

Koncepce předmětu spec. imunolog. metody Bi 9250C, zimní semestr 2018
Časový rozpis blokového cvičení z předmětu Speciální cvičení z imunologie
14 studentů, 2h/2kredity

Pomůcky s sebou: přezůvky a plášť, protokoly, mobil na focení, flešku, svačinu
V praktickém cvičení se budeme zabývat testy následujícími metodami aktivity IS

- a) bezobratlých
- b) obratlovců

Metody: odběr a zpracování krve (krevní diferenciál), odběr hemolymfy; ELISA – 1. stanovení přítomnosti protilátek proti B.b.s.l. (*Borrelia afzelii, garinii, sensu stricto*), stanovení přítomnosti protilátek proti COVID-19; Test aktivity a cytotoxicity lymfocytů; rychlá imunochromatografická metoda stanovení přítomnosti Ag nebo Ab; test (stanovení aktivity jaterního enzymu); pozorování buněk hemolymfy (hemocyty hmyzu); test aktivity fagocytózy pomocí fagocytovaných částic u hemocytů hmyzu; izolace slinných žláz z klíštěte, příprava preparátu roztěrem střev klíštěte; průkaz přítomnosti antigenů erytrocytů ve slinách člověka – nepřímá hemaglutinace (metoda HIT).

Termín: út.-pá. 11. – 14.5. od 8.30hod do cca 15-16hod

út 8:30

Instruktaž: ke cvičení toho dne **1. krevní roztěr, barvení a příprava séra 2. příprava destiček na ELISA, chystání antigenu na destičky 3. stanovení ALT 4. imunochromatograf. test HIV, losování na další testy.**

postupný odběr krve z prstu, ELISA - Et OH, promývání destiček, zjišťování konc. antigenu, ředění Ag, kalibrační křivka a napipetování na destičku; v mezičase barvení roztěrů a krevní diferenciál; stanovení ALT, losování na imunochromatografický test, zpracování krve na sérum

Pomůcky:

ELISA: připravené A volné destičky, Ag už sonifikovaný, albumin, činidla na kalibraci, vazebný roztok, lednička, et-OH

Předání pokynů a protokolů na imunochromatografický test- ruleta

ALT: sérum, ELISA reader s filtrem 340 nm, epiny, destičku

Odběr krve: rukavice, stojánek, skla na roztěr, desinfekce, jehly, souprava na barvení-Leukodif, pipety, špičky, odpadní nádoba, stojánky, ependorfky, papírky na losování

st 8:30

Instruktaž: 1. imunochromatografické testy 2. Test aktivity lymfocytů 3. odběr hemolymfy z larev Zavíječe voskového, kultivace se škrobovými částicemi a sledování fagocytárních schopností hemolymfy, barvení skel a prohlížení hemocytů pod mikroskopem, počítání FI a % F, krevní diferenciál; 4. Izolace slinných žláz z klíštěte, příprava preparátu ze střev klíštěte 5. úprava destiček na ELISA -pokračování: odstranění Ag a promytí, napipetování vazebného roztoku s kaseinem, inkubace s kaseinem, promytí destiček;

Pomůcky:

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.

ELISA: blokovací-vazebný roztok s kaseinem, promývací roztok, promývačka

čt 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 diferencíál, FI, % fagocytózy.

Pomůcky:

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

Pipety, špičky, stojánky, ependorfky

Pomůcky: Komerční diagnostika (EXBIO Olomouc) anti-A (IgM) monoklonální, anti-B (IgM) monoklonální, anti-H monoklonální; náplav diagnostických erytrocytů A, B, 0; bromelin, pufovaný fyziologický roztok 0,85% (0,15 mmol/l) NaCl, destičky na odečítání výsledků, vodní lázeň na 100 C°, centrifuga, zkumavky, stojánky na zkumavky, pipety, špičky, rukavice, roztok ajatinu, nádoby na odpad, fixy.

pá 8:30

Instruktaž – metoda HIT

1. metoda HIT - průkaz přítomnosti antigenů krevního systému AB0 ve slinách člověka, 2. dokončení všech metod, kontrola protokolů

Přehled metodik:

Odběr a zpracování krve, příprava séra, stanovení krevního diferencíálu

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

ELISA - stanovení přítomnosti protilátek proti COVID-19

Turbidimetrické stanovení přítomnosti enzymu ALT

Test aktivity a cytotoxicity lymfocytů, ATP test

Test aktivity jaterních buněk, ALT test

Pozorování buněk hemolymfy (hemocyty hmyzu), barvení buněk

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

Izolace slinných žláz z klíštěte, příprava preparátu ze střev klíštěte

Průkaz přítomnosti antigenů erytrocytů ve slinách člověka (HIT)

Rychlý kvalitativní test pro stanovení přítomnosti HIV viru

Dále výběr z dalších testů

Rychlá imunochromatografická metoda stanovení přítomnosti hemoglobinu ve stolici - individuální stanovení

Rychlá imunochromatografická metoda stanovení přítomnosti Helicobacter pylori ve stolici

Rychlý test pro stanovení Streptococcus A (pyogenes) ve stěru hrdla

Rychlý test pro stanovení Streptococcus pneumoniae v moči