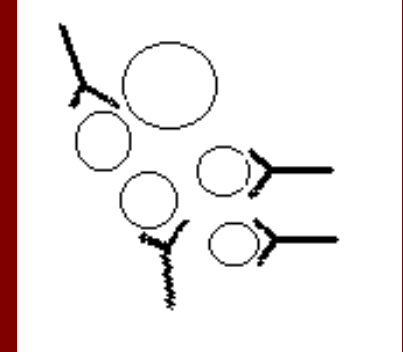


# Aglutinační metody



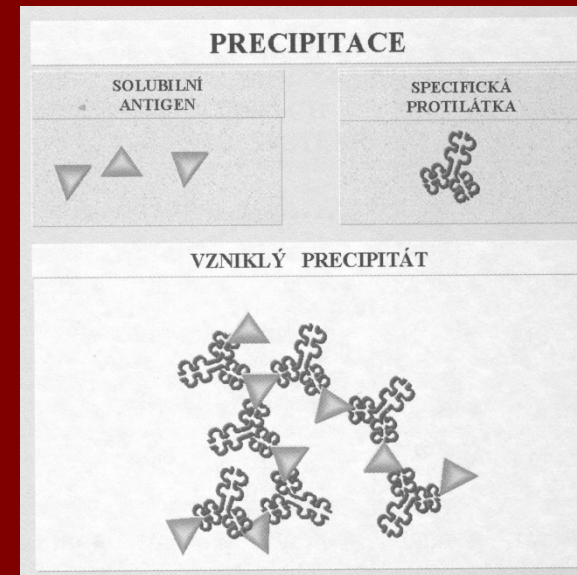
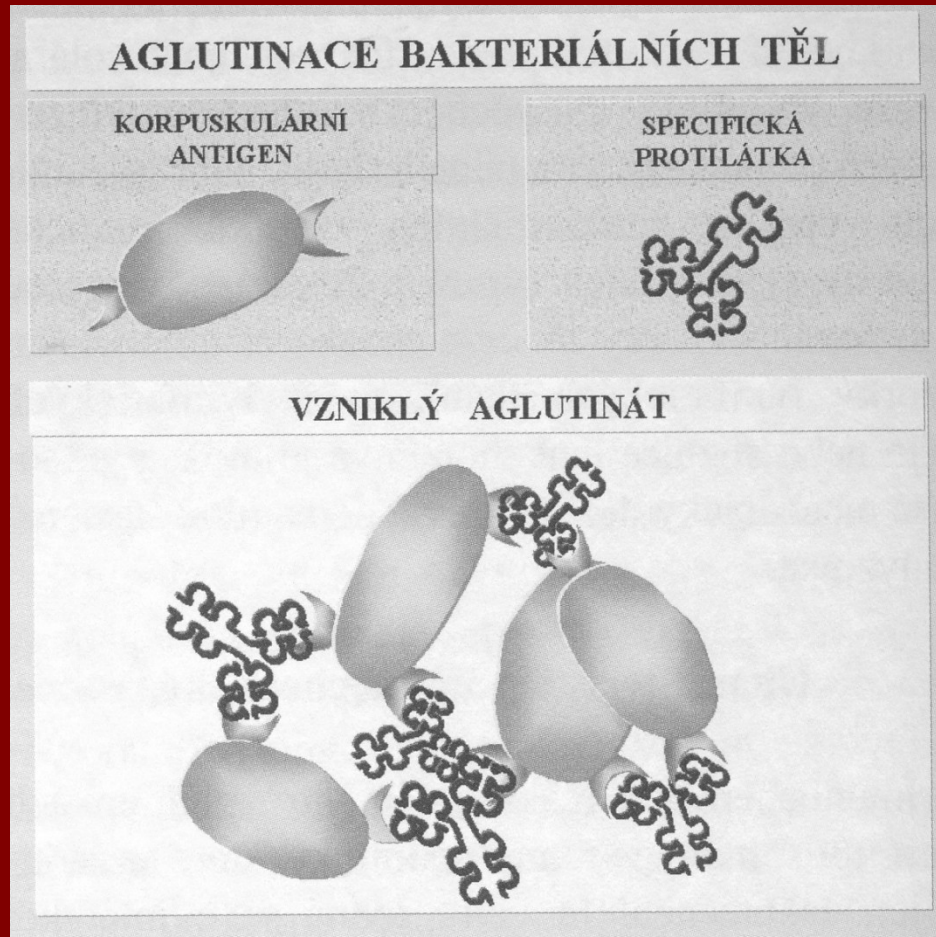
- Ag + Ab → Ag-Ab
- *aglutinogen*                      *aglutinin*                      *aglutinát*

- **princip : KORPUSKULÁRNÍ** / částicový / Ag,
- solubilní je vázán na částice
- 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 mono, IgE, IgG) – inkompletní Ab viz hemaglutinace

# 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** (*Salmonella typhi*), **paratyfu** (*Salmonella paratyphi*) A,B,C, **Weil-Felixova** – skvrnitého tyfu (*Rickettsia prowazekii*) *Proteus vulgaris*, Ab proti *Francisella tularensis*,
  3. K průkazu *Treponema* p., EBV – mononukleóza, brucelózy, listeriózy
  4. Nepřímá - Ab proti autoAg, př. k průkazu auto Ab proti štítné žláze

## Rozdíl mezi aglutinací a precipitací



**Hodnocení aglutinace:**  
kvalitativně - odečtení  
okem

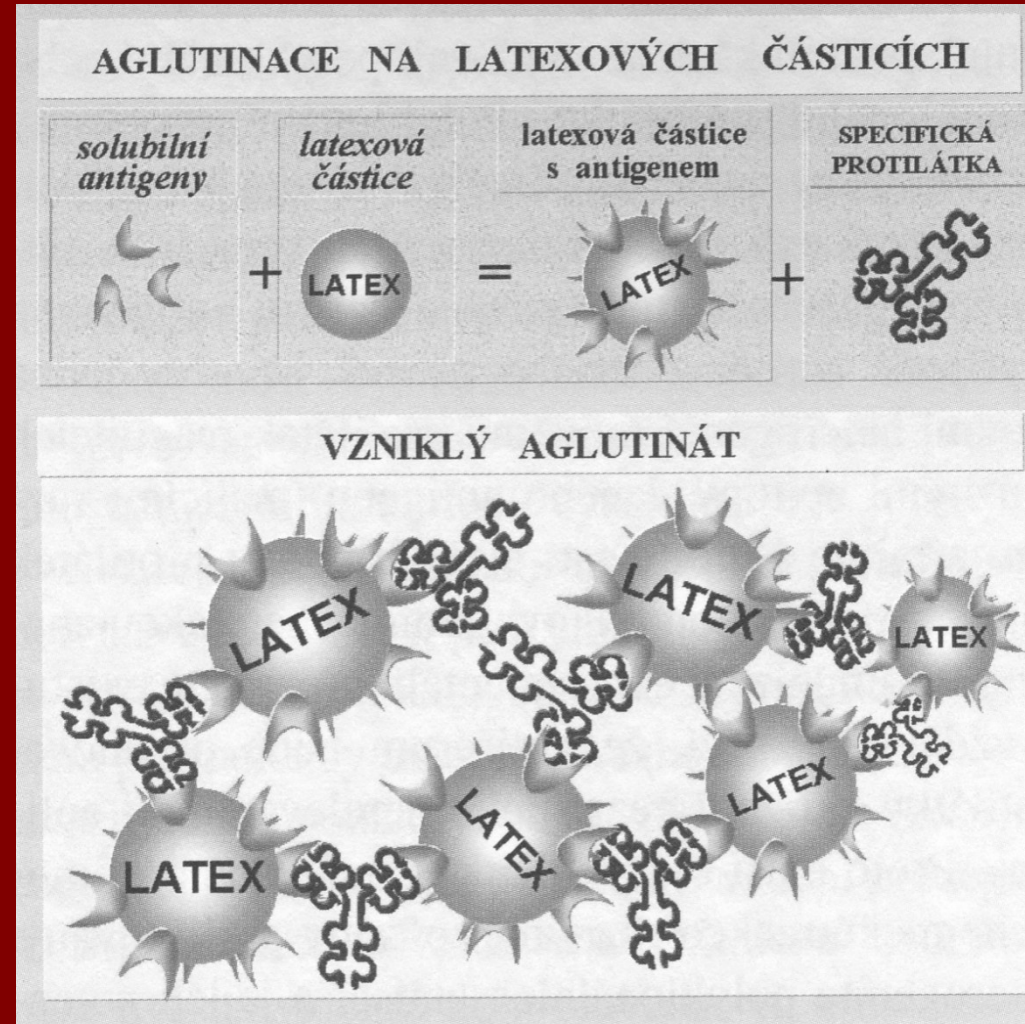
**kvantitativně :**

- zjištěním **množství aglutinátu**
- zjištěním **množství Ag** v aglutinátu či supernatantu

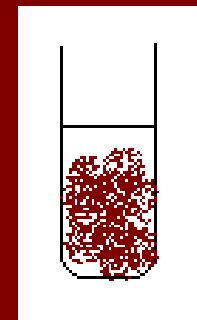
## **Latexová aglutinace, latex-fixační test**

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

# Latexová aglutinace, latex-fixační test



# Hemaglutinační



- $Ag + Ab \rightarrow Ag-Ab$
- *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

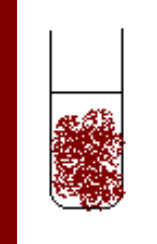
- a) aglutinaci v bílkovinném prostředí
- b) v prostředí s proteolytickými enzymy
- c) použitím antiglobulinového Coombsova séra - králičí ab proti lidským Ig

# 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
- Využití při 2 reakcích:
- **KFR** – *komplement fixační reakce*
- **HIT** – *hemaglutinačně inhibiční test* :

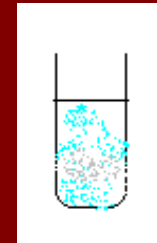
# HIT

- 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 (rozpuštěný Ag).
- Ery pak aglutinují – shlukují se jen v přítomnosti specifické Ab



■ **odpovídá-li** protilátka Ag, po přidání obalených ERY Antigenem se na Ag naváže a vznikne **HEMAGLUTINÁT**

Ab + Ag - Ery ■ **emaglutinát, proběhne hemaglutinace**





# HIT

**neodpovídá-li** protilátka virovému (bakteriálnímu) Ag,  
**nedojde k hemaglutinaci**

- situace, kdy přidáme stejný Ag do reakce
- Ab + Ag - Ery  **hemaglutinát** + stejný Ag   
Ag -Ab + Ag - Ery  **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 patogenní Ag jako *Candida Albicans, Aspergillus fumigatus, Treponema pallidum*