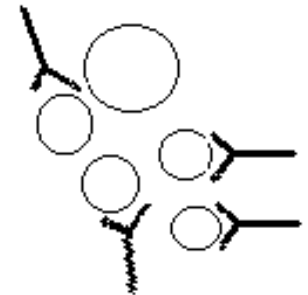


# Aglutinační metody

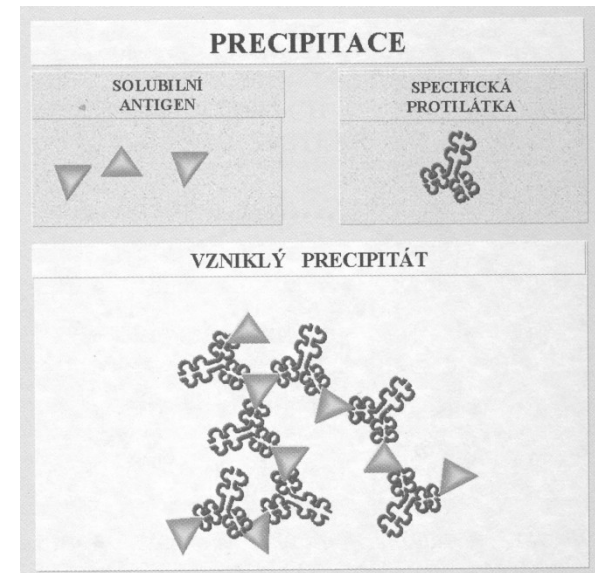
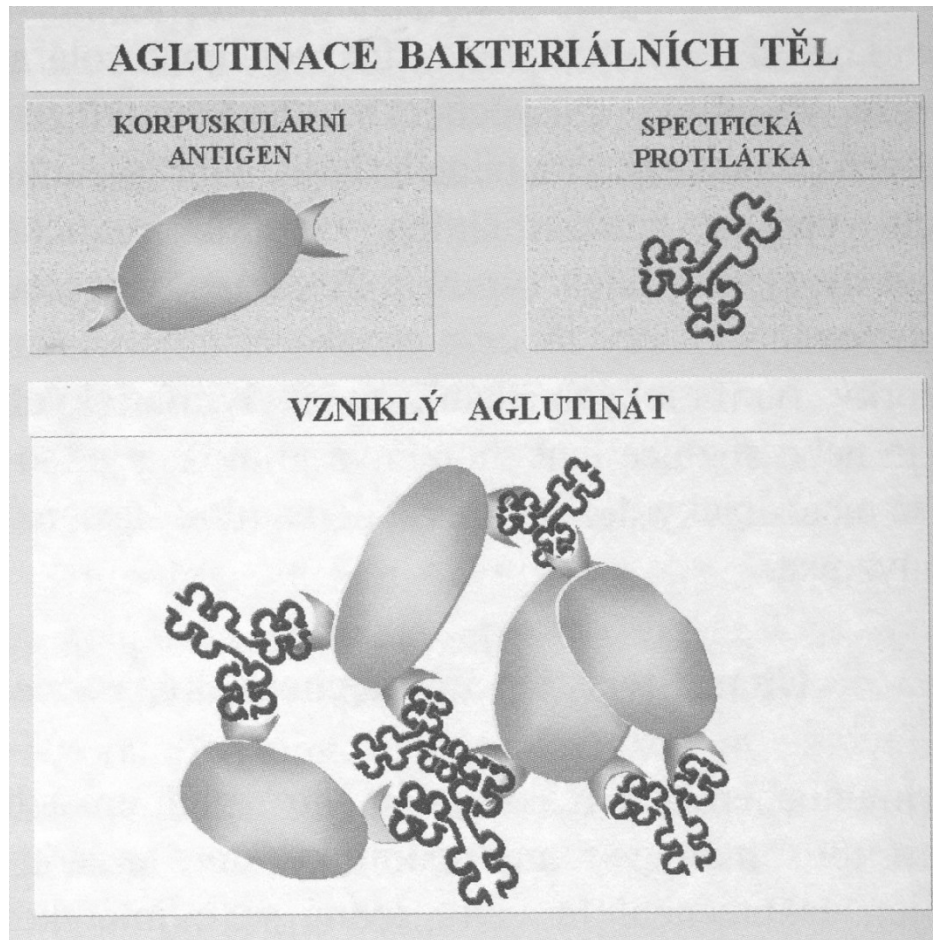
- $Ag + Ab \rightarrow Ag-Ab$
- *aglutinogen*                      *aglutinin*                      *aglutinát*
- korpuskulární-
- *princip* : **KORPUSKULÁRNÍ** / částicový / Ag
- při reakci dochází ke shlukování Ag a Ab na základě vytváření můstků  
- Ab mezi buňkami za vzniku shluků
- **přímá** – použití bakterií, buněk
- **nepřímá, pasivní** – na jejich povrch je Ag uměle navázán, *př.latex-fixační test, HIT*
- **Předpoklady ke vzniku vazeb:**
  1. dostatek Ab, 2. přítomnost Ab proti různým epitopům 3. vzdálenost mezi částicemi co největší 4. Ab funkčně jednovazebné nevytváří aglutinaci (IgA, IgE) – inkompletní Ab viz hemaglutinace
- - *hodnocení*: **kvalitativně** - odečtení okem
- **kvantitativně** : a, zjištěním *množství aglutinátu*
- b, zjištěním *množství Ag* v aglutinátu či supernatantu



# Aglutinace

- *využití* : ke stanovení **Ag, Ab, H** (viz precipitační metody)
  1. K určování izolovaných bakteriálních kmenů
  2. K průkazu Ab proti patogenům –Widalova reakce – průkaz tyfu, paratyfu, Weil-Felixova – skvrnitého tyfu, Ab proti *Francisella tularensis*
  3. K Průkazu Treponema p., EBV - mononukleóza
  3. Nepřímá - k průkazu auto Ab proti štítné žláze, Ab proti autoAg –

## Rozdíl mezi aglutinací a precipitací

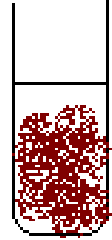


- *Tyfus* - *Salmonella typhimurium*
- *Paratyfus* - *Salmonella paratyphi A,B,C*  
podobné příznaky jako tyfus
- *Skvrnitý tyfus*, blechy, veš šatní, klíště -  
*Rickettsia prowazekii* - *Proteus vulgaris*,  
horečka, třesavka, vyrážka
- *Adenovirus*, *Rotavirus* *gastrointestinální*  
*infekce*

## **Latexová aglutinace, latex-fixační test**

- **rychlé kvalitativní stanovení**
- **Ag nebo Ab imobilizován na latexových kuličkách**
- **Stanovení Ab proti IgG – revmatoidní faktor**
- **Průkaz patogenních Antigenů (Helicobacter pylori, Adeno- a Rotavirus)**

# Hemaglutinační



- Ag + **Ab** → Ag-Ab
- *hemaglutinogen*    *hemaglutin*    *hemaglutinát*
- - savčí krvinky (i části)
- - dochází ke **shlukování krvinek**, vlivem komplementu či virové částice pak dochází k **LYZI**.

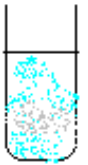
Ke zviditelnění aglutinačních reakcí při použití inkompletních Ab je možno použít **a)** aglutinaci v bílkovinném prostředí **b)** v prostředí s proteolytickými enzymy **c)** použitím antiglobulinového Coombsova séra - králičí ab proti lidským Ig

# Hemaglutinace

- **využití:** K zjišťování krevních skupin a průkaz Ab proti krevním elementům. **Přímý Coombsův test** – k průkazu navázaných antierytrocytárních Ab, reakce pacientových ery s Coombsovým antisérem, přítomnost navázaných Ab se projeví hemaglutinátem
- **Nepřímý Coombsův test** – k průkazu cirkulujících antierytrocytárních Ab
  - 1. fáze, pacientovo sérum s ery od dárce, navázání Ab pokud jsou přítomny, vymytí, přidání Coomsova séra, které způsobí aglutinaci
  - při 2 reakcích:
    - \* **KFR** – *komplement fixační reakce*
    - \* **HIT** – *hemaglutinačně inhibiční test* :

# HIT

- Patří také mezi metody serologické, založené na inhibici biologických účinků antigenů
  - HIT – pasivní hemaglutinace
  - Vycházíme ze skutečnosti, že viry (některé bakterie atd) mají schopnost se spontánně absorbovat na červené krvinky (rozpustný Ag). Ery pak aglutinují – shlukují se jen v přítomnosti specifické Ab
  - **odpovídá-li** protilátka Ag, po přidání obalených ERY Ag se Ag vyváže a vznikne **HEMAGLUTINÁT**
- Ab + Ag - Ery → **hemaglutinát, proběhne hemaglutinace**





# HIT

**neodpovídá-li** protilátka virovému Ag, nedojde k hemaglutinaci

- situace, kdy přidáme stejný Ag do reakce
  - $Ab + Ag - Ery \rightarrow \text{hemaglutinát} + \text{stejný Ag} \rightarrow Ag - Ab$   
 $+ Ag - Ery \rightarrow \text{inhibice hemaglutinace}$
  - *Metodou inhibice pasivní hemaglutinace lze dokázat velmi malé mn. rozpustného Ag nebo H (metoda je velmi citlivá)*  
*pro vyhodnocení můžeme použít i optické metody*
- Využití:** Průkaz Ab proti patogen. Ag jako *Candida Albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Treponema pallidum*