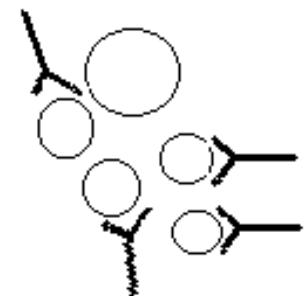


# *Aglutinační metody*

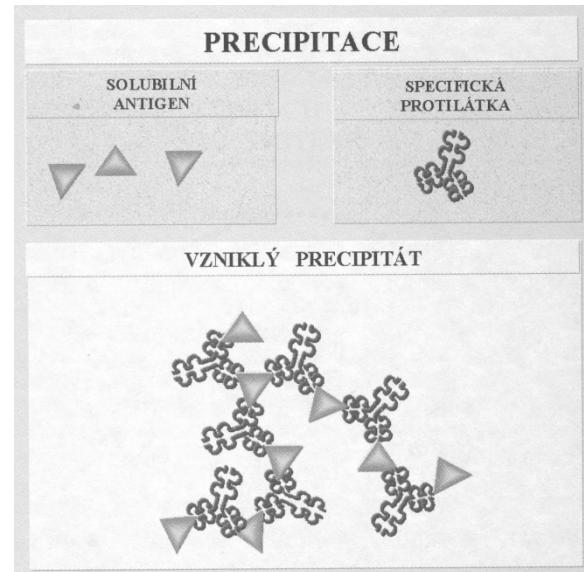
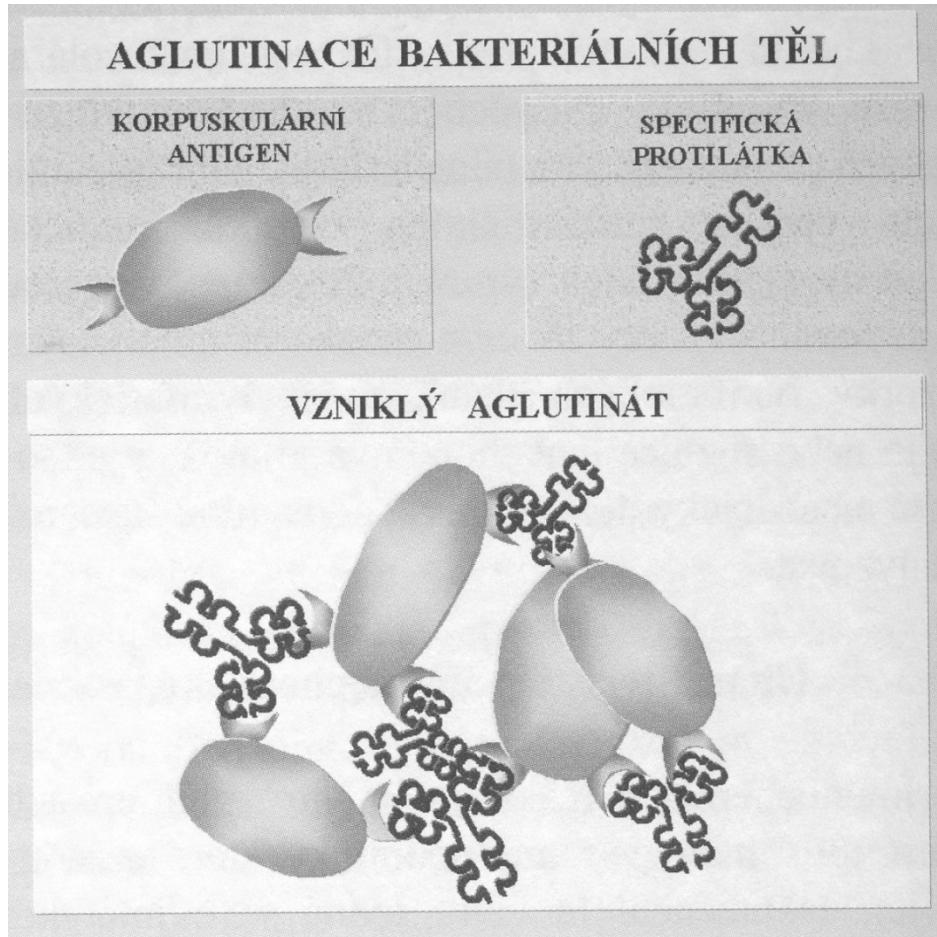
- Ag + Ab → Ag-Ab
- *aglutinogen*              *aglutinin*              *aglutinát*
- korpuskulární-
- *princip* : **KORPUSKULÁRNÍ** / částicový / Ag
- při reakci dochází ke shlukování Ag a Ab na základě vytváření můstků
  - Ab mezi buňkami za vzniku shluků
- **přímá – použití bakterií, buněk**
- **nepřímá, 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

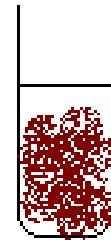


- *Tyfus* - *Salmonella typhimurium*
- *Paratyfus* - *Salmonella paratyphi A,B,C*  
podobné příznaky jako tyfus
- *Skvrnity tyfus*, blechy, veš šatní, klíště -  
*Rickettsia prowazekii* -*Proteus vulgaris*,  
horečka, třesavka, vyrážka
- *Adenovirus, Rotavirus* *gastrointestinální infekce*

## **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



- $\text{Ag} + \text{Ab} \rightarrow \text{Ag-Ab}$
- 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

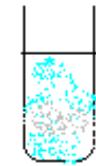
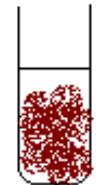
# *Hemaglutinace*

- **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, pacinetovo sérum s ery od dárce, navázání Ab pokud jsou přítomny, vymýtí, 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 (rozpuštěný 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** protilátku 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  $\rightarrow$  **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