

METODY FAGOCYTÓZY

- **vyšetření zahrnuje:**

■ *revní diferenciál* - % zastoupení LEU

■ *zolace LEU*

■ *stanovení funkce LEU*

4 skupiny testů na fagocytózu:

test na schopnost fagocytů odpovídat na chemotaktické stimuly /CHTS/

testy na sílu ADHEZE a INGESCE

testy na mikrobicidní aktivitu LEU

testy na metabolickou aktivitu LEU

test na schopnost fagocytů odpovídat na chemotaktické stimuly /CHTS/

test migrace pod agarózou - postup: nalití agaru na misku a vyřezání otvorů

plnění otvorů látkami

- kultivace, usmrcení BB, barvení
- odstranění agaru, mikroskopování

princip

CHEMOTAKTICKÝ STIMUL

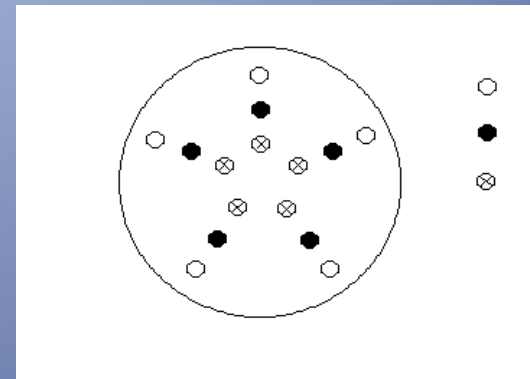
- vnitřní – produkty vlastních BB – komplement, imunokomplex, IL, prostaglandiny
- vnější – produkty ze stěn mikrobu – lipopolysacharid, GLP, manan

CHEMOTAKTICKÝ INDEX :

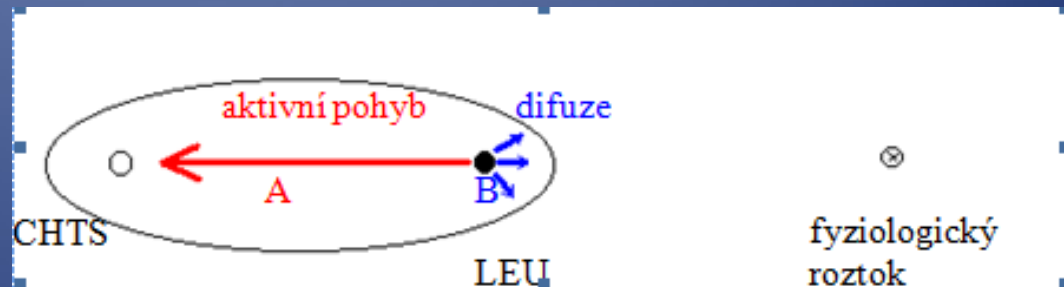
aktivní pohyb

difuze

CHI = A/B



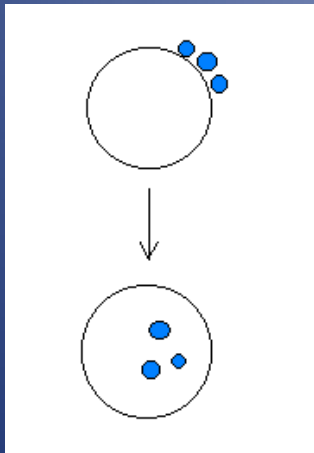
○ CHTS
● LEU
⊗ Fyziol. roztok



testy na sílu ADHEZE a INGESCE

A) test s metakrylátovými částicemi

LEU (popř. krev) + ⊙ MSHP /inertní metakrylátové částice/



na povrchové receptory fagocytu se naváží MSHP

necháme kultivovat, barvíme

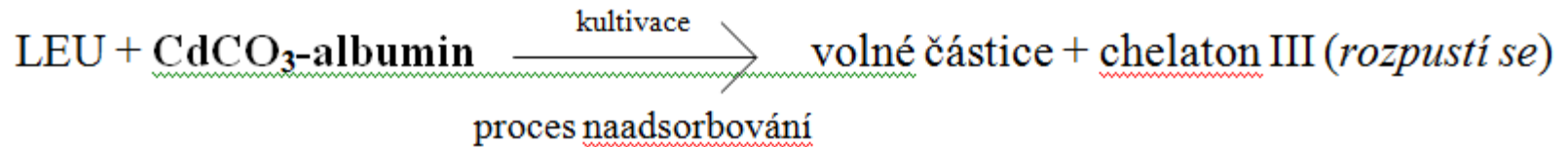
-počítá se: *fagocytární index (FI) a procenta fagocytózy (%F)*

FI = počet fagocytovaných částic na povrchu, uvnitř/

lomeno počtem *fagocytujících BB*

%F = počet *fagocytujících BB* / celkový počet *BB* x 100

B) test s kadmium-albuminovými částicemi



-počítá se: fagocytární index (FI) a procenta fagocytózy (%F)

FI = počet fagocytovaných částic na povrchu, uvnitř / lomeno počtem fagocytujících BB

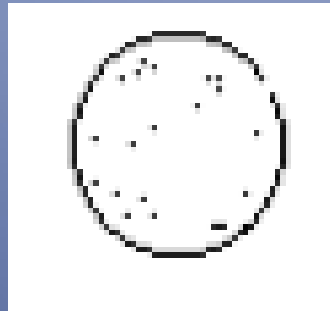
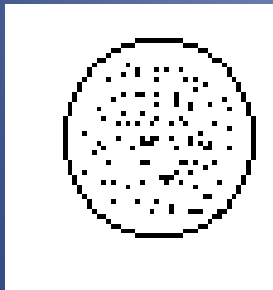
%F = počet fagocytujících BB / celkový počet BB x 100

• Testy na mikrobicidní aktivitu LEU

■ test na počet přeživších bakterií

• *kultivace*

LEU+ ⊙ *E. coli* $\xrightarrow{\text{kultivace}}$ úbytek bakterií



-hodnocení:

■ bakterie se vysejí na plotny
■ spektrofotometricky, úbytek zákalu

■ **KANDIDATIVNÍ test** – test na počet přeživších kvasinek

LEU+Candida \longrightarrow úbytek kvasinek, Trypanová modř - mn. přeživších buněk
mikroskop

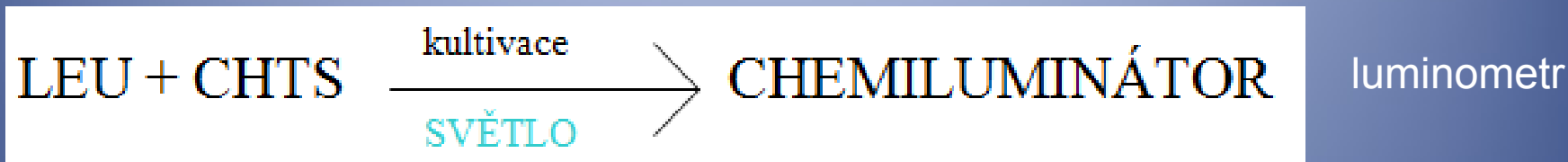
Testy na metabolickou aktivitu LEU, NBT test



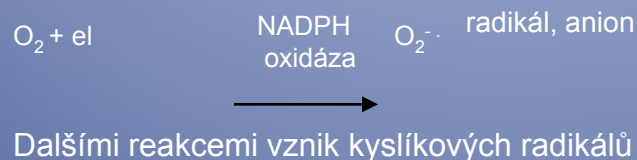
- hodnocení:** - pod vlivem CHTS při kultivaci dojde k **fagocytóze**, jejíž součástí je oxidativní vzplanutí
- Redukce vlivem oxidačních pochodů v buňce. **NBT nitroblue tetrazolium chlorid** bezbarvý se změní na *modrý formazán* – stanovení **SPEKTROFOTOMETREM**
 - Touto metodou se prokazuje hlavně schopnost fagocytů tvořit kyslíkové radikály aktivací NADPH oxidázy**

• CHEMILUMINISCENČNÍ test

- pro kvantitativní hodnocení oxidativního vzplanutí



plus
luminol



Vznikají elektronově excitované stavy, které emitují fotony. Emitované fotony zachycovány tzv. luminoforem (luminol, izoluminol nebo lucigenin), spontánní a aktivovaná CL (pomocí zymozanu), luminometr

VYUŽITÍ v praxi :

zjištění : ■ **nedostatečnosti** či **poruch** jednotlivých fází fagocytózy
■ **aktivity fagocytů** u pacientů s opakovanými infekcemi, opakovanou léčbou antibiotiky, nádorovým onemocněním, artritidou či revmatoidními onemocněními, při zátěžových situacích