

# Nötralizasyon Testi

Dersi Veren Öğretim Üyeleri	Öğretim Elemanları
Prof.Dr. Yılmaz AKÇA	Araş.Gör.Dr.Zeynep AKKUTAY YOLDAR
Prof.Dr. Feray ALKAN	Araş.Gör.Dr. İlke KARAYEL HACIOĞLU
Prof.Dr. Aykut ÖZKUL	Araş.Gör. Nüvit COŞKUN
Prof.Dr. Seval BİLGE DAĞALP	Araş.Gör. Fırat DOĞAN
Prof.Dr. M.Taner KARAOĞLU	Araş.Gör. B.Taylan KOÇ
Prof.Dr. T.Çiğdem OĞUZOĞLU	

# Bir Virus Enfeksiyonunun Teşhisi

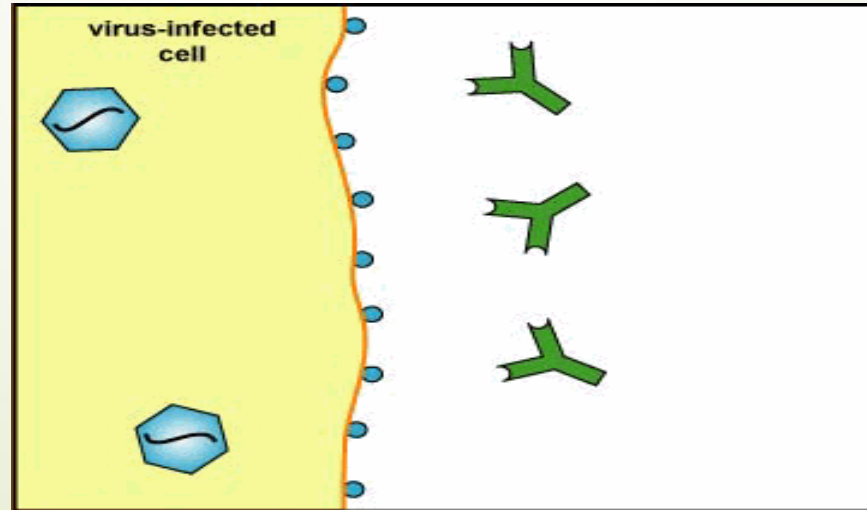
- **Direkt** - İzolasyon,  
Antijen tespiti (EM)  
Genom tespiti


Virolojik

- **İndirekt** - Antikor yanıtın tespiti

Serolojik

**Nötralizasyon tanım:** Enfeksiyon meydana getirme gücüne sahip olan bir virusun, in vivo ve in vitro sistemlerde homologu olan antikolar tarafından enfeksiyözitesinin bloke edilmesidir.



- 
- **Pozitif serum**
  - **Negatif serum**
  - **Hiperimmun serum**
  - **Tip spesifik serum**
  - **Poliklonal antikor**
  - **Monoklonal antikor**

# NÖTRALİZASYON

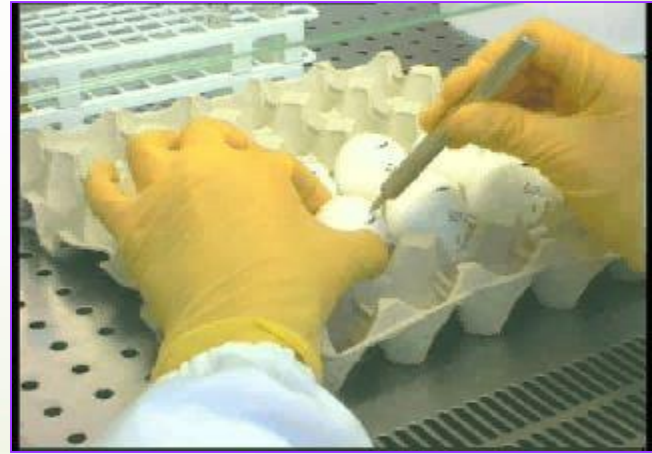
Konakçı sistemlere göre

- İn vivo
- İn vitro
- İn vitro ise :
- Uygulama hacmine göre
  - Makronötralizasyon
  - Mikronötralizasyon
- Uygulama tekniğine göre
  - Virus Nötralizasyon (Şüpheli serum)
  - Serum Nötralizasyon (Şüpheli virüs)

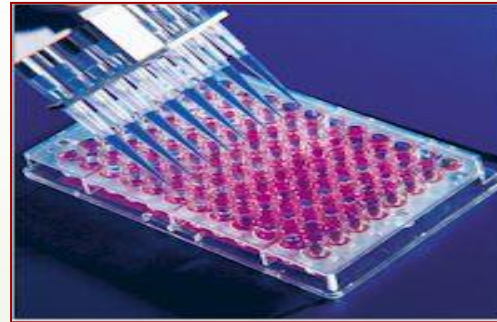
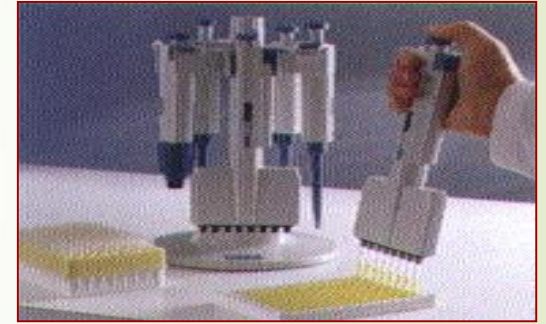
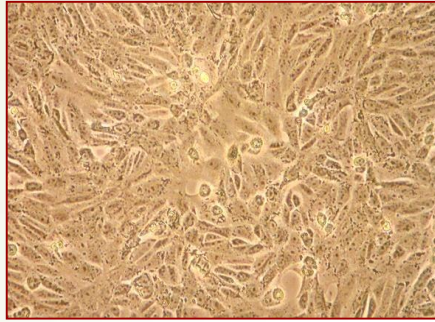
# NÖTRALİZASYON

Konakçı sistemlere göre nötralizasyon 2 şekilde yapılabilir:

## 1- İnvivo nötralizasyon



## 2- Invitro nötralizasyon

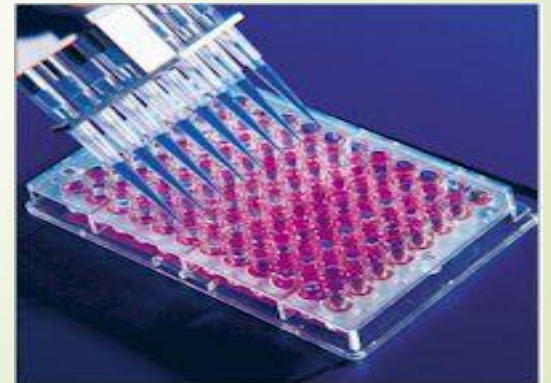


# İnvitro nötralizasyon

## Mikronötralizasyon

I- Serum sulandırma metodu. (şüpheli serum, bilinen virus)

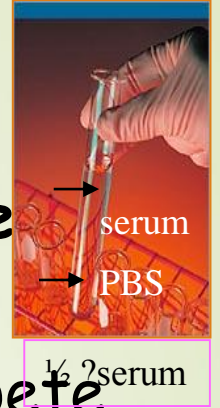
II- Virus sulandırma metodu. (Şüpheli virus, bilinen serum)





# Mikronötralizasyon

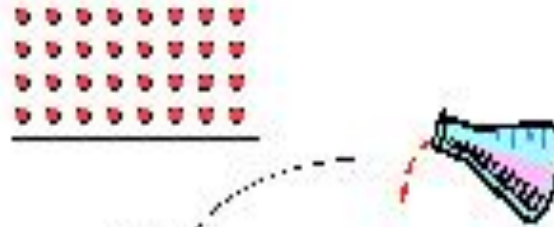
**Serum sulandırma metodu. (şüpheli serum, bilinen virus)**



- 1-1ml PBS ve 1 ml şüpheli serum alınır karıştırıp pipete edilir.  $\frac{1}{2}$  oranında sulandırılmış serum mikropleytlere **0.05 ml** oranında aktarılır. Kontroller hazırlanır.
- 2-Üzerine eşit hacimde **100 DKID<sub>50</sub>** oranında sulandırılan bilinen virus konur.
- 3-Oda ısısında 2 veya 37 C etüvde 1 saat bekletilir.
- 4-Daha sonra tüm gözlemlere **300.000 hücre /ml** olarak hazırlanan hücre süspansiyonu **0.05** oranında damlatılır.
- 5-37C %5 CO2 etüve konularak mikroskopta gözlenir

Hücre K.: 0.1 ml serumlu Earle  
Virus K.: 0.05 ml virus+ 0.05 ml  
serumsuz Earle

Serial dilutions of test sera



Addition of virus



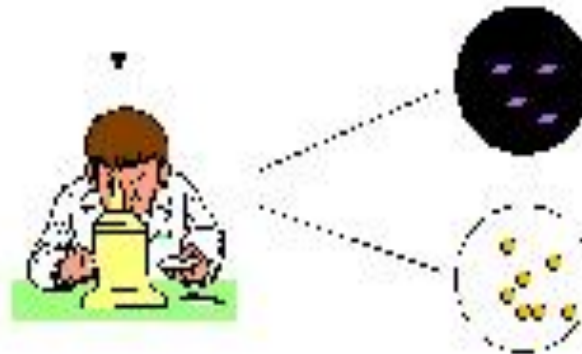
First incubation



Addition of cells

Second incubation

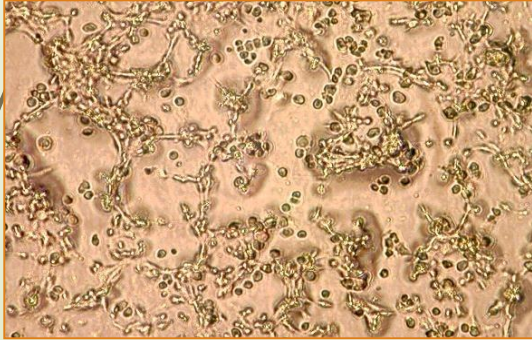
Plate reading



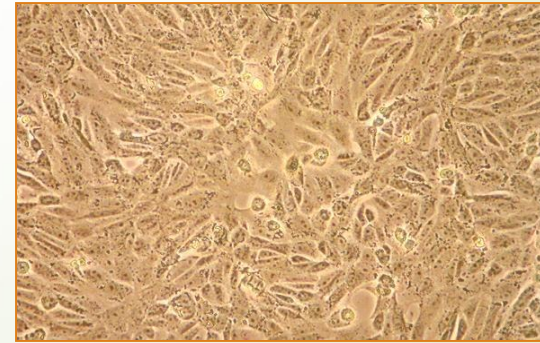


## Değerlendirme:

Şüpheli serum	CPE	Nötralizasyon
Çalışılan virus ab (+)	(-)	(+)
Çalışılan virus ab (-)	(+)	(-)



CPE(+) Nötralizasyon(-)



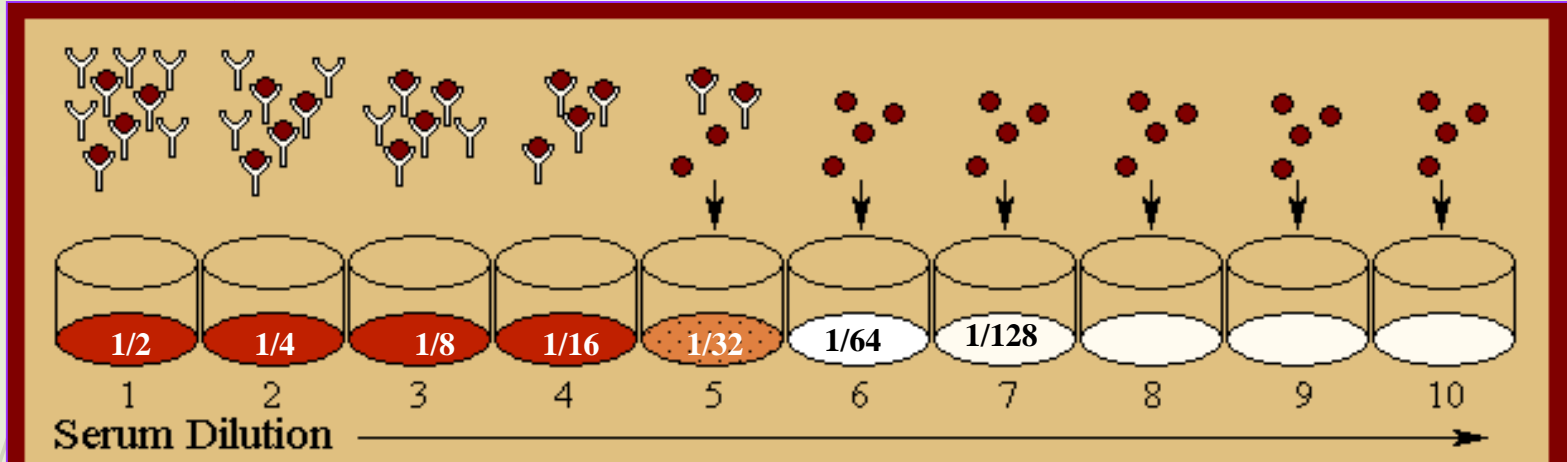
CPE(-) Nötralizasyon(+)

# Pozitif serumda SN<sub>50</sub> Tespiti

- **SN<sub>50</sub>** 100 DKID50 oranında sulandırılmış virusla enfekte edilen hücre kültürlerinin yarısında virus üremesini bloke eden serum sulandırmasıdır.

- 1- $\frac{1}{2}$  oranında sulandırılmış serum ilk 4 göze 0.1 ml oranında aktarılır. Diğer gözlere 0.05 ml PBS damlatılır. Ya da tüm gözlere 0.05 ml PBS koyduktan sonra ilk 4 göze 0.05 ml serum konur.
- 2-İlk gözden sulandırıcı (diluter) yardımıyla alınan 0.05 ml oranındaki serum diğer gözlere aktarılarak serumun log2 tabanına göre sulandırılması gerçekleştirilir.
- 3-100 DKID<sub>50</sub> oranında sulandırılan virus tüm gözlere 0.05 ml konur.
- 4-Oda ısısında 2 saat veya etüvde 1 saat bekletildikten sonra kontroller hazırlanır ve daha sonra tüm gözlere hücre süspansiyonu 0.05 ml oranında aktarılır. Sonrasında etüve kaldırılır ve mikroskop altında incelenir.

## Değerlendirme:



<u>serum sulandırmaları</u>	<u>CPE</u>	<u>Nötralizasyon</u>
1/2	0/4	+
1/4	0/4	+
1/8	0/4	+
1/16	0/4	+
1/32	2/4	+
1/64	4/4	-
HK	0/4	
VK	4/4	

## Nötralizasyonun Kullanım Alanları

- Epidemiyolojik kontrollerde
- Klinik enfeksiyonun teşhisinde
- Serolojik olarak eradikasyon amacıyla
- Karantina merkezlerinde
- Aşılama sonrası antikor tespitinde
- Virus izolatlarının identifiye edilmesinde



## **DERS KAYNAKLARI**

- 1. Genel Viroloji (Burgu I., Akça Y., 1999, Ankara)**
- 2. Genel Viroloji (Yesilbag K., 2010, Bursa)**
- 3. Veterinary Virology (Murphy ve ark., 1999), Academic Press**