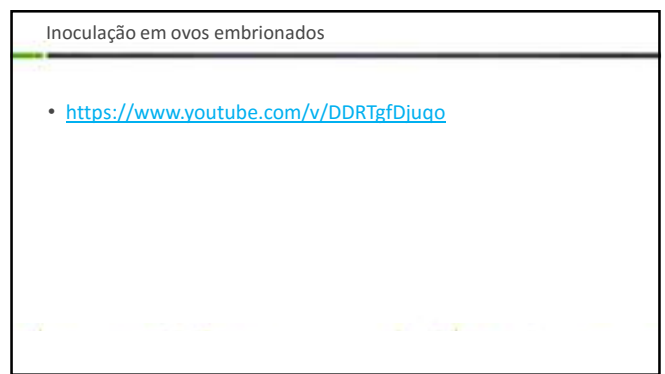
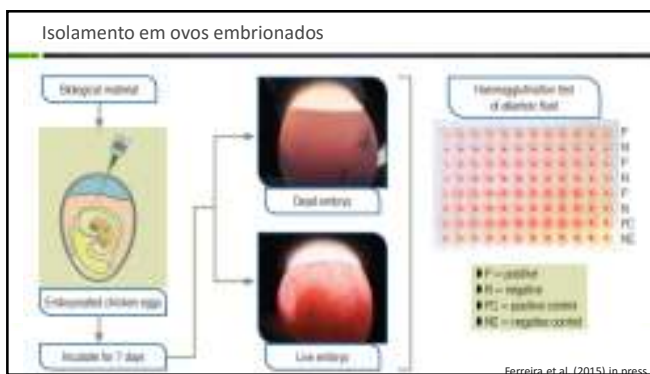
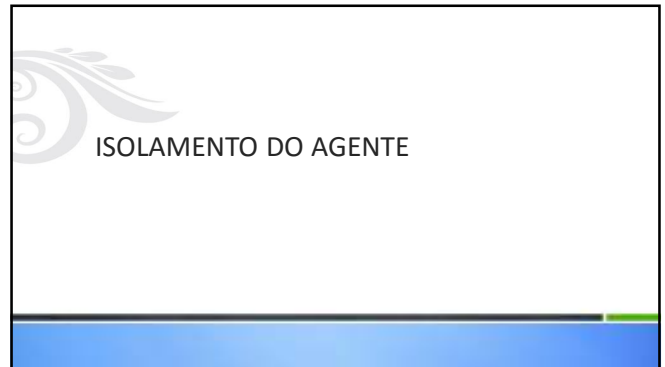


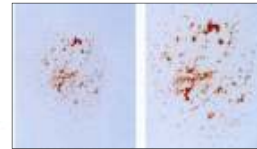


OBJETIVO AULA PRÁTICA 1- Teste de HA

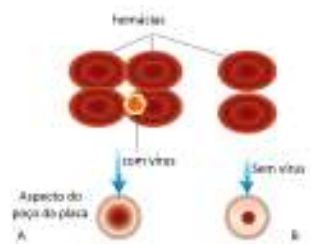
- Identificar agente hemaglutinante.
- Quais?
 - *Mycoplasma sp*
 - *Avibacterium paragallinarum*
 - Paramixovírus (PMVs) (exceto metapneumovírus)
 - Orthomixovírus (Influenza)
 - Vírus Síndrome da Queda de Postura (EDS)
 - Vírus da Bronquite Infecciosa (IBV)
 - Após tratamento com neuraminidase

Princípio

- Agente infeccioso capaz de hemaglutinar hemácias
 - Agente diluído na base 2 + hemácias



Teste de HA



Teste de HA

25uL

DESCARTAR

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	
A	Z1											
B												V

25uL de PBS +
25uL de antígeno

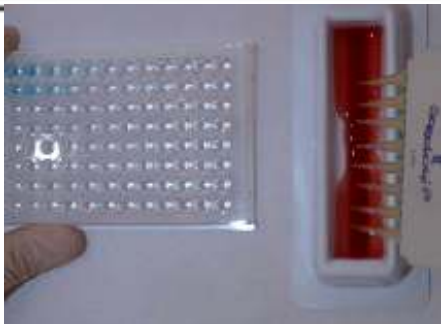
Diluição



Preparando as hemácias



Adicionando as hemácias...



Interpretação do teste

- Se houver hemaglutinação, o material é considerado **positivo**.
- A hemaglutinação positiva não depende da diluição máxima.
- O título hemaglutinante (definido em UHA) corresponde ao valor inverso da maior diluição resultante da aglutinação total das hemácias.
 - Qual o título da sua amostra suspeita?
 - Exemplo: Hemaglutinação positiva até diluição 1/128, ou seja, título= 128UHA Qual a diluição que conterá 4 UHA/25μl ?
 - Título/4. Exemplo: 128/4= 32. Assim, diluição 1/32. Para realizá-la deve-se adicionar 1mL do agente + 31 mL de diluente

Teste de Inibição da hemaglutinação (HI)

Duas Aplicações

Identificar o agente suspeito

Exemplo:
Confirmação de infecção

Identificar presença de anticorpos

Exemplo: Avaliação da eficácia vacinal ou presença de infecção (sorologia pareada)

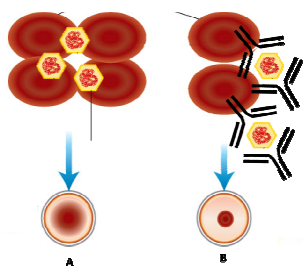
Princípio HI

Antígeno a 4UHA + Anticorpo diluído

Incubação por 30 min a TA

Adição de hemácias

Imagem inversa à imagem do HA



Interpretação do teste



Interpretação do teste

- A título HI (UIHA) de um soro é o valor inverso da última diluição da completa inibição da hemaglutinação.
 - Ex: última diluição 1/128. Título em UIHA é 128
- Valores acima de ≥ 16 UIHA são considerados positivos.
- Controles precisam estar ótimos

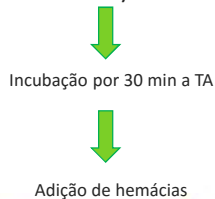
Teste de Inibição da hemaglutinação (HI)

1ª Aplicação

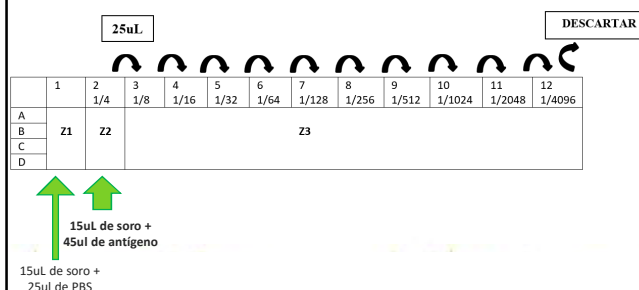
Identificar o agente suspeito
Exemplo: Confirmação de infecção

Princípio HI -> Identificação de Antígeno

Antígeno a 4UHA desconhecido + Anticorpo diluído conhecido
(soros de referência. Exemplo: soros anti-influenza, anti-NDV)



Desenvolvendo a prática 2- Identificação do agente



Interpretação do teste

- Qual o título, definido em UIHA, dos soros:
 - Soro A:
 - Soro B:
 - Soro C:
 - Soro D:
- Controle de Hemácias:
- Controle de Antígeno:
- Com esse resultado, qual seria o possível agente de envolvido:

Teste de Inibição da hemaglutinação (HI)

2ª Aplicação

Identificar presença e títulos de anticorpos
Exemplo: Avaliação da eficácia vacinal ou presença de infecção (sorologia pareada)

Princípio HI -> Identificação da presença e título de anticorpos

Antígeno **referência** a 4UHA conhecido (exemplo: NDV) +
Anticorpo diluído desconhecido



Incubação por 30 min a TA



Adição de hemácias

Identificação do título de anticorpos por sorologia pareada

25uL

DESCARTAR

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
B	Z1	Z2	Z3									



15uL de soro +
45uL de antígeno

15uL de soro +
25uL de PBS

Interpretação do teste

- Qual o título, definido em UIHA, dos soros:
 - Soro A: Soro coletado no dia do início dos sinais clínicos
 - Soro B: Soro coletado 21 dias após a suspeita clínica
- Controle de Hemácias: sedimentou?
- Controle de Antígeno: Aglutinou?
- Com esse resultado, é possível determinar se houve infecção:
 - Observação: A infecção é determinada pelo aumento do título de anticorpos após 21 dias