

Neutralizace (J09)

Sledujte www.medmicro.info!



- Autor prezentace: Ondřej Zahradníček
- Praktika z lékařské mikrobiologie (VLLM0421c)
- Kontakt
- 777 031 969 zahradnicek@fnusa.cz
- ICQ 242-234-100



Typy metod – opakování

- **Přímé metody:** detekce mikroba, jeho části nebo produktu. Mikroskopie, kultivace, biochemická identifikace, průkaz antigenu. **Pozitivita** = je jisté, že agens je NYNÍ přítomno.
- **Nepřímé metody:** detekce protilátek proti mikrobovi. **Pozitivita** = mikrob potkal hostitele v minulosti (nevíme, zda před týdny / měsíci / roky)



Antigen a protilátka – opakování

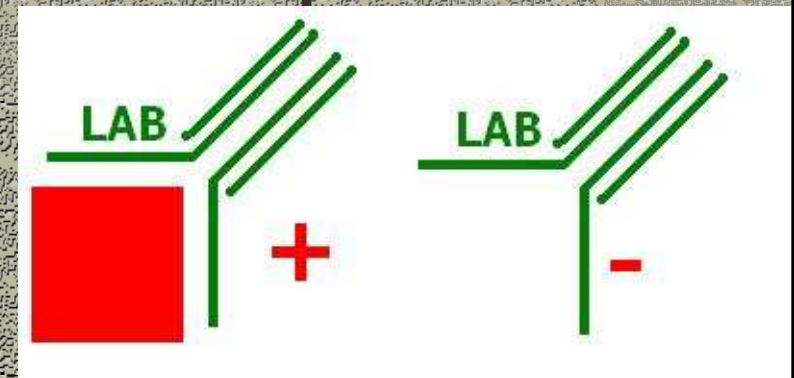
Antigen = makromolekula pocházející z cizího organismu: rostliny, mikroba, jiného živočicha. V mikrobiologii nás zajímají mikrobiální antigeny = části mikrobiálního těla, které vzbuzují v hostiteli antigenní odpověď

Protilátka = imunoglobulin, tvořený v těle hostitele jako odpověď na antigenní výzvu (samozřejmě nejen u člověka, ale i u zvířat)

Jak interakci využít – opakování

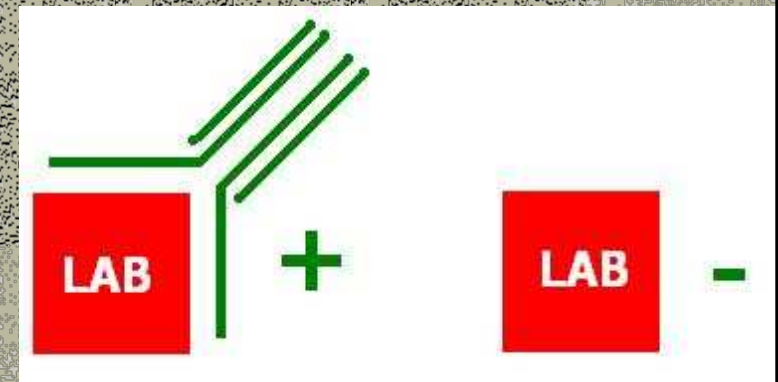
Průkaz antigenu: laboratorní protilátky (zvířecího původu) + vzorek pacienta nebo kmen mikroba.

Přímá metoda



Průkaz protilátky: laboratorní antigen (mikrobiální) + sérum (výjimečně sliny, likvor) pacienta

Nepřímá metoda





Interpretace – opakování

- **Průkaz antigenu** je přímá metoda.
Pozitivní výsledek znamená přítomnost mikroba v těle pacienta
- **Průkaz protilátek** je nepřímá metoda.
Jak odhadnout, kdy se mikrob s tělem pacienta setkal:
 - **Množství protilátek (titr) a zejména změna tohoto množství (dynamika titru)**
 - **Třída protilátek: IgM/IgG (více v J10)**
 - **(Avidita protilátek)**

Dynamika titru - interpretace změněné opakování



- **Serokonverze** je ideální případ, kdy první („akutní“) vzorek je odebrán ještě před nástupem protilátkové odpovědi. V tom případě stačí, když je druhý je pozitivní, bez ohledu na výši titru
- **Změna titru** se týká ostatních případů. U párových sér se za signifikantní považuje zpravidla čtyřnásobná změna (vzestup i pokles titru)



Párová a nepárová séra

opakování

- **Párová séra** = první vzorek je uchováván v ledničce, dokud nepřijde i druhý. Pak jsou oba hodnoceny naráz. **4násobný vzestup** se v tom případě má za signifikantní pro akutní infekci.
- **Séra nejsou párová** (druhý vzorek je vyšetřen zvlášť): zvětšuje se riziko náhodné chyby, proto zpravidla vyžadujeme **8násobný vzestup** titru



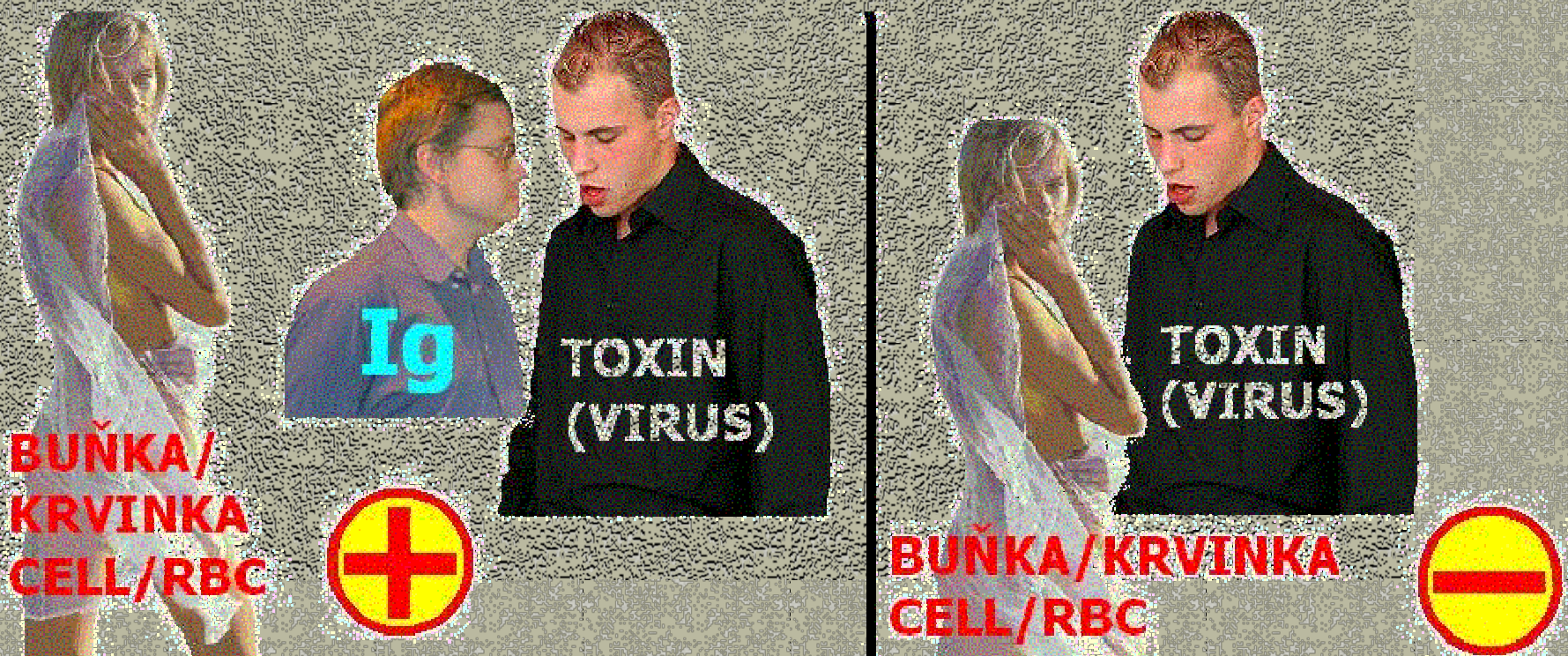
Neutralizační reakce: obecný princip

- Protilátky fungují několika způsoby. Jeden z nich je přímá neutralizace.
- Tento způsob se zřídka vidí u celých bakterií. Pozorujeme ho u virů nebo bakteriálních toxinů

*Nicméně někdy protilátky neutralizují i určitou charakteristiku celé bakterie, např. pohyblivost *Treponema pallidum* u tzv. Nelsonova testu (TPIT).*

Neutralizace schématicky

- Protilátka (Ig) brání efektu toxinu/viru na buňku / krvinku
- Příklad: ASLO (Toxin = streptolysin O, Ig = antistreptolysin O, krvinka)





Příklady neutralizačních reakcí

Úkol	Neutralizován	Objekt	Reakce
1	Toxin bakterie (hemolyzin)	Erytrocyt hemolýza	ASLO
2	Virus	Erytrocyt shlukování	HIT
3	Virus	Buňka efekt metabolický	VNT



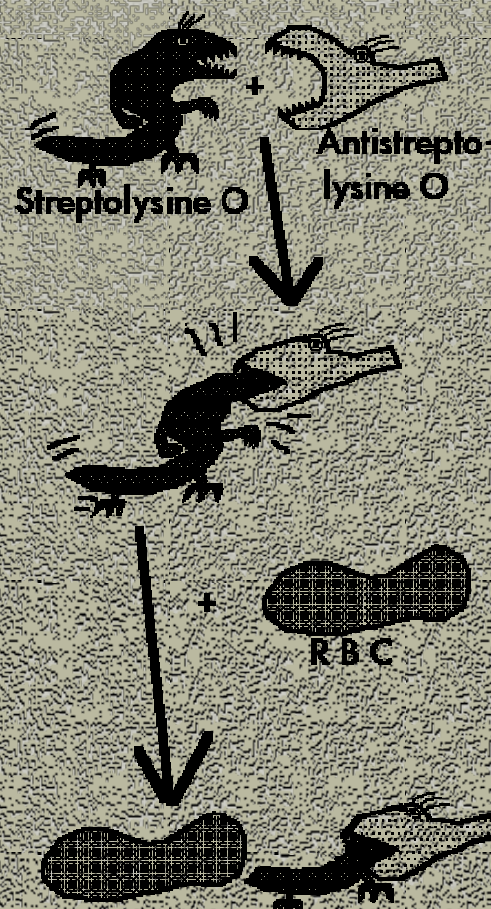
Úkol 1 ASLO: princip

Všimněte si, že v.angličtině se ASLO označuje jako ASO. Zrada je, že zkratka ASLO přitom také existuje a označuje stafylolyzin.

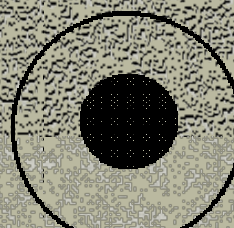
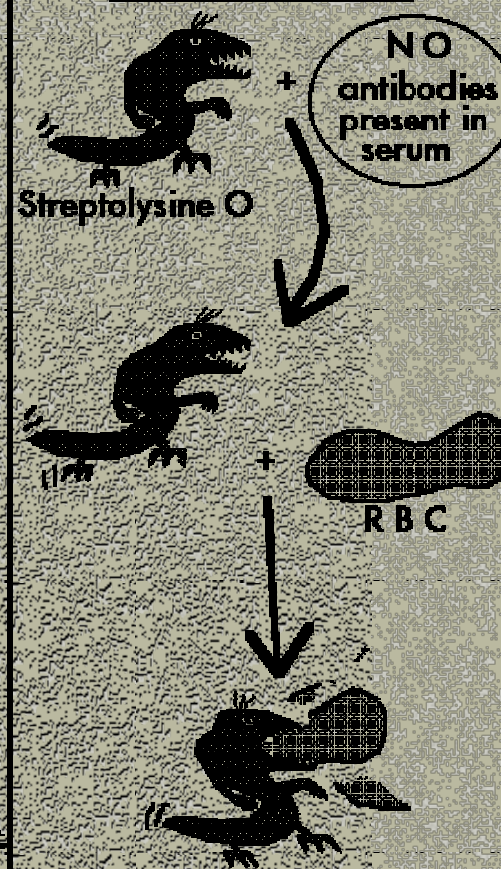
Detection of ASO

Anti Streptolysine O

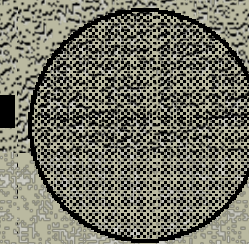
Positive reaction:




Negative reaction:



NO HAEMOLYSIS



HAEMOLYSIS



Úkol 1: ASLO

- Protilátka blokuje hemolytický efekt toxinu (streptolyzinu O) na krvinku.
- ASLO není nepřímý průkaz, přestože hledáme protilátky. Nepátráme tu po patogenovi, určujeme samotné protilátky, jež mohou být nebezpečné
- U ASLO neužíváme geometrickou řadu. Hodnoty ředění jsou na lístečku.
- Titr nad cca 250 znamená možnost autoimunitní odpovědi



ASLO – praktické poznámky


- Pozor! Věta o dvou řádcích a počátečním ředění 1 : 40 a 1 : 60 (viz protokol) NEPLATÍ. Ve skutečnosti má každý pacient jen jeden řádek, hodnoty ředění jsou uvedeny na lístečkách, které máte na stole.
- Panel se odečítá naležato. Obsahuje pozitivní kontrolu a sedm pacientů.



Postup ředění séra – ASLO

Hodnocení výsledků ASLO

jam ka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Hod nota ml	100	120	150	180	225	270	337	405	506	607	759	911




Úkol 2: HIT

- Hemaglutinačně Inhibiční Test
- Pozor, tohle NENÍ aglutinace, je to druh neutralizace!
- Protilátka neutralizuje virové shlukování krvinek (in vitro vlastnost většiny virů)
- **Úkol:** Odečtete výsledky HIT u klíšťové encefalitidy. Učiňte pravděpodobný závěr (akutní infekce? Pouze paměťové protilátky? a podobně)
- V prvním sloupci ředění 1 : 10



Zapamatujte si:

- HIT není aglutinace, ale neutralizace virového shlukování krvinek
- HIT se liší od reakce ASLO především tím, že krvinky nejsou hemolyzovány, ale shlukovány. Stejně je naopak to, že specifická protilátka dokáže příslušnému efektu zabránit
- HIT v úkolu 2 je „už zase“ klasický nepřímý průkaz (na rozdíl od ASLO)



Úkol 3: VNT (nepleťte si to s TNT ☺)

- Virus **N**utralizační **T**est
- **Buněčná kultura** bývá poškozena virem. Škodu můžeme pozorovat jako změnu barvy v důlku (pH se mění)
- Jsou-li přítomny **protilátky**, mohou tomuto vlivu na buňky zabránit
- V prvním sloupci je ředění 1 : 10
- V posledním sloupci jsou kontroly



Hezký
den!



Rád bych vás pozval opět do kabaretu POKUK, nejbližší POKUK se koná 24. dubna 2006 v 19.30 ve vinotéce U Karla na Starobrněnské 12.

Téma „Havěť, aneb Na svatého Jíří“