

Koncepce předmětu spec. imunolog. metody Bi
9250C, zimní semestr 2016

**Časový rozpis blokového cvičení z předmětu
Speciální cvičení z imunologie**

10 plus 12 studentů, 2h/2kredity

Termín: 23.1.-26.1. 017 od 8.30hod

30.1.-2.2. 017

V praktickém cvičení se budeme zabývat testy sledujícími aktivitu IS

- a) bezobratlých
- b) obratlovců
- **Přehled metodik:**
- Odběr a zpracování krve, příprava séra, stanovení krevního diferenciálu
- Imunodifúze – modifikace Manciniová
- ELISA - stanovení přítomnosti protilátek proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Francisella tularensis*, *Coxiella burnettii*
- Test aktivity lymfocytů, ATP test
- Test aktivity jaterních buněk, ALT test

Rychlý kvalitativní test pro stanovení přítomnosti HIV viru
Rychlá imunochromatografická metoda stanovení
přítomnosti hemoglobinu ve stolici - individuální stanovení
Rychlý test ze slin pro odhad hladiny alkoholu v krvi
Rychlá imunochromatografická metoda stanovení
přítomnosti H. pylori ve stolici - individuální stanovení
• **Rychlá imunochromatografická metoda stanovení**
přítomnosti Staphylococcus pneumoniae v moči
• **Rychlá imunochromatografická metoda stanovení**
přítomnosti Staphylococcus pyogenes v hrdle
• **Pozorování buněk hemolymfy (hemocyty hmyzu), barvení**
buněk
• **Test aktivity fagocytózy pomocí škrobových zrn u**
fagocytů hmyzu, barvení buněk
• **Průkaz přítomnosti antigenů erytrocytů ve slinách**
člověka (HIT)

Pondělí 8:30

- Instruktaž ke cvičení toho dne, 9.00 postupný odběr krve z prstu, krevní roztěr
- **příprava destiček na ELISA** - Et OH, promývání destiček, zjišťování konc. antigenu, ředění Ag, kalibrační křivka a napipetování na destičku;
- Metoda stanovení ALT
- v mezičase **barvení roztěrů a krevní diferenciál;**
- ruleta na imunochromatický test
- ELISA: 6 destiček a dvě už hotové, Ag už sonifikované, albumin,

- **Úterý 8:30**
 - Instruktaž - **imunochromatografický test**,
 - **ELISA:** odstranění Ag a promytí, napipetování vazebného roztoku s kaseinem, inkubace s kaseinem, promytí destiček; v mezičase zpracování krve na sérum,
 - **imunochromatografický test**,
 - **Imunodifúze dle Manciniové, Ouchterlony**
 - odběr hemolymfy z larev Zavíječe voskového, kultivace se škrobovými částicemi a sledování fagocytárních schopností hemolymfy, barvení roztěrů a pozorování pod mikroskopem hemocytů, počítání FI a % F, krevní diferenciál - dokončení
- Pomůcky:**
- ELISA: blokovací-vazebný roztok s kaseinem, promývací roztok, promývačka
 - Fagocytóza: Leukodif, roztok škrobových zrn, larvy, sklíčka na roztěry, termostat, malé epiny, pinzety, nůžky, stříkačky a jehly
 - Pipety, špičky, odpadní nádoba, stojánky, ependorfky, teplotní lázeň, malý termostat

středa 8:30

- Instruktaž.
- **Test aktivity lymfocytů, ATP test.**
- **Průkaz přítomnosti antigenů erytrocytů ve slinách člověka, v mezičase počítání krevní diferenciál,**
- **Pozorování buněk hemolymfy (hemocyty hmyzu), barvení buněk**
- **Test aktivity fagocytózy pomocí škrobových zrn u fagocytů hmyzu, barvení buněk**

čtvrtek 8:30

- samotná ELISA, dokončení
- ředění sér, rozložení vzorků na destičku, příprava zředěných sér: inkubace destičky se séry (naředit konjugát), promytí destičky, nanesení konjugátu, inkubace s konjugátem (nachystat substrátový roztok s OPD), promytí a nanesení substr. roztoku, inkubace se substrátem, zastavení reakce pomocí H_2SO_4 , měření na ELISA-readeru, v mezičase: krevní diferenciál, FI, % fagocytózy.