

Koncepce předmětu spec. imunolog. metody Bi 9250C, zimní semestr 2012
Časový rozpis blokového cvičení z předmětu Speciální cvičení z imunologie
18 studentů, 2h/2kredity

Pomůcky s sebou: Přezůvky a plášť, protokoly, svačina, kdo má malý foťák
V praktickém cvičení se budeme zabývat testy sledujícími aktivitu IS

- a) bezobratlých
- b) obratlovců

Metody: Odběr a zpracování krve (krevní diferenciál), hemolymfy; Imunodifúze - Ouchterlonyho modifikace; ELISA - stanovení přítomnosti protilátek proti B.b.s.l. (*Borrelia afzelii, garinii, sensu stricto*); Test aktivity lymfocytů; rychlá imunochromatografická metoda stanovení přítomnosti Ag nebo Ab; Test ALT (stanovení aktivity jaterního enzymu), Pozorování buněk hemolymfy (hemocyty hmyzu); Test aktivity fagocytózy pomocí fagocytovaných částic u hemocytů hmyzu; Průkaz přítomnosti antigenů erytrocytů ve slinách člověka – nepřímá hemaglutinace (HIT).

Termín: 5.2.-8.2. 013 od 8.30hod

Konjugát myši a lidský vyzkoušet, je v mražáku 2 polička naproti jídelní ledničky, Příprava Ag ultrazvukem a škrobových zrn

Koupit: tubulinky

Úterý 8:30

Instruktaž: ke cvičení toho dne **1. Imunodifúze, 2. krevní roztěr a příprava séra**

3. příprava destiček na ELISA

postupný odběr krve z prstu, ELISA - Et OH, promývání destiček, zjišťování konc. antigenu, ředění Ag, kalibrační křivka a napipetování na destičku; mezitím **imunodifúze**; v mezičase barvení roztěrů a krevní diferenciál; ruleta na imunochromatický test

Pomůcky:

ELISA: 6 destiček a dvě už hotové, Ag už sonifikovaný, albumin, činidla na kalibraci, vazebný roztok, lednička

Předání pokynů a protokolů na imunochromatografický test

Imunodifúze: pipety, skla na imunodifúzi, vlhké komůrky, nůžky

Odběr krve: rukavice, ependorfky, stojánek, skla na roztěr, desinfekce, jehly, souprava na barvení

Pipety, špičky, odpadní nádoba, stojánky, ependorfky, papírky na ruletu

Středa 8:30

Instruktaž: 1. imunochromatografické testy, 2. ALT test, 3. odběr hemolymfy z larev Zavíječe voskového, kultivace se škrobovými částicemi a sledování fagocytárních schopností hemolymfy

ELISA-pokračování: odstranění Ag a promytí, napipetování vazebného roztoku s kaseinem, inkubace s kaseinem, promytí destiček; v mezičase zpracování krve na sérum, imunochromatografické testy,

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

ALT: sérum, ELISA reader s filtrem 340 nm

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

Čtvrtek 8:30

Instruktaž: 1. Test aktivity lymfocytů. 2. Průkaz přítomnosti antigenů erytrocytů ve slinách člověka, v mezičase počítání krevní diferenciál,

Pozorování buněk hemolymfy (hemocyty hmyzu), barvení buněk -dokončení

Test aktivity fagocytózy pomocí škrobových zrn u fagocytů hmyzu, barvení buněk - dokončení

Pomůcky: Komerční séra (EXBIO Olomouc) anti-A (IgM) monoklonální, anti-B (IgM) monoklonální, lektin anti-H monoklonální; náplav diagnostických erytrocytů A,B,O; destičky s otvory, fyziologický roztok 0,85% (0,15 mmol/l) NaCl, vodní lázeň na 100 C°, vortex, stojánky na zkumavky, štítky, fixy.

Pátek 8:30

Instruktaž: 1. samotná ELISA

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 H₂SO₄, měření na ELISA-readeru, v mezičase: krevní diferenciál, FI, % fagocytózy.

Pomůcky:

ELISA: blokovací roztok, promývací roztok, promývačka, konjugát, substrátový roztok, substrát, H₂SO₄, ELISA-reader na 492 nm

Pipety, špičky, stojánky, ependorfky

Přehled metodik:

Odběr a zpracování krve, příprava séra, stanovení krevního diferenciálu

Imunodifúze - Ouchterlonyho modifikace

ELISA - stanovení přítomnosti protilátek proti B.b.s.l.

Test aktivity lymfocytů, ATP test

Test aktivity jaterních buněk, ALT test

Rychlý kvalitativní test pro stanovení přítomnosti RSV 5x

Rychlý kvalitativní test pro časně potvrzení těhotenství 2x

Rychlý kvalitativní test pro stanovení přítomnosti HIV viru 1x

Rychlá imunochromatografická metoda stanovení přítomnosti hemoglobinu ve stolici - individuální stanovení 2x

Rychlý test ze slin pro odhad hladiny alkoholu v krvi 2x

Rychlá imunochromatografická metoda stanovení *Chlamydia trachomatis* - individuální stanovení 5x

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)