

PLAK REDÜKSİYON TESTİ

Prof.Dr. Yılmaz Akça
Prof.Dr. Feray Alkan
Prof.Dr. Aykut Özkul
Prof.Dr. Seval Bilge-Dağalp
Prof.Dr. M. Taner Karaoğlu
Prof.Dr. Tuba Çiğdem Oğuzoğlu

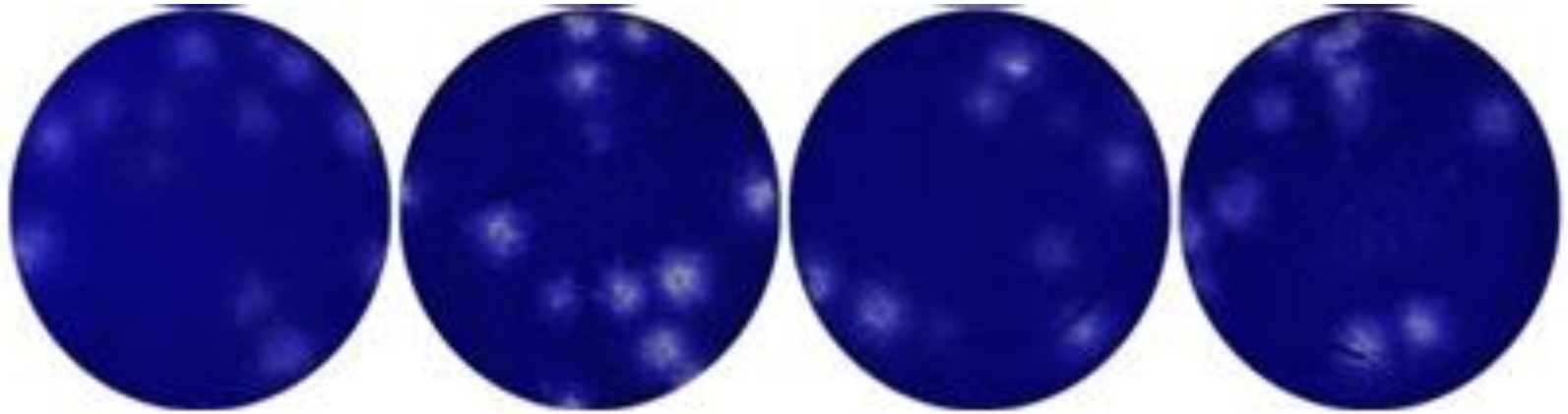
Tanım: Plak oluşturma yeteneği bulunan bir virusun bu yeteneğinin azalması ya da ortadan kalkmasına dayanılarak serumda antikor varlığının saptanması ya da interferon tespiti için kullanılan bir yöntemdir.

Testin Kullanım Amaçları

- Antikor varlığının belirlenmesi
- interferon varlığının saptanması

Plak Nedir?

➤ Optimal şartlarda tek bir virus partikülünün enfeksiyonundan orijin alan ve monolayer hücre kültürlerinde normal hücrelerden belirgin şekilde ayrılmış boşluklarla ya da değişime uğramış hücreler ile karakterize alanlara **plak** denir.



https://www.qia.go.kr/english/html/Animal_livestock/02AnimalLivestock_OIE09.jsp

İnterferon nedir?

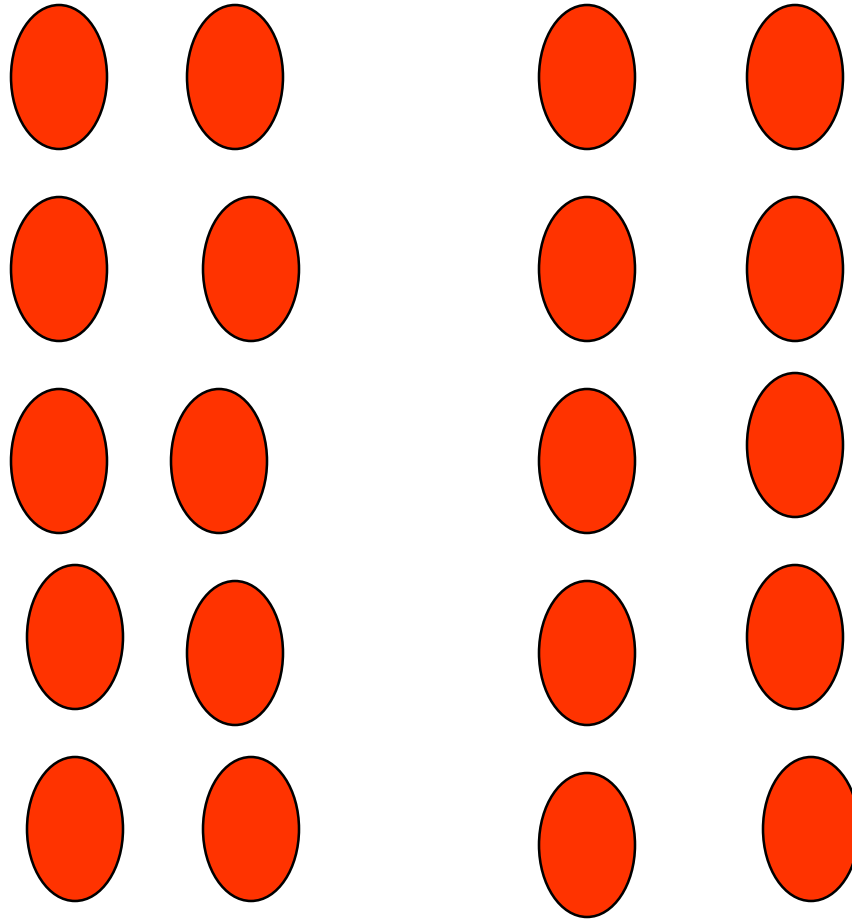
- Enfeksiyöz ya da enfeksiyöz olmayan bazı etkenler ile uyarım sonrasında hücrenin salgıladığı protein tabiatındaki maddelerdir.
- İnterferon antiviral aktiviteye sahiptir. Bu etkisini;
 - 1.Hücre yüzey reseptörlerini yıkımlayarak,
 - 2.Virus çoğalmasında önemli bazı enzimlerin sentezini bloke ederek gösterir.

TESTİN UYGULANIŞI

(İnterferon tesbiti için)

➤ Bir seri petri kutusunda hücreler üretilir. Bu petri kutularının bir kısmı test materyali (interferon Şüpheli madde) bir kısmı da kontrol virus için kullanılacaktır.

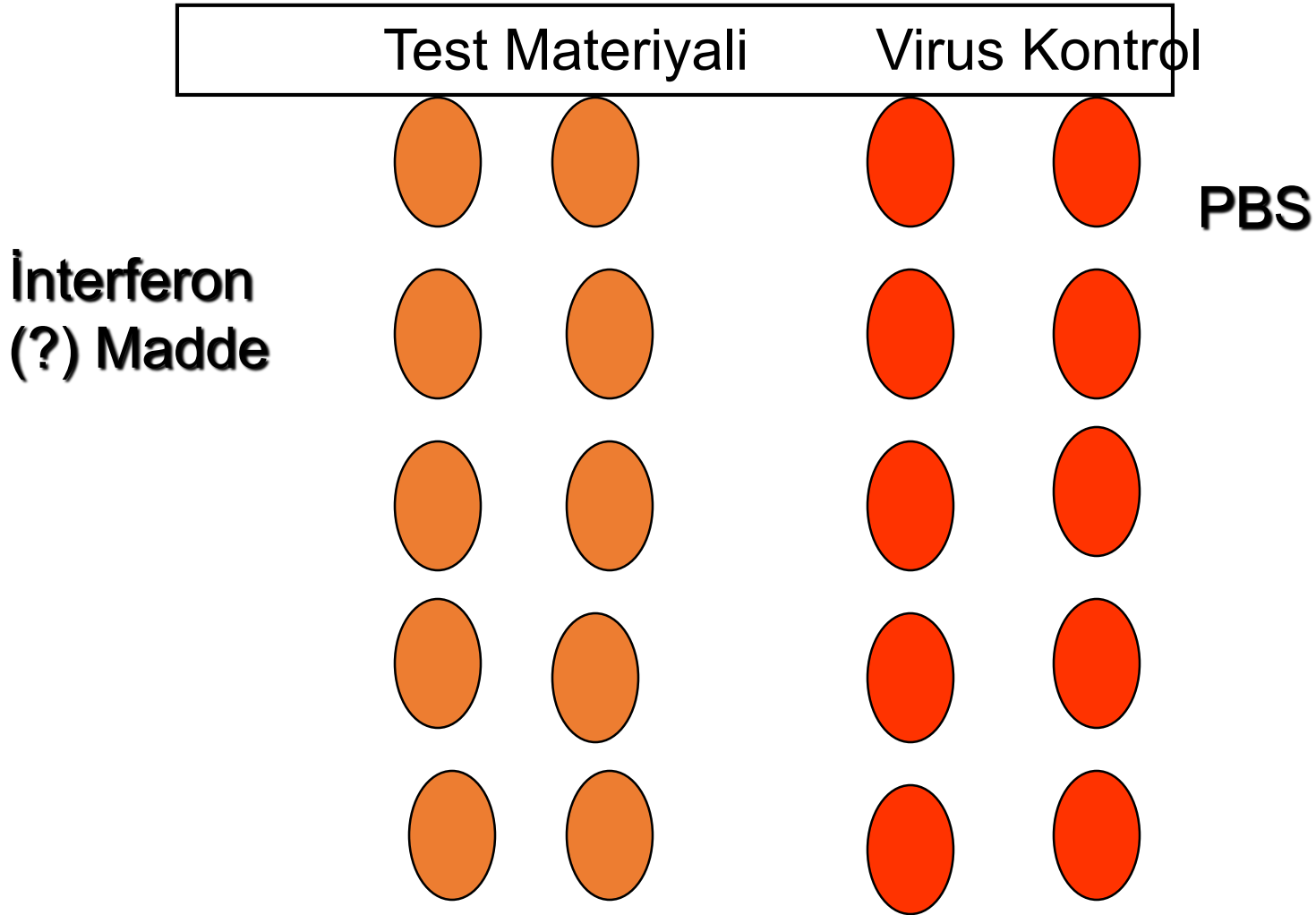
Petri Kutularında Hücreler Üretilir



Testin uygulanışı-2

- Test materyali için kullanılan petri kutularındaki hücreler üzerine interferon (?) madde, VK için kullanılan petri kutularına ise PBS konulur
- Hücreler 37°C'de inkubasyona bırakılır.
- (Not: Bu sürede şüpheli madde interferon ise muamele edilen hücrelerde yüzey reseptörleri yıkımlanacaktır.)

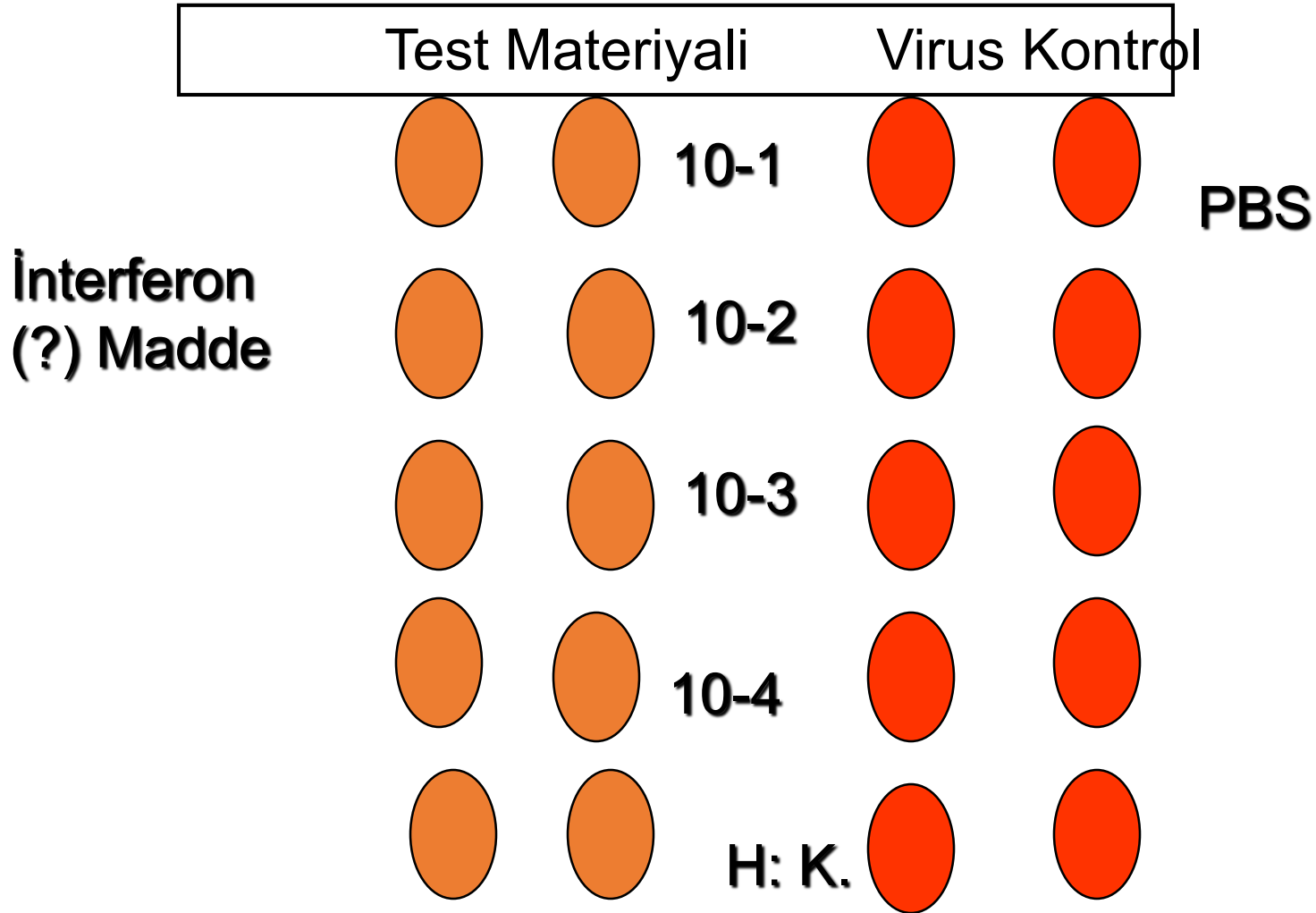
Hücreler üzerine PBS ve İnterferon(?)
madde ilave edilir.



Testin uygulanışı-3

➤ Log 10 tabanına göre virus sulandırması hazırlanır ve inkubasyon süresini takiben her virus sulandırmasından interferon şüpheli madde ile muamele edilmiş ve edilmemiş en az 2'şer petri kutusundaki hücrelere ekim yapılır ve 1 saat 37°C'de inkubasyona bırakılır (Adsorpsiyon için)

Virus sulandırılmaları inokule edilir.



Testin uygulanışı-4

➤ Süre sonunda petri kutuları PBS ile yıkandıktan sonra , hücre kültürleri üzerine virus üretme vasatı konular ve hücreler etüve (37°C) kaldırılır. Petri kutuları 2-3 gün inkubasyona bırakılır.

➤ **Virus üretme vasatı:** %1-2 Noble agar + 2X
EARLE (%50) + (%50)

Testin uygulanışı-5

➤ **2 X EARLE:** Aynı hacimde iki misli konsantre kimyasal madde içerir.

➤ Ör : 1 lt Earle için 1.8 gr NaCl

➤ : 1 lt 2XEarle için 3.6 gr NaCl

➤ **Neden 2XEarle kullanıyoruz?**

➤ 2X Earle vasatı noble agar ile eşit hacimde karıştırılarak kullanıldığından, sonuç virus üretme vasatında kimyasal madde içeriği normal Earle vasatı kadar olacaktır.

Testin uygulanışı-5

➤Neden agar kullanıyoruz?

➤Agar ile oluşturulan yarı katı ortam sayesinde tek bir virus partikülünün üremesinden kaynaklanan enfeksiyon alanlarının oluşumunu sağlamak amacıyla agar kullanılır.

Testin uygulanışı-6





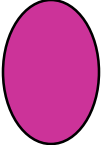



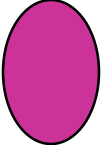



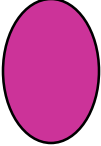
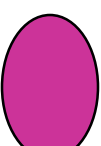
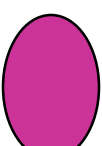
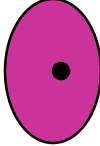


Testin değerlendirilmesi

- Oluşan plakların makroskobik olarak görülebilmesi için petri kutularına % 0.01 oranında neutral red içeren 2XEarle+Noble agar karışımı ilave edilir.
- Neutral red vital boya olduğundan, plaklar boyanmaz ve kırmızı renkte boyanmış hücrelerin oluşturduğu zemin üzerinde boya almamış alanlar görülür.

SONUÇ

- Test materyali ile muamele edilen ve virus kontrol olarak kullanılan petri kutularında oluşan plaklar sayılır. Kontrole göre POU değerinin azalması, test materyalinin interferon olduğunu gösterir.

PFU değerindeki azalma olursa, test materyali interferondur.

Test Materyali		Virus Kontrol		
		10-1		
		10-2		
		10-3		
		10-4		
		H: K.	