

# Seroloji-Serolojik testler

Prof. Dr. Oktay GENÇ

- Teşhis yöntemleri
- 1. Direkt teşhis
  - a. Kültür    b. DNA tespiti    c. Antijen tespiti  
(serolojik)
- 2. İndirekt teşhis
  - a. Antikor tespiti (serolojik)

- Serolojide kullanılan terimler
- 1. Antijen/hapten
- 2. Antikor/immunglobulin
- 3. anti ( $\alpha$ )/antikor/anti-antikor/antiglobulin/anti sheep IgG/anti sığır protein A/anti insan /donkey anti-sheep IgG/anti-toksoid
- 4. serum-plazma

## Serolojik Testler ..... için kullanılır.

- 1. İnfeksiyonların teşhisi (direkt-indirekt)
- 2. Aşılama öncesi pasif bağışıklık varlığı veya düzeyinin saptanması
- 3. Aşılama sonrası bağışıklık düzeyinin ölçülmesi
- 4. Humoral immünyetmezliklerin teşhisi
- 5. Doku ve vücut sıvılarında antijen veya biyolojik maddelerin tespiti

- Bağışıklık;
- 1. Humoral (sıvısal) : antikora bağlı-pasif bağışıklık
- 2. Hücresel: T lenfositler, NK hücreleri, fagositik hücreler-aktif bağışıklık
- Bağışıklık tespiti;
- Humoral-antikor tespiti-serolojik testler
- Hücresel
- a. **İn vivo**: deri içi antijen enjeksiyonu ve reaksiyon tespiti
- b. **İn vitro**: antijen spesifik sitokin tespiti

# Antijen Antikor Reaksiyonlarının Yapısı

- Anahtar-Kilit İlişkisi

Antikoru Fab bölgesinin çok değişken bölgesi ile antijen yüzeyindeki epitoplar arasında

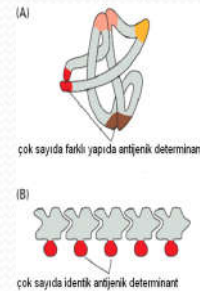
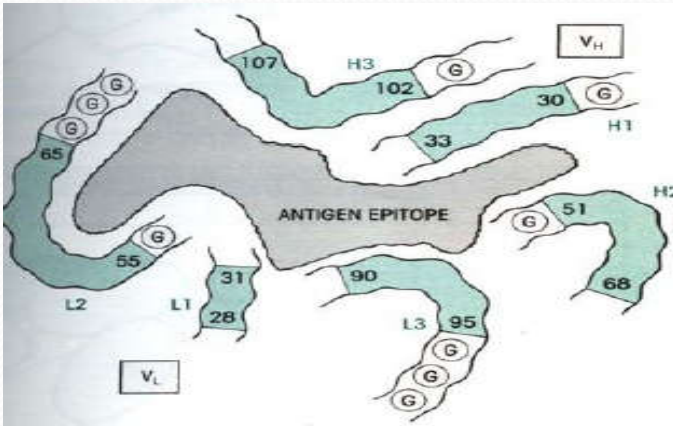
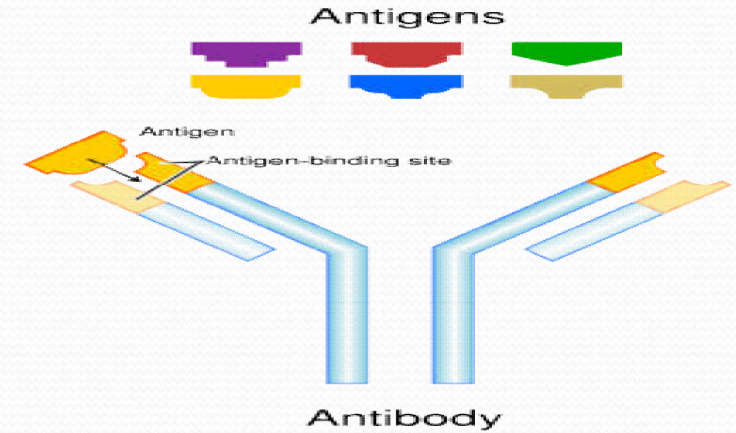
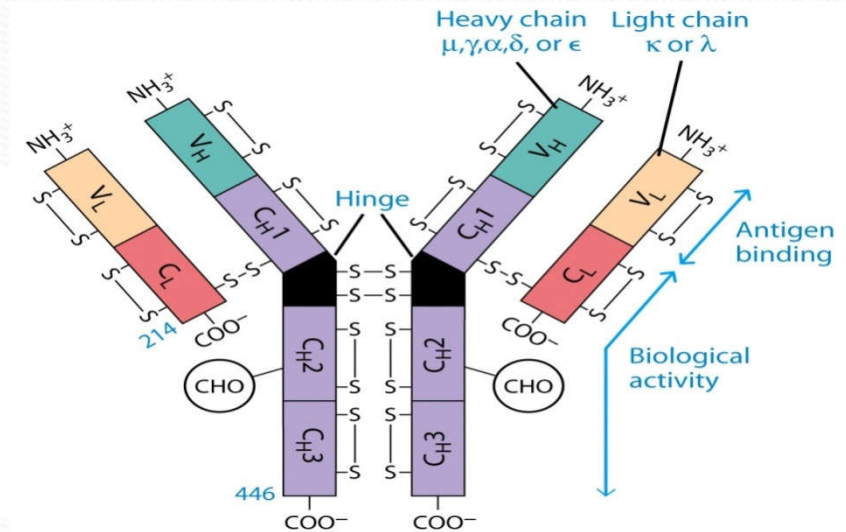
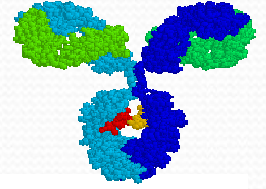


Figure 24-29. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

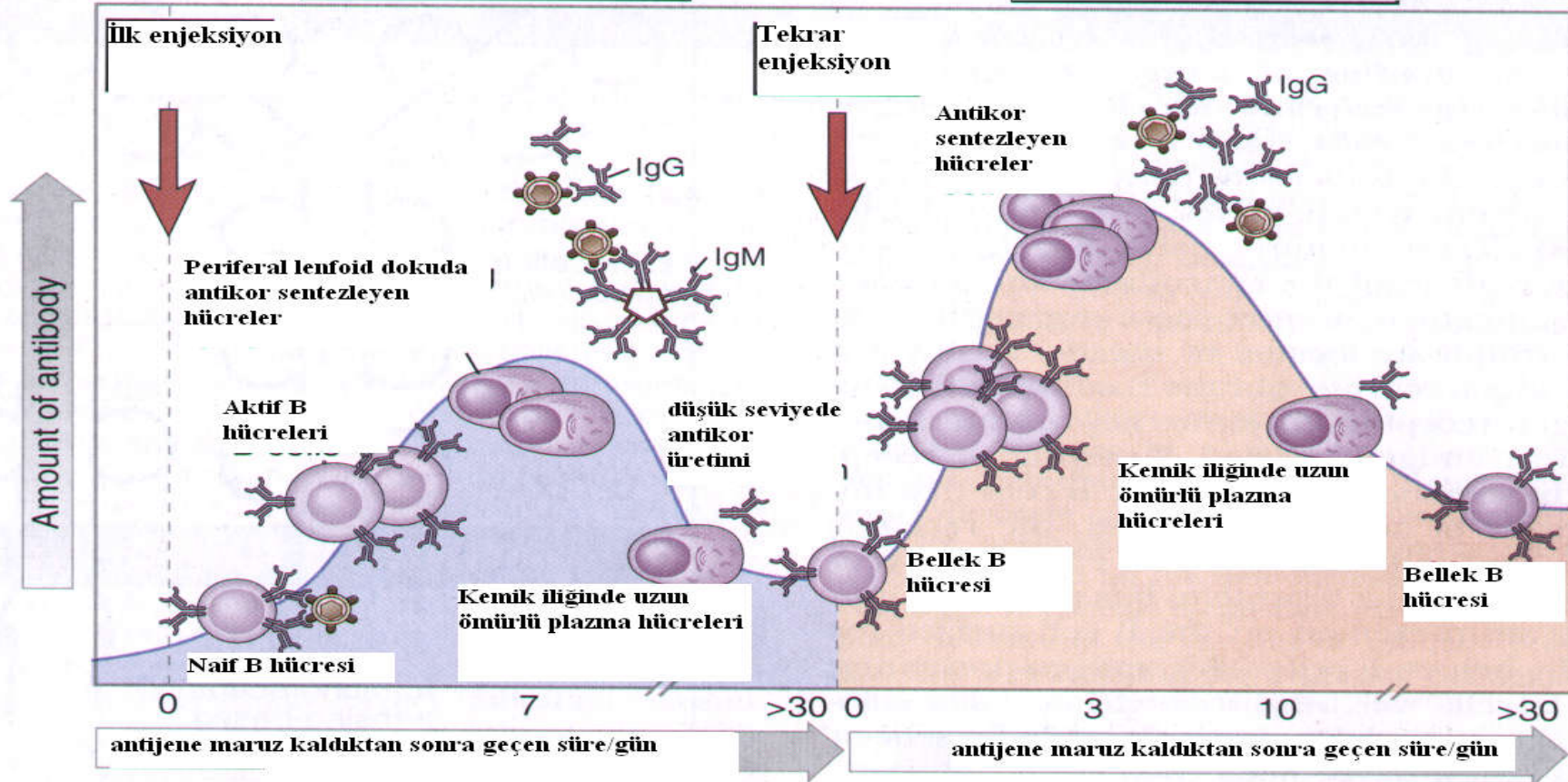


# Humoral bağışıklık gelişimi



Primer antikor yanıtı

Sekonder antikor yanıtı



# Avidite

- **Avidite**; birçok antijenik determinant ve multivalan antikörler arasındaki bağlantının komple dayanıklılığını (veya ortalama bağlanma değerini) ifade eder.

**Affinite**, sadece iki molekül arasındaki reaksiyon için geçerli bir ölçü iken,

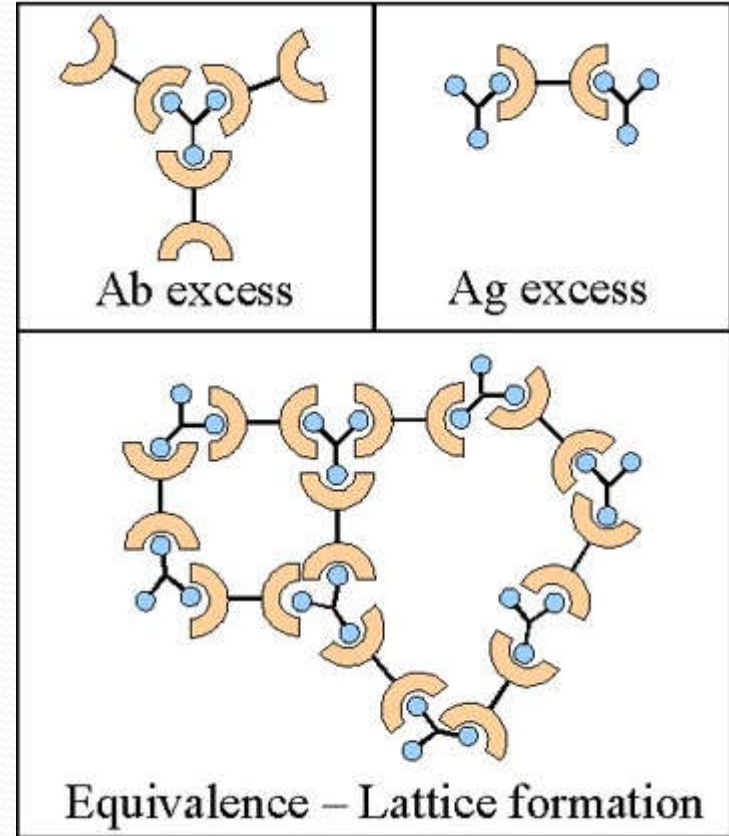
**Avidite** serumdaki çok sayıda antikör ve antijen molekülleri arasındaki reaksiyonları kapsayan bir ölçüdür.

**Dolayısıyla, serolojik reaksiyonlarda dikkate alınan ölçü aviditedir.**

Yüksek aviditeli reaksiyonlar, çok antijen bağlanma bölgesine sahip antikörler (IgM) ve/veya yüzeyinde çoklu epitoplara taşıyan antijenler ile oluşur.

# Lattis (Kafes kuramı)

Antijenler (özellikle çoklu epitoplara sahip) ve antikorlar(özellikle multivalan) arasında köprüler kurulması ve çok sayıda antijen ile antikorun ağ şeklinde birleşmesi



# Serolojik testlerde ölçütler

**1. Titre:** Antijen ile saptanabilir reaksiyon veren (pozitif reaksiyon) en düşük antikor veya serum dilusyonudur.

Titreyi saptamak için, incelenen şüpheli serumun 2 katlı veya 10 katlı sulandırmaları yapılır. Daha sonra her bir dilüsyona antijen katılır ve pozitif reaksiyon görülen en son dilüsyon belirlenir.

Örnek ile açıklama

- **2. Sensitivite:** bir serolojik testin aranan antikorların varlığını saptayabilme yeteneğinin ölçüsüdür. Yani, sensitivitesi yüksek bir test, aranan antikorları büyük oranda saptayabiliyor demektir. Buna karşın, düşük sensitiviteli bir testte, aranan antikorları saptama, yani yanlış negatiflik elde etme olasılığı yüksektir.
- Gerçek pozitifliği gösterir.

- **3. Spesifite:** bir serolojik testin aranan antikorları (veya gerçek pozitifliği) saptamada ne kadar spesifik olduğunun göstergesidir. Yani, spesifitesi yüksek bir test, aranan antikorları, diğer antikorlardan ayırt edebiliyor veya diğer antikorlarla çapraz reaksiyon vermiyor demektir
- Gerçek negatifliği gösterir.
- Kros reaksiyona sebep olan antijen, immünize edici antijen ile ortak veya yapısal olarak benzer epitoplara sahiptir (multispesifite).

	Enfekte	Enfekte değil	
Test pozitif	A	B	A+B
Test negatif	C	D	C+D
	A+C	B+D	

Sensitivite	= $A/[A+C]$
Spesifite	= $D/[B+D]$
PPV	= $A/[A+B]$
NPV	= $D/[C+D]$

# SEROLOJİK TESTLER

- 1. In vivo testler
  - a. Toksin **nötralizasyon** testleri
  - Virus **nötralizasyon** testleri
  - b. **Korunma testleri** (etkinlik)
- 2. In vitro testler
  - Primer bağlanma testleri: enzim, floresan ve radyoaktif madde kullanılarak yapılan testler
  - Sekonder bağlanma testleri: duyarlılığı düşük olan aglütinasyon, presipitasyon, komplement testi

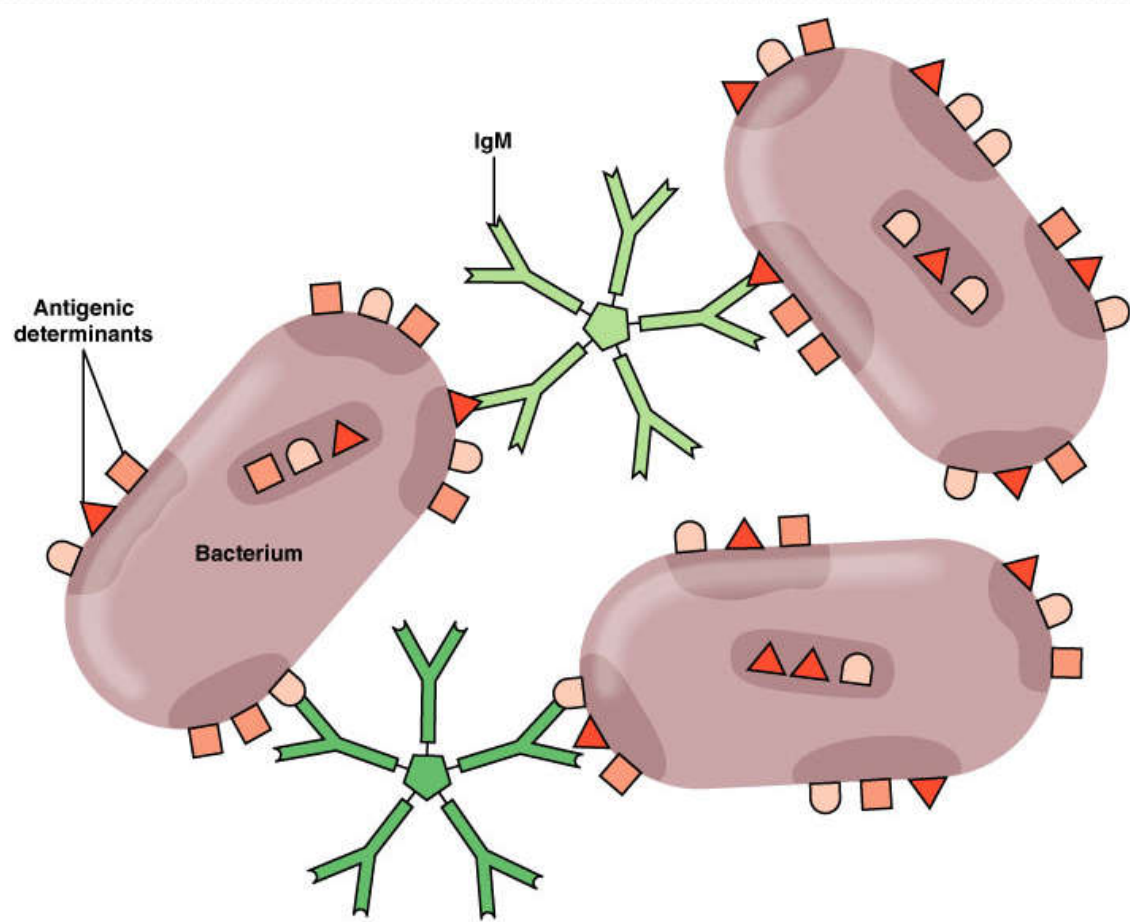
# AGLÜTİNASYON TESTİ

Uygun bir sıvı ortamda, **partiküler formdaki antijenler** ile antikorların bağlandıktan sonra kompleksler oluşturarak **lattis** halinde bir arada kümelenmesidir.

Aglütinasyon reaksiyonunda IgM sınıfı antikorlar, IgA ve IgG sınıflarından daha etkilidir.

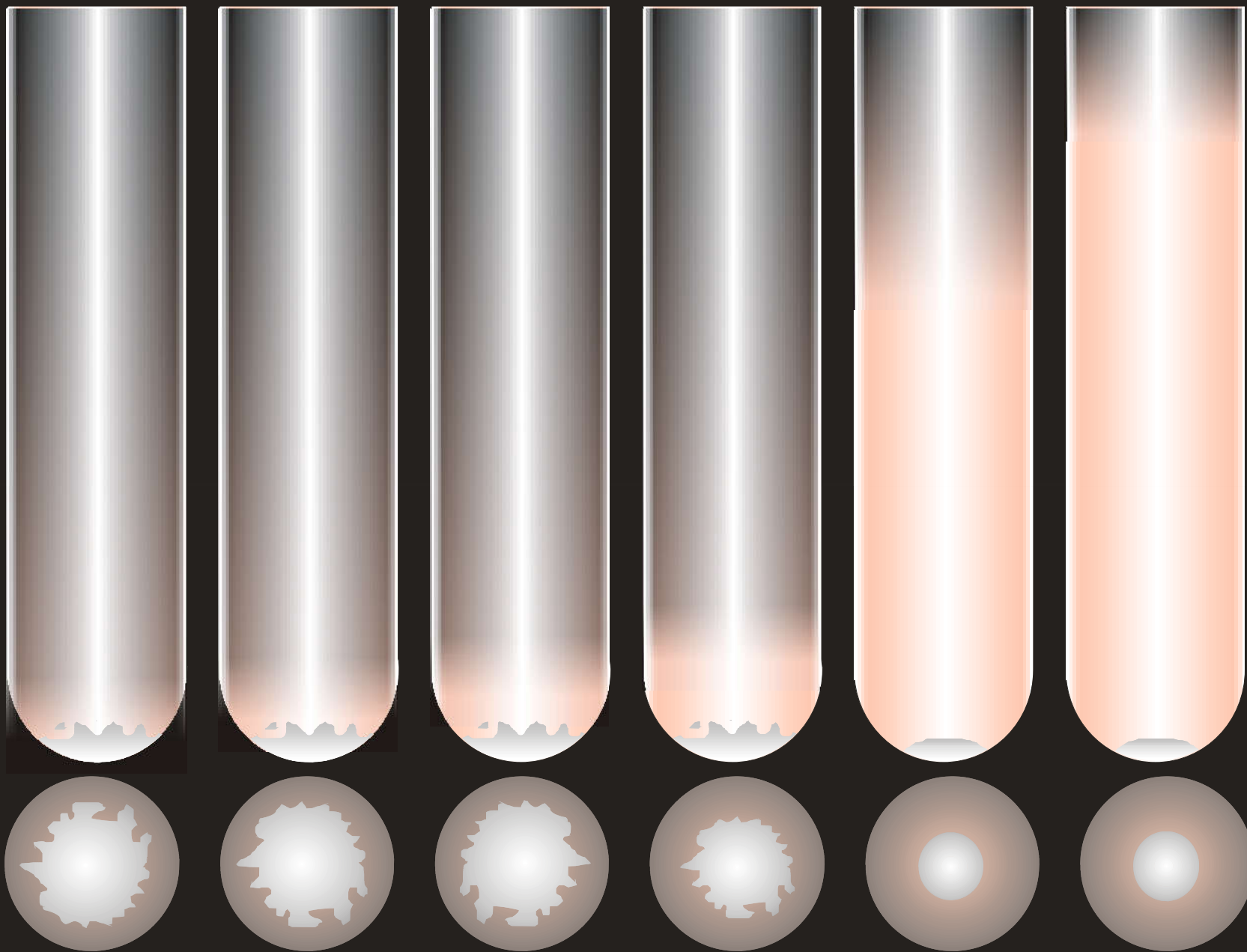
antikorların saptanması için kullanılır.

# Aglütinasyon



# Tüp Aglutinasyon Testi

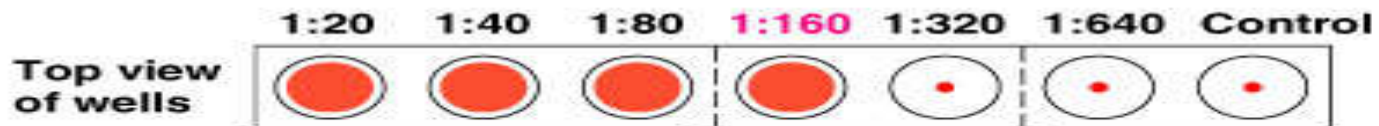




# Tüp Aglutinasyon Testi

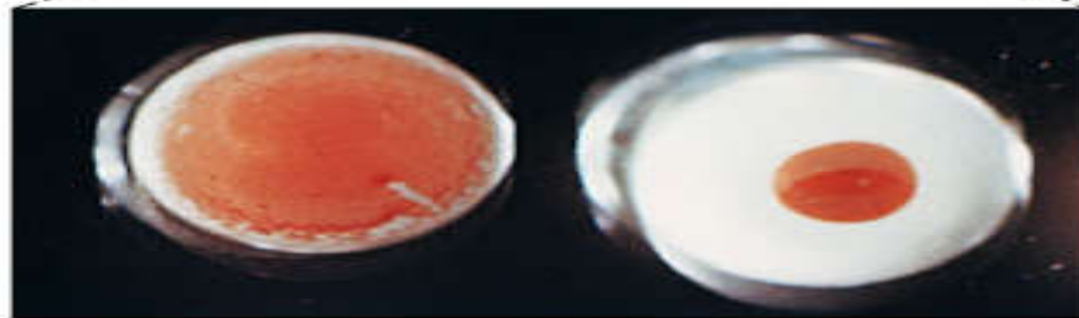
- IgM ve IgG'leri ayırt etmeye yönelik **merkapttoetanol tüp aglütinasyon testinde**; merkapttoetanol serumu katıldığında, **IgM'nin** zincir içi disülfid bağlarını ayırarak **pentamer yapısını bozar**, fakat IgG'ye etkisi yoktur.

# Antikor Titresi

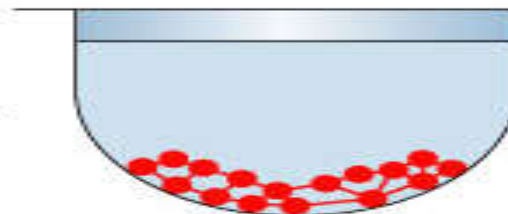


(a)

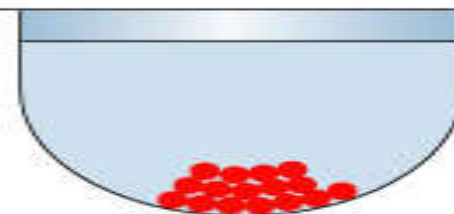
Enlarged photo of wells



Side view view of wells

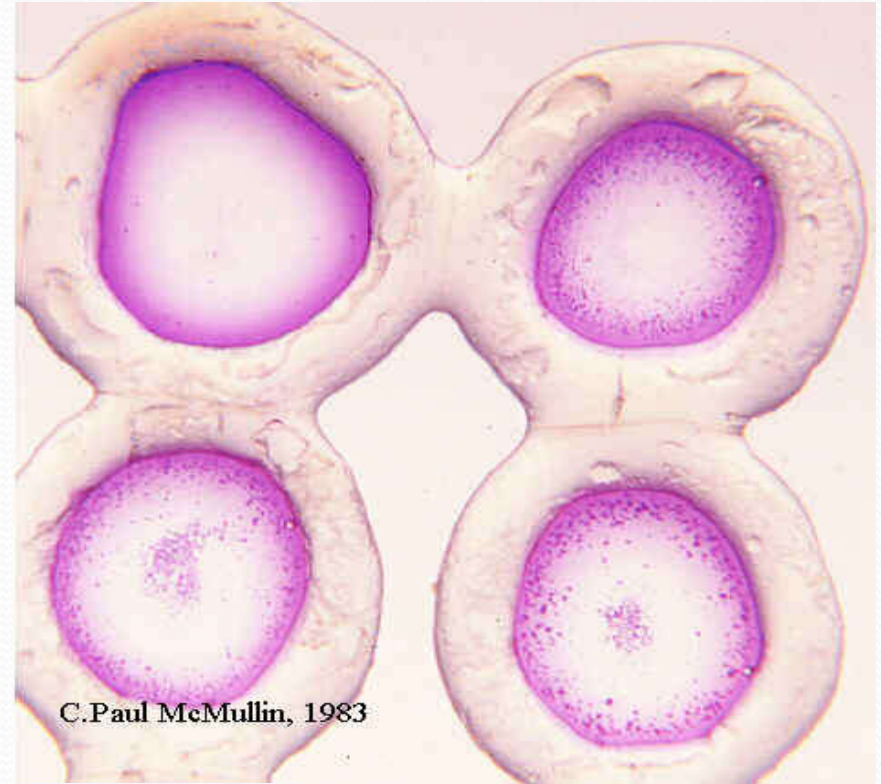


(b) Agglutinated



(c) Nonagglutinated

# Lam Aglütinasyon Testi



C.Paul McMullin, 1983



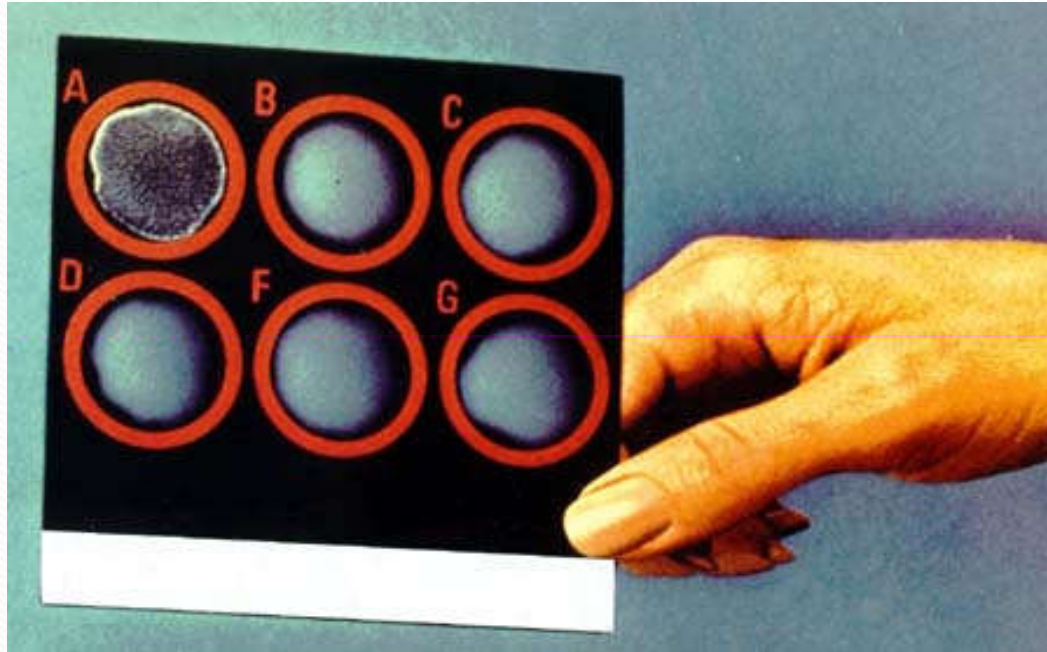
# Süt Ring Testi

Sütte bulunan **anti-Brusella antikorlarını** saptamaya yönelik özel bir **aglutinasyon** testidir. Bir tüpe alınan sütün üzerine hemotoksilen ile boyanmış Brusella antijeni katılır. Eğer sütte antikor varsa antijeni aglutine eder ve bunlar sütün krema tabakasının altında renkli bir halka şeklinde görülür. Eğer antikor yoksa, boyalı antijen sütün içinde süspanse olarak kalır.

# Süt Ring Testi



# Lateks Aglutinasyon Testi



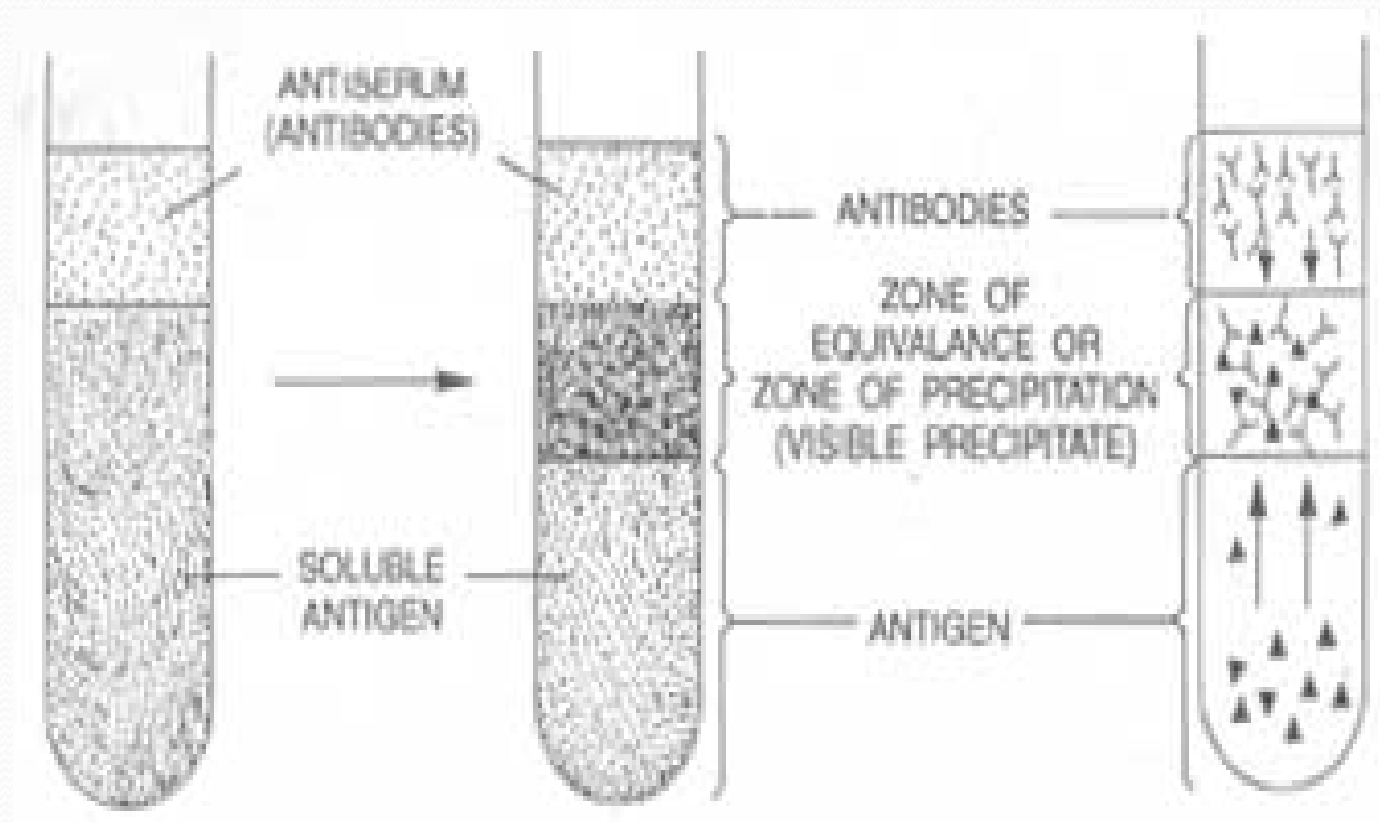
# Presipitasyon Testi

Partiküler olmayan eriyebilir antijenlerin spesifik antikorlar tarafından bağlanarak çöktürülmesi esasına dayanır

Sıvı ve yarı katı ortamlarda uygulanabilir ve pozitif reaksiyon **bulut şeklindeki** bir presipitasyon halinde gözle görülür

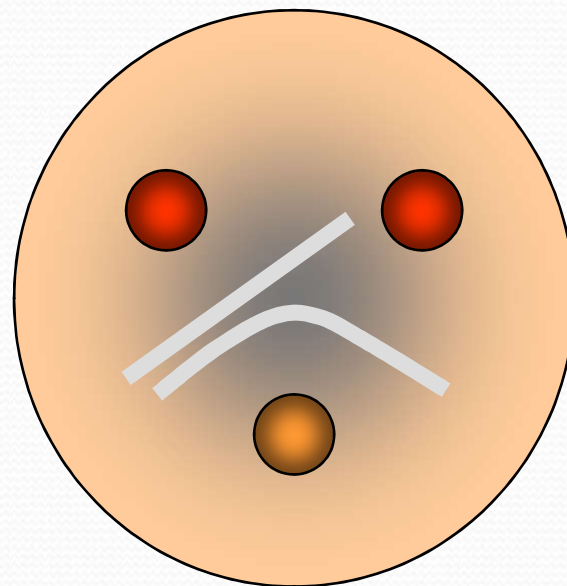
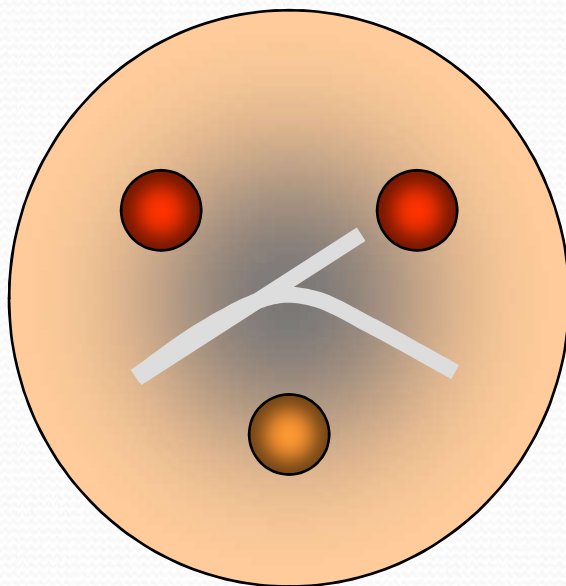
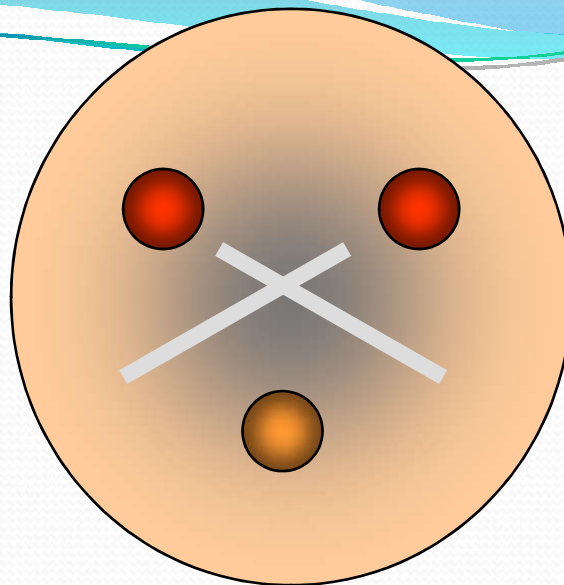
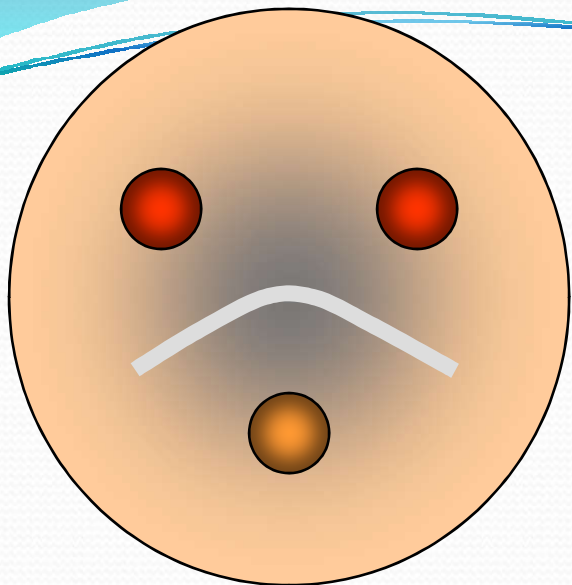
# Presipitasyon

- Presipitasyon iki safhada ortaya çıkar:
  - Antijen-antikor kompleksi (birkaç sn veya dakika içinde)
  - Kompleksteki antikorların değişken bölgeleri birbirleri ile birleşir (birkaç saat içinde) ve gözle görülür presipitat oluşturur
- Presipitat oluşumu, antijen ve antikor moleküllerinin “eşitlik zonu veya presipitasyon zonu” olarak adlandırılan spesifik bir bölgedeki uygun relatif konsantrasyonlarına bağlıdır. Bu zon, antijen ve antikor moleküllerinin hemen hemen eşit konsantrasyona ulaştığı bölgeyi tanımlamaktadır.



# Agar jel immunodifüzyon tekniği (AGID) (Paratüberküloz,...)

- Lam üzerinde hazırlanan agar jeli üzerinde karşılıklı iki delik açılarak birine antijen diğerine serum konur. Spesifik olmaları halinde karşılaştıkları alanda presipitat oluşur
- Jelde (agaroz plaklarında) birbirine yakın radyal konumlu delikler açılarak antijen antikor spesifiteleri değerlendirilebilir.



# Hemaglutinasyon

- Bu aglütinasyon bir antijen-antikor reaksiyonu değildir. Viral partiküller üzerlerindeki reseptörler ile eritrositlere bağlanır. Aglütinasyon birçok hücrenin bu tarz bağlanmasından sonra gözle görülebilir.

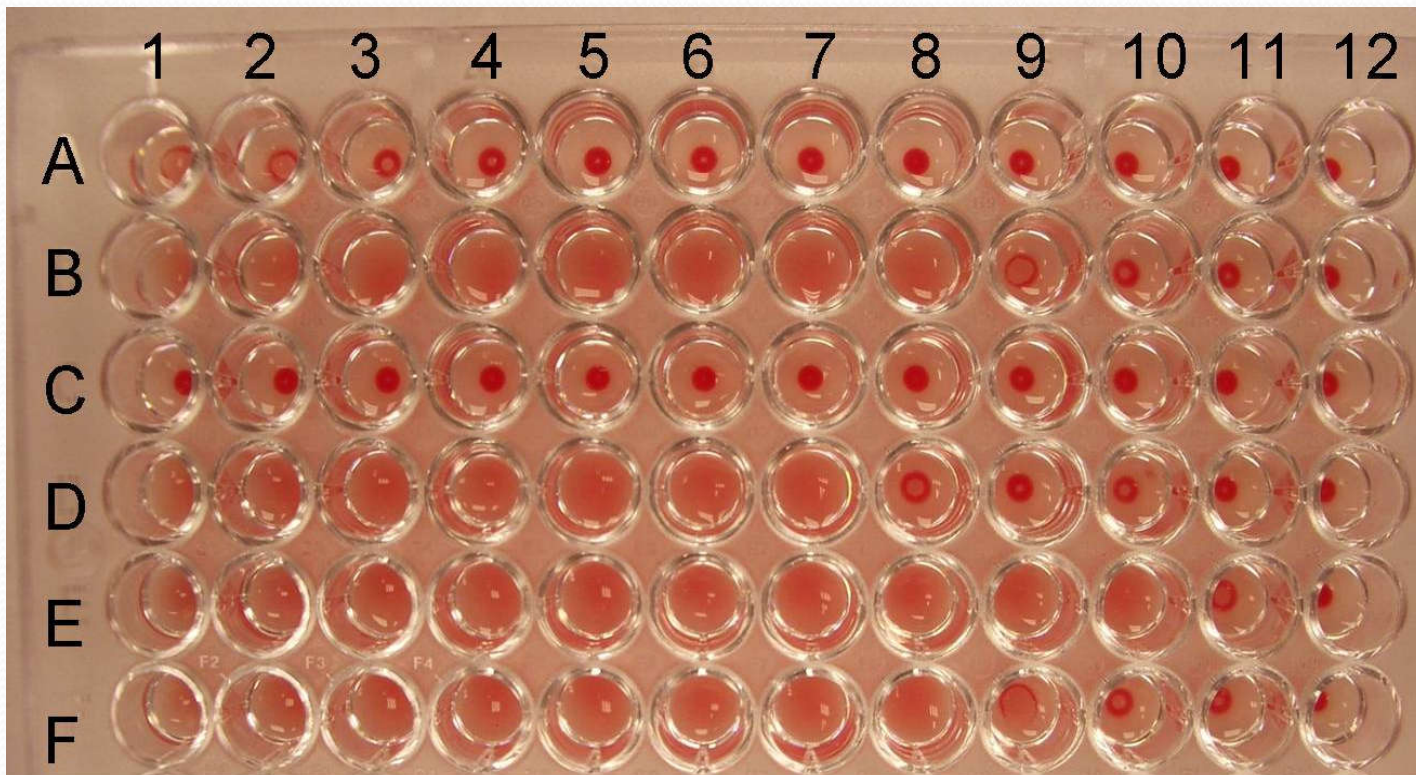
# Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi

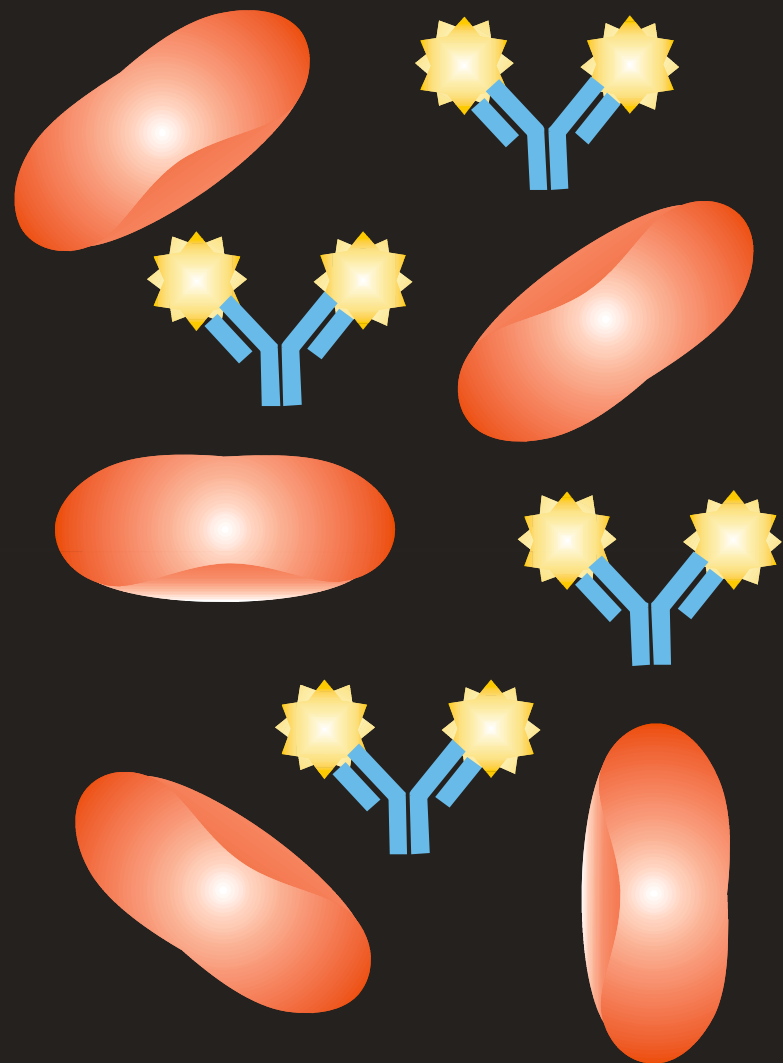
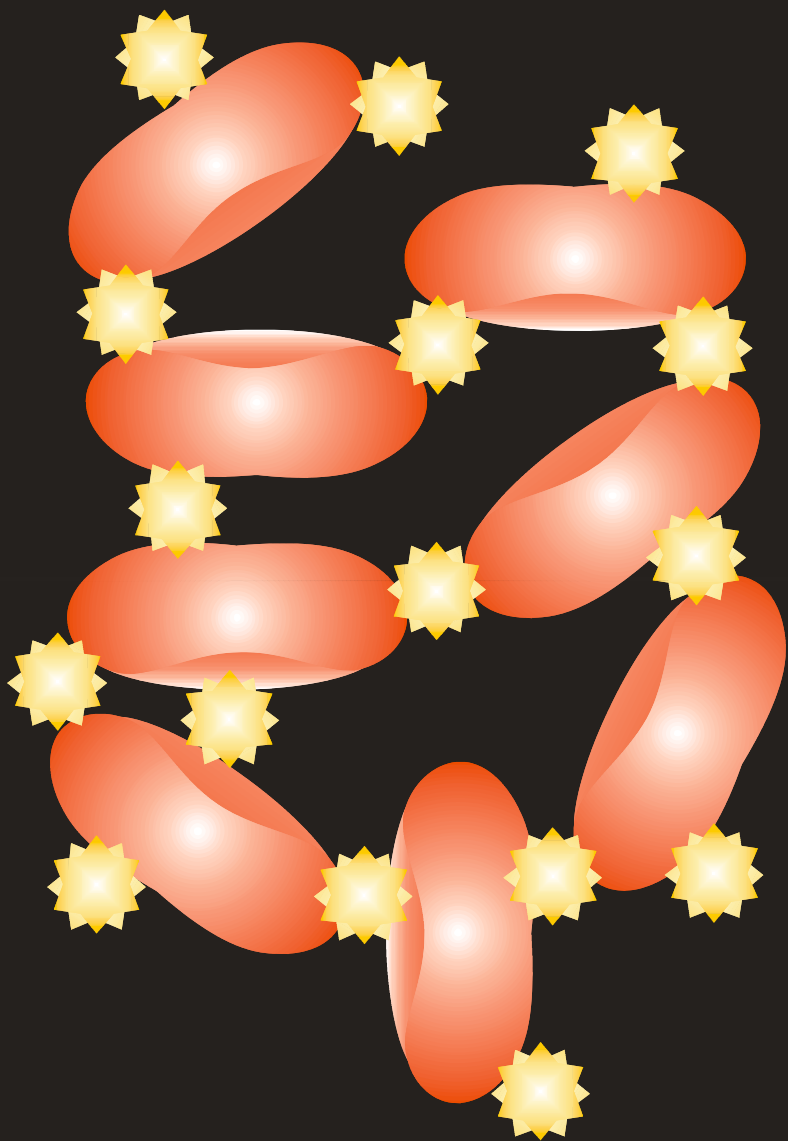
Bazı viruslar eritrositleri direkt olarak aglütine edebilir. Antikorların rol oynamadığı bu reaksiyona viral **hemaglütinasyon** denir. Viral hemaglütinasyonun virusa spesifik antikorlarla inhibe edilmesi, belli bir virusu ayırt etmek için veya serumdaki spesifik antikorları saptamak için kullanılabilir. Bu mekanizmanın kullanıldığı yöntem **hemaglütinasyon-inhibisyon testi** denir.

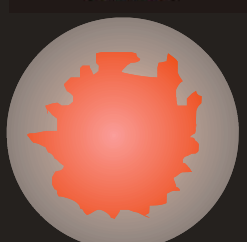
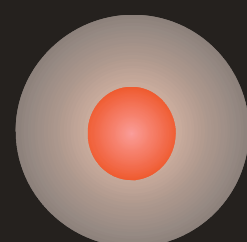
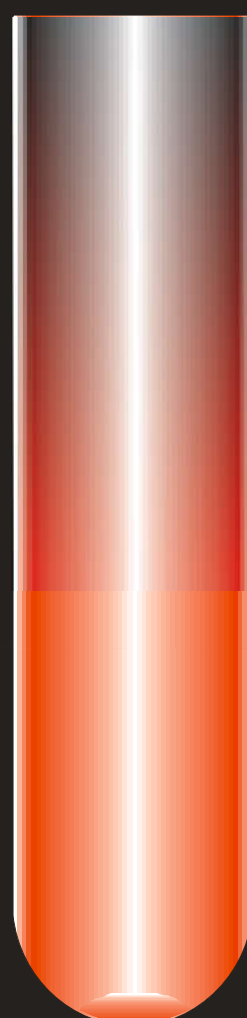
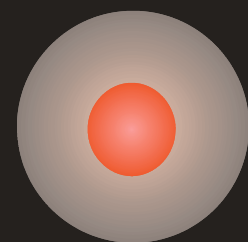
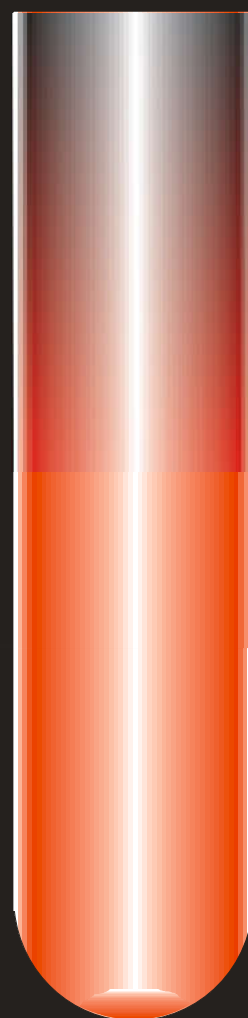
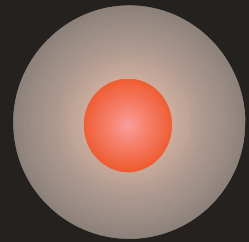
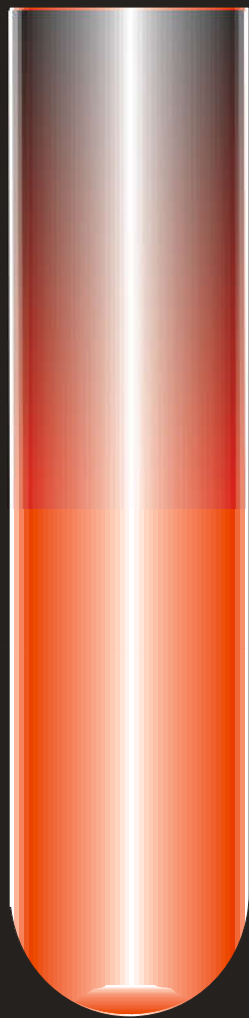
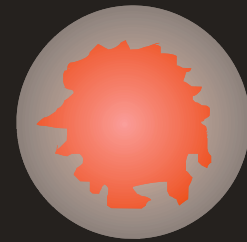
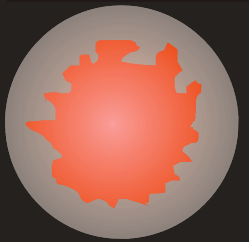
Antikorları saptamak için, önce şüpheli serum ile bilinen virus reaksiyona sokulur. Daha sonra üzerine eritrositler eklenir.

Eğer serumda antikor varsa virusa bağlanır ve virusun eritrositleri aglütine etmesini önler. Bu durumda **eritrositler nokta şeklinde çöker**. Eğer antikor yoksa, **viral hemaglütinasyon gelişir ve eritrositler dantela tarzında çöker**. Virusu saptamak için, aynı test sistemine bilinen antiserum ve virustan şüpheli materyal katılır.

# Hemaglütinasyon



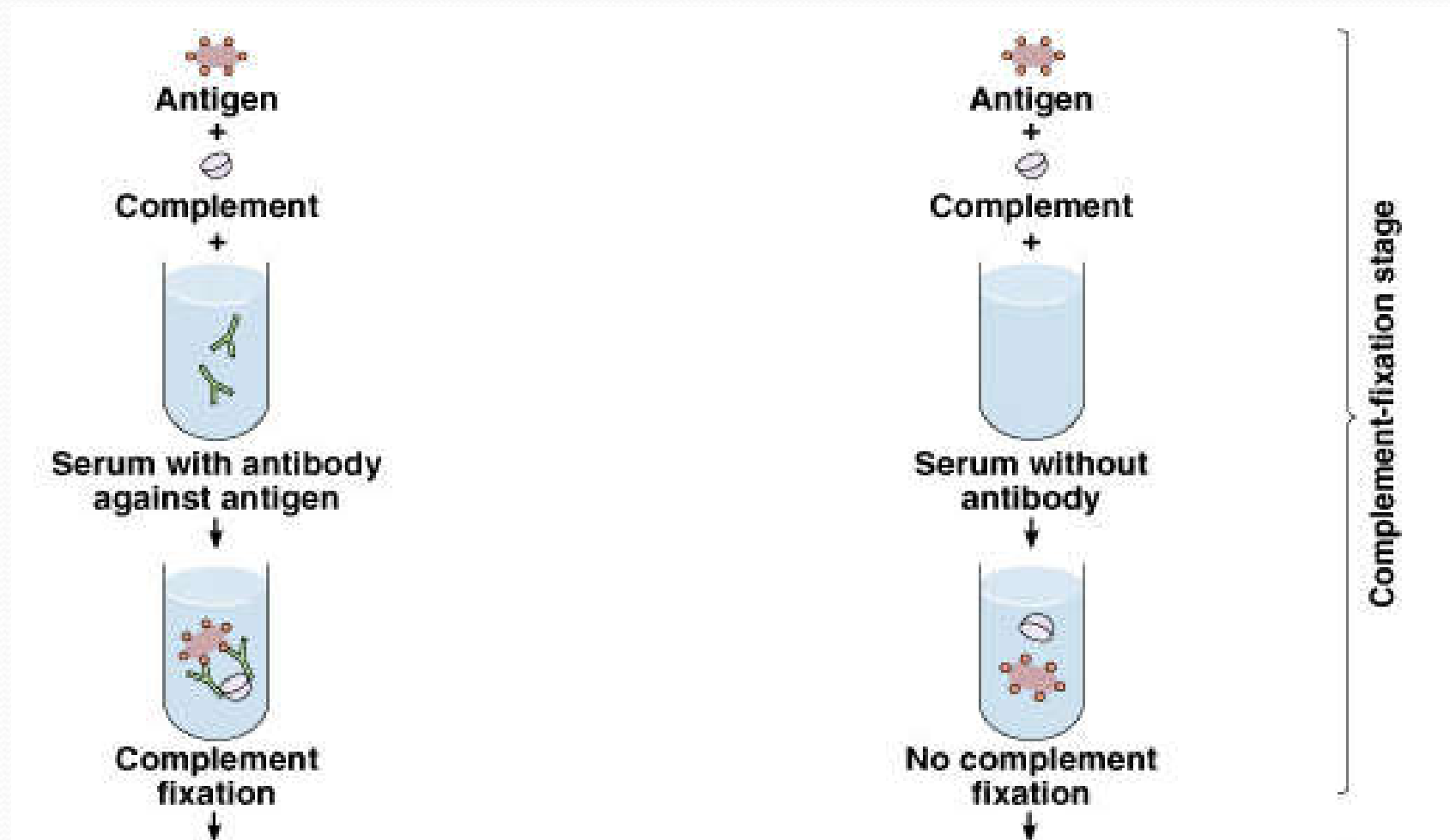




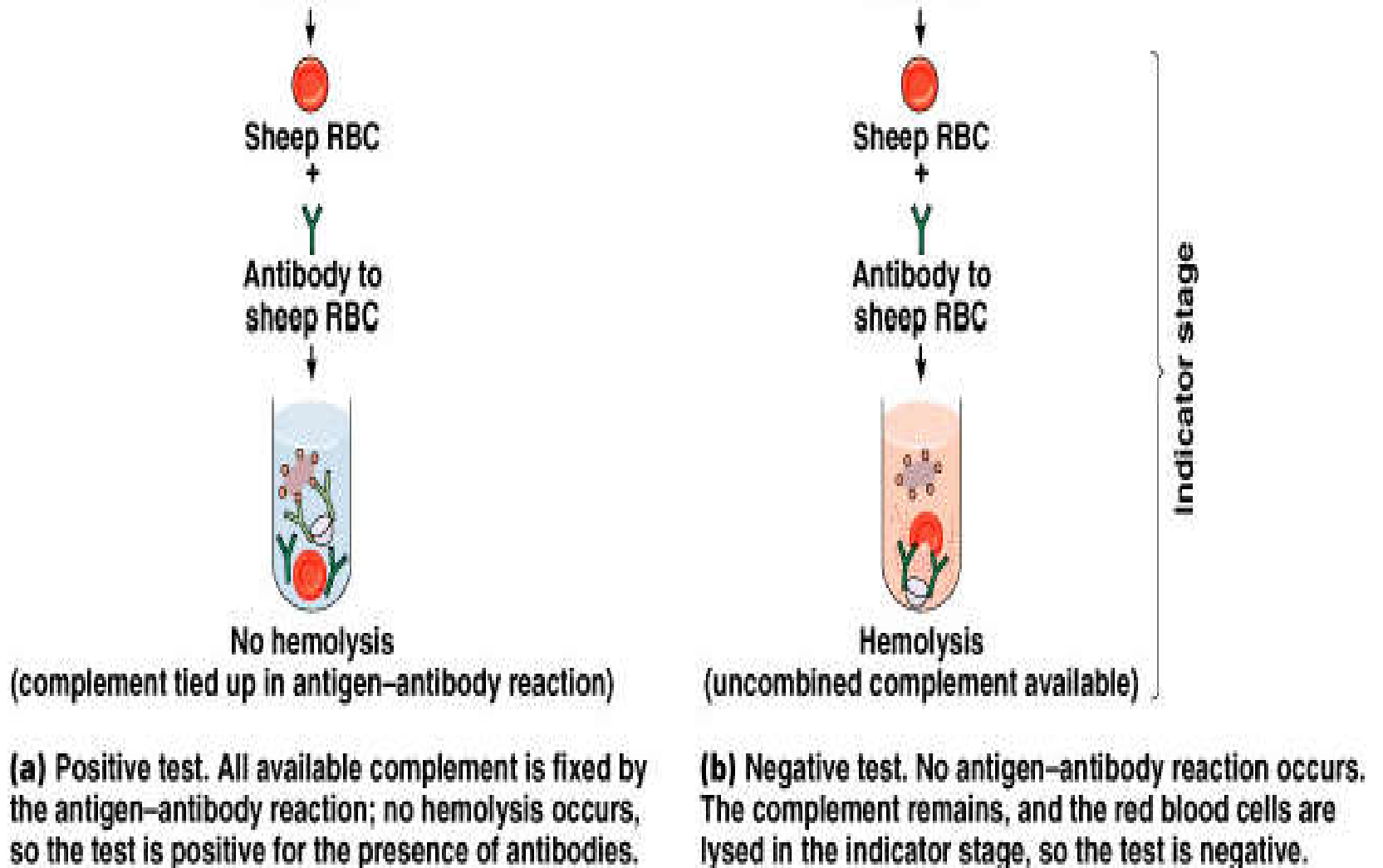
# Komplement

- Tanım: Karaciğerde ve çeşitli bağışıklık hücreleri tarafından üretilen ve enzimatik özellikli serum proteinidir.
- Etkileri:
  - 1- Hücre lizisi
  - 2- Opsonin (kolaylaştırılmış fagositoz)
- Aktivasyon:
  - 1- Klasik yol    2-Alternatif yol    3- Lektin yolu
- (Antijen-antikor kompleksi)
- Antikorda komplement bağlanma bölgesi vardır. Ancak komplement immunkompleks olduğunda bağlanır.

# CFT-1



# CFT-2



# Ders deęerlendirme

- 1. Bağışıklığın takibinde hangi serolojik testler tercih edilmelidir?
- 2. Serum-plazma arasındaki temel fark, serolojik testlerde neden plazma tercih edilmez?
- 3. Enfeksiyonların indirekt teşhisinde serolojik örnek ne zaman ve kaç kez alınmalıdır? Yorumlayınız?
- 4. Serolojik testler ne için önemlidir?
- 5. Antikor tespit testleri nelerdir?

