

Imunologie cvičení 7

Aglutinační metody

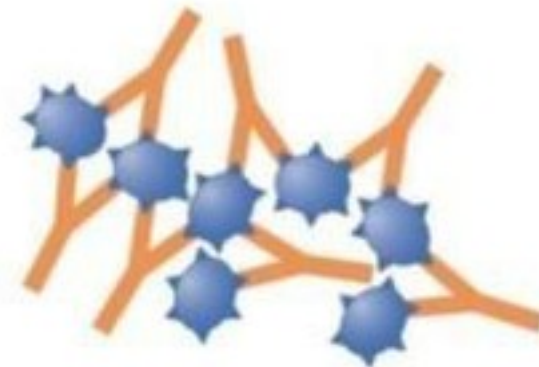
MVDr. Mgr. Monika Dušková, Ph.D.

Aglutinace

Stará sérologická metoda

Reaguje Ab s korpuskulárním Ag za vzniku **aglutinátu** – shluk vločkovité konzistence

Prováží se molekuly Ag přes molekuly protilátek



Pozor rozdíl: aglutinace x precipitace

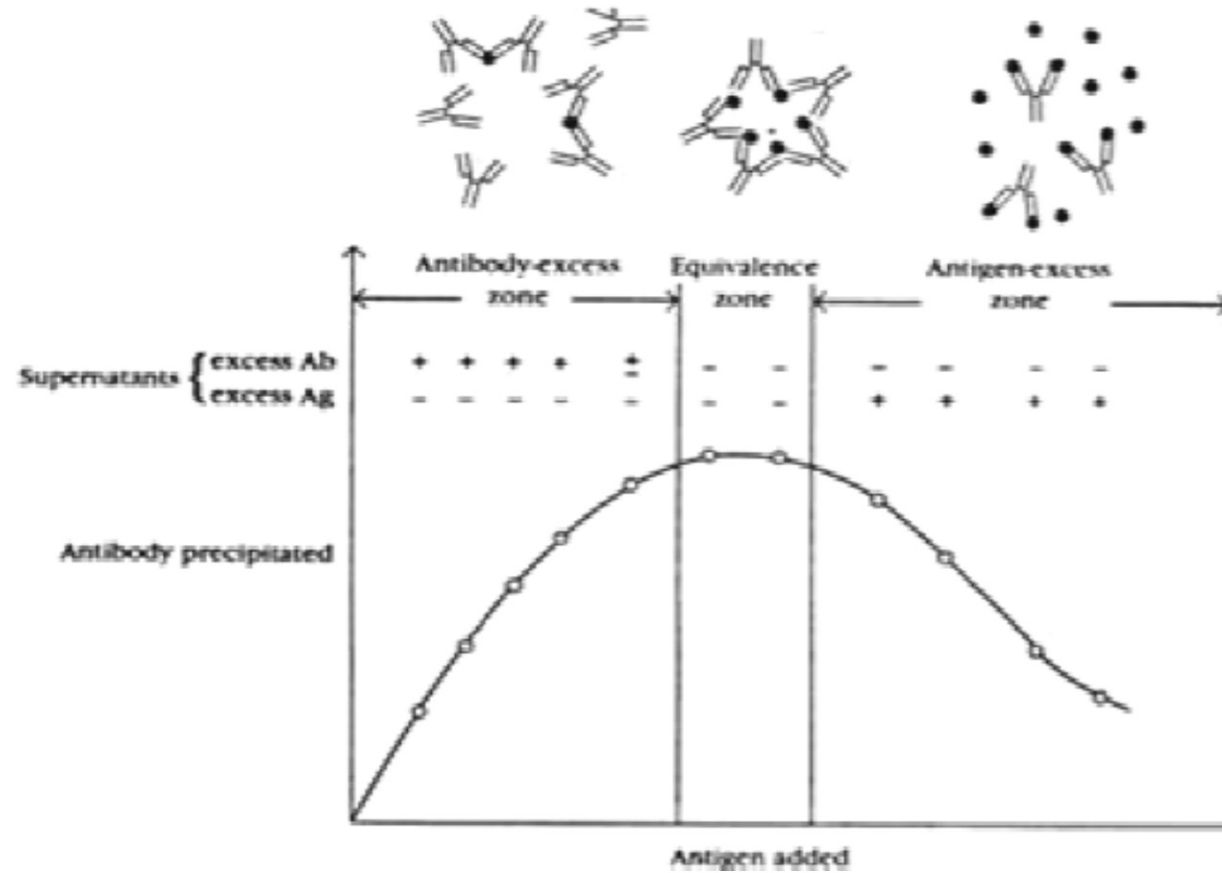
shluk x sraženina

Jako **korpuskulární antigen** může vystupovat: bakteriální buňka, latexová částice s navázaným Ag

erytrocyt – hemaglutinace

Přímá a **nepřímá aglutinace**: reagují tzv. inkompletní protilátky, které se váží na povrch např. erytrocytu, ale neaglutinují. Aglutinace se dá prokázat až po přidání antiglobulinového séra (protilátky proti protilátkám) tzv. Coombsovo sérum

Dynamika tvorby aglutinátu: v přebytku některé ze složek nevytvoří dostatečně



Hemaglutinace

Korpuskulární antigen je erytrocyt se svými povrchovými znaky

Výsledný aglutinát je dobře vizuálně hodnotitelný pouhým okem

Nevýhody: nízká citlivost a omezená životnost erytrocytů

Povrch erytrocytů lze opracovat a tím zvýšit citlivost reakce (bromelin, neuraminidáza)

Bromelin je proteolytický enzym, získává se z čerstvého ananasu, doplněk stravy...

údajně protizánětlivé účinky, proti otokům, zlepšuje trávení, brání srážení krve – rozkládá fibrin



Využití aglutinační reakce k určení antigenů systému AB0

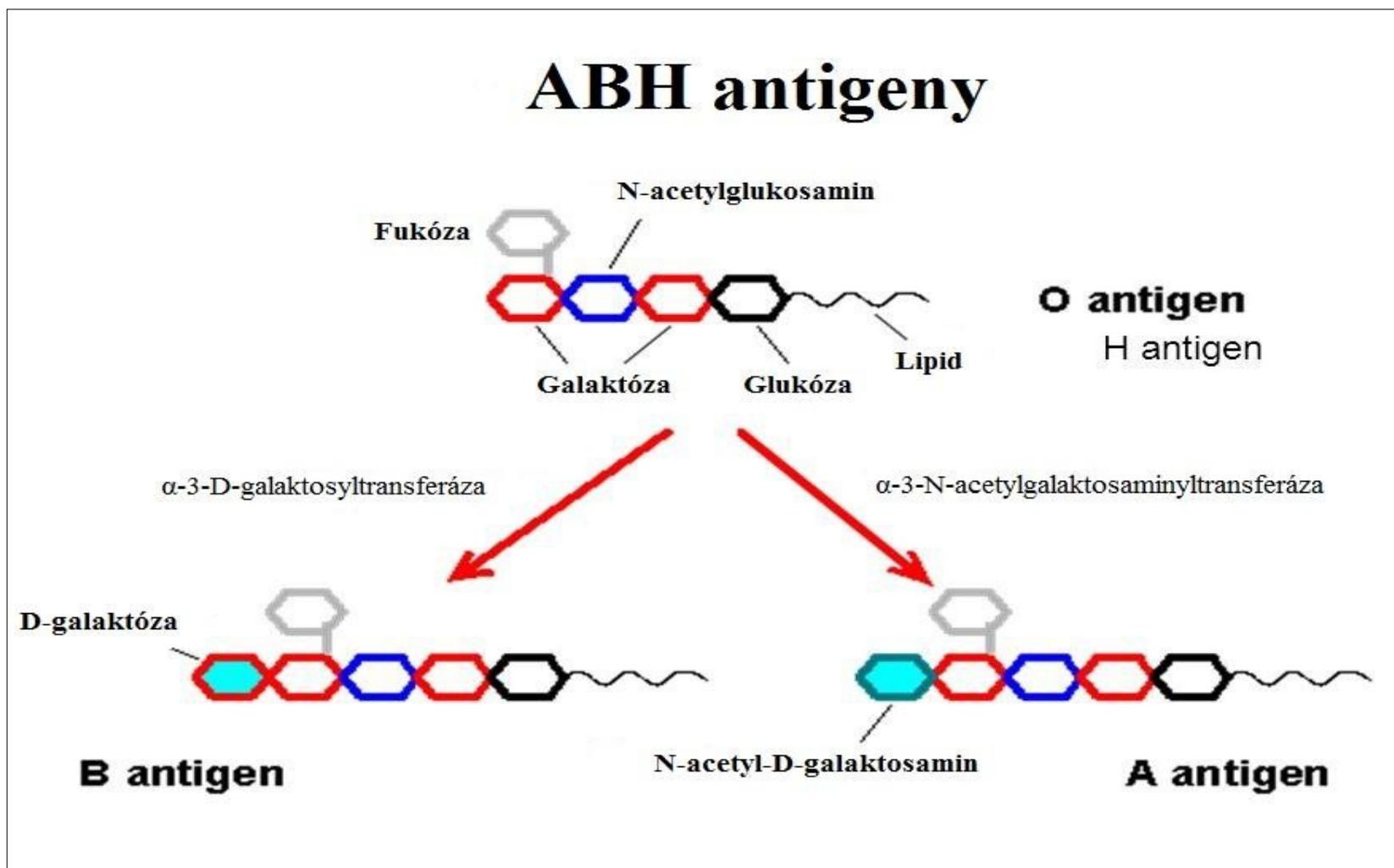
Aglutinogen - antigen na povrchu erytrocytů

Aglutinin – protilátka v séru

<i>krevní skupina</i>	<i>antigen v membráně erytrocytů</i>
A	A
B	B
0	H
AB	A i B

Krevní skupina (fenotyp)	Antigeny na erytrocytech	Protilátky v séru	Četnost v ČR	Genotyp	Četnost v ČR
A	A	anti-B	41,6 %	AA AO	7,6 % 34,0 %
B	B	anti-a	14,1 %	BB BO	1,1 % 13,0 %
AB	A, B	-	5,8 %	AB	5,8 %
O	-	anti-A, anti-B	38,2 %	OO	38,2 %

Struktura a biosyntéza antigenů systému AB0



Příklad využití hemaglutinační metody v našem výzkumu

Disertační práce Mgr. Petra Ovesná, Ph.D.

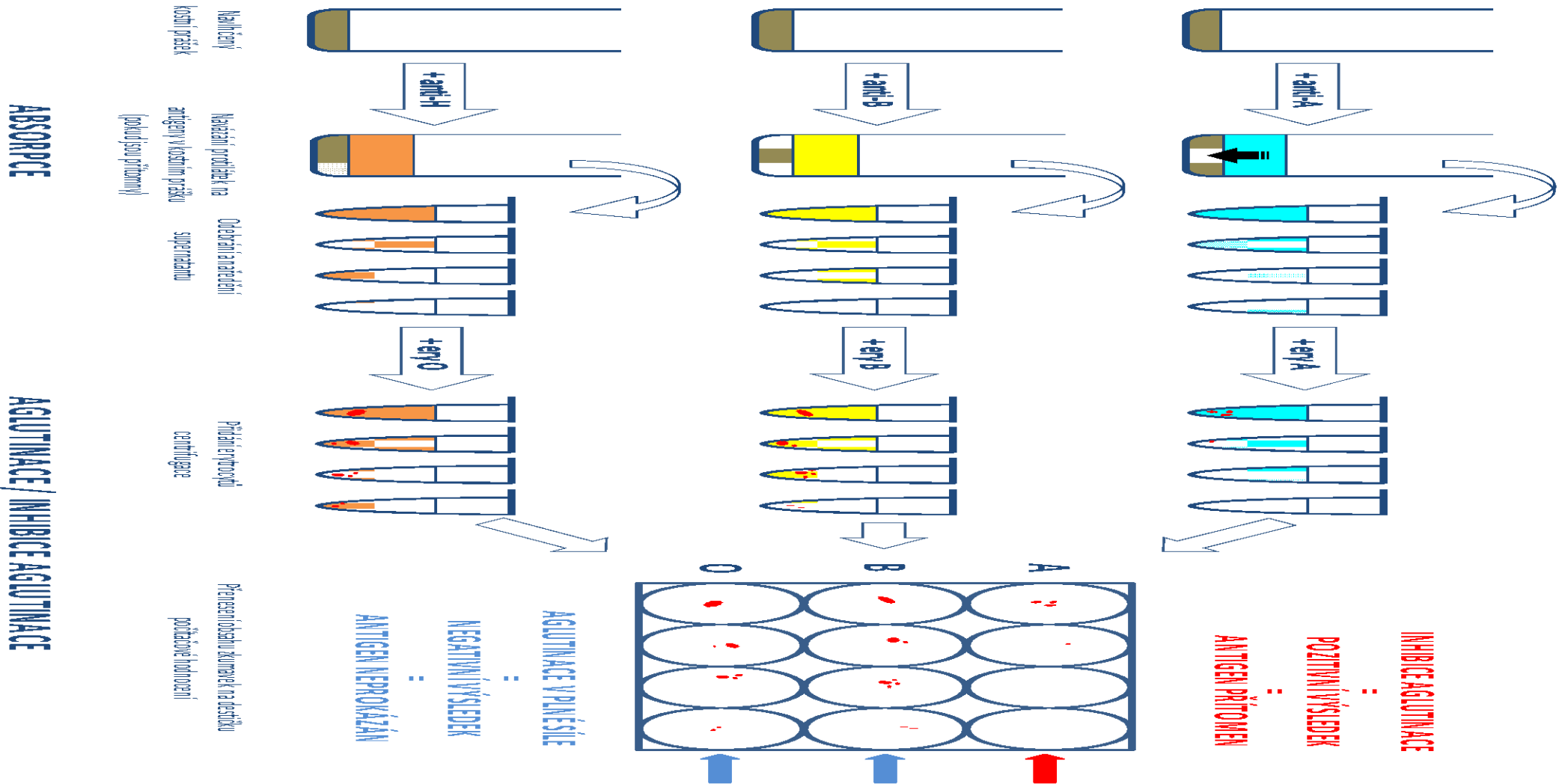
Stanovení a počítačové hodnocení skupinových vlastností ABO systému v kostních tkáních

Vyšetření antigenů systému ABO z fosilních kosterních nálezů

Stanovení antigenů systému ABO je možné i po dlouhé době po smrti jedince díky jejich sacharidové struktuře, která je činí velmi stabilní.

metoda absorpčně inhibiční (AI) - k vyšetřovanému materiálu se přidá diagnostické sérum, které obsahuje protilátky, a které se v případě shodné specifčnosti navážou na antigeny ve vzorku (fáze absorpce). V dalším kroku je vyšetřen supernatant (tj. sérum po přidání k vzorku) na přítomnost a množství protilátek pomocí diagnostických erytrocytů. Pokud je aglutinace u vzorku slabší než v původním séru (inhibice aglutinace), znamená to, že část protilátek se navázala na antigeny kostí a ty jsou tedy ve vzorku přítomny. Aglutinace stejně silná jako v původním séru značí negativní reakci (tj. nepřítomnost antigenů v kosti).

Schéma absorpčně inhibiční metody, vzorek obsahuje antigen A



Zpracováváný soubor vzorků a výsledek

Námi studovaný soubor zahrnoval 84 kosterních pozůstatků o stáří cca 4500 let z naleziště Hoštice I za Hanou, které byly uloženy v půdě.

Tyto kosti byly vyšetřeny absorpčně inhibiční metodou ve dvou modifikacích – při použití polyklonálních a monoklonálních diagnostik.

Za určené byly považovány pouze ty kostní vzorky, u kterých došlo ke shodě výsledků oběma metodami; příslušnost ke skupině O musela být potvrzena diagnostikem anti-H.

Takto bylo stanoveno 64 (tj. 76,2 %) kostních vzorků. Krevní skupinu A vykazovalo pět z nich, zbylých 59 vzorků vykazovalo příslušnost ke skupině O.