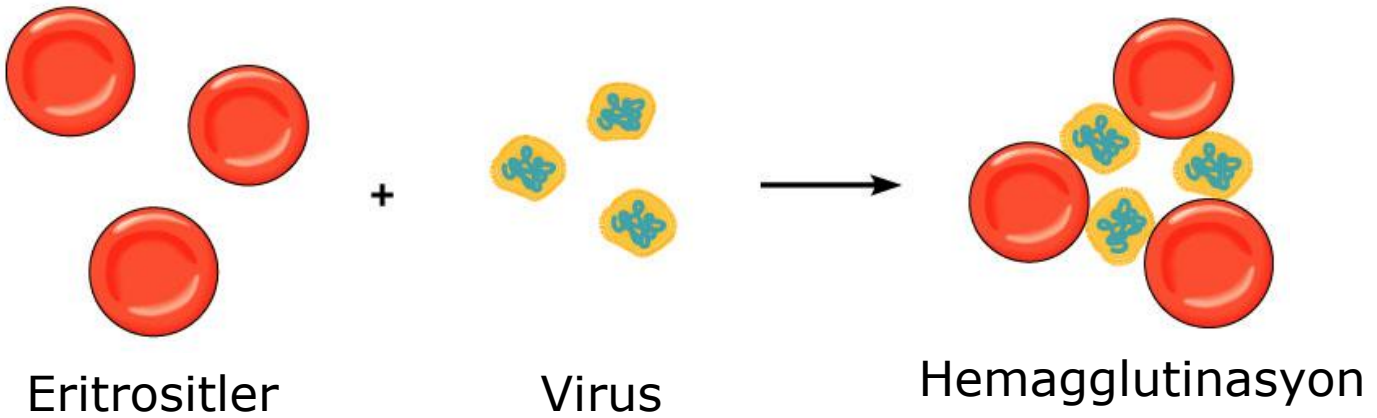


HEMAGLUTININASYON (HA)

TANIM

HA, bazı virusların süspansiyon halindeki eritrositleri birbirlerine yapıştırarak çöktürmesi olayıdır.



Temel prensip;

- Bazı viruslarda bulunan reseptörlerin (hemaglutinin) eritrositlere yapışma ve onları çöktürme özelliğindedir.
- Bu özelliği çoğunlukla zarlı viruslar (orthomyxo, pox, influenza, paramyxo gibi) sağlar.
- Bazı zarsız viruslar (parvovirus, adenovirus gibi) da hemaglutinasyon özelliği taşırlar.

HA- Eritrosit ilişkisi

Virusun hemaglutinasyon yeteneği eritrositlerin elde edildiği tür ile sınırlıdır.

Adenovirus → insan O grubu ve rat eritrositi,

RPV → maymun eritrositi,

NCV → tavuk eritrositi ile HA verir.

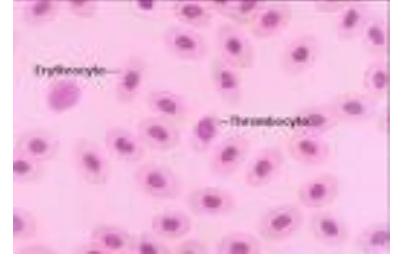
Eritrosit süspansiyonunun hazırlanması

- Antikoagulanlı tüpe alınan kan 2000 devirde 5-10 dakika santrifüj edilir.
- Santrifüj sonrasında tüpün dibine çöken eritrositler % 0.85'lik FTS veya PBS ile yıkanır.
- Yıkama işlemi 3 kez yapılır.
- Son yıkamadan sonra tüpün dibindeki eritrositler buzdolabında 1 hafta saklanabilir.
- Test'den önce FTS veya PBS ile %0.5 olacak şekilde sulandırılarak kullanılır.

Hemaglutinasyon testi 2 şekilde yapılabilir.

Çabuk (lam'da) HA

- Kalitatif değerlendirme yapılabilir.
- Virusun HA yeteneğinin olup olmadığını ve hangi türlere ait eritrositleri HA ettiği anlaşılabilir.
- Virusun HA titresini belirlemek mümkün değildir.



Yavaş (tüp'te) HA

- Kantitatif değerlendirme için uygundur.
- Virusun titresini belirlemek mümkündür.

Çabuk HA testinin uygulanması

Çabuk Hemaglutinasyon Testi



Lam üzerine birer damla Antijen ve Eritrosit konularak, baget yardımıyla karıştırılır.



Negatif



Pozitif

Değerlendirme

Eritrositte kümeleşme

(+)

(-)

HA

(+)

(-)

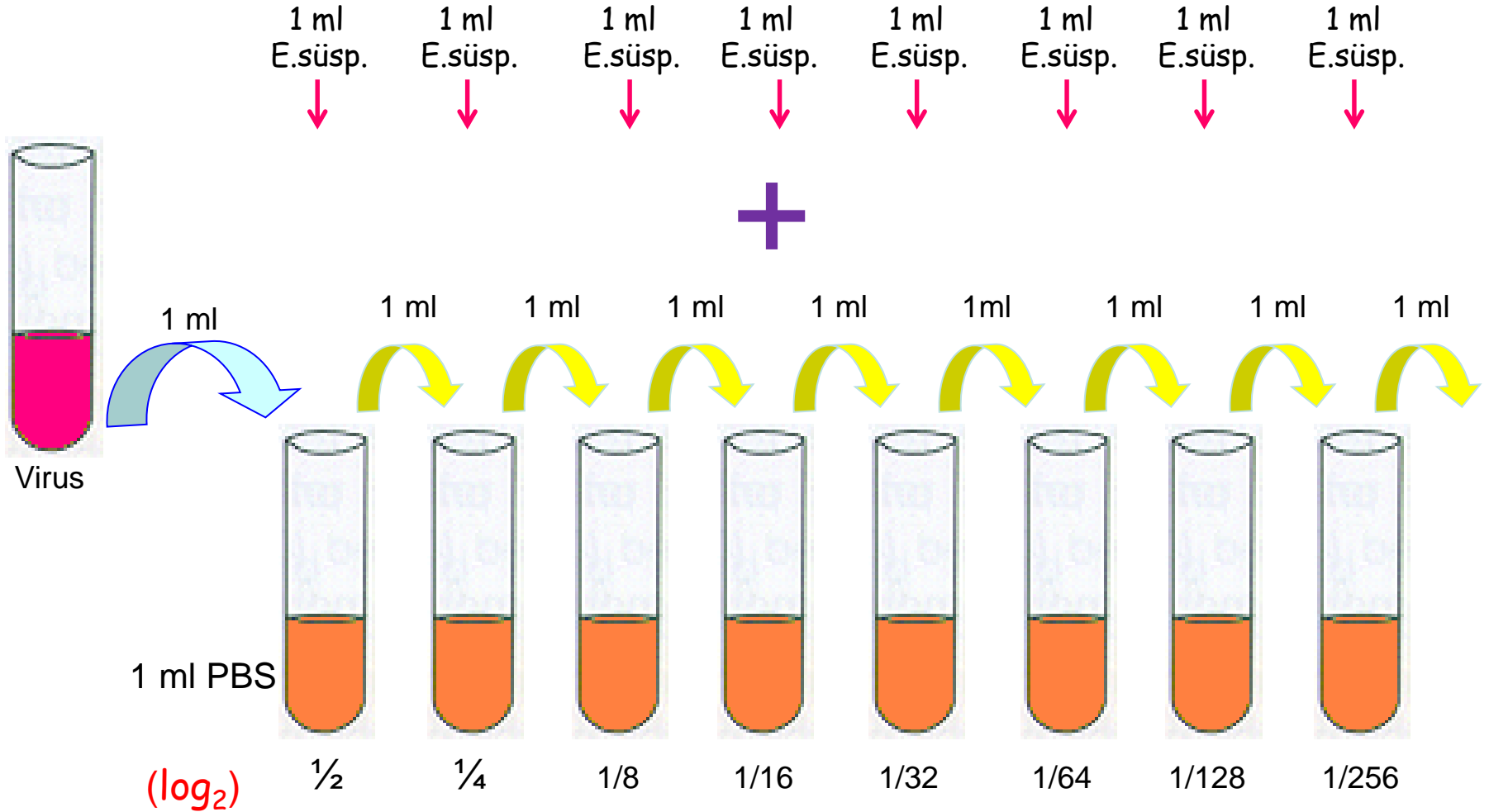
Yavaş Hemaglutinasyon Testi

- Virusun HA özelliği tesbit edilebilir,
- Virusun HA titresini hesaplanabilir,
- İzole edilen bir virusun identifikasyonu yapılabilir,
- HI testi için kullanılacak virusun standardizasyonunda..

Yavaş HA Testi

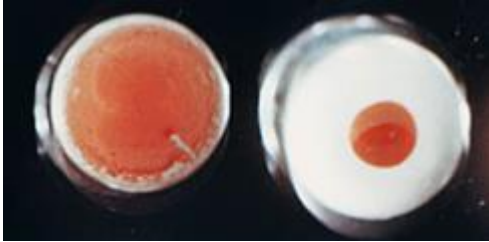
- **Virusun** tüp'te veya HA tableti gözünde \log_2 tabanına göre bir seri sulandırması yapılır.
- Bütün tüplere veya gözlere virus sulandırması kadar (eşit miktarda) % 0.5'lik **eritrosit süspansiyonu** ilave edilir.
- Oda sıcaklığında 2 saat inkubasyona bırakılır.
- Sonuç, tüplerin ya da tablet gözlerinin dibindeki görüntüye göre değerlendirilir.

Yavaş HA Testi



Değerlendirme

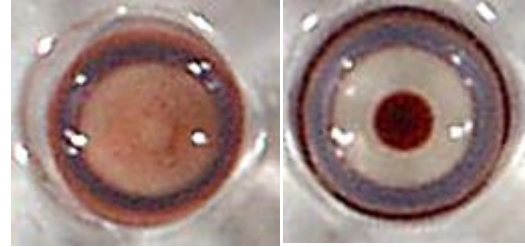
Tüp'te HA



HA (+)

HA (-)

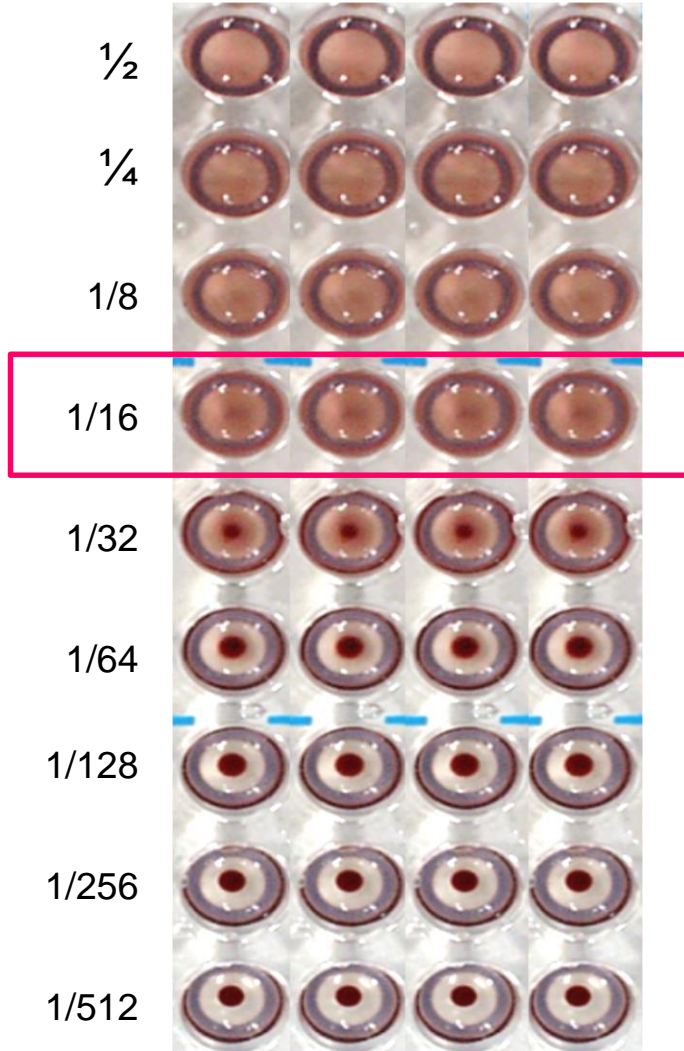
Tablet (pleyt)'de HA



HA (+)

HA (-)

Yavaş HA testi - (Pleyt'de)



HB: Hemaglutinasyonun görüldüğü en son sulandırma oranıdır.

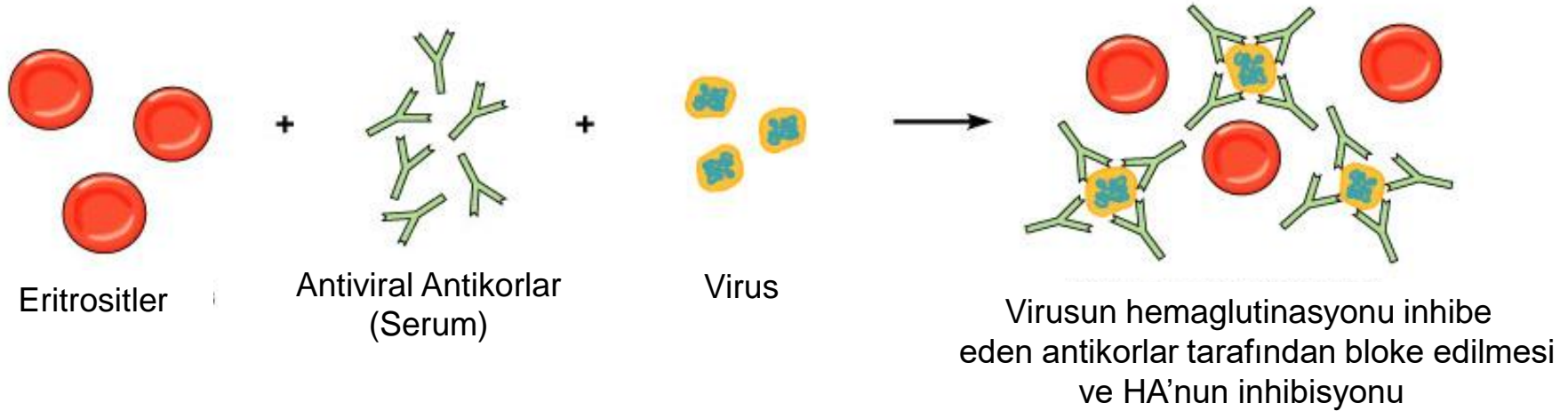
→ **HB=1/16**

HEMAGLUTINASYON İNHİBİSYON

(HI)

TESTİ

HI, Virusun hemaglutinasyon yeteneğinin spesifik bir serum ile ortadan kaldırılması olayıdır.



HI testi 2 şekilde yapılabilir

1. Serum sulandırma metodu

(şüpheli serumda antikor varlığını ve titresini belirleme)

2. Virus sulandırma metodu

(antijen identifikasyonu)

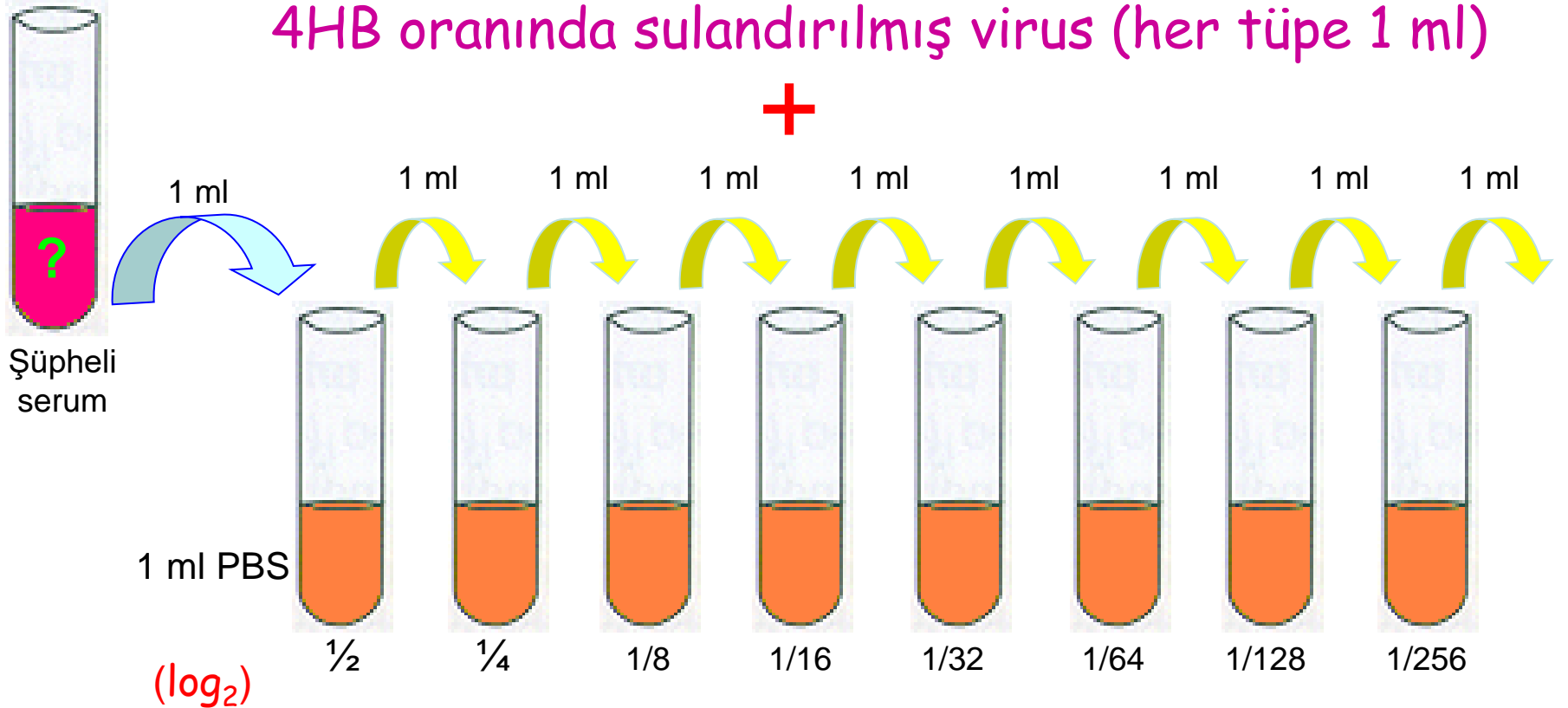
HAI Testi

2 ml E.süsp. 2 ml E.süsp. 2 ml E.süsp. 2 ml E.süsp. 2 ml E.süsp. 2 ml E.süsp. 2 ml E.süsp. 2 ml E.süsp.



(2 saat oda sıcaklığında inkübasyon)

4HB oranında sulandırılmış virus (her tüpe 1 ml)



4HB'nin Hesaplanması

HB= Hemaglutinasyonun görüldüğü en son sulandırma oranıdır.






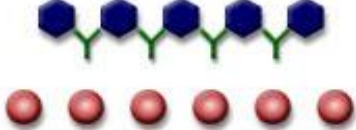

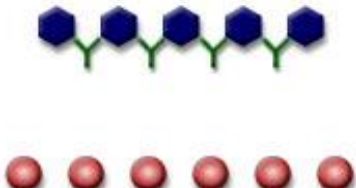
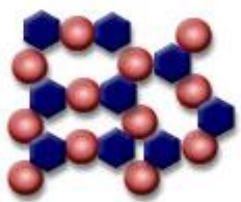
$$4HB = 4 \times HB$$

<u>Sulandırma</u>	<u>HA</u>	
1/2	+	
1/4	+	
1/8	+	
1/16	+	→ HB
1/32	-	

$$HB = 16$$

$$4HB = 4 \times 1/16 = 1/4$$

Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi (HI)

<p>REAGENTS: Şüpheli serum (Ab yok, Ab var) </p> <p>virus </p> <p>Reaksiyon sonunda...</p>	<p>Pozitif örnek virusa spesifik Ab varlığında</p> 	<p>Negatif örnek virusa spesifik Ab yokluğunda</p> 
<p>REAGENT: Uygun türe ait eritrositler </p>	<p>Virus yüzey glikoproteinlerinin eritrositlere bağlanması engellenir</p> 	<p>Virus yüzey glikoproteinleri eritrositlere bağlanır</p> 
<p>Pozitif: Ab varlığında hemaglutinasyon engellenir</p> <p>Negatif: Ab yokluğunda virus hemaglutinasyona sebep olur</p>		

Serum HI titresi

<u>Sulandırma</u>	<u>HA</u>	<u>HI</u>
1/2	(-)	(+)
1/4	(-)	(+)
1/8	(-)	(+)
1/16	(-)	(+)
1/32	(+)	(-)
1/64	(+)	(-)
1/128	(+)	(-)
1/256	(+)	(-)

Serum HI Titresi: İnhibisyonun görüldüğü son serum sulandırması x 4'dür.

Serum HI Titresi: (1:16)x4= 1/4