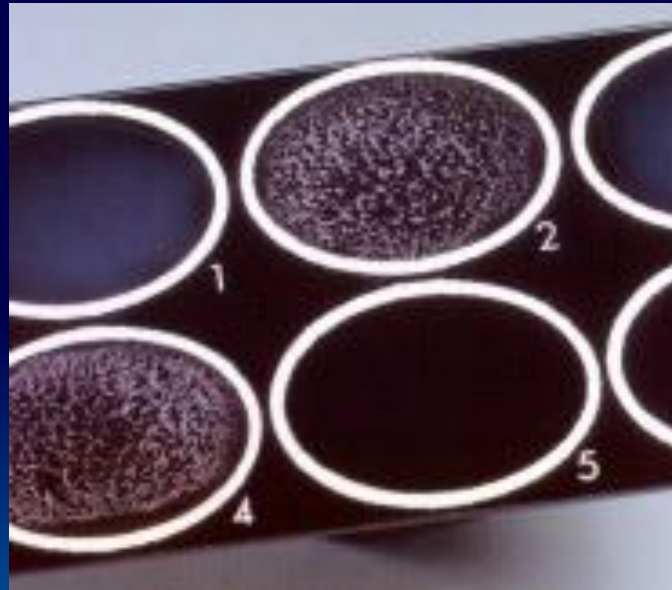


Rozdělení imunologických laboratorních metod

Aglutinace

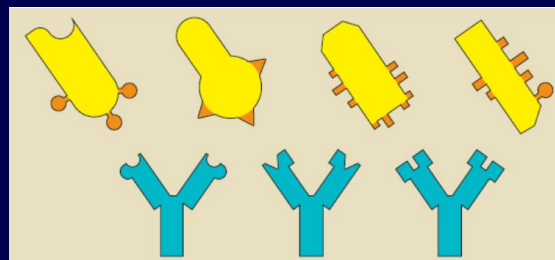


Mgr. Petr Bejdák

Ústav klinické imunologie a alergologie

Fakultní nemocnice u sv. Anny a Lékařská fakulta MU

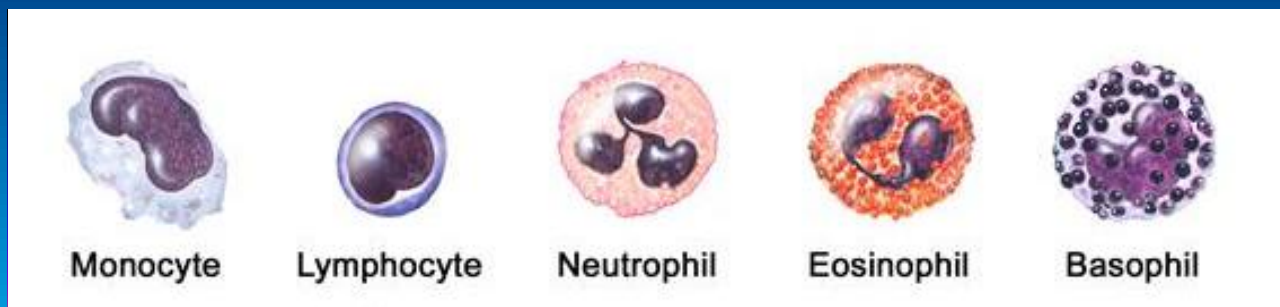
Rozdělení imunologických laboratorních metod



metody

serologické – detekce antigenů a protilátek

buněčné – počty a funkce jednotlivých typů leukocytů



Serologické metody

1. Klasické serologické metody:

- Aglutinace (přímá, nepřímá)
- Precipitace (v kapalině, v gelu)

2. Imunochemické metody s následnou detekcí (imunoeseje)

- Imunofluorescence (přímá, nepřímá)
- Imunoanalýza (EIA - ELISA, RIA, FIA, LIA)
- Immunoblot, imunodot

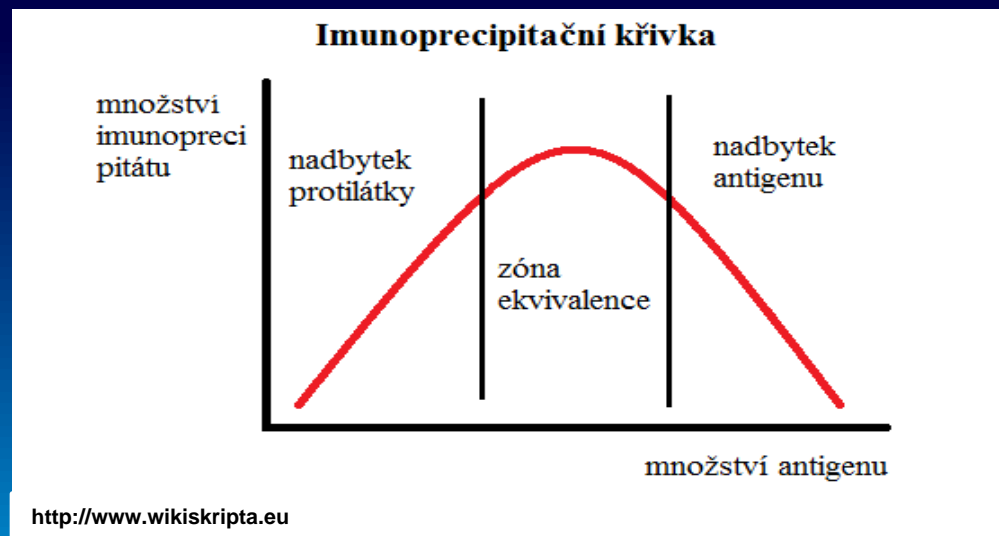
3. Metody založené na efektorovém účinku protilátek (využívány v klinické mikrobiologii)

- Komplement fixační reakce
- Inhibiční a neutralizační testy

Serologické metody

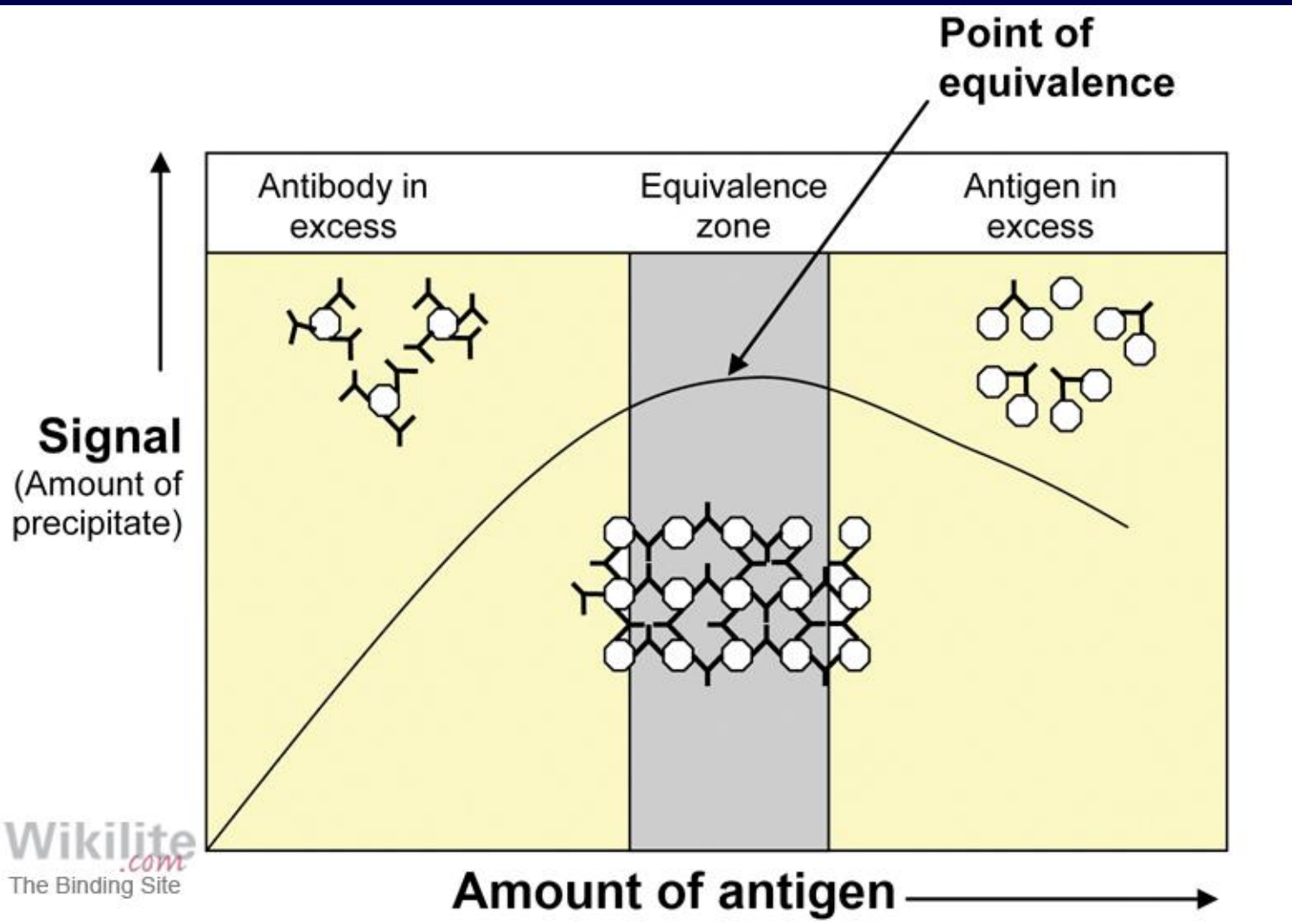
Fáze reakce antigenu (Ag) s protilátkou (Ab):

1. Primární – rychlá, neviditelná pouhým okem
- tvorba imunokomplexů Ag+Ab
2. Sekundární – pomalá, tvorba větších prostorových shluků (aglutinátů) nebo sraženin (precipitátů) pozorovatelných okem
- uplatňuje se multivalence Ag a Ab



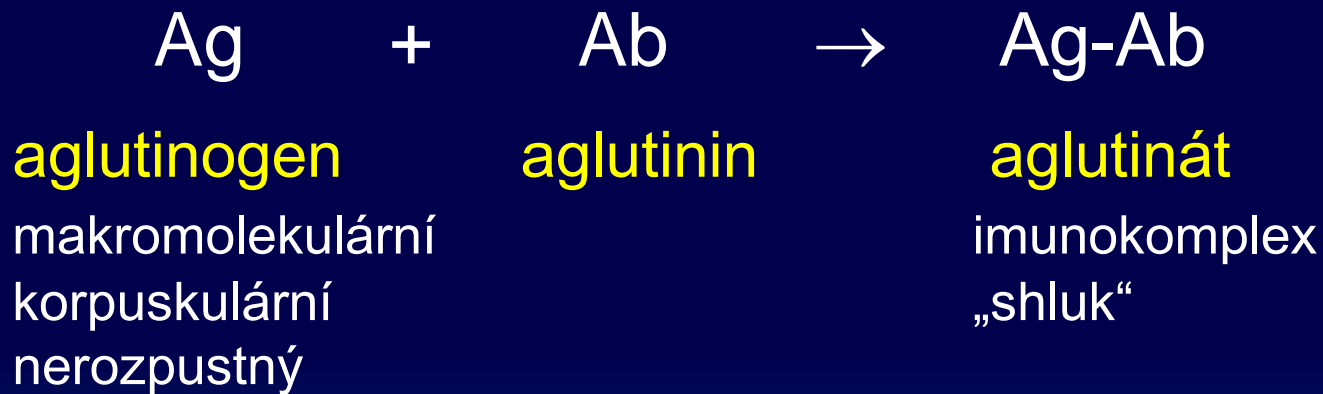
Pokud nedochází k sekundární fázi reakce, je nutné imunokomplexy vzniklé v primární fázi vizualizovat – immunochemické metody

Imunoprecipitační křivka

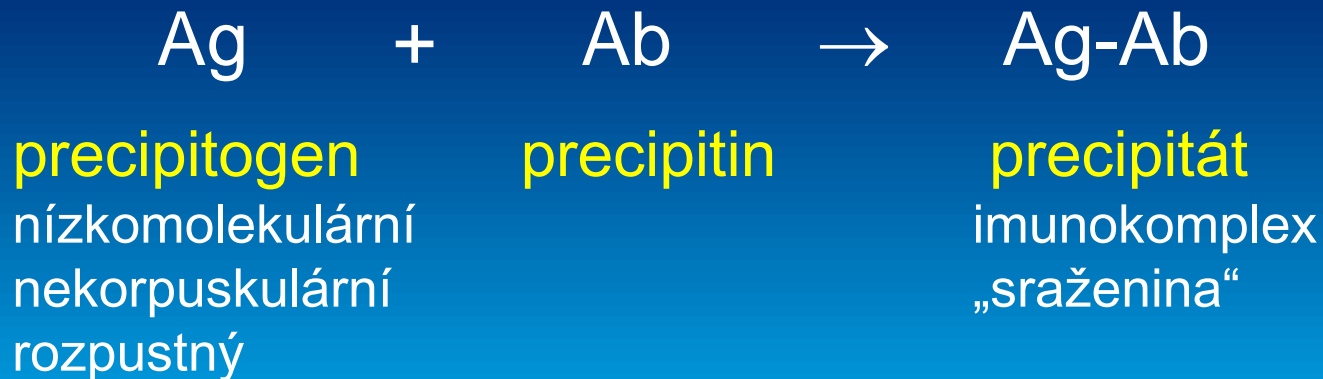


Aglutinace x Precipitace

Aglutinace (shlukování)



Precipitace (sražení)



Aglutinace

Přímá

- korpuskulární antigen přirozeně nese cílové epitopy

Př: identifikace bakterií, hemaglutinace

Nepřímá

- rozpustný antigen navázaný na povrchu vhodných makromolekulárních částic (latex)

Př: stanovení RF, ASLO

Hodnocení aglutinace

KVALITATIVNÍ

- k aglutinaci dochází nebo nedochází (pozitivní / negativní)

KVANTITATIVNÍ





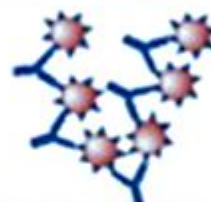
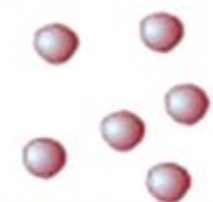
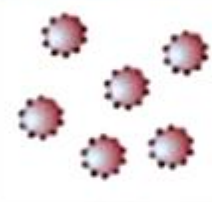
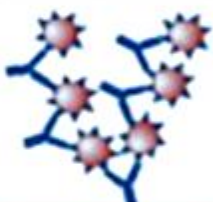
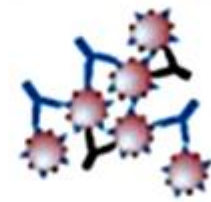


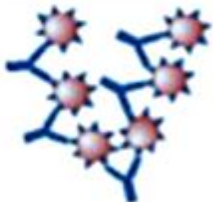

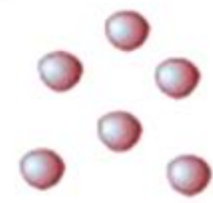
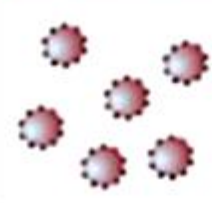

- stanovení nejvyššího ředění séra, kdy je ještě patrná aglutinace
- titr = převrácená hodnota ředění séra (ředění 1:32 → titr 32)



Hemaglutinace

krevní skupiny
systém AB0



	red blood cells from individuals of type			
serum from individuals of type	AB	O	B	A
A Anti B antibodies	 agglutination	 no agglutination	 agglutination	 no agglutination
B Anti A antibodies	 agglutination	 no agglutination	 no agglutination	 agglutination
O Anti A + B antibodies	 agglutination	 no agglutination	 agglutination	 agglutination
AB no antibodies to A or B	 no agglutination	 no agglutination	 no agglutination	 no agglutination

Latex-fixační test

Revmatoidní faktor (RF)

- autoprotilátka namířená proti Fc části IgG molekuly
- Přítomen asi u 80% pacientů s revmatoidní artritidou.
- Pozitivní je též u asi 5-10% nemocných s jinými systémovými autoimunitními chorobami, autoimunitní hepatitidy, endocarditis lenta.
- Může být pozitivní i u zdravých osob.
- Diagnosticky nejdůležitější je RF ve třídě IgM

Princip testu:

Na latexových částicích je navázán lidský IgG, pokud je ve vyšetřovaném séru přítomen RF, váže se na IgG na latexových částicích a vyvolá jejich aglutinaci

Revmatoidní artritida

- symetrické zánětlivé onemocnění kloubů
- infiltrace sinoviální tkáně plazmocyty, makrofágy, T, B a žírnými buňkami
 - ty produkují zánětlivé mediátory, které indukují tvorbu enzymů degradujících bílkoviny → destrukce kloubu
- muži : ženy – 1 : 2-3
- 1 % populace
- specifitější diagnostický test než RF je stanovení CCP (cyklické citrulinované proteiny)

Stanovení ASLO nepřímou aglutinací

- slouží ke stanovení protilátek v séru proti streptolysinu O (exotoxin bakterií z rodu *Streptococcus*)

ASLO = anti streptolysin O antibodies

Princip testu:

- streptolysin O je navázaný na povrchu latexových částic
- pokud jsou v séru pacienta přítomné protilátky proti streptolysinu, dojde k jejich navázání na streptolysin na latexových částicích a následné aglutinaci částic, která je okem pozorovatelná

Coombsův test

(antiglobulinový test, AGT)

Coombsovo reagens – směs polyspecifických protilátek proti lidským imunoglobulinům a složkám komplementu

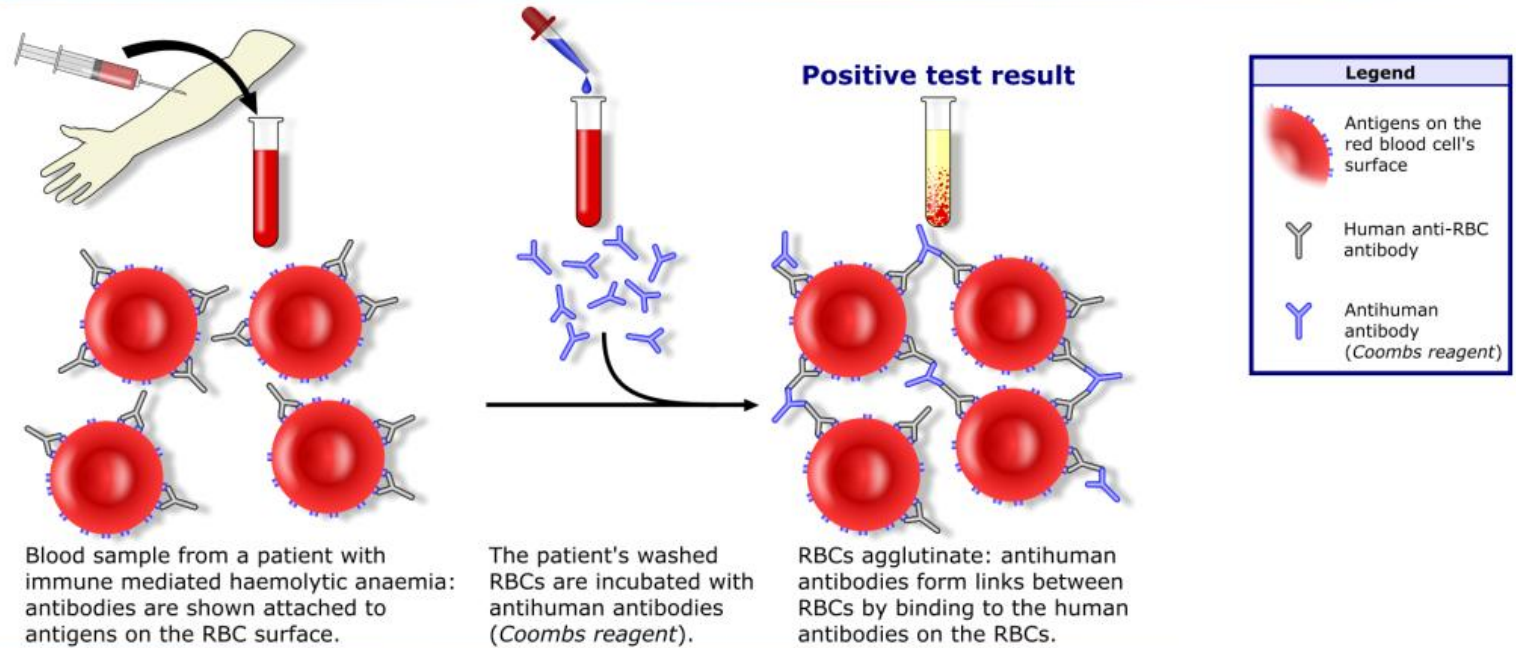
Přímý Coombsův test - k detekci antierytrocytárních protilátek navázaných na erytrocyty *in vivo*

- Červené krvinky jsou separovány z vyšetřované krve a následně se inkubují s protilátkami proti lidským imunoglobulinům (Coombsovo reagens). Pokud dojde k viditelné aglutinaci červených krvinek, test je považován za pozitivní.

Nepřímý Coombsův test – k detekci antierytrocytárních protilátek v séru smíchaném s erytrocyty *in vitro*

- Vyšetřované sérum se přidá k izolovaným erytrocytům se známou antigenicitou. Poté se přidá Coombsovo reagens a zjišťuje se, zda dochází k aglutinaci.

Nepřímý Coombsův test je užíván k testování těhotných žen (Rh faktor) a k testování krve před krevní transfúzí



Indirect Coombs test / Indirect antiglobulin test

