutinační



- $Ag + Ab \rightarrow Ag-Ab$
- *hemaglutinogen* *hemaglutin* *hemaglutinát*
- - savčí krvinky (i části)
- - dochází ke **shlukování krvinek**, vlivem komplementu či virové částice pak dochází k **LYZI**.

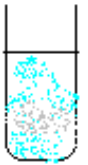
Ke zviditelnění aglutinačních reakcí při použití inkompletních Ab je možno použít **a)** aglutinaci v bílkovinném prostředí **b)** v prostředí s proteolytickými enzymy **c)** použitím antiglobulinového Coombsova séra - králičí ab proti lidským Ig

Hemaglutinace

- **využití:** K zjišťování krevních skupin a průkaz Ab proti krevním elementům. **Přímý Coombsův test** – k průkazu navázaných antierytrocytárních Ab, reakce pacientových ery s Coombsovým antisérem, přítomnost navázaných Ab se projeví hemaglutinátem
- **Nepřímý Coombsův test** – k průkazu cirkulujících antierytrocytárních Ab
 - 1. fáze, pacientovo sérum s ery od dárce, navázání Ab pokud jsou přítomny, vymytí, přidání Coomsova séra, které způsobí aglutinaci
 - při 2 reakcích:
 - * **KFR** – *komplement fixační reakce*
 - * **HIT** – *hemaglutinačně inhibiční test* :

HIT

- Patří také mezi metody serologické, založené na inhibici biologických účinků antigenů
 - HIT – pasivní hemaglutinace
 - Vycházíme ze skutečnosti, že viry (některé bakterie atd) mají schopnost se spontánně absorbovat na červené krvinky (rozpustný Ag). Ery pak aglutinují – shlukují se jen v přítomnosti specifické Ab
 - **odpovídá-li** protilátka Ag, po přidání obalených ERY Ag se Ag vyváže a vznikne **HEMAGLUTINÁT**
- Ab + Ag - Ery → **hemaglutinát, proběhne hemaglutinace**
-



HIT

neodpovídá-li protilátka virovému Ag, nedojde k hemaglutinaci

- situace, kdy přidáme stejný Ag do reakce
 - $Ab + Ag - Ery \rightarrow \text{hemaglutinát} + \text{stejný } Ag \rightarrow Ag - Ab$
 $+ Ag - Ery \rightarrow \text{inhibice hemaglutinace}$
 - *Metodou inhibice pasivní hemaglutinace lze dokázat velmi malé mn. rozpustného Ag nebo H (metoda je velmi citlivá)*
pro vyhodnocení můžeme použít i optické metody
- Využití:** Průkaz Ab proti patogen. Ag jako Candida Albicans, Aspergillus fumigatus, Treponema pallidum