

**Bu kitaba sığmayan
daha neler var!**



Karekodu okutun, bu kitapla ilgili EBA içeriklerine ulaşın!

ÖDS

**ÖĞRENCİ/ÖĞRETMEN
DESTEK SİSTEMİ**

<https://ods.eba.gov.tr>

- Konu Anlatımlı Ders Videoları
- Soru Çözüm Videoları
- Ders Anlatım Videoları
- Çoktan Seçmeli Sorular



Kişiselleştirilmiş Öğrenme ve Raporlama

Animasyonlar, 3B Modeller, Simülasyon ve Oyunlar

Paylaşım ve İş birliği

Ortak / Özel Takvim

eBa
www.eba.gov.tr



40181 700982

**BU DERS KİTABI MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞINCA
ÜCRETSİZ OLARAK VERİLMİŞTİR.
PARA İLE SATILAMAZ.**

ISBN: 978-975-11-6397-4

Bandrol Uygulamasına İlişkin Usul ve Esaslar Hakkında Yönetmelik'in 5'inci Maddesinin İkinci Fıkrası Çerçevesinde Bandrol Taşınması Zorunlu Değildir.

LABORATUVAR HİZMETLERİ ALANI

İMMÜNOLOJİ VE SEROLOJİ

11-12 DERS MATERYALİ

MESLEKİ VE TEKNİK ANADOLU LİSESİ
LABORATUVAR HİZMETLERİ ALANI

İMMÜNOLOJİ VE SEROLOJİ

11-12
DERS MATERYALİ



MESLEKİ VE TEKNİK ANADOLU LİSESİ
LABORATUVAR HİZMETLERİ ALANI

İMMÜNOLOJİ VE SEROLOJİ
DERS MATERYALİ

YAZARLAR

Ali SÖNMEZ
Murat BOYDAK



MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI YAYINLARI: 8412
YARDIMCI VE KAYNAK KİTAPLAR DİZİSİ: 2304

Her hakkı saklıdır ve Millî Eğitim Bakanlığına aittir. Ders materyalinin metin, soru şekilleri kısmen de olsa hiçbir surette alınıp yayımlanamaz.

HAZIRLAYANLAR

Dil Uzmanı	Hülya BAŞTÜRK
Program Geliştirme Uzmanı	Şahinde SEVAL EZER
Rehberlik ve Psikolojik Danışma Uzmanı	Musa KARABEYESER
Ölçme Değerlendirme Uzmanı	Gülhan ŞAHİN
Görsel Tasarım Uzmanı	Hüsniye Cevahir ÖZDOĞAN KURŞUN

ISBN: 978-975-11-6397-4

Millî Eğitim Bakanlığının 24.12.2020 gün ve 18433886 sayılı oluru ile Meslekî ve Teknik Eğitim Genel Müdürlüğüne ders materyali olarak hazırlanmıştır.



İSTİKLÂL MARŞI

Korkma, sönmez bu şafaklarda yüzen al sancak;
Sönmeden yurdumun üstünde tüten en son ocak.
O benim milletimin yıldızıdır, parlayacak;
O benimdir, o benim milletimindir ancak.

Çatma, kurban olayım, çehreni ey nazlı hilâl!
Kahraman ırkıma bir gül! Ne bu şiddet, bu celâl?
Sana olmaz dökülen kanlarımız sonra helâl.
Hakkıdır Hakk'a tapan milletimin istiklâl.

Ben ezelden beridir hür yaşadım, hür yaşarım.
Hangi çılgın bana zincir vuracakmış? Şaşarım!
Kükremiş sel gibiyim, bendimi çiğner, aşarım.
Yırtarım dağları, enginlere sığmam, taşarım.

Garbın âfâkını sarmışsa çelik zırhlı duvar,
Benim iman dolu göğsüm gibi serhaddim var.
Ulusun, korkma! Nasıl böyle bir imanı boğar,
Medeniyet dediğin tek dişi kalmış canavar?

Arkadaş, yurduma alçakları uğratma sakın;
Siper et gövdeni, dursun bu hayâsızca akın.
Doğacaktır sana va'dettiği günler Hakk'ın;
Kim bilir, belki yarın, belki yarından da yakın.

Bastığın yerleri toprak diyerek geçme, tanı:
Düşün altındaki binlerce kefensiz yatanı.
Sen şehit oğlusun, incitme, yazıktır, atanı:
Verme, dünyaları alsan da bu cennet vatanı.

Kim bu cennet vatanın uğruna olmaz ki feda?
Şüheda fışkıracak toprağı sıksan, şüheda!
Cânı, cânânı, bütün varımı alsın da Huda,
Etmesin tek vatanımdan beni dünyada cüda.

Ruhumun senden İlâhî, şudur ancak emeli:
Değmesin mabedimin göğsüne nâmahrem eli.
Bu ezanlar -ki şehadetleri dinin temeli-
Ebedî yurdumun üstünde benim inlemeli.

O zaman vecd ile bin secde eder -varsa- taşım,
Her cerâhamdan İlâhî, boşanıp kanlı yaşım,
Fışkırır ruh-ı mücerret gibi yerden na'sım;
O zaman yükselerek arşa değer belki başım.

Dalgalan sen de şafaklar gibi ey şanlı hilâl!
Olsun artık dökülen kanlarımın hepsi helâl.
Ebediyyen sana yok, ırkıma yok izmihlâl;
Hakkıdır hür yaşamış bayrağımın hürriyyet;
Hakkıdır Hakk'a tapan milletimin istiklâl!

Mehmet Âkif Ersoy

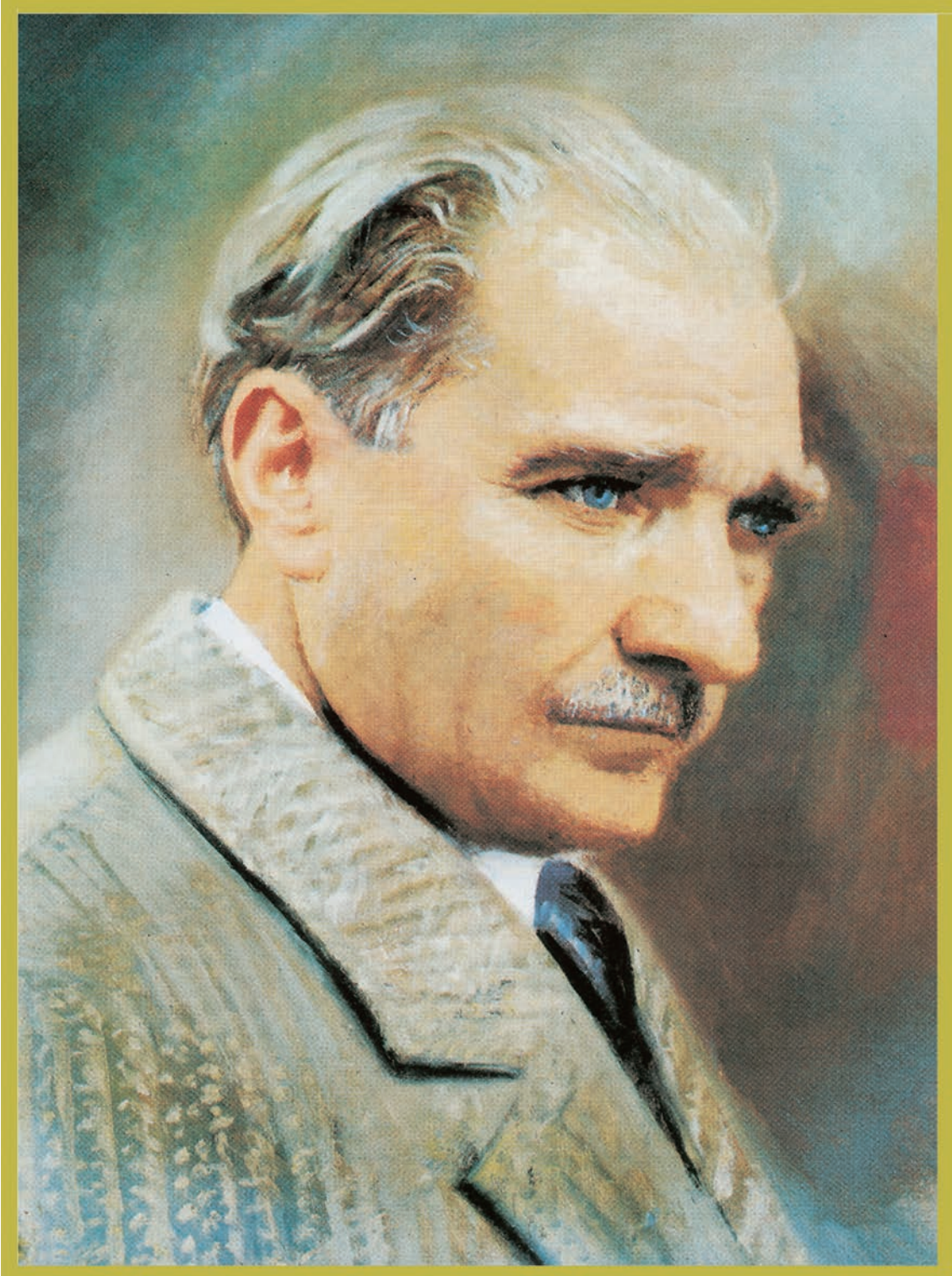
GENÇLİĞE HİTABE

Ey Türk gençliği! Birinci vazifen, Türk istiklâlini, Türk Cumhuriyetini, ilelebet muhafaza ve müdafaa etmektir.

Mevcudiyetinin ve istikbalinin yegâne temeli budur. Bu temel, senin en kıymetli hazinendir. İstikbalde dahi, seni bu hazineden mahrum etmek isteyecek dâhilî ve hâricî bedhahların olacaktır. Bir gün, istiklâl ve cumhuriyeti müdafaa mecburiyetine düşersen, vazifeye atılmak için, içinde bulunacağın vaziyetin imkân ve şeraitini düşünmeyeceksin! Bu imkân ve şerait, çok namüsaît bir mahiyette tezahür edebilir. İstiklâl ve cumhuriyetine kastedecek düşmanlar, bütün dünyada emsali görülmemiş bir galibiyetin mümessili olabilirler. Cebren ve hile ile aziz vatanın bütün kaleleri zapt edilmiş, bütün tersanelerine girilmiş, bütün orduları dağıtılmış ve memleketin her köşesi bilfiil işgal edilmiş olabilir. Bütün bu şeraitten daha elîm ve daha vahim olmak üzere, memleketin dâhilinde iktidara sahip olanlar gaflet ve dalâlet ve hattâ hıyanet içinde bulunabilirler. Hattâ bu iktidar sahipleri şahsî menfaatlerini, müstevlîlerin siyasî emelleriyle tevhit edebilirler. Millet, fakr u zaruret içinde harap ve bîtap düşmüş olabilir.

Ey Türk istikbalinin evlâdı! İşte, bu ahval ve şerait içinde dahi vazifen, Türk istiklâl ve cumhuriyetini kurtarmaktır. Muhtaç olduğun kudret, damarlarındaki asil kanda mevcuttur.

Mustafa Kemal Atatürk



MUSTAFA KEMAL ATATÜRK

İÇİNDEKİLER

DERS MATERYALİNİN TANITIMI 11

1. ÖĞRENME BİRİMİ: BAĞIŞIKLIK



1.1. İMMÜN SİSTEM 14

1.1.1. Bağışıklık Çeşitleri 14

1.1.2. Bağışıklıkta Rol Oynayan Hücreler 16

1.1.3. Antijen 22

1.1.4. Antikor 24

1.1.5. Antijen ve Antikor İlişkisi 25

1.1.6. İmmün Yanıt Sistemi 29

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME 35

1.2. AŞILAR VE İMMÜN SERUMLAR 37

1.2.1. Aşı Çeşitleri 37

1.2.2. İmmün Serumlar 47

1.2.3. Aşı ve Bağışıklık Serumu Arasındaki Farklar 48

1.2.4. Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları 49

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME 60

2. ÖĞRENME BİRİMİ: ENFEKSİYON HASTALIKLARININ TEŞHİSİNDE KULLANILAN SEROLOJİK TESTLER



2.1. AGLÜTİNASYON TESTLERİ 62

2.1.1. Aglütinasyon 63

2.1.2. Aglütinasyon Test Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Dikkat Edilecek Hususlar 65

2.1.3. Gruber-Widal Testi	66
2.1.4. Brucella Tanısında Kullanılan Aglütinasyon Testleri	68
2.1.5. ASO (Anti Streptolizin-O) Testi	73
2.1.6. CRP (C-Reaktif Protein) Testi	74
2.1.7. RF (Romatoid Faktör) Testi	76
2.1.8. Hemaglütinasyon Testi	77
2.1.9. Soğuk Aglütinasyon Testi	81
2.2. PRESİPİTASYON TESTLERİ	84
2.2.1. Halkalı Presipitasyon Testi	85
2.2.2. Jel İçinde Yayılma Presipitasyon Testinin Uygulanması	86
2.3. KOMPLEMAN BİRLEŞMESİ VE FLOKÜLASYON DENEYLERİ	91
2.3.1. Kompleman Birleşme Deneyleri	91
2.3.2. Flokülasyon Deneyleri	92
2.3.3. Nötralizasyon Testlerinin Uygulanması	93
2.4. ERKEN TANIYA YÖNELİK SEROLOJİK TESTLER	95
2.4.1. Tekniğine Uygun Olarak Serolojik Testleri Uygulama	95
2.4.1.1. Floresans [İmmünfluoresans (IFA)] Antikor Testi	95
2.4.1.2. Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA)	96
2.4.1.3. Radioimmunassay (RIA)	97
2.4.1.4. Bazı Virütik Hastalıkların Serolojik Tanı Testlerinin Uygulanması	97
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	100
KAYNAKÇA	101
CEVAP ANAHTARI	104

DERS MATERYALİNİN TANITIMI

Öğrenme biriminin adını gösterir.

Öğrenme biriminin numarasını gösterir.

Öğrenme biriminde öğrenilecek konuları gösterir.

Öğrenme biriminde öğrenilecek temaları gösterir.

BAĞIŞIKLIK

1. ÖĞRENME BİRİMİ

KONULAR
1.1. İMMÜN SİSTEM
1.2. AŞILAR VE İMMÜN SERUMLAR

TEMEL KAVRAMLAR
bağışıklık, antijen, antikor, aşı, serum, alerji, patojen

NELER ÖĞRENECEKİNİZ?

- Bağışıklık çeşitleri
- İmmün yanıtta rol oynayan hücreler
- Antijenlerin özellikleri
- Antikorun yapısı ve çeşitleri
- Antijen antikor ilişkisi
- İmmün yanıt sistemi
- Aşı çeşitleri, aşı takvimi, aşıların verme yolları
- İmmün serumlar
- Aşı ve bağışıklık serumları arasındaki fark
- Aşırı duyarlılık reaksiyonları

Hazırlık Çalışmaları

1. Çevrenizde hayvanlar tarafından sırlan veya trmalanan kişiler için neler yapılmaktadır?
2. Sporun, sağlıklı beslenmenin, temiz havanın ve oruç tutmanın immün sistem üzerindeki etkilerini araştırınız. Elde ettiğiniz bilgileri sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

13

Etkileşimli kitap, video, ses, animasyon, uygulama, oyun, soru vb. ilave kaynaklara ulaşılabilecek karekodunu gösterir.

Öğrenme biriminde öğrenilecek temel kavramları gösterir.

Öğrenme birimi hazırlık sorularını gösterir.

Alt konu başlığını gösterir.

Konu anlatımını gösterir.

BAĞIŞIKLIK

1.2. AŞILAR VE İMMÜN SERUMLAR

Sağlıklı insan ve hayvanlara yapay aktif bağışıklık kazandırmak için aşı yapılır. Aşılarla bağışıklık sistemini aktive edecek antijenler, gerçek enfeksiyon etkeni vücuda girmeden önce sisteme tanıtılır. Bunun sonucunda da aşının çeşidine göre hücresel veya hücre dışı bağışıklık gelişir. Aşılanan canlıların vücudunda spesifik antijenlere özgü antikorlar üretilir. Üretilen bu antikorlar da canlıya hastalığa karşı belli bir süre için korur. Bu yüzden aşılamalar belli aralıklarla tekrarlanır. Buna **rapel aşı** denir. Rapel aşılamayla canlıya hastalığa karşı koruyacak antikor miktarı yeterli seviyede tutulur. Çok sayıda serotipi veya alt tipi olan patojen etkenin tek bir serotipini veya alt tipini içeren aşılar **monovalan aşılar** denir. Monovalan aşılar, sadece taşıdığı serotipe karşı canlıyı korur. Örneğin büyükbaş ve küçükbaş ruminantlarda görülen şap hastalığının etkeni, picornaviridae familyasının aphtovirüs alt grubunda yer alan şap virüsüdür. Bu virüsün A, O, C, SAT-1, SAT-2, SAT-3 ve ASIA-1 olmak üzere yedi farklı serotipi bulunur. Aşı materyali bunlardan sadece birini içeriyorsa **monovalan**, ikisini içeriyorsa **bivalent**, üçünü içeriyorsa **trivalent**, dördünü içeriyorsa **kuvadrivalent**, beşini içeriyorsa **pentavalan** şeklinde isimlendirilir. Aşı içeriği birden fazla serotipi veya farklı patojen türlerini içeriyorsa buna **polivalan** (karma, kombine) aşı denir. Karma aşılar, içerdiği tüm serotiplere veya patojen türlerine karşı bağışıklık oluşturur. Örneğin köpeklerle uygulanan karma aşıların içeriğinde köpek gençlik hastalığı, hepatit hastalığı, parainfluenza, parvovirüs ve leptospiroza türlerine karşı bağışıklık oluşturacak şekilde antijenler bulunmaktadır.

Liyofilize (kurutulmuş) aşı, sulandırılarak kullanılan aşıdır. Aşı materyalinin uzun süre muhafazası için suyu giderilerek kurutulur. Bu tip aşılar, beraberindeki sulandırma sıvısı ile sulandırılıp homojen hâle getirildikten sonra kullanılır.

Özellikle ölü aşıların (inaktif aşılar) etkinliğini artırmak için antijenik özelliği olmayan yardımcı maddeler kullanılır. Bunlara **adjuvant** denir. İnaktif aşılar vücuttan hızla uzaklaştırıldığı için immün sistemi beklediği ölçüde uyarmaz. Bu yüzden adjuvanlar etkileşerek vücuttan atılma hızı azaltır. İmmün sistemde beklenen etki oluşturulur. Adjuvant olarak saponin, alüminyum tuzları, su-yağ emülsiyonları vb. kullanılır. Çok bekleyen patateslerin kabuğundan alınan oluşan yeşil renkli tabaka saponindir. Ekşi acımsı bir lezzete sahiptir. Tüketilmesi durumunda insan ve hayvanlarda zehirlenmelere sebep olur.

1.2.1. Aşı Çeşitleri

Aşılar, hazırlama yöntemleri ve içeriklerine göre klasik aşılar ve biyoteknolojik aşılar olmak üzere iki başlık altında incelenir.

Klasik Aşılar

Mikroorganizmalardan ve toksinlerden klasik yöntemler ile hazırlanan aşılardır. Klasik aşılar; canlı, ölü, toksoid, ve subunit aşı olmak üzere dört grupta incelenir.

Canlı Aşılar: Canlı olan hastalık etkeni bazı işlemlerden geçirilerek zayıflatılır. Zayıflatma işlemine **atenuasyon** denir. Bu nedende canlı aşılarla atenuasyon aşılar denir. Etken, kendi konağında, farklı konaklarda, besli yerlerinde, embriyolu tavuk yumurtasında veya hücre kültürlerinde sürekli pasajlar yaparak çoğalır. Bu şekilde gücü azaltılan etken hem hücrel ve hem de hücre dışı immün sistemi güçlü bir şekilde uyarır. Hastalık oluşturma yeteneği ise azalır. Canlı aşılar, ölü aşılarla göre daha uzun süre bağışıklık oluşturur. Çünkü vücutta uzun süre canlı kalır. Canlı aşının tek doz uygulanması yeterlidir. Böylece özellikle hayvan sürülerinin aşılanmasında 15 gün, zaman ve para tasarrufu sağlanır ayrıca hayvanlardaki stres yükü de azalır. Canlı aşılar; enjeksiyon, burun ve göt damlası, sprey, içme suyu ilave gibi birçok farklı yoldan uygulanabilir. Canlı aşılar, avantajlarının yanında bazı dezavantajlara da sahiptir. Bu tür aşılar, aşılanan hayvanda belirli göstermeden gizli seyreden bir hastalığı daha da alevlendirebilir. Bakımı ve beslenmesi iyi yapılmayan hayvanlar hastalanabilir.

37

Konu başlığını gösterir.

DERS MATERYALİNİN TANITIMI

Konuyla ilgili uygulamada kullanılacak araç gereci gösterir.

Uygulamayla ilgili işlem basamaklarını gösterir.

Konuyla ilgili uygulamanın amacını gösterir.

Uygulamayla ilgili yapılacak görevi gösterir.

Uygulamanın değerlendirme ölçütlerini ve puanlamayı gösterir.

1. ÖĞRENME BİRİMİ

1. UYGULAMA: İMMÜN YANITIN MANİPLASYONU

AMAÇ: İmmün sistem ile ilgili sunum hazırlama

UYGULAMA SÜRESİ: 10 gün

ARAÇ GEREÇ: Bilgisayar, internet, flaş bellek, yazıcı, A4 kâğıdı, şeffaf dosya, kâğıt, kalem

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak immünmodülasyon ve immünmodülatörler hakkında araştırma yapıp sunum hazırlayınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
2. Çalışma için gereken araç gereci (internet, bilgisayar vb.) hazırlayınız.
3. Konuyla ilgili ön araştırma yapınız. Araştırma süresi bir haftadır ([İmmünmodülasyonu (İmmünmodülasyonu, immünmodülatörü, immünmodülatörlerin etisi mekanizması, örnek, fizyolojik ve sentetik immünmodülatörleri, veteriner hekimlikte kullanılan immünmodülatörleri araştırınız.]).
4. Sunuda kullanacağınız cümlelerin net ve anlaşılır olmasına dikkat ediniz.
5. Sunuda kullanacağınız yazının puntosunu uygun seçiniz ve dikkat çekici renkler kullanınız.
6. Sunu sonunda dinleyicilere sorusu olup olmadığının sorunuz.
7. Dinleyicilere teşekkür ediniz.

DEĞERLENDİRME: Uygulamanız aşağıda verilen ölçütlere göre değerlendirilecektir. Çalışmanızı yaparken bu ölçütleri dikkate alınız. Çalışmanız ders öğretmeni tarafından İmmün Yanıtın Manipülasyonu Uygulaması Değerlendirme Ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Değerlendirme 50 - 100 arası başarılı 0 - 49 uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken öçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

İMMÜN YANITIN MANİPLASYONU UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Konu ile ilgili araştırmaları yaptı.				
3. Sunum hazırlama kurallarına uydular.				
4. Çalışmasını sunum kurallarına uygun olarak sundu.				
5. Sunum sonunda dinleyicilere soru yöneltti.				
TOPLAM PUAN				

34

Öğrenme birimi konularını kapsayan ölçme ve değerlendirme sorularını gösterir.

1. ÖĞRENME BİRİMİ

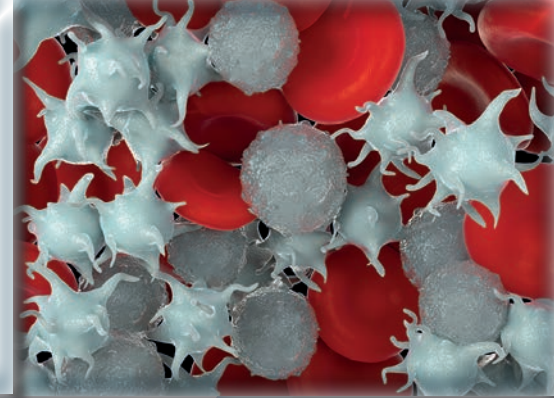
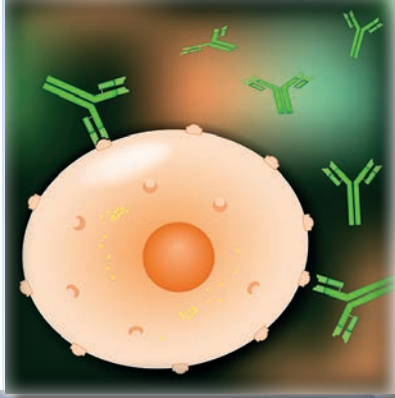
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıda verilen soruların okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

- 1. Aşılarla ilgili aşağıdaki açıklamalardan hangisi doğru değildir?**
 - A) Polivaleant aşılar farklı patojen türlerinden oluşur.
 - B) Lyofilize aşılar sulandırılarak kullanılır.
 - C) Antikor düzeyini koruyucu miktarda tutmak için napsi aşılar yapılır.
 - D) Aşısızlar, aşı materyalinin vücutta immün yanıt oluncaya kadar kalmasını sağlar.
 - E) İnaktif aşılar canlı aşılarla kıyasla daha uzun süre koruma sağlar.
- 2. Canlı aşılarla ilgili açıklamalardan hangisi doğru değildir?**
 - A) Canlı aşılar uzun süre pasajlar yapılarak attenué edilir.
 - B) Canlı aşılar duyarlı hayvanlar hastalandırılır.
 - C) Canlı aşılar bağışıklık gücü düşük aşıdan fazladır.
 - D) Canlı aşıların tek dozu olduğu aşılarla kıyasla yeterli bağışıklık oluşturur.
 - E) Canlı aşılar oda sıcaklığında muhafaza edilir.
- 3. Biyoteknolojik aşılarla ilgili aşağıdaki açıklamalardan hangisi doğrudur?**
 - A) Rekombinant DNA aşılarda patojenin antijenlerini kodlayan DNA parçası vektöre eklenir.
 - B) RNA aşılarda patojenin antijenlerini kodlayan mRNA parçası vektöre eklenir.
 - C) Rekombinant canlı aşılarında bakteriler ve mayalar kullanılır.
 - D) Anti-idiotip aşılar anti-antijen aşılarıdır.
 - E) DNA aşılarda antijen yapıtın kodlayan parça doğrudan konulu hücreye yerleştirilir.
- 4. Aşı uygulama yöntemleriyle ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**
 - A) Aerosol uygulama yönteminde aşı buruna ya da göze damlatılır.
 - B) Kas içi enjeksiyonda kazıl 45°'lik açıyla kasa batırılır.
 - C) Deri altı enjeksiyon yönteminde gövsek, biceps ve triceps deri bölümleri seçilir.
 - D) İçme suyu ile aşılamada aşı normal sebzelerle taşıyıcı olabilir.
 - E) İçme suyu ile aşılamada aşı metal kabın içinde 1/40 oranında yağlı sütle karıştırılır.
- 5. İmmün serumları ile aşılamalardan hangisi doğru değildir?**
 - A) Yapay pasif bağışıklık sağlar.
 - B) Monoklonal veya polivaleant olabilir.
 - C) Ayrı tür veya farklı tür canlılardan sağlanabilir.
 - D) Konuyu ve tedavi edicidir.
 - E) İçerisinde spesifik antijen taşıyıcıdır.
- 6. Aşırı duyarlılık reaksiyonlarıyla ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**
 - A) Tip-1'de IgG aracılık eder.
 - B) Tip-2'de IgE aracılık eder.
 - C) Tip-3'de T-lenfositler aracılık eder.
 - D) Tip-4'de Arthus reaksiyonu oluşur.
 - E) Tip-4'de kontakt tip görülür.
- 7. Tip-4 aşırı duyarlılık reaksiyonlarıyla ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**
 - A) Tüberkülin den mast hücrelerinde uygulanır.
 - B) F1H faktörüne bağlı gelişir.
 - C) Ani gelişen alerjik reaksiyondur.
 - D) İmmün komplekslere karpı gelişir.
 - E) Hücre ve ölümlüdeki yivü antijenlerle karpı gelişir.
- 8. Tip-1 aşırı duyarlılık reaksiyonlarıyla ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**
 - A) IgE bazofil ve mast hücrelerinin yüzeyine tutunarak bu hücreleri aktive eder.
 - B) Aktive olan bazofil ve mast hücreleri komplemanla bağlanır.
 - C) Aktive olan bazofil ve mast hücrelerinden histamin, serotonin gibi maddeler salınır.
 - D) Alerjik astım, alerjik dermatit ve alerjik rinit gelişir.
 - E) Anafilaksi epinefrin, antihistaminik ve kortizon ile tedavi edilir.
- 9. Tip-2 aşırı duyarlılık reaksiyonu ile ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**
 - A) Sitotoksik tıp kan grubu uyumsuzluklarında görülür.
 - B) Sitotoksik tıpe nörotoksik etkiler rol oynar.
 - C) Hücre uyucu tıpe enfeksiyon etkenleri sebebiyle gelişir.
 - D) Hücre uyucu tıpe oluşan antikorlar reseptörlere ve diğer hücrelere bağlanır.
 - E) Sitotoksik tıpe çapraz reaksiyonlar gelişir.
- 10. Tip-3 aşırı duyarlılık reaksiyonu ile ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**
 - A) Kontakt dermatit gelişir.
 - B) T-lenfositler aracılık eder.
 - C) Tüberkülin tıpe mevcuttur.
 - D) Vücudta biriken immün kompleksler sebep olur.
 - E) Jones-Mote reaksiyonu gelişir.

60

BAĞIŞIKLIK



1. ÖĞRENME BİRİMİ



KONULAR

- 1.1. İMMÜN SİSTEM
- 1.2. AŞILAR VE İMMÜN SERUMLAR

TEMEL KAVRAMLAR

bağışıklık, antijen, antikor, aşı, serum, alerji, patojen

NELER ÖĞRENECEKSİNİZ?

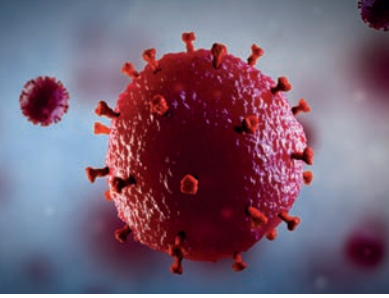
- Bağışıklık çeşitleri
- İmmün yanıtta rol oynayan hücreler
- Antijenlerin özellikleri
- Antikorum yapısı ve çeşitleri
- Antijen antikor ilişkisi
- İmmün yanıt sistemi
- Aşı çeşitleri, aşı takvimi, aşıların verilme yolları
- İmmün serumlar
- Aşı ve bağışık serumlar arasındaki fark
- Aşırı duyarlılık reaksiyonları

Hazırlık Çalışmaları

1. Çevrenizde hayvanlar tarafından ısırılan veya tırmalanan kişiler için neler yapılmaktadır?
2. Sporun, sağlıklı beslenmenin, temiz havanın ve oruç tutmanın immün sistem üzerindeki etkilerini araştırınız. Elde ettiğiniz bilgileri sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

1.1. İMMÜN SİSTEM

İmmünite teriminin kökeni, Latince “immunis” kelimesine dayanır. Vergi ödemesi ve askerlik gibi toplumsal görevlerden muaf olduğunu ifade eder. “Bedeli ödenmiş” manasında kullanılır. Atlatılan bir hastalığın konakçıya sağladığı dirence **bağışıklık (immünite)** denir. Organizmanın kendi genetik yapısına yabancı özel moleküllere karşı cevap oluşturan, hücre ve organlardan meydana gelen sisteme **bağışıklık sistemi (immün sistem)** denir. İmmün sistem tarafından ortaya konulan tepkiye immün yanıt denir. Fizyolojik (normal) ve patolojik (anormal) immün tepkiyi inceleyen bilim dalına da **immünoloji** denir.



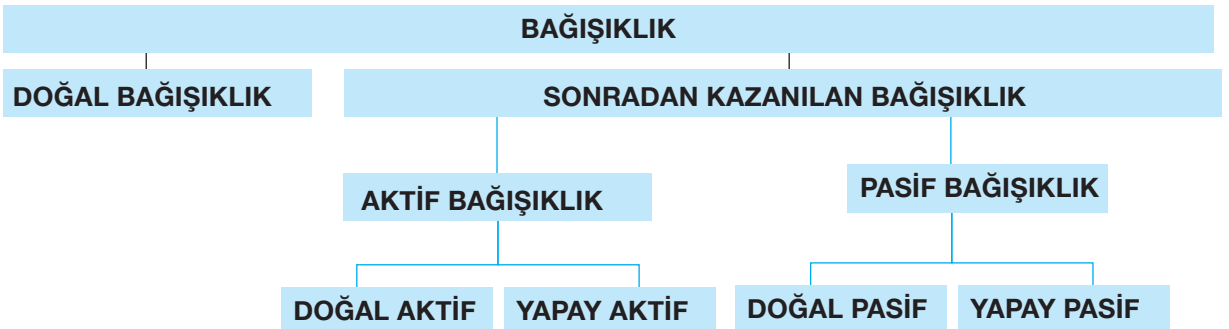
Görsel 1.1: HIV virüsü

Devletler düşman işgalinden korunmak için hava, kara ve deniz orduları kurmuştur. Bu orduları uydu, radar ve istihbarat sistemleriyle güçlendirmiş, sayısız teknolojik silah ve cephane üretmiştir. Bağışıklık sistemi de insan ve hayvan vücudunu hastalık yapan etkenlere karşı koruyan en gelişmiş ve mükemmel savunma sistemidir. Bu sistemdeki silahları; canlılardaki savunma hücreleri, bu hücrelerden bazılarının ürettiği antikorlar, genetik yapı, deri ve mukoza gibi bariyerler oluşturur. Bunlar birbiriyle çok uyumlu çalışır. Bu şekilde solunum, sindirim, çiftleşme vb. yollardan vücuda girmeye çalışan veya girmiş olan hastalık yapıcı etkenlere karşı canlıyı korur. Aralarındaki uyum bozulduğunda ise canlı, hastalığa yakalanır ve ölebilir.

Kedi gençlik hastalığına sebep olan virüs akyuvarların içinde çoğalır. Akyuvar sayısı normal değerlerin çok altına düşer. Vücut büyük ölçüde savunmasız kalır. Akyuvarlar hızlı bir şekilde tahrip olduğundan hastalanan kedi bir iki hafta içinde ölebilir. İnsanlara cinsel ilişki ve kan yoluyla bulaşan HIV (Human Immunodeficiency Virus / İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü) (Görsel 1.1) neden olduğu AIDS hastalığında virüs, haberci t-lenfositlerin içinde çoğalarak bu hücreleri tahrip eder. Böylece bağışıklık sisteminin kendi içindeki haberleşme ağı kopar. Enfeksiyon etkenlerine karşı bir yanıt oluşturulamaz. Vücutta bulunan zararsız bakteriler bile hızla çoğalarak hastalığa ve ölüme neden olur.

1.1.1. Bağışıklık Çeşitleri

Bağışıklık çeşitleri, doğal bağışıklık ve sonradan kazanılan bağışıklık olmak üzere iki ana başlık altında incelenebilir.



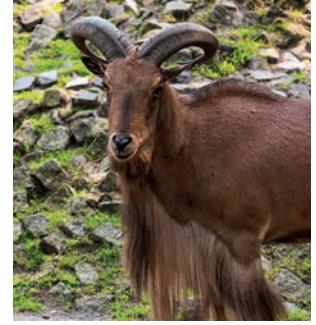
Doğal Bağışıklık

Genetik faktörlerden ötürü bazı türler bazı hastalıklara yakalanmaz yani her hastalık her türde görülmez. Buna **doğal direnç** denir. Örneğin kuş gribi virüsü, kanatlı hayvanlarda ve insanlarda hastalığa neden olur. Koyun, keçi ve sığır ise hiçbir zaman kuş gribine yakalanmaz. Sığırdaki yüksek ölüm oranlarıyla seyreden sığır vebası hastalığına at, eşek, katır gibi tek tırnaklı türler yakalanmaz. İnsanda görülen kızamık hastalığına kedi ve köpek yakalanmaz. Bu nedenle doğal dirence **kesin direnç** de denir.

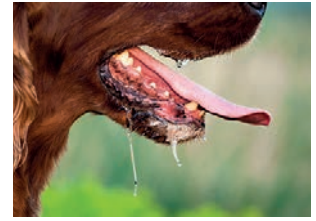
Aynı türün farklı ırkları bazı hastalıklara karşı daha dayanıklı olabilir. Örneğin Yerli Kara sığır ırkı, kültür ırkı olan siyah beyaz alaca Holstein sığına nazaran şap hastalığına karşı daha dirençlidir. Hastalığa hiç yakalanmayabileceği gibi yakalandığında da hastalığı kolay atlatılabilir. Kuzey Afrika koyun ırkı

(Görsel 1.2), diğer koyun ırklarına kıyasla brucella hastalığına karşı daha dayanıklıdır. Irk ya da birey düzeyindeki direnç, kesin direnç değildir. İnsan ve hayvanların vücudunda bulunan deri, mukoza, kıl örtüsü, salgı bezlerinin ürettiği salgı ve bağırsaktaki solucanvari hareketler doğal bağışıklığa katkı sağlayan doğal engelleri oluşturur.

Hastalık yapıcı etkenler, sağlam bir deri ve mukozadan geçemez. Burun boşluğunda bulunan kıllar, toz vb. partikülleri süzer ve bunların daha iç kesimlere ulaşmasını engeller. Köpeğin salyasında (Görsel 1.3) birçok hastalık etkenini öldürebilen antikor ve enzimler bulunur. Mide asidi, yiyecek ve içeceklerle beraber mideye kadar ulaşan pek çok hastalık etkenini öldürür. Mukozalarda yerleşik savunma hücreleri yer alır. Ayrıca solunum sistemi mukozasında bulunan titrete tüyler, mukus ve beraberindeki hastalık etkenlerini yutağa doğru taşıyarak. Bu şekilde hastalık etkenlerinin organlara tutunup yerleşmesine mâni olur. İshal durumunda bağırsaklardaki solucanvari hareketler daha da artar. Bu yolla bağırsak, hastalık yapıcı etkenlerin içeriğindeki zehirli maddeler emilmeden ve mukozaya tutunmadan bunların atılmasını sağlar. Kusma, öksürük ve hapsirik da bu türden savunma refleksidir. Bütün bu engelleri aşmayı başaran hastalık etkenlerini makrofajlar (büyük yiyici hücre) karşılar ve fagositoz yöntemiyle yok eder. Burada antijenlere karşı özgül antikorlar oluşmaz. Vücut savunmasındaki bu aşamaya **doğal bağışıklık** ya da **spesifik olmayan bağışıklık** denir.



Görsel 1.2: Kuzey Afrika yabani koyun ırkı



Görsel 1.3: Köpek salyası

Sonradan Kazanılan Bağışıklık

Vücuda giren hastalık yapıcı etkenlere karşı bağışıklık hücrelerinin yaptığı savaş sonucunda kazanılan bağışıklığa **sonradan kazanılan bağışıklık** denir. Bu savaşın sonucunda düşmana özel silahlar geliştirilir. Bu düşmanın unutulmaması için kayıt işlemi yapılarak saklanır. Bu şekilde kazanılan bağışıklığa **spesifik bağışıklık** da denir.

Sonradan kazanılan bağışıklık, aktif bağışıklık ve pasif bağışıklık olmak üzere iki ana başlık altında incelenebilir. Hem aktif hem de pasif bağışıklıkta savunma sistemi hücreleri rol alır. Bu hücrelerden bazıları hücresel immün yanıt oluşturarak (sitotoksik T-lenfositler) bazıları da hücreli immün yanıt oluşturarak (B-lenfositler) hücreli ve hücreli bağışıklığı kazandırır. Hücreli bağışıklık, sitotoksik T-lenfositlerin hastalık yapıcı etkeni imha etmesi ile sağlanır. Hücreli bağışıklık ise B-lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşerek antikor üretmesiyle kazanılır.



Görsel 1.4: Bebekte kızamık hastalığı

Aktif Bağışıklık

Doğrudan hastalığı geçirmek suretiyle kazanılmış aktif bağışıklığa **doğal aktif bağışıklık** denir. İnsan veya hayvan, genellikle ömrü boyunca geçirdiği hastalığa bir daha yakalanmaz. Örneğin gençlik hastalığını atlattan köpek, bir daha bu hastalığa yakalanmaz. Kızamık hastalığını geçiren bir insan, kızamık hastalığına yakalanmaz (Görsel 1.4). Kuş gribi, sığır vebası vb. hastalıklarda da durum böyledir.

Aşılanma yoluyla kazanılmış aktif bağışıklığa **yapay aktif bağışıklık** denir. Aşılamada maksat, hastalık etkenini zayıflatarak veya öldürerek immün sisteme tanıtmaktır. Bir ordunun savaştan önce tatbikat yapmasına benzer. Bu yüzden aşı, sağlıklı bireylere uygulanır. Bu yolla kazanılan bağışıklık canlıyı belli bir süre için korur.

Pasif Bağışıklık

Bir veya daha fazla hastalığa karşı üretilmiş hazır antikorların alınmasıyla pasif bağışıklık kazanılır. Bu



Görsel 1.5: Dört haftalık fetüs ve göbek kordonu



Görsel 1.6: Ağzı sütü emen kuzu



Görsel 1.7: Kobra yılanı

antikorlar anneden yavruya ağız sütü, anne rahminde göbek kordonu ve kanatlılarda yumurta ile geçiyorsa buna **doğal pasif bağışıklık** denir. Bu yüzden gebelikte bazı koruyucu aşı uygulamaları yapılır. Bu şekilde oluşan antikorlar, göbek kordonundan yavruya geçer (Görsel 1.5). Yavrunun hayatta kalması ve sağlıklı büyümesi için doğumdan sonra ilk iki saat içinde yeteri miktarda ağız sütünü emmesi son derece önemlidir (Görsel 1.6).

Akrep, yılan (Görsel 1.7), örümcek vb. canlıların zehrine ya da tetanoz, *clostridium botulinum* bakterisi vb. bakterilerin zehrine karşı panzehir diye bilinen ve yüksek oranda özgül antikör içeren hazır serumlar hastaya uygulanarak pasif bağışıklık sağlanır. Bu şekilde kazanılan bağışıklığa **yapay pasif bağışıklık** denir. İnsan eliyle hazırlanan ve belli bir hastalık etkenine karşı yüksek oranda özgül antikör içeren serumlara **hiperimmün serum** denir.

Pasif bağışıklık, canlıyı kısa bir süre için

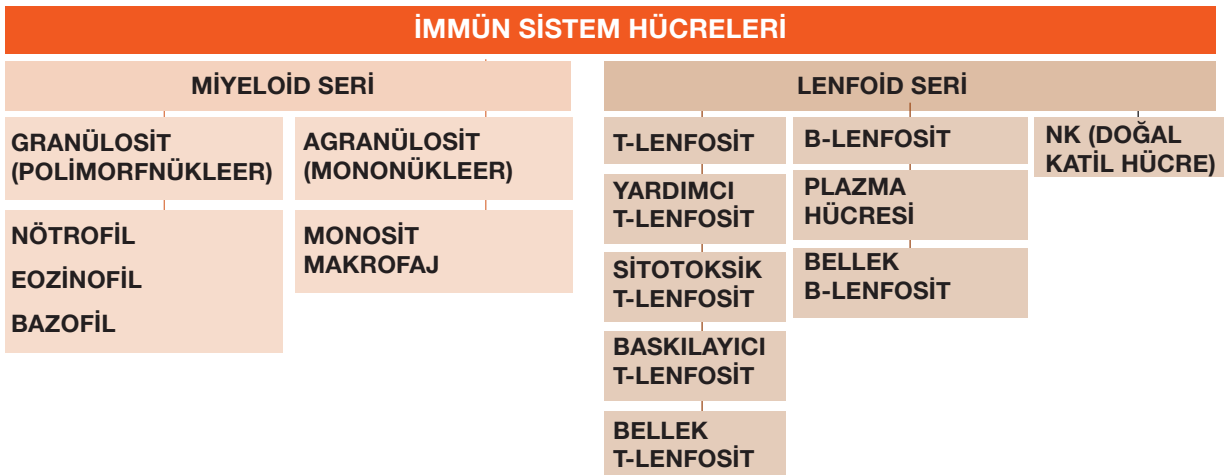
korur. Örneğin anneden yavruya ağız sütüyle geçen antikorlar, yavruyu en fazla birkaç ay korur. Buzağı septisemi serumu, koruyucu amaçla deri altı yoldan yeni doğan buzağılara 15 cc uygulanır. Koruma süresi on beş gündür. Hastalanan buzağılara ise tedavi amacıyla deri altı yoldan 20-40 cc uygulanır.

ARAŞTIRIP ÖĞRENELİM

Aşağıdaki soruları cevaplayarak fikirlerinizi sınıfta paylaşınız.

1. Yeni doğan yavrular ve gençler, enfeksiyon hastalıklarına karşı neden daha duyarlıdır?
2. İleri yaşlarda canlılarda kansere yakalanma oranı neden artar?
3. Genetik yapı ve çevre faktörü bağışıklığı nasıl etkiler?

1.1.2. Bağışıklıkta Rol Oynayan Hücreler



Vücudun hastalık yapıcı etkenlere karşı korunmasında doğrudan ya da dolaylı olarak görev yapan tüm hücrelere **immün sistem (bağışıklık sistemi) hücreleri** denir. Bu hücrelerin tamamı embriyonel dönemde vitellüs kesesinde; fetal dönemde karaciğer, dalak ve timusta; geri kalan yaşam süresince uzun ve yassı kemiklerde bulunan kırmızı kemik iliğindeki kök hücreden üretilir.

Kırmızı kemik iliğindeki kök hücreden köken alan hücreler, iki farklı yol takip ederek değişime uğrar. Bunlar, kırmızı kemik iliği serisi denilen myeloid seri hücreleri ve lenfoid organlarda (timüs, karaciğer, dalak, bursa fabricius) gelişimini tamamlayan lenfoid seri hücreleridir.

Miyeloid Hücreler

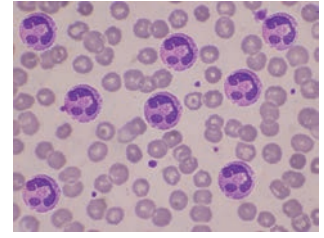
Bu seride yer alan nötrofil, bazofil ve eozinofil lökositler çok şekilli çekirdeğe sahip hücrelerdir. Bu hücrelerin çekirdekleri parçalı ve düzensiz bir yapıdadır. Bu nedenle miyeloid hücrelere **polimorfnükleer hücreler** de denir. Sitoplazmalarında granüller yer aldığı için bu hücrelere **granülositler** adı da verilebilir. Bu seride yer alan diğer hücre, tek çekirdeğe sahip olan monositlerdir. Bu özelliğinden dolayı **mononükleer hücre** de denir.

Nötrofil Lökosit: Bir ordunun piyade birlikleri gibi miyeloid, serinin sayıca en fazla olan hücre grubudur. Kırmızı kemik iliğinde üretilen lökositler kana geçerek on iki saat kadar kalır. Daha sonra dokulara geçer. Fagositoz yeteneğine sahip olan bu hücreler, damar dışına çıkabilir. Sitoplazmalarını ileriye doğru uzatarak kendisini çeker. Bu sitoplazma uzantılarına yalancı ayak denir. Amiplerin hareket tarzına benzediği için **amipsi hareket** akılda daha kalıcı olabilir. Çekirdekleri çoğunlukla üç parçadan oluşur. Sitoplazmalarındaki granüller, mikroorganizmaları parçalayan enzimlerle doludur. Vücuda giren mikroorganizmalara ilk olarak nötrofil lökositler müdahale eder (Görsel 1.8).

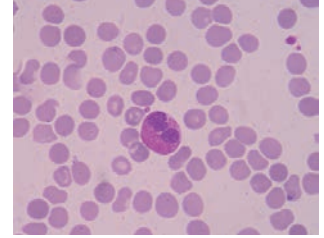
Eozinofil Lökosit: Kırmızı kemik iliğindeki kök hücreden gelişir ve kana karışır. Gelişimini tamamladıktan sonra deri ve mukozalara yerleşir. İki parçalı bir çekirdeğe sahiptir (Görsel 1.9). Özellikle paraziter hastalıklarda sayısı artar. Fagositoz yapar.

Bazofil Lökosit: Sayısı en az olan granülosittir. Özellikle alerjik durumlarda sayısı artar. Granülleri içinde histamin, bradikinin, serotonin gibi maddeler bulunur. Dokulara geçebilir. Dokulardaki şekline mast hücresi denir. Fagositoz yeteneği yoktur (Görsel 1.10 ve 1.11).

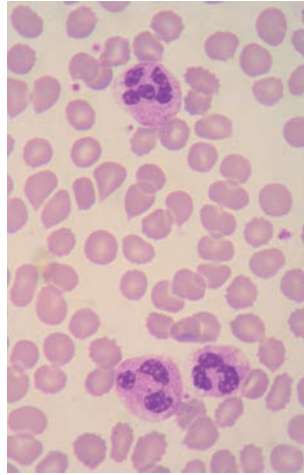
Monosit: Kırmızı kemik iliğindeki kök hücreden gelişen monositler, kana geçip gelişimini tamamlar (Görsel 1.12). Birkaç gün sonra dokulara geçerek yerleşik doku makrofajlarına dönüşür. Makrofajlar (Görsel 1.13), küre şeklinde olup fasulyeye benzeyen bir çekirdeğe sahiptir. Makrofajlar, ömrü boyunca fagositoz yapar.



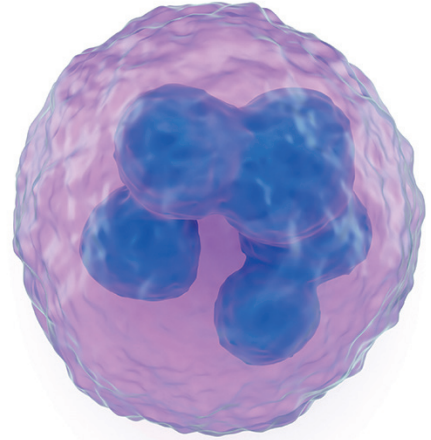
Görsel 1.8: Nötrofil lökosit



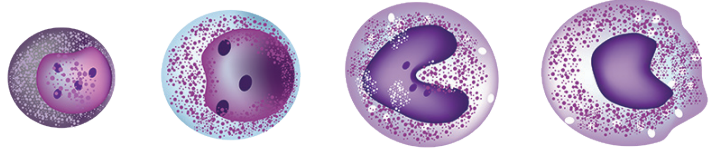
Görsel 1.9: Eozinofil lökosit



Görsel 1.10: Bazofil lökosit



Görsel 1.11: Bazofil lökosit 3D modeli



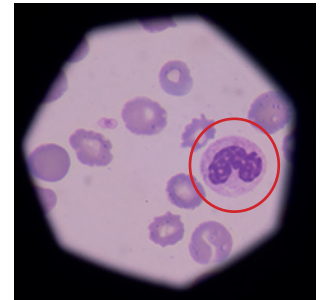
MONOBLAST

PROMONOSİT

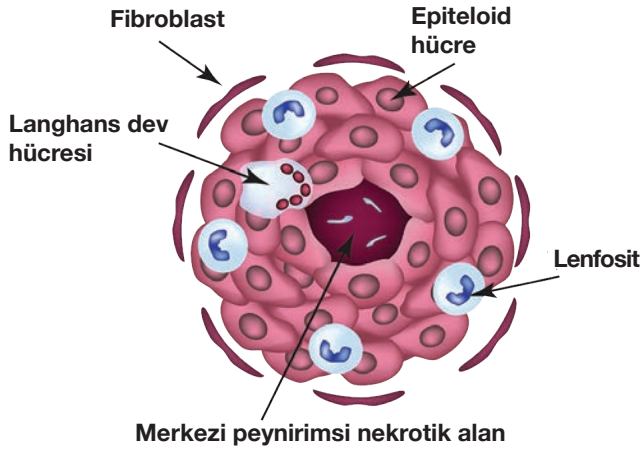
MONOSİT

MAKROFAJ

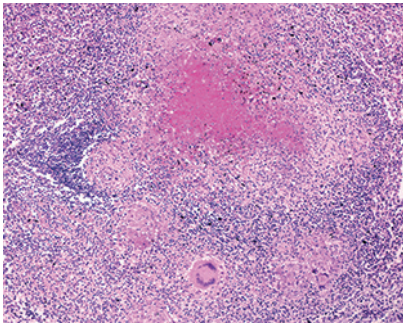
Görsel 1.12: Monositin doku makrofajlarına dönüşmesi



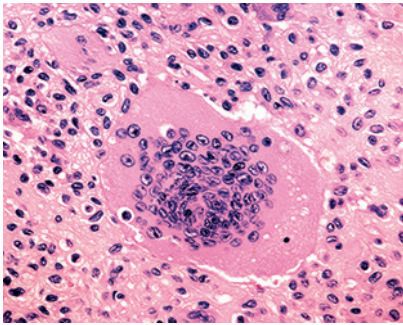
Görsel 1.13: Makrofaj



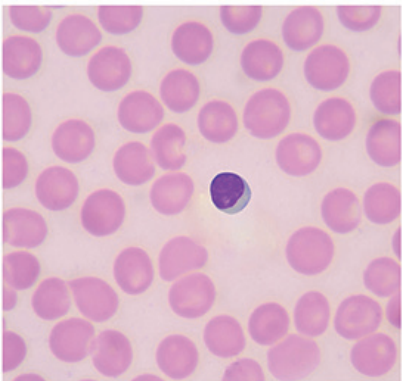
Görsel 1.14: Tüberküloz odağı granulum modelleme



Görsel 1.15: Tüberküloz odağı langhans dev hücresi



Görsel 1.16: Çok çekirdekli dev hücresi osteoklast



Görsel 1.17: Lenfosit

Lenfositlere antijen sunan hücreler de makrofajların bu konuda uzmanlaşmış olanıdır. Antijen sunma işinde özelleşen makrofajlara **dentritik hücre** denir. Bunlara derideki langerhans hücreleri, lenfoid organlarda bulunan foliküler dentritik hücre ve interdijital dentritik hücre örnek olarak verilebilir. Makrofajlar, yerleştikleri doku ya da organ çeşidine göre isimlendirilir. Örneğin bağ dokunun yerleşik makrofajlarına **histiosit**; beynin yerleşik makrofajlarına **mikroglia hücre**; böbreğin yerleşik makrofajlarına **mezangial hücre** denir. Bu hücreler, buldukları organın orijinal hücrelerinin şeklini alır.

Dokularda bulunan yerleşik makrofajlar, tüberküloz gibi bazı hastalık etkenlerine karşı birleşip kaynaşır veya özel bir dizilim göstererek karşı koyar. Bunlar **dev hücresi** ve **epiteloid hücre** (Görsel 1.14 ve 1.15) adını alır. Özellikle dalak, lenf düğümü, karaciğer ve kırmızı kemik iliği gibi organların sinus adı verilen boşluğuna yerleşen monositlere **sinus yerleşik makrofajları** denir. Bunlardan karaciğere yerleşene **kupffer yıldız hücreleri**, kemikte olana ise **osteoklast** (Görsel 1.16) adı verilmiştir. Serbest makrofajlar, vücut boşluklarında ya da organlardaki seröz (Karın ve göğüs boşluğunun ve buradaki organların yüzeyini örten kayganlaştırıcı sıvı salgılayan zar.) yüzeylerde bağımsız olarak bulunur. Alveolar makrofajlar, akciğer alveollerinde; peritoneal makrofajlar, peritonda (Karın boşluğudaki zar.) bulunur. Bunlar, serozal makrofajlar şeklinde genellenebilir.

Makrofajlar, immün cevabın oluşmasında görev alan yüzden fazla proteini üretir. Antijen işleme ve antijen sunma görevlerinin yanı sıra yarının iyileşmesinde de rol oynar.

Lenfoid Seri Hücreler

Kırmızı kemik iliğindeki kök hücrelerden köken aldıktan sonra birincil ve ikincil lenfoid organlarda gelişimini tamamlar. Özgüllük, hafıza ve tolerans özellikleri kazanan gerçek immün cevap hücreleridir. Genellikle büyük bir çekirdeğe ve az miktarda sitoplazmaya sahip olan yuvarlak şekilli küçük hücrelerdir (Görsel 1.17). Bu hücreler; T-lenfositler, B-lenfositler ve NK (doğal katil hücreler) olmak üzere üç grupta incelenebilir.

T-lenfositler: Kırmızı kemik iliğinden köken aldıktan sonra tüm memeli ve kanatlıların timüs bezinde olgunlaşır. Olgun T-lenfositler; lenf yumrularında, peyer plaklarında, dalakta ve kanda bulunur. T-lenfositler ömrü boyunca lenfoid organlarda dolaşarak adeta devriye görevi yapar. Özellikle hücrel immün cevaptan sorumludur. T-lenfositler, timusta kazandıkları farklı yüzey molekülleri sayesinde farklı görev yapan sınıflara ayrılır. Her sınıfın bazı hücreleri, antijenik uyarı sonrası bellek T-lenfositlere dönüşür.

a) Yardımcı (Haberci) T-lenfositler: Antijen sunan makrofajların hazırladığı antijenle ilgili bilgileri alarak B-lenfositleri ve diğer T-lenfositleri durumdan haberdar eder. Aksi takdirde özellikle protein yapısındaki hastalık yapıcı etkenlere karşı önemli bir karşılık verilmez. Bu açıdan

haberci T-lenfositler istihbarat elemanları gibi düşünebilir. Yardımcı T-lenfositler, yüzeyinde CD4 molekülü taşıdığı için **CD4 hücre** olarak da adlandırılır. Yardımcı T-lenfositler salgıladığı sitokinlere göre Th1, Th2 ve Th0 olmak üzere üç alt tipe ayrılır.

b) Sitotoksik T-lenfositler: Hüresel immün yanıtta sorumlu temel hücrelerdir. Sitoplazmalarındaki granüller içinde parçalayıcı enzimler taşır. Sitotoksik T-lenfositler, özellikle hücre içine yerleşen hastalık etkenlerine karşı hücreyi tümüyle imha ederek bağışıklık sağlar. Benzer şekilde kanserli hücreleri, doku ve organ nakilleri sonrasında vücuda giren yabancı hücreleri imha eder. Sağlıklı bir insanda günde yaklaşık bir milyon kanser hücresi oluşur. İnsan vücudundaki bu mükemmel ordu sessiz bir şekilde kanser hücreleriyle mücadele eder. Vücudu olası bir istiladan korur. Sitotoksik T-lenfositler yüzeylerinde CD8 molekülü taşıdığından **CD8 hücre** olarak da isimlendirilir.

c) Baskılayıcı T-lenfositler: Sitotoksik T-lenfositlerin bir grubu baskılayıcı T-lenfositler olarak adlandırılır. Vücudun kendi doku antijenlerine karşı immün yanıt oluşturmamasını engeller.

ç) Bellek T-lenfositler: Antijenik uyarım sonrası bazı T-lenfosit soyları bellek T-lenfositlere dönüşerek antijenle ilgili bilgileri canlının ömrü boyunca saklar. Aynı antijenin vücuda tekrar girmesi durumunda immün yanıt daha kısa sürede ve daha güçlü şekilde oluşturulur.

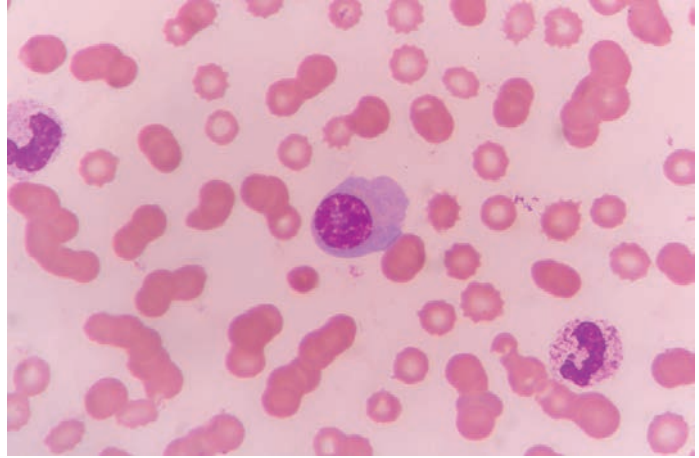
B-lenfositler: Kırmızı kemik iliğindeki kök hücreden köken alır. Gelişimini kanatlı hayvanlarda bursa fabriciusta; memelilerde, kırmızı kemik iliğinde; ruminantlarda, ileo-sekal peyer plaklarında tamamlar. Hümorale immün yanıtta sorumlu olan hücrelerdir. Yani antijene karşı özgül antikorları üretir. B-lenfositler iki sınıfa ayrılır.

a) Plazma Hücreleri: Antijenik uyarım olduğunda B-lenfositlerin bazı soyları plazma hücrelerine dönüşerek antikor üretimini gerçekleştirir. Plazma hücreleri (Görsel 1.18) başta lenf düğümü, dalak, kırmızı kemik iliği olmak üzere bütün vücuda dağılarak 3-30 gün boyunca antikor üretir.

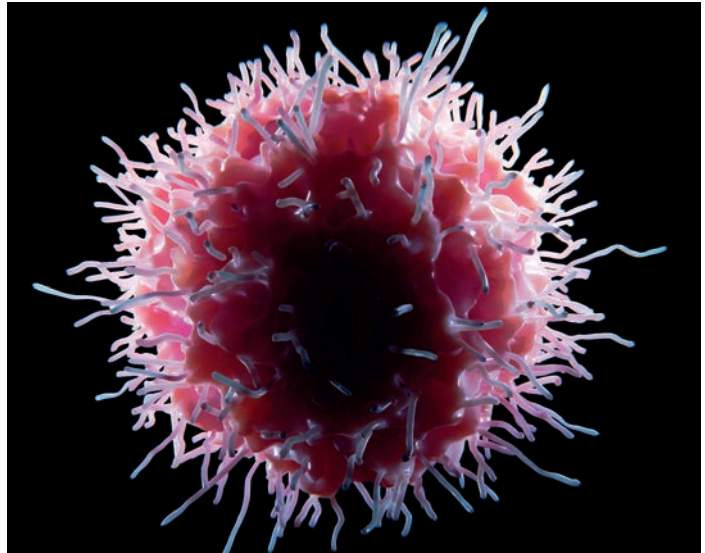
b) Bellek B-lenfositler: Antijenik uyarım sonrası bazı B-lenfosit soyları Bellek B-lenfositlere dönüşür. Bunlar, antikor üretimiyle ilgili bilgileri canlının ömrü boyunca saklar. Aynı antijenin vücuda tekrar girmesi durumunda immün yanıt daha kısa sürede ve daha güçlü şekilde oluşturulur.

NK (Doğal Katil) Hücreler: T-lenfositler gibi kırmızı kemik iliğindeki kök hücreden köken alır (Görsel 1.19). Ancak olgunlaşmak için timusa uğramaz. Bu nedenle yüzey molekülü bulundurmaz.

Sitotoksik özellikte öldürücü hücrelerdir. NK hücreleri kanda ve ikincil lenfoid organlarda bulunur. Kanserli hücreleri, virüsle enfekte olmuş hücreleri ve yabancı doku hücrelerini parçalayıcı enzimleri ile öldürür.



Görsel 1.18: Merkezde plazma hücresi

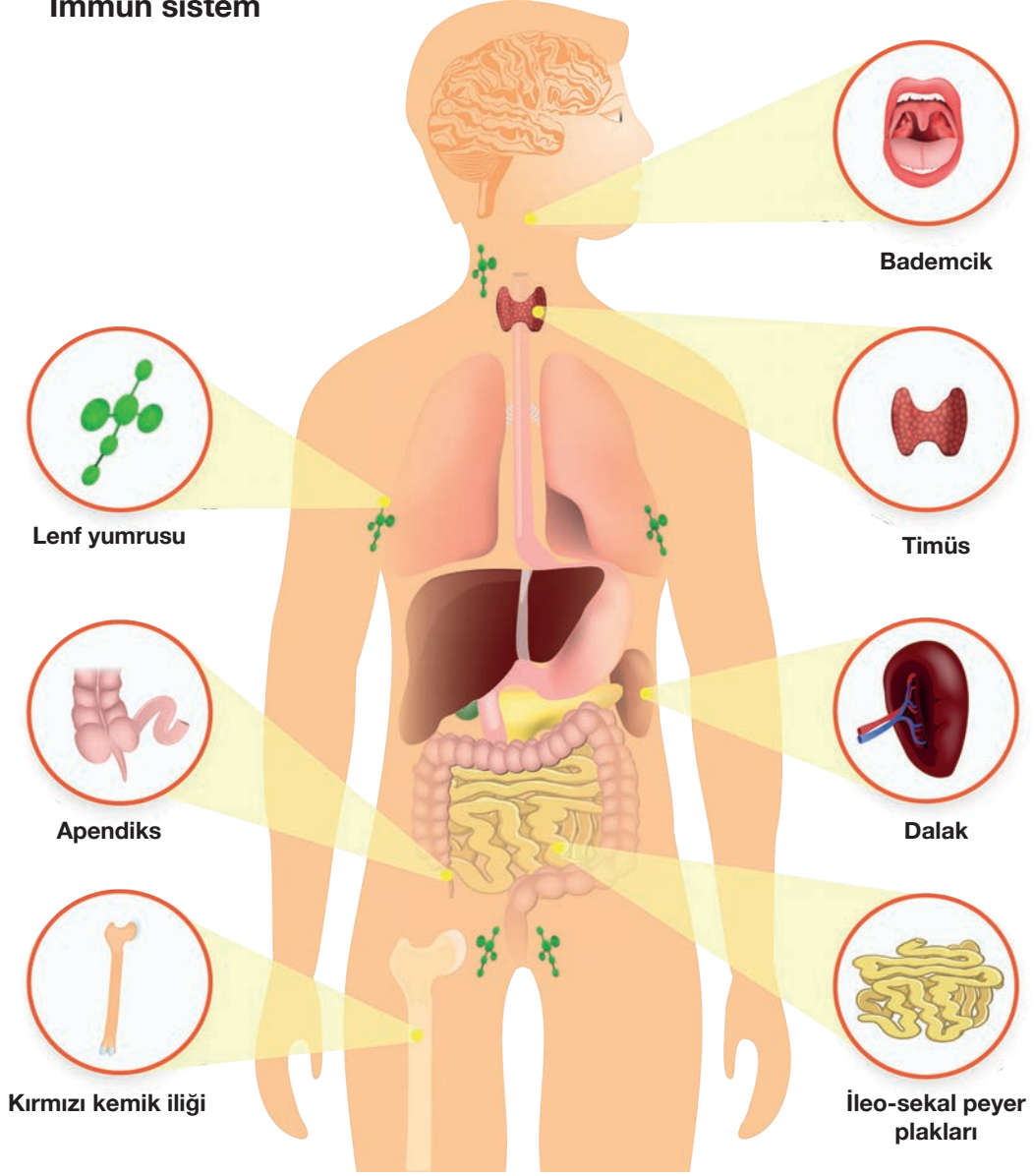


Görsel 1.19: NK hücresi üç boyutlu çizim

Lenfoid Organlar

Bağışıklık sisteminde rol alan lenfoid organlar, yapısı ve fonksiyonu açısından primer (birincil) ve sekunder (ikincil) olmak üzere iki başlıkta incelenebilir (Görsel 1.20).

İmmün sistem



Görsel 1.20: İnsanda lenfoid organlar

Primer Lenfoid Organlar

B ve T-lenfositlerin değişiminden sorumlu olan organlardır. Bu organlarda farklı antijenik (hastalık yapıcı etken) yapılarla karşılaşarak bunlara karşı farklı yüzey molekülleri kazanır.

Primer lenfoid organların ortak özelliği, yeni doğanlarda hacmi en büyükken ergenlikte hızla küçülmesidir. Bu organların yeni doğanlarda vücuttan uzaklaştırılması durumunda bağışıklık açısından önemli fonksiyon kayıpları olur. Primer lenfoid organlar, **merkezi lenfoid organlar** olarak da isimlendirilir.

Timus: Tüm memelilerde ve kanatlı hayvanlarda, göğüs boşluğunda yemek borusu ve soluk borusuna paralel uzanan lobuler (bölüm) yapıdaki lenfoid organdır. Lobların büyüklükleri farklı olup simetrik değildir. T-lenfositler, timusta vücuda yabancı olan antijenleri tanır. T-lenfositleri vücuda giren antijenlere karşı reaksiyon göstererek imha eder.

Bursa Fabricius: Sadece kanatlı hayvanlarda bulunan B-lenfositlerin gelişimini tamamladığı lenfoid organdır. Kanatlı hayvanlarda omurganın altında, yumurta çıkış kapısının hemen üstünde bulunan armut şeklinde bir organdır. B-lenfositlerin yabancı antijenleri tanıdığı yerdir. Bu organ, vücudun kendi antijenik yapısına saldıracak olan B-lenfositleri de imha eder.

Kırmızı Kemik İliği: Yassı ve uzun kemiklerin uç kısımlarında bulunur. Hem kan hücrelerinin hem de bağışıklık sisteminde rol oynayan hücrelerin köken aldığı kök hücreler, kırmızı kemik iliğindedir. Ruminantlar dışındaki memelilerde B-lenfositlerin yabancı antijenleri tanıdığı yerdir. Bu organ vücudun kendi antijenik yapısına saldıracak olan B-lenfositleri de imha eder.

İleo-sekal Peyter Plakları: Ruminantlarda B-lenfositlerin yabancı antijenleri tanıdığı primer lenfoid organdır. Bu yapı, ince bağırsak ve sekum denilen kör bağırsak mukozasında konumlanan ve sadece B-lenfositlerin bulunduğu foliküllerden ibarettir.

Secunder Lenfoid Organlar

Secunder lenfoid organları, hemen hemen vücudun her yerinde bulunan lenf nodülleri oluşturur. Bunlar, immün cevabın oluşması için gereken uygun ortamı sağlar. Bu organlara **ikincil** veya **periferel (çevresel) lenfoid organlar** ismi de verilir. Bu organların ortak yönü, vücudun ve organların büyüüp gelişmesiyle birlikte büyümesidir. Canlı, ergenliğe ulaştığında en büyük hacme ulaşır. Antijenik uyarımlar neticesinde aktivite kazanır ve doku gelişimini tamamlar. Bir hastalık durumunda, ilgili bölgenin lenf yumrusunun şişmesi bu nedendir. Üst solunum yolu enfeksiyonlarında bademciklerin şişmesi, bu duruma örnek olarak verilebilir. Ergenliğe ulaşmadan vücuttan çıkarılmaları durumunda immün yanıt sisteminde önemli bir kayıp oluşmaz.

Lenf Nodülleri: Genellikle lenf damarları üzerinde bulunan yuvarlak ya da fasulye şeklindeki yapıdır. Bazıları hem sağlıklı durumda hem de hastalık durumunda dıştan elle muayene edilebilir. Bazıları ise sadece hastalık durumunda büyüdüğünde dıştan elle muayene edilebilir. Vücudun derin kısımlarındaki lenf yumruları ise görüntüleme teknikleriyle ya da otopside muayene edilir. Lenf yumrularında olgunlaşmış B-lenfositler, T-lenfositler ve dentritik hücreler bulunur. Lenf sıvısıyla lenf yumrusuna gelen antijenlere karşı gereken immün cevap verilir.

Dalak: Dalakta B-lenfositler, T-lenfositler ve dentritik hücreler bulunur. Kandaki antijenlere karşı gerekli immün yanıtın oluşmasını sağlar. Dalağın bir başka görevi ise kanın depolanmasıdır. Dalak, tek midelilerde mide duvarına yapışıktır. Ruminantlarda, işkembeğe yapışık vaziyettedir. Kanatlılarda ise bezli mideyle taşlık arasında bulunur.

Kırmızı Kemik İliği: Hem primer hem de vücuttaki en büyük hacme sahip lenfoid organ olması nedeniyle secunder lenfoid organ olarak da kabul edilir. Tüm immün sistem hücrelerine sahiptir. Kandaki antijenlere karşı gerekli immün yanıt ortamını oluşturur.

Mukozal Lenfoid Dokular: Solunum, sindirim ve ürogenital sistemde yer yer genişleyip daralan boru şeklindeki organlar oluşturur. Bu organların mukoza tabakasında bulunan immün sistem, hücrelerinin oluşturduğu foliküler yapıdır. Buna en iyi örnek ince bağırsak mukozasındaki peyer plaklarıdır. Bu yapılar sadece mikroskopla görülebilir. Peyter plakları içinde B ve T-lenfositler, makrofajlar ve dentritik hücreler bulunur. Ayrıca "M" hücreleri olarak isimlendirilen, özelleşmiş antijen sunan epitel hücreleri yer alır.

Primer ve secunder lenfoid organlarda da benzer biçimde foliküler bir organizasyon bulunur. Bu yüzden genel bir ifade ile bu foliküler yapıya **mukoza-ilişkili lenfoid doku (MALT)** denir.

1.1.3. Antijen

Vücuda girdiğinde immün sistemi uyaran, lenfositler ile spesifik reaksiyon veren hastalık etkenlerine **antijen** veya **immünojen** adı verilir. Bir maddenin antijen olabilmesi için bazı özelliklere sahip olması gerekir. Ancak o zaman arzu edilen ölçüde bir immün yanıt oluşabilir. Antijenin vücuda girdiğinde kendisine bağlanacak özgül antikor oluşturma kabiliyetine **antijenite** denir. Antijenitenin şartları şunlardır:

Antijen Molekülünün Vücuda Yabancı Olması: İmmün sistem vücudun kendine ait olan antijenlerini (self antijen) tanır, immün yanıt (self tolerans) oluşturmaz. Vücuda yabancı olan her madde de immün yanıt oluşturmaz. Örneğin petrol ürünleri vücuda girdiğinde immün cevap oluşturmaz. Çünkü molekül yapısı uygun değildir.

Antijen Molekülünün Ağırlığı: Molekül ağırlığı 10.000 daltondan büyük olan maddeler antijenik özellik taşır. Ancak bu ağırlığın üzerinde olan her molekül antijenik değildir.

Antijen Molekülünün Yapısı: Molekül ağırlığıyla birlikte molekül yapısının da kompleks olması gerekir. Yani fiziksel ve kimyasal yapısı çeşitlilik göstermelidir. Proteinler, kompleks yapılarından dolayı iyi antijenik özellik gösterir. Proteinlerin kimyasal yapısını 18-20 çeşit aminoasit oluşturur. Bu aminoasitlerin farklı sırayla dizilmesi de molekülün farklı şekillerde oluşmasına yol açar dolayısıyla fiziksel yapı değişmiş olur.

Antijen Molekülünün Alt Birimlere İndirgenmesi: Vücuda giren antijenik molekülün immün yanıt oluşturacak şekilde çözünmesi gerekir. Yapı taşlarına kadar parçalanan bir molekül immün yanıt oluşturamaz. Bu yüzden çözünürlük ve dayanıklılık dengeli olmalıdır.

Antijen Molekülünün Vücuda Giriş Yolu: Bir molekül; duyarlı konakçıya deri altı, kas içi vb. parenteral yollardan verildiğinde antijenik özellik gösterirken, ağızdan verildiğinde göstermeyebilir.

Antijen Molekülünün Dozu: Vücuda uygulanan dozun yetersiz olması zayıf bir immün cevaba yol açar. Dozun gereğinden fazla olması da immün sistemi baskılar. İmmün yanıt oluşmaz.

Canlı Türü: Bir antijen molekülü tüm canlı türlerinde immün yanıt oluşturmaz. Örneğin kedide bağışıklığı uyaran antijen, köpekte uyarmayabilir ya da zayıf bir immün yanıt oluşturabilir.

Antijenik Determinant

Antijenik bir molekülün spesifik immün yanıt oluşturan özel kısımlarına **antijenik determinant** ya da **epitop** denir. Antijenlerin kimyasal gruplarını protein, karbonhidrat, lipit ve nükleik asit oluşturur. Bunların kendi aralarında oluşturdukları bileşikler de kimyasal yapıya katılır. Glikoprotein, nükleoprotein, lipoprotein ve glikolipit bileşikleri şeklinde olabilir. Antijenik determinantlar genellikle 4-8 aminoasitten oluşan bölgelerdir. Kompleks bir molekülde birbirinden farklı birçok epitop olabilir. İmmün sistem, birbirinden farklı epitopları ayrı ayrı tanımlayarak her biri için spesifik yanıt oluşturur. Örneğin bir bakteri hücresinde kimyasal grupların tümü bulunur. İmmün sistem, bakteriyi tek bir antijen olarak görmez. İmmün sistem bu bakteri hücresindeki epitopların her çeşidiyle reaksiyona girerek spesifik yanıt oluşturur.

Farklı antijenik moleküllerde veya farklı mikroorganizmalarda kimi zaman ortak epitoplar olabilir. Böyle bir durumda bir antijene karşı oluşan antikor zayıf da olsa diğerine bağlanır. Bu duruma **antijenik çapraz reaksiyon (kros reaksiyon)** denir. Örneğin birçok bağırsak bakterisinde bulunan glikoprotein bazı memeli alyuvarlarında da bulunabilir. Bakteri glikoproteinine karşı oluşan özgül antikor, alyuvar glikoproteinine de bağlanır. Böyle antijenlere **heterofil antijenler** denir. Bu durum serolojik testlerde yanlış pozitif sonuçlara yol açar.

1.1.4. Antikor

Hümmoral immün yanıt sonucunda B-lenfositlerin bazı soylarının plazma hücrelerine dönüşerek antijene karşı ürettiği özgül moleküllere **antikor (immünglobulin)** denir (Görsel 1.21).

Serbest Antikor: Kanda ve diğler vücut sıvılarında serbest hâlde bulunan antikordur.

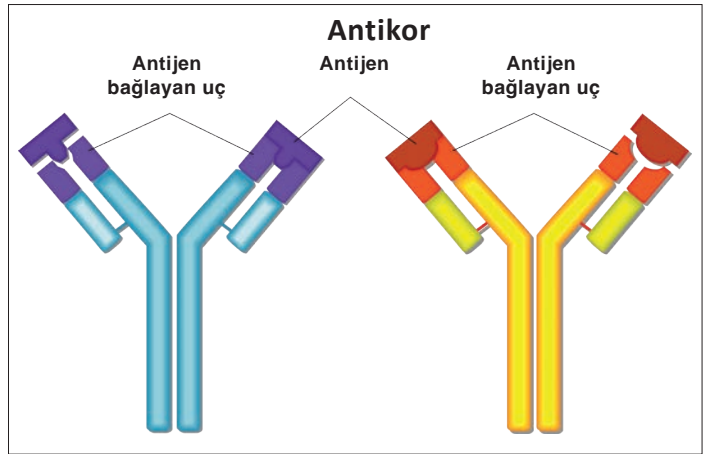
B Hücre Reseptörü (BCR): B-lenfositlerin yüzeyinde reseptör şeklinde bulunan antikordur. Bu antikor sayesinde B-lenfosit, antijeni tanıyarak aktive olur ve spesifik antikorları üretir. Antikor, antijene anahtarın kilide uyduğı gibi uyar. İkiisi arasında uyumlu bir bağlantı gerçekleşir.

Antikorlar globülin yapısındaki proteinlerden oluşup bağışıklıkta görev aldığı için **immünglobulin** olarak da isimlendirilir. İmmünglobulinler "Y" harfine benzer şekilde simetrik olarak dizilmiş dört polipeptid (protein) zincirinden oluşur. Bu yapı, saç örgüsü gibi üç boyutlu olarak düşünölmelidir (Görsel 1.22). İmmünglobulin molekülünde değışken kısım, hareketli kısım ve sabit kısım bulunur.

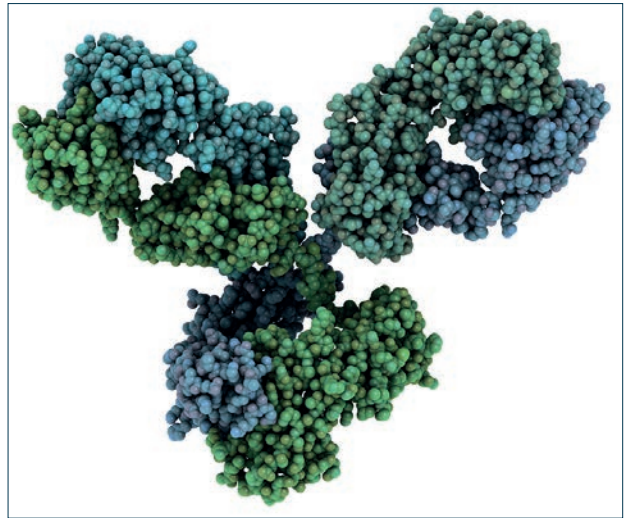
Değışken Kısım: "Y" harfinin kollarına benzeyen kısımlar değışken olup antijenin bağlandığı yapıdır. Bu yapının içinde doğrudan antijenin bağlandığı çok değışken bölümler bulunur. Bunlara **paratop** denir. Ne kadar çok antijen varsa o kadar çok değışken bölge yani paratop bulunur. Farklı immünglobulin çeşitlerinde aynı antijene karşı aynı paratop bulunur (Görsel 1.23).

Hareketli Kısım: "Y" harfinin kolları, sap kısmına katlanabilecek şekilde bağlanan hareketli kısımdır.

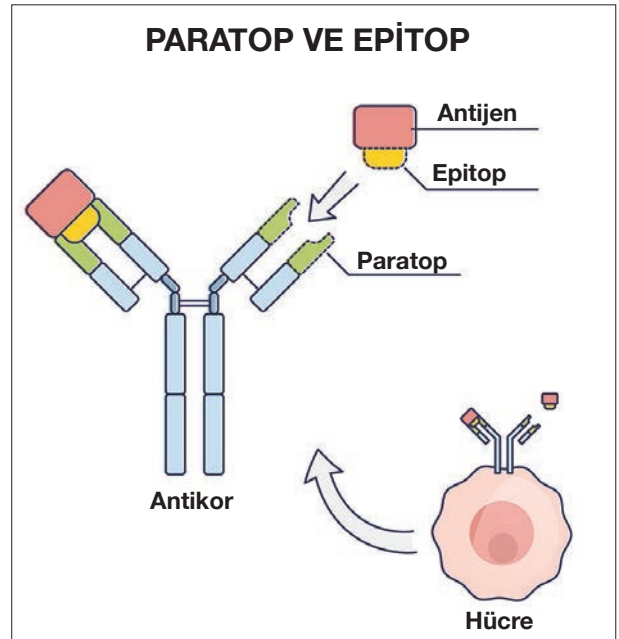
Sabit Kısım: "Y" harfinin sapı sabit kısmı oluşturur. Sabit bölge, immünglobulin çeşitlerinde birbirinin aynısıdır ya da çok az farklılık gösterir. Sabit kısım antikorun hücrelere bağlanmasını sağlar.



Görsel 1.21: Antikor modeli



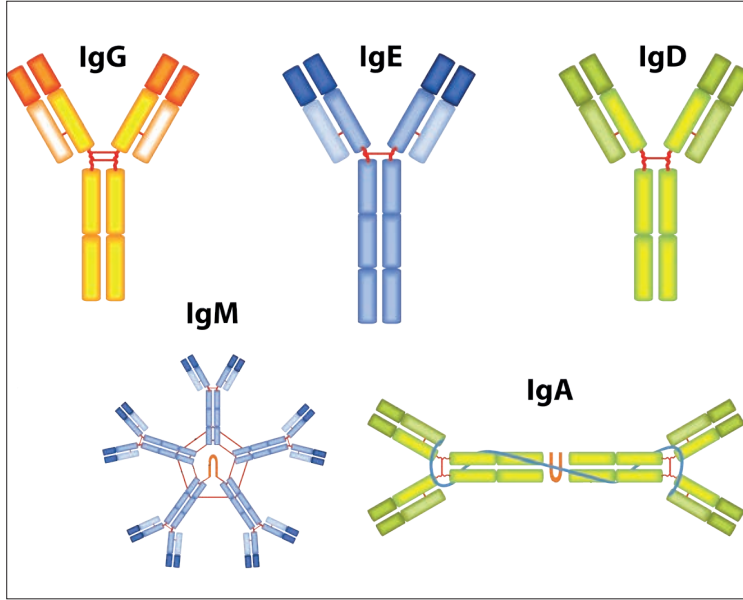
Görsel 1.22: Antikorun kimyasal molekül modeli



Görsel 1.23: Antikor ve antijen modeli

Antikor Çeşitleri

B-lenfositler, antijenle uyarıldığında plazma hücrelerine dönüşerek beş çeşit antikor sentezler (Görsel 1.24). Antikor çeşitleri şunlardır:



Görsel 1.24: Antikor çeşitleri

İmmünglobulin G (IgG): IgG secun-der lenfoid organlardaki B-lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşmesi ile üretilir. IgG, en fazla secunder immün yanıt sırasında üretilir. IgG, geçirilmiş enfeksiyon göstergesidir. Kanda en fazla oranda bulunan ve en küçük olan Ig çeşididir. Küçük olduğu için damar duvarından ve göbek kordonundan kolayca geçer. Bundan ötürü doku sıvılarındaki mukozal yüzeylerdeki immün yanıtta katılır. Nötralizasyon yoluyla kandaki, doku sıvılarındaki, mukozal yüzeylerdeki hastalık yapıcı etkenleri ve toksinleri etkisiz duruma getirir. IgG tüm hayvan türlerinde bulunur. Hayvan türlerine göre IgG çeşidi 3-6 arasında değişir.

İmmünglobulin M (IgM): Kanda konsantrasyon açısından ikinci sırada yer alır. Ortamda serbest olarak bulunmaz. Sadece B-lenfositlerin üzerinde, B-hücre reseptörü (BCR) olarak bulunur. IgM, secunder lenfo- id organlardaki B-lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşmesi ile üretilip salgılanır. Molekül büyüklüğü en fazla olan Ig olduğu için damar duvarından ve göbek kordonundan geçemez. IgM, beşli molekül yapıda olduğu için beş antijen bağlama ucuna sahiptir. Bu özelliğinden dolayı IgG'ye oranla az üretilse bile nötralizasyon yeteneği beş kat fazladır. IgM primer immün yanıt sırasında ilk oluşan Ig molekülüdür. En yüksek konsantrasyona da primer immün yanıt sırasında ulaşır. Protein dışındaki bazı antijenlere karşı da sadece IgM sınıfı antikorlar üretilir. IgM tüm hayvan türlerinde bulunur. Hayvanlarda IgM'nin alt sınıfları yoktur.

İmmünglobulin A (IgA): Kanda düşük oranda bulunur. Mukozalara ait bölgesel lenfo id organlardaki ve derideki plazma hücreleri tarafından üretilip salgılanır. İki IgA molekülünden oluşan formuna **dimerik form** denir. Dimerik IgA formuna mukozalardaki epitel hücreleri tarafından salgısal parça eklenerek salgısal IgA (sIgA) üretilip mukozal yüzeylere bırakılır. Salgısal parça, IgA molekülünü mukozal yüzeylerdeki parçalayıcı enzimlerden korur. Salgısal IgA molekülü, mukozal yüzeylerde bulunan mikroorganizmaları ve toksinleri nötralize ederek bunların hücreye tutunmasını engeller. Böylece hastalık yapıcı etkenler (patojen) mukozalardan vücuda giremez. sIgA; solunum, sindirim, ürogenital sistem ve göz mukozası gibi tüm mukozal yüzeylerde görev yapar. Tüm hayvan türlerinde sIgA bulunur.

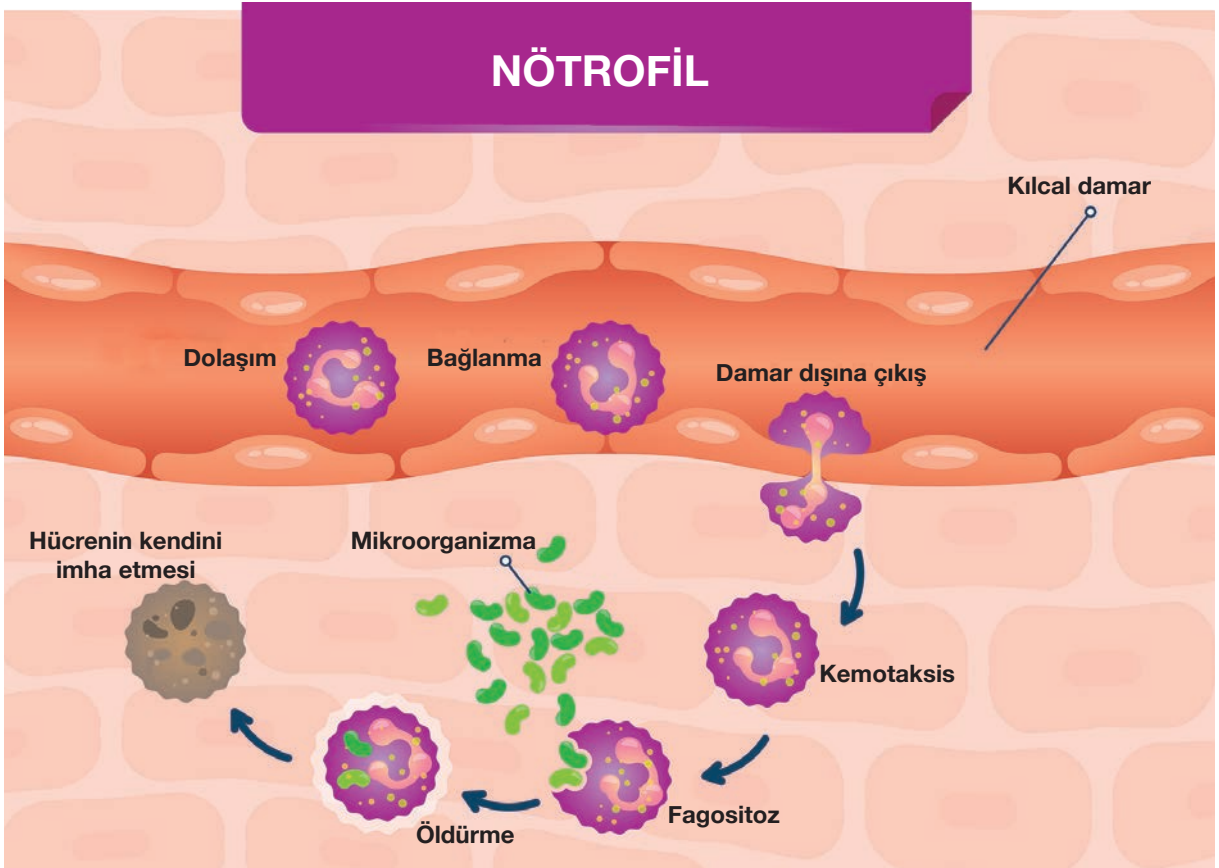
İmmünglobulin E (IgE): Kandaki miktarı en az olan Ig molekülüdür. Plazma hücreleri tarafından üretilir. Yüzeyinde bazofil lökositlere ve mast hücrelerine bağlanmaya yarayan reseptörler bulunur. Paraziter ve alerjik reaksiyonlarda miktarı belirgin ölçüde artar. Bakterilere karşı oluşan immün cevapta diğer Ig çeşitleri kadar etkili değildir. Kanatlı olanlar dışında tüm evcil hayvanlarda IgE bulunur.

İmmünglobulin D (IgD): B-lenfositlerin üzerinde antijen reseptörü (BCR) olarak bulunur. Kanda veya diğer vücut kesimlerinde serbest olarak bulunmaz. Maymun rat (fare türü kemirgen) ve köpeklerde bulunur IgD, kanatlı ve kedi dışındaki tüm evcil hayvanlarda bulunur.

1.1.5. Antijen ve Antikor İlişkisi

Vücuda giren antijenlere karşı oluşan özgül antikorların birleşerek meydana getirdiği kompleks yapılara **immünkompleks** ya da **antijen antikor kompleksi** denir. Antijen antikor kompleksleri de fagositik hücreler tarafından fagositoz yoluyla imha edilerek vücuttan uzaklaştırılır. Nötrofil ve eozinofil lökositler ile makrofajlar fagositozdan sorumlu olan hücrelerdir. Fagositozun aşamaları şunlardır:

Kemotaksis: Travmatik sebepler veya hastalık yapıcı etkenlerin doku ve organlarda meydana getirdiği yıkım sonucu, hasar gören hücreler tarafından bazı kimyasal maddeler salgılanır. Bu kimyasal maddeler bir tür alarm gibi çalışarak savunma hücrelerini bölgeye çağırır. Alarm niteliği taşıyan kimyasal maddelere **kemotaktik maddeler** denir. Bunun sonucunda savunma amacıyla hasarlı bölgeye fagositik hücrelerin gitmesine de **kemotaksis** denir. Fagositik hücrelerin damar dışına çıkmasına **diapedezis** denir (Görsel 1.25).



Görsel 1.25: Kemotaksis, diapedez ve fagositoz şema

Bağlanma: Fagositoz olayının gerçekleşebilmesi için fagositik hücrenin mikroorganizmayı yakalayıp bağlanması sonra da yiyip sindirerek etkisiz hâle getirmesi gerekir. Fagositler, katı ortamlarda patojen mikroorganizmayı yakalayıp bağlanma konusunda son derece başarılıdır. Herhangi bir aracı maddenin yardımı olmadan gerçekleşen bu olaya **yüzeysel fagositoz** denir. Kan gibi sıvı ortamlarda ise patojeni yakalamak ve bağlanmak bu kadar kolay olmaz. Patojen mikroorganizmanın yüzeyinin antikor ya da komplement proteini ile kaplanması gerekir. Fagositozu kolaylaştıran kaplayıcı maddelere **opsonin**, kaplama işlemine de **opsonizasyon** denir.

Yutma İşlemi: Fagositik hücre patojene bağlandıktan sonra sitoplazmik kollarıyla onu çevreler ve hücre içine alır.

Öldürme ve Sindirim: Hücre içine alınan patojen mikroorganizma, solunum enzimleri ve lizozomal enzimler yardımıyla öldürülerek parçalanır.

ANTİJENİN İŞLENMESİ

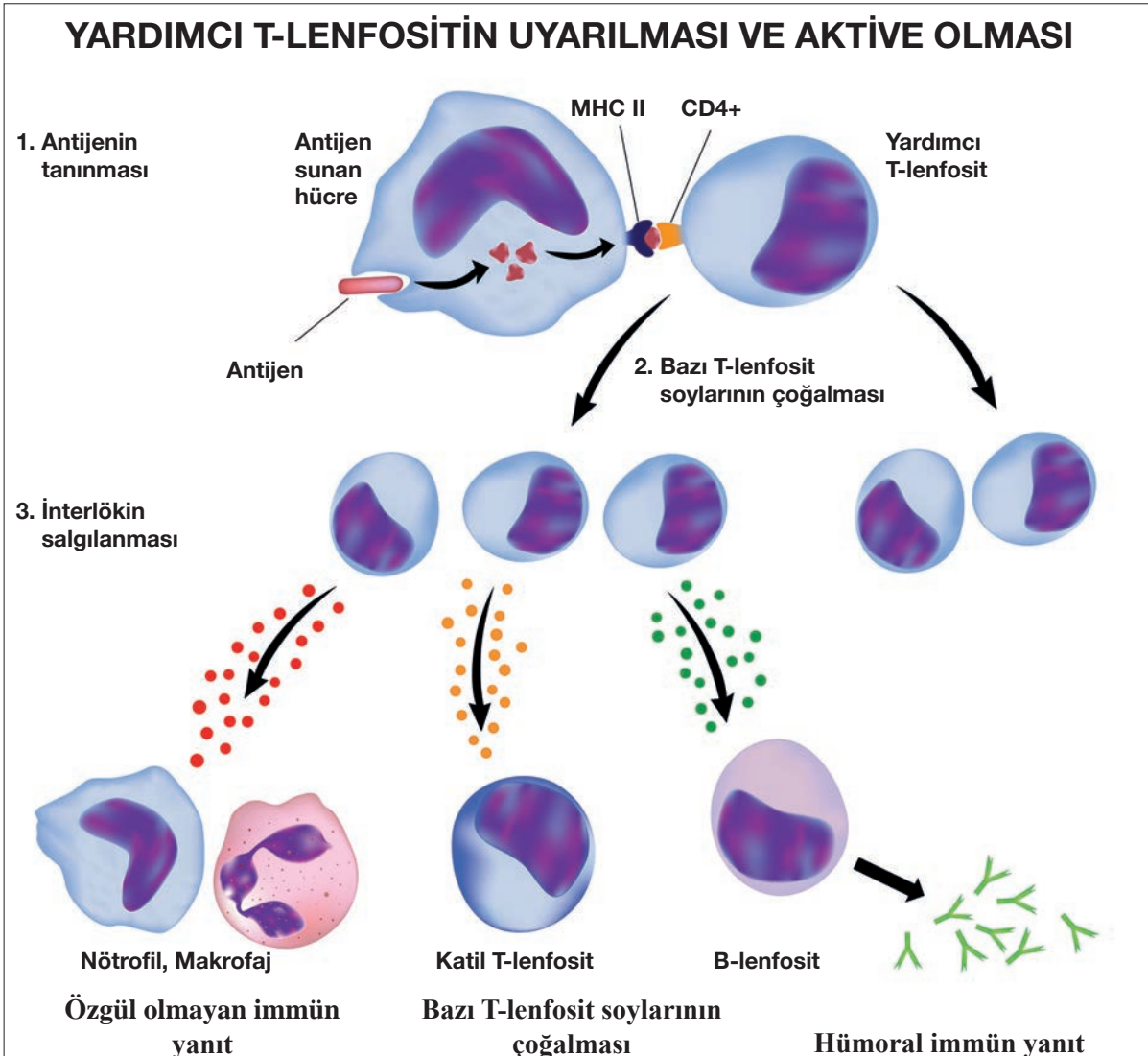


Görsel 1.26: Fagositik hücrenin antijeni işleme

Antijen İşlenmesi ve Sunulması

Antijenler, vücuda girdiği boyutuyla immün sistemi güçlü bir şekilde uyaramaz. Fagositozla hücre içine alınan bu antijenlerin daha küçük alt birimlere ayrılması gerekir. Bu alt birimlere ayırma işlemine **antijenin işlenmesi** denir (Görsel 1.26). İşlenen antijenin, ona uygun özel bir ambalajla T-lenfositlere sunulmasına da **antijenin sunulması** denir (Görsel 1.27). Burada kullanılan ambalaj, aminoasitlerden oluşan özel bir protein molekülüdür. Bu moleküle **büyük doku uyum kompleksi (MHC)** adı verilir. Ekzojen antijenler, MHC sınıf 2; endojen antijenler, MHC sınıf 1 molekülleri ile T-lenfositlere sunulur. İşlenen antijenler daha uzun süren bir bağışıklık oluşturur.

YARDIMCI T-LENFOSİTİN UYARILMASI VE AKTİVE OLMASI



Görsel 1.27: Antijenin yardımcı T-lenfositte sunulması

MHC sınıf 1 molekülü, immün sistem hücrelerinde daha yoğun olmak üzere tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde bulunur. Sadece eşey hücrelerinde bulunmaz. MHC sınıf 2 molekülü ise sadece makrofaj, dentritik hücre ve B-lenfositlerin hücre yüzeyinde bulunur (Görsel 1.28). Bunlar profesyonel antijen sunan hücrelerdir.

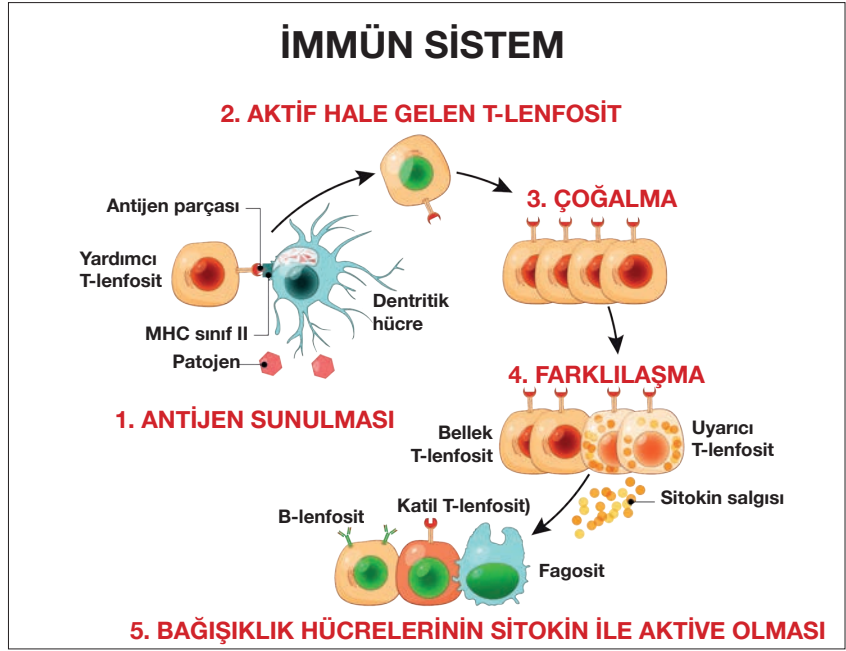
Ekzojen Antijenlerin İşlenmesi ve Sunulması

Hücre içine fagositoz yoluyla alınıp işlenen antijenlere **ekzojen antijen** denir. Bunlar fagozom içinde parçalayıcı enzimler yardımıyla birçok küçük parçaya ayrılır. Ayrılan bu parçalar, uygun MHC sınıf 2 molekülleri ile birleşir. Oluşan bu kompleks, hücre yüzeyinde sergilenir. Yardımcı T-lenfositler de bu molekülleri, hücre yüzeyinde taşıdıkları spesifik antijen reseptörleri (TCR) sayesinde tanır. Antijen sunan profesyonel bir hücre, 200.000 adet MHC sınıf 2 molekülü taşıyabilir. Yardımcı T-lenfosit hücresi de 200-300 MHC sınıf 2 peptid kompleksi tarafından uyarılabilir. Antijen işleyen bir hücre aynı anda birçok farklı antijeni (epitop) işleyerek farklı yardımcı T-lenfositlere sunabilir.

Endojen Antijenlerin İşlenmesi ve Sunulması

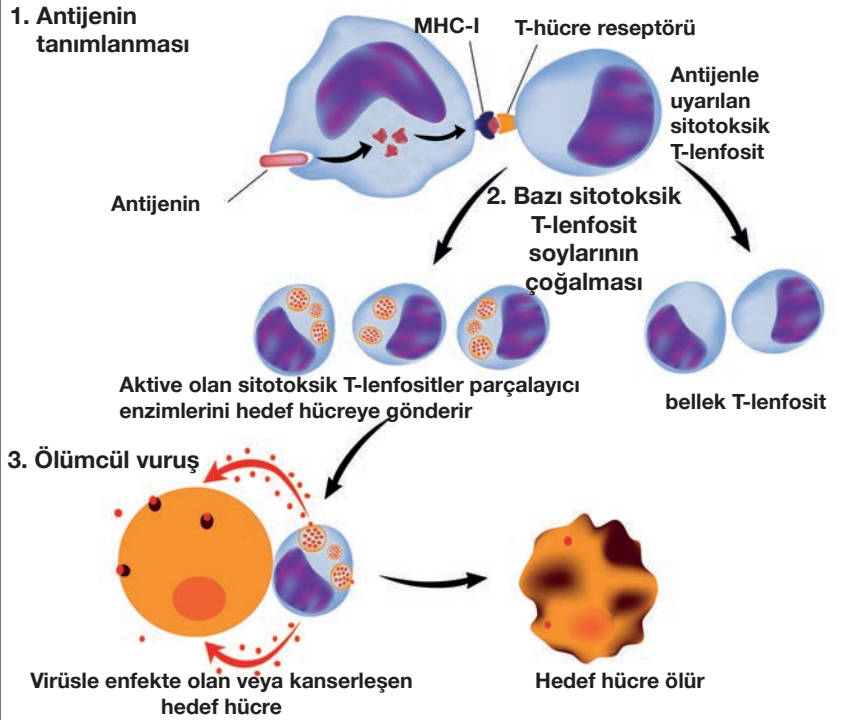
Vücuda yabancı olmasına rağmen hücre sitoplazmasında serbest biçimde bulunan antijenlere **endojen antijen** denir. Virüs proteinleri, endojen antijenlere örnek verilir. MHC sınıf 1 molekülleri ile sunulur. MHC sınıf 1 moleküllerine bağlanan antijenler, sadece sitotoksik T-lenfositleri uyarır (Görsel 1.29).

Makrofajlar, virüsleri fagosite edebilir. Bu durumda virüs parçalarını işleyerek ekzojen antijen vaziyetine getirir. Sonrasında MHC sınıf 2 molekülleri ile yardımcı T-lenfositlere sunar.



Görsel 1.28: MHC sınıf II molekülü ile antijen sunulması

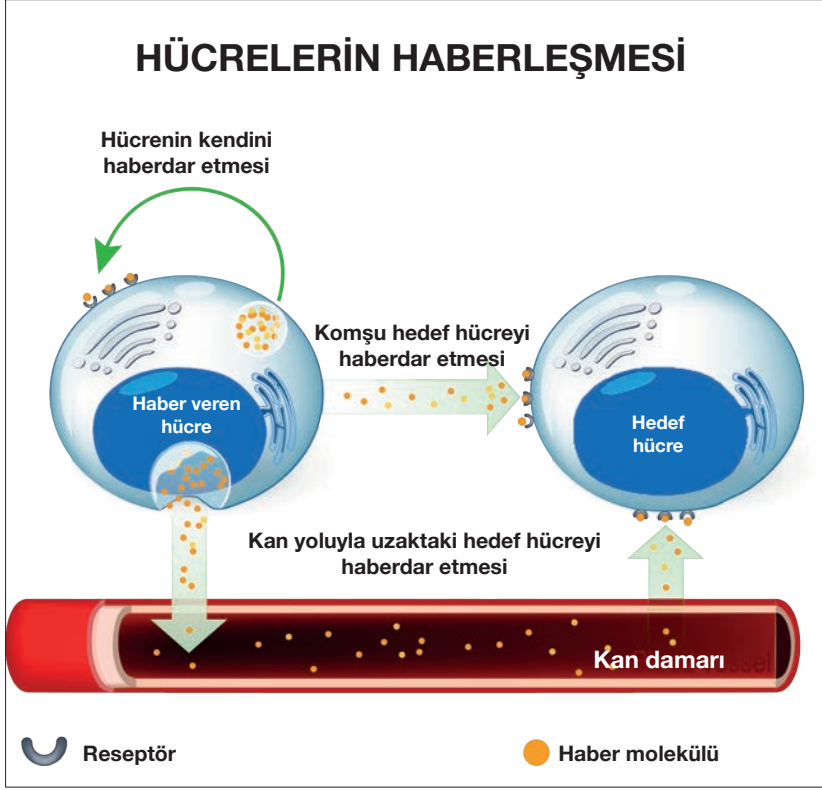
Sitotoksik T-lenfositin uyarılması ve reaksiyon vermesi



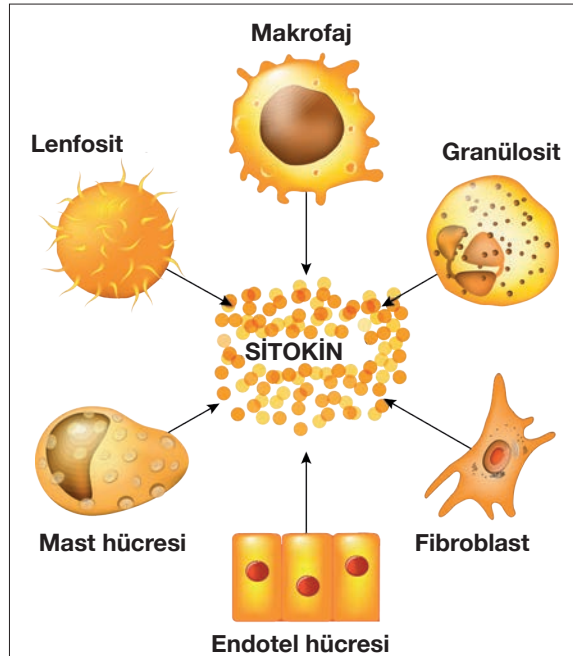
Görsel 1.29: Endojen antijenin MHC-I ile sitotoksik T-lenfositte sunulması, sitotoksik T-lenfositin uyarılması ve reaksiyon göstermesi

Sitokinler

Çoğunlukla immün sistem hücreleri olmak üzere birçok hücre tarafından salgılanan hormon benzeri protein ve glikoprotein molekülleridir. İmmün sistemin her aşamasında hücreler arasındaki haberleşmeyi sağlar (Görsel 1.30). Hormon benzeri olduğu için kendisine uygun reseptörü taşıyan hücrelerle etkileşime girer (Görsel 1.31).



Görsel 1.30: Sitokinlerin hedef hücreleri uyarma yolları



Görsel 1.31: Sitokinlerin uyardığı hedef hücreler

Sitokinlerin etkisi sonucu hücrelerde gelişme, çoğalma, şekil değiştirme ve aktive olma gibi faaliyetler şekillenir. Bunların sonucunda da yangı, bağışıklık ve yara iyileşmesi gibi biyolojik olaylar gerçekleşir. Sitokinler farklı şekillerde isimlendirilip sınıflandırılabilir. Lenfositlerin salgıladıklarına **lenfokin**; makrofajların salgıladıklarına **monokin** denir. Sitokinler, fonksiyonlarına göre de sınıflandırılır. Lenfositler ile diğer immün sistem hücreleri arasındaki ilişkiyi düzenleyenlere **interleukin** (IL-1, IL-2, IL12 gibi), kemotaksiste görev alanlara **kemokin**; hücrelerin çoğalmasını uyaranlara **büyüme faktörleri**, viral enfeksiyonlarda rol alanlara **interferon (IFN)**, kanser hücrelerinin yok edilmesinde rol alanlara **tümör nekroz faktör (TNF)** denir.

1.1.6. İmmün Yanıt Sistemi

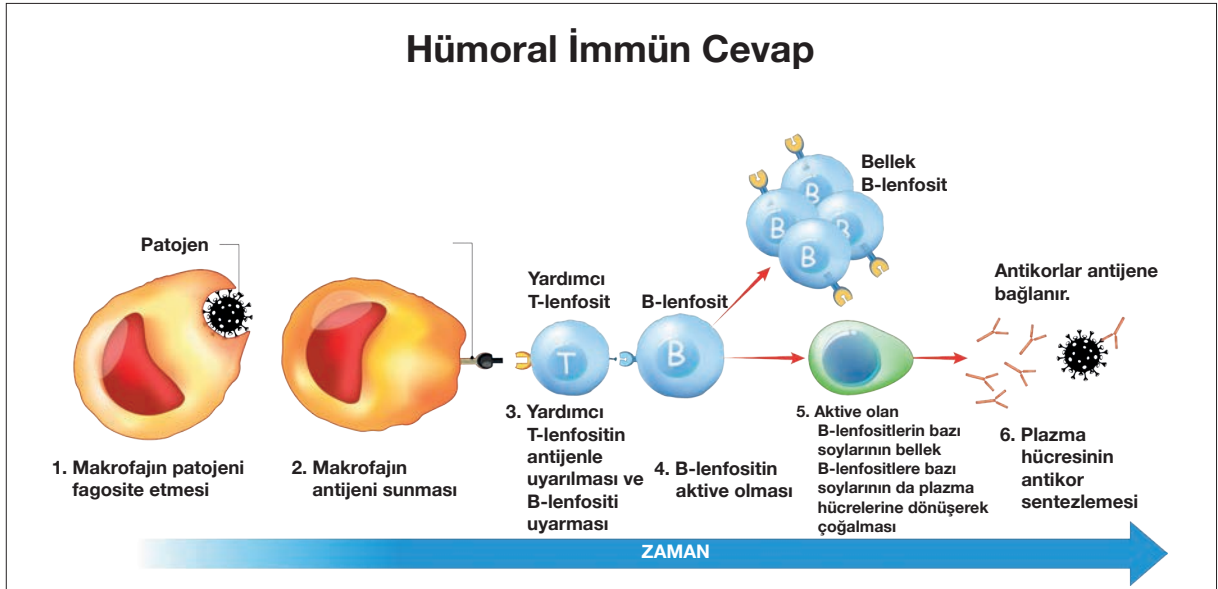
İmmün yanıt sistemi, hüморal ve hücreyel immün yanıt olmak üzere iki başlık altında incelenebilir.

Hüморal İmmün Yanıt

Antijenle uyarılan B-lenfositlerin antijene özgül antikor üretimiyle tamamlanan sürece **hüморal immün yanıt** denir. Hüморal denmesinin sebebi ise antikorların sıvı ortamda bulunmasıdır. Özellikle protein yapısında olan antijenlere karşı B-lenfositlerin etkili miktarda antikor üretebilmesi T-lenfositlerin yardımıyla mümkün olmaktadır. Bu şekilde B-lenfositleri uyarabilmek için T-lenfosit yardımı gerekli olan ekzojen antijenlere **T-bağımlı antijenler** denir. B-lenfositleri doğrudan aktive eden antijenlere ise **T-bağımsız antijenler** denir.

T-Bağımlı Antijenlere Karşı Hüморal İmmün Yanıt

Vücuda giren bir mikroorganizmanın fagositozuyla birlikte T-bağımlı antijenlere karşı hüморal immün yanıt başlar (Görsel 1.32). Bu mikroorganizmaya ait protein kısımları, ekzojen antijen formatında işlenerek sunulur. Bu işlemi, bir mikroorganizmanın vücuda ilk girişinde makrofajlar gerçekleştirir.



Görsel 1.32: T-bağımlı antijenlere karşı yardımcı T-lenfositlerin uyarılması ile hüморal immün yanıtın şekillenmesi

BİLGİ KÖŞESİ

İmmün Yanıtın Genetik Kontrolü: Farklı antijenlere karşı farklı immün yanıt oluşturulması konakçının genleriyle ilgilidir. Bu genlere **Ir (immün response, immün cevap) genleri** denir. İnsanlarda bu genler 6. kromozom üzerinde bulunan MHC (majör histokompatibilite) büyük doku uyumu genetik bölgesinde ve sentromere yakın bölgede yer alır.

Aynı mikroorganizmanın daha sonraki girişinde ise antijen sunum işini dentritik hücreler veya B-lenfositler yapar. İşlenen antijen, MHC sınıf 2 molekülüne bağlanarak sunulur. Bu kompleks, T-hücre reseptörü taşıyan yardımcı T-lenfositlerle bağlanır. Diğer taraftan B-hücre reseptörü (BCR) taşıyan B-lenfositler de vücuda giren mikroorganizmayı tanırlar. Bu tanıma olayı, T-lenfositlerin antijeni tanımasından bağımsızdır. Çünkü mikroorganizmaların farklı antijenleri tanımlanmıştır. Bu durum B lenfositleri aktive etmez. B-Lenfositleri, antijen sunan hücreye bağlanan yardımcı T-lenfositlerin salgıladığı sitokinler aktive eder. Aktive olan B-lenfosit soyu çoğalıp farklılaşarak plazma hücrelerine dönüşür. Plazma hücreleri de ömrü boyunca antijene özgül antikor üretir. Plazma hücrelerinin ömrü 3-28 gündür. Bu uyarımlar sonucu çoğalan bazı B-lenfositler de bellek B-lenfositlere dönüşür. Aynı antijenle vücut tekrar karşılaştığında Bellek B-lenfositler doğrudan uyarılır. Bunlar çoğalıp plazma hücrelerine dönüşmek suretiyle antijene özgül antikor üretmeye başlar. İhtiyaca göre antijene özgül antikor çeşidini de değiştirebilir. Gen düzenlemesi ile yapılan bu olaya **izotip değişimi** denir. Bellek B-lenfosit ilk uyarılmada sadece IgM üretirken plazma hücresine geçişte IgG, IgA, IgE de üretebilir.

Primer İmmün Yanıt: T-bağımlı antijenlere karşı enfeksiyonun birinci evresinde şekillenir. Çok yüksek düzeyde antikor oluşmaz. Oluşan antikorlar da canlıyı uzun süre korumaz ancak vücudun düşmanını tanır. Primer immün yanıtta IgM ve IgG reseptörü taşıyan bellek B-lenfositler oluşur. Primer immün yanıtta üretilen antikorların çoğunluğu IgM'dir. Az miktarda IgG üretilir. Primer immün yanıtta antikorların çoğu, lenf düğümlerinde ve dalaktaki B-lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşmesi sonucu üretilir.

Secunder İmmün Yanıt: T-bağımlı antijenin vücuda ikinci defa girmesi durumunda Bellek B-lenfositler sayesinde düşmanını tanıyan sistem, daha kısa sürede ve yüksek oranda antikor üretir. Oluşan antikorlar canlıyı uzun süre hastalıktan korur. Secunder immün yanıtta ise üretilen antikorların çoğunluğu IgG, antijen çeşidine göre IgA, IgE ve az miktarda IgM'dir. Secunder immün yanıtta ise antikorların çoğu kırmızı kemik iliğinde bulunan Bellek B-lenfositlerin plazma hücresine dönüşmesi ile üretilir.

T-Bağımsız Antijenlere Karşı Hümorale İmmün Yanıt

Bazı bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritler ve kapsül polisakkaridi gibi antijenik moleküller, B-lenfositlerdeki B-hücre reseptörüne (BCR) bağlanarak doğrudan aktive edebilir. B-lenfositler çoğalıp plazma hücrelerine dönüşerek antikor sentezler. Sadece IgM üretilir. Antikor izotipi değişmez. Bellek B-lenfositler oluşmaz. Bellek B-lenfositler oluşmadığı için secunder immün yanıt da oluşmaz.

Antikorların Etkileri

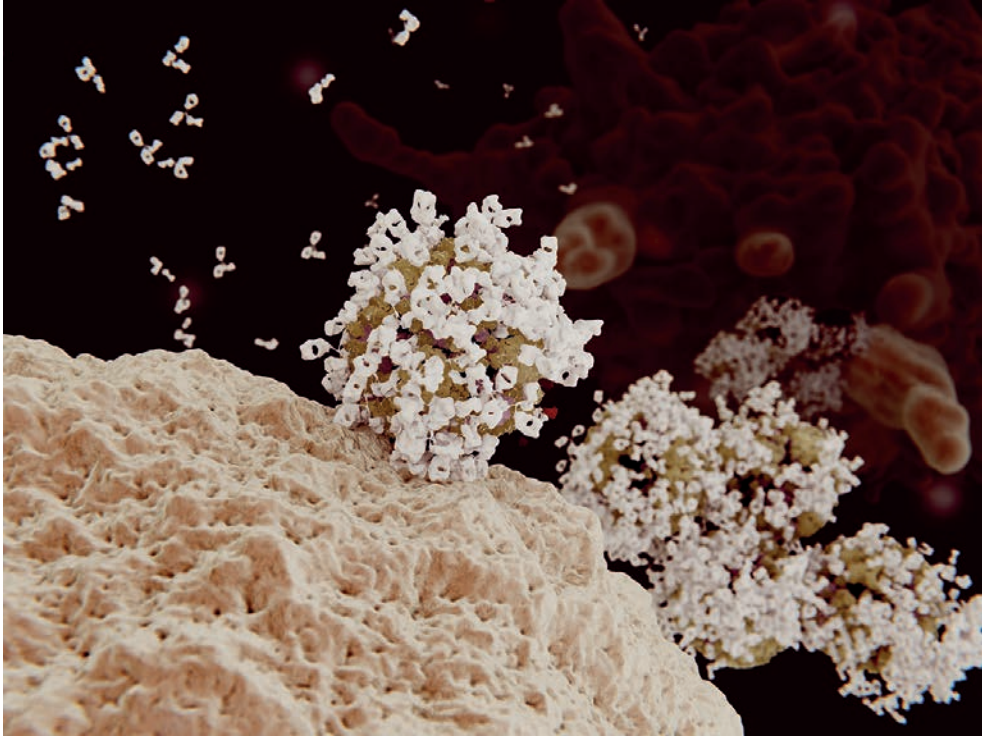
Hümorale immün yanıt neticesinde salgılanan antikorlar, doğrudan ve dolaylı şekilde etki gösterir. Doğrudan etkileri toksin nötralizasyonu, virüs nötralizasyonu ve bakteri adezyon inhibisyonudur.

Toksin Nötralizasyonu: Bakteri toksinlerinde, toksinin konakçıya ait vücut hücrelerine bağlanmasını sağlayan özel bölümleri bulunur. Antikorlar doğrudan bu bölümlere bağlanarak zehri etkisiz kılar. Buna **toksin nötralizasyonu** denir. Bu işi yapan antikorlara da **nötralizan antikorlar** denir. Dokularda en iyi toksin nötralizasyonu yapan antikor IgG iken mukozalarda IgA'dır. Ancak düşük dozlarda bile öldürücü olan bazı bakteri, bitki, böcek, yılan, akrep vb. canlı toksinlerine karşı nötralizan antikor oluşumu yavaş kalır ve canlı ölür. Bu tip zehre karşı önceden hazırlanan antikorlar (hiper immün serum), yapay pasif bağışıklık veya tedavi sağlamak için uygulanır.

Virüs Nötralizasyonu: Virüsün çoğalabilmesi için ilgi duyduğu hücreye tutunması ve içine girmesi gerekir. Virüs nötralizasyonunu sağlayan antikorlar, virüsün tutunma yüzeylerine bağlanarak nötralize eder.

Bakteri Adezyon İnhibisyonu: Bakterilerin hücreye tutunmasının engellenmesidir. Antikorlar, bakterilerin konak hücreye tutunmasını sağlayan kısımlarına bağlanarak buna engel olur. Vücut hücrelerinde IgG mukozalarda ise sIgA gerçekleştirir. Dolaylı etkileri; opsonizasyon, antikora bağımlı hücresel sitotoksiste, komplement aktivasyonu, lokal yangısal reaksiyon uyarımı ve B-hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi şeklindedir.

Opsonizasyon: Fagositik hücreler bazı patojen bakterileri yalnızca antikor bağlandıktan sonra fagosite eder. Opsonizasyon işleminde IgG1 ve IgG2 alt birimleri etkilidir (Görsel 1.33). Fagositoz edilemeyecek kadar büyük olan parazitler ise IgE sınıfı antikorlar ile opsonize edilir.



Görsel 1.33: İnfluenza virüsünün opsonizasyonu

Antikora Bağımlı Hücresel Sitotoksiste: Virüs tarafından enfekte olan hücrelerin zarındaki viral proteinlere antikorlar bağlanır. Antikorların bağlandığı hedef hücreleri doğal katil hücreler (NK), enzimleri ile imha eder. Bu işte IgG1 ve IgG3 antikorları aracılık eder. Bu mekanizma endojen antijenlerin olduğu diğer enfeksiyonlarda, kanserde ve organ nakillerindeki doku reddinde de çalışır.

Komplement Aktivasyonu: Komplement sistemi, patojen mikroorganizmalara karşı yapılan savunmada rol oynar. IgG ve IgM'de komplement bağlanma bölgeleri bulunur. Bu bağlanma bölgesi sadece antijen antikor bağlantısı olduğunda açığa çıkar. Bu bölüme komplementin ilk proteinin bağlanmasıyla bir dizi reaksiyon başlar. Klasik komplement yolu olarak tanımlanan bu mekanizmada IgM çok etkilidir.

Lokal Yangısal Reaksiyonun Uyarılması: Antijenle bağlanmamış bazı IgE antikorları, mast hücrelerine bağlanır. Bu durumdaki IgE, spesifik antijene eklendiğinde mast hücrelerinin sitoplazmasındaki granüller açılarak kemotaktik maddeleri ortama boşaltır. Böylece lokal yangısal reaksiyonlar başlar. Tip-1 aşırı duyarlılık reaksiyonları buna örnektir.

B-lenfosit Fonksiyonlarının Düzenlenmesi: Hümorale immün yanıtı kontrol altında tutan bir mekanizmadır. Antijen antikor kompleksi, B-lenfositlerdeki reseptöre bağlandığında B-lenfosit antikor üretimini azaltır. Böylece B-lenfosit üzerinde baskılayıcı bir sinyal oluşturur.

Komplement Sistem ve Görevleri

Komplement sistem, enzim özelliğindeki serum proteinlerinden oluşan hümmoral immün yanıtta ve yangıda rol alan bir yapıdır. Komplement sisteminde bulunan proteinler, normal şartlarda aktif olmayan proenzim niteliğindedir. Sistem aktive olduğunda bir önceki basamakta oluşan ürünler bir sonraki basamağı aktive eder ve reaksiyon zincirleme devam eder. Komplementi oluşturan proteinler "C" harfi ile numaralandırılarak gösterilir (C1, C2, C3 gibi). Alt birimleri de C1s, C2a, C2b, C3a, C3b şeklinde gösterilir. Komplement sistemi, klasik yol ve alternatif yol denilen iki farklı mekanizmayla ilerleyebilir. Her iki yolda da amaç aynı olup terminal yol denen ortak reaksiyon zinciriyle sonlanır. Terminal yolun sonunda oluşan membran atak kompleksi, hedef hücre membranını eriterek mikroorganizmayı öldürür. Komplement proteinlerinin görevleri şunlardır:

Opsonizasyon: C3b proteini mikroorganizmaya bağlandığında nötrofil ve makrofajların fagositozu kolaylaştırır.

Lizis: Membran atak kompleksi birçok bakteri, mantar ve parazit hüccresinin zarını eriterek bu etkenleri öldürür.

Antijen Antikor Komplekslerinin Vücuttan Uzaklaştırılması: Komplement antijen, antikor komplekslerine bağlanarak makrofajlar tarafından fagositozunu sağlar.

İmmün Regülasyon: C3, b lenfositlerini uyarıp ek sinyal oluşturarak çalışmasını düzenler.

Kemotaktik Etki: C3a ve C5a; nötrofil, eozinofil, bazofil ve makrofajlar için kemotaktik etki oluşturur. Ayrıca C4a ile birlikte lokal yangı uyarımı yapar. Enfekte ya da hasarlı bölgeye fagositik hücreler ile antikorların gelmesini sağlar. Mast hücrelerindeki biyokimyasal maddelerle dolu olan kesecikler hücre dışına açılır. Damarların genişlemesi, damar geçirgenliğinin artması, ödem oluşması vb. kimyasal etki oluşur.

Hüccresel İmmün Yanıt

Sitotoksik T-lenfositler ve doğal katil (NK) hüccreler; hücre içine yerleşen virüs, bakteri, helmint ve protozoonların yok edilmesini sağlar. Tümör hüccreleri ve organ nakillerindeki yabancı hüccreler de bu hüccreler tarafından öldürülür. Savunmada bizzat hüccrelerin rol aldığı bu sisteme **hüccresel immün yanıt** denir.

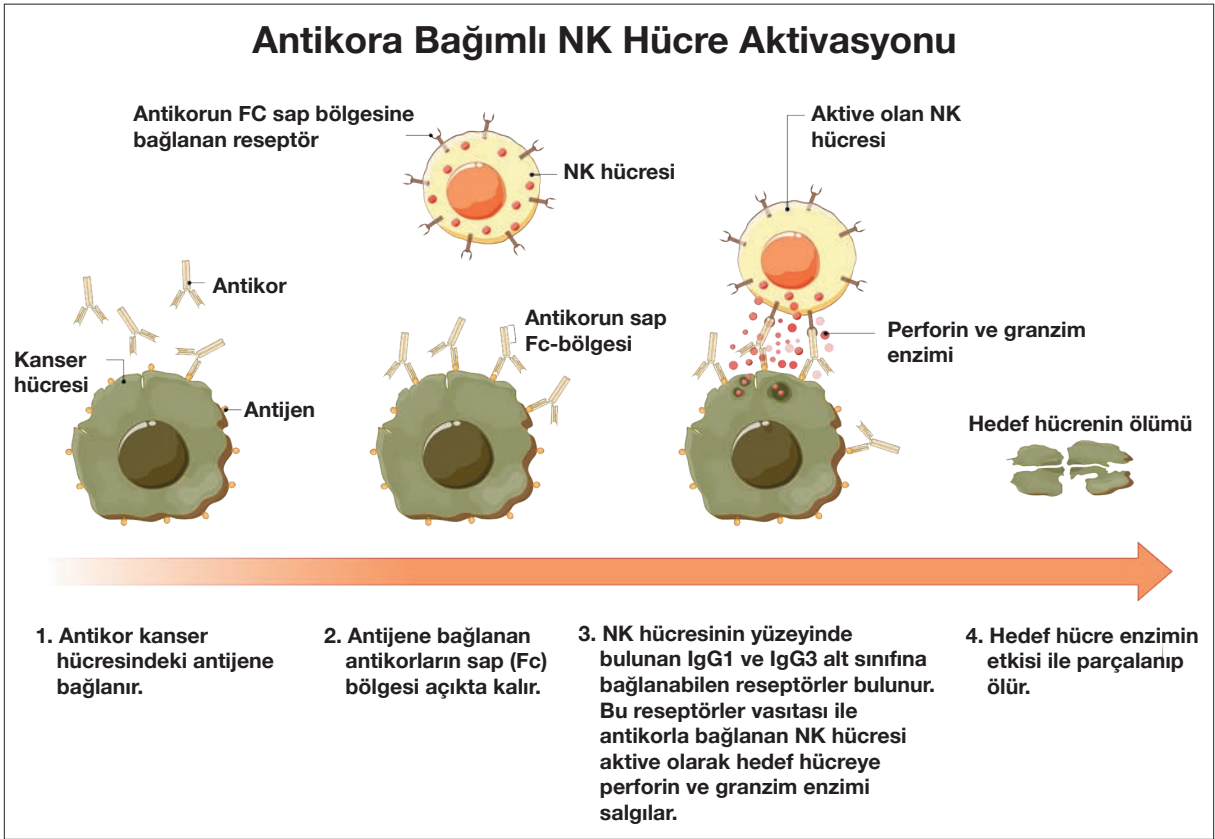
T-lenfositler işlenen endojen antijenleri, MHC sınıf 1 molekülleri ile sunulduğunda taşıdığı CD8 molekülleri ile tanır. CD8 ve MHC sınıf 1 molekülleri arasında bağlantı kurulur. T-lenfositler bu yolla uyarılır. Bunun dışında ikinci uyarı yolunu, yardımcı T-lenfositlerin salgıladığı İnterleukin-II (IL-II) sağlar. IL-II, CD8 moleküllerine bağlanarak T-lenfositleri uyarır. Uyarımlar sonucunda T-lenfositler çoğalmaya ve farklılaşmaya başlar. Bir kısmı sitotoksik T-lenfositlere dönüşürken bir kısmı da sitotoksik bellek T-lenfositlere dönüşür.

Aktive olan sitotoksik T-lenfositler, hedef hücre yüzeyindeki özgül antijen molekülü ile bağlanır. Bağlantı sonrasında perforin ve granzim enzimleriyle dolu kesecikleri hedef hücre yüzeyine gönderir. Enzimler hüccrenin ölmesine yol açar.

NK hüccrelerin zarında özgül antijenleri tanıyan moleküller bulunmaz. Hedef hüccreyi tanıma ve bağlanma mekanizması, sitotoksik T-lenfositlerden farklıdır ama hedef hüccreyi aynı yöntemle imha eder. NK hücre aktivasyonu, antikora bağımlı ve direkt sitotoksikite olmak üzere iki yolla sağlanır.

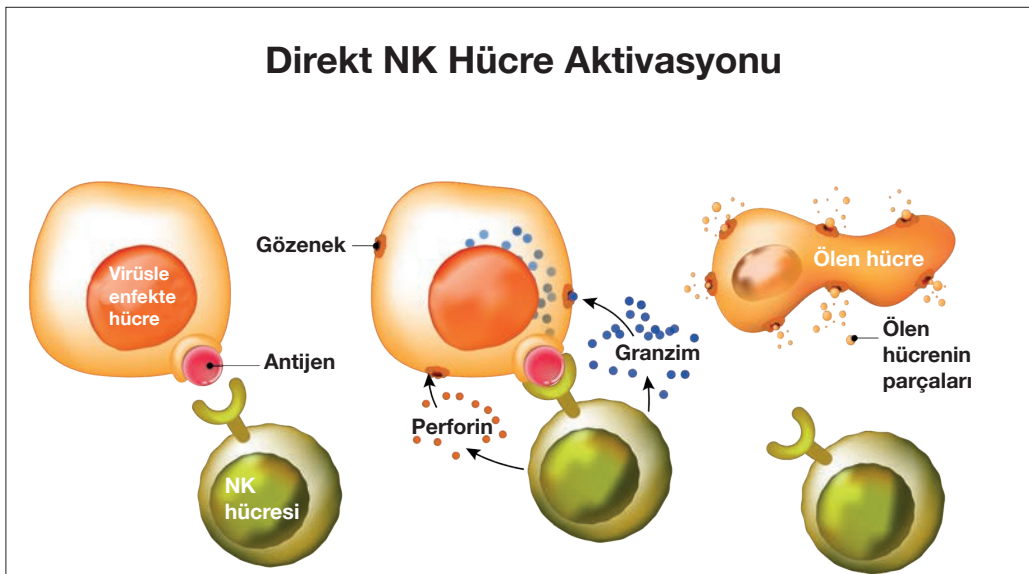
Antikora Bağımlı Sitotoksikite: NK hüccreleri, hücre zarında IgG1 ve IgG3 sınıfından antikorlara bağlanabilecek uygun reseptörler taşır. Bu antikorlar serbestken NK hüccrelerine bağlanmaz ancak bir antijenle bağılyken NK hüccresine bağlanır.

Bağlantı kurulduktan sonra NK hücresi, salgıladığı perforin enzimiyle hedef hücreyi öldürür (Görsel 1.34). NK hücresi, bu şekilde virüsle enfekte olan hücreler ile kanser hücrelerini öldürür.



Görsel 1.34: Antikora bağımlı NK aktivasyonu

Direkt NK Hücre Sitotoksitesi: Direkt NK hücre sitotoksitesi yolunun başlaması için sitokinlerin uyarılması gerekir. Virüsle enfekte hücrelerin ve kanser hücrelerinin öldürülmesinde kullanılan yoldur. Virüslerin enfekte ettiği hücrenin MHC sınıf 1 molekülünü sentezlemesine engel olması NK hücrelerini direkt olarak uyarır. Bu hücreyi perforin enzimiyle öldürür (Görsel 1.35).



Görsel 1.35: Direkt NK hücre aktivasyonu

1. UYGULAMA: İMMÜN YANITIN MANİPÜLASYONU

AMAÇ: bağışıklığı güçlendiren doğal, sentetik ve fizyolojik maddeleri öğrenmek.

UYGULAMA SÜRESİ: 10 gün

ARAÇ GEREÇ: Bilgisayar, internet, flaş bellek, yazıcı, A4 kâğıdı, şeffaf dosya, kâğıt, kalem

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak immünmodülasyon ve immünmodülatörler hakkında araştırma yapıp sunum hazırlayınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
2. Çalışma için gereken araç gereci hazırlayınız.
3. Konuyla ilgili ön araştırma yapınız. Araştırma süresi bir haftadır (İmmünmodülasyonu, immünmodülatörü, immünmodülatörlerin etki mekanizmasını, organik, fizyolojik ve sentetik immünmodülatörleri, veteriner hekimlikte kullanılan immünmodülatörleri araştırınız.).
4. Sunuda kullanacağınız cümlelerin net ve anlaşılır olmasına dikkat ediniz.
5. Sunuda kullandığınız yazının puntosunu uygun seçiniz ve sunuda dikkat çekici çekici renkler kullanınız.
6. Dinleyicilere sorularının olup olmadığını sorunuz.
7. Dinleyicilere teşekkür ediniz.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından İmmün Yanıtın Manipülasyonu Uygulaması Değerlendirme Ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Çalışmanızı yaparken bu ölçütleri dikkate alınız. Değerlendirme 50 - 100 arası başarılı 0 - 49 uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

İMMÜN YANITIN MANİPÜLASYONU UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Konu ile ilgili araştırmaları yaptı.				
3. Sunum hazırlama kurallarına uydu.				
4. Çalışmasını sunum kurallarına uygun olarak sundu.				
5. Sunum sonunda dinleyicilere soru yöneltti.				
TOPLAM PUAN				

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A. Aşağıda verilen soruları okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi ağız sütü ile yeni doğan yavrulara kazandırılan bağışıklık çeşididir?

- A) Doğal
- B) Doğal aktif
- C) Yapay aktif
- D) Doğal pasif
- E) Yapay pasif

2. Aşağıdakilerden hangisi hastalığı geçirmek yoluyla kazanılan bağışıklık çeşididir?

- A) Doğal aktif
- B) Yapay aktif
- C) Doğal pasif
- D) Yapay pasif
- E) Doğal

3. Aşağıdakilerden hangisi aşılama ile kazanılan bağışıklık çeşididir?

- A) Yapay pasif
- B) Yapay aktif
- C) Doğal aktif
- D) Doğal pasif
- E) Doğal

4. Aşağıdakilerden hangisi hiper immün serum ile kazanılan bağışıklık çeşididir?

- A) Yapay pasif
- B) Yapay aktif
- C) Doğal aktif
- D) Doğal pasif
- E) Doğal

5. Aşağıdakilerden hangisi genetik yapı ile kazanılan bağışıklık çeşididir?

- A) Yapay pasif
- B) Yapay aktif
- C) Doğal aktif
- D) Doğal pasif
- E) Doğal

6. Aşağıdakilerden hangisi miyeloid serideki hücrelerden biri değildir?

- A) Nötrofil lökosit
- B) Eozinofil lökosit
- C) Bazofil lökosit
- D) Monosit
- E) Lenfosit

7. Aşağıdakilerden hangisi Lenfoid serideki hücrelerden biri değildir?

- A) Yardımcı T-lenfosit
- B) Bellek T-lenfosit
- C) B-lenfosit
- D) Plazma hücresi
- E) Dev hücresi

8. Aşağıdakilerden hangisinin sayısı akut bakteriyel enfeksiyonlarda artar?

- A) Makrofaj
- B) Nötrofil
- C) Bazofil
- D) Eozinofil
- E) Dev hücresi

9. Aşağıdakilerden hangisi hücre sel immün yanıtta birinci derecede sorumludur?

- A) Yardımcı T-lenfositler
- B) Sitotoksik T-lenfositler
- C) Baskılayıcı T-lenfositler
- D) Bellek T-lenfositler
- E) NK hücreleri

10. Aşağıdakilerden hangisi antikor üreten hücredir?

- A) B-lenfosit
- B) T-lenfosit
- C) Monosit
- D) Plazma hücresi
- E) Histiosit

11. Aşağıdakilerden hangisi sadece kanatlı hayvanlarda bulunan primer lenfoid organdır?

- A) Timus
- B) Dalak
- C) Kırmızı kemik iliği
- D) Bursa fabricius
- E) Peyer plakları

12. Aşağıdakilerden hangisi antijenite için gerekli değildir?

- A) Vücuda yabancılık
- B) Molekül büyüklüğü
- C) Molekülün kompleks olması
- D) Doz
- E) Hayvan ırkı

13. Antikorla ilgili aşağıdaki açıklamaların hangisi doğru değildir?

- A) Antikorum değişken kısmı antijen ile bağlanır.
- B) Antikorum sabit ucu hücre ile bağlanır.
- C) Bir antikorda birden çok değişken kısım olur.
- D) B - Lenfositlerde antijeni (BCH) reseptörü tanır.
- E) Antikorum değişken kısmına epitop denir.

14. Antikor çeşitleriyle ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?

- A) IgG en fazla primer immün yanıtta üretilir.
- B) IgM en büyük antikor çeşididir.
- C) IgE sadece kanatlı hayvanlarda bulunur.
- D) IgA vücut kesimleri içerisinde en çok kanda bulunur.
- E) IgD bütün vücut kesimlerinde serbest hâlde bulunur.

15. Fagositozla ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?

- A) Nötrofil fagositoz yeteneğine sahiptir.
- B) Katı ortamda fagositoz opsonizasyon ile yapılır.
- C) Sıvı ortamda yüzey fagositozu yapılır.
- D) Fagositik hücrelerin damar dışına çıkmasına kemotaksis denir.
- E) Fagositozda antikorlar rol oynamaz.

16. Antijen işlenmesi ve sunulmasıyla ilgili aşağıda verilen açıklamalardan hangisi doğru değildir?

- A) Endojen antijenler MHC sınıf 1 molekülleri ile sunulur.
- B) Ekzojen antijenler MHC sınıf 2 molekülleri ile sunulur.
- C) Ekzojen antijenler fagositoz sonrasında hazırlanır.
- D) Endojen antijenler fagositoz sonrasında hazırlanır.
- E) MHC sınıf II molekülü makrofajda bulunur.

17. Aşağıdaki açıklamalardan hangisi doğru değildir?

- A) Sitokinler hormon benzeri proteinlerdir.
- B) Lenfositlerin salgıladığı sitokinlere lenfokin denir.
- C) İnterleukin immün sistem hücrelerinin çalışmasını düzenler.
- D) İnterferon (IFN) tümörlere etki eden sitokindir.
- E) Sitokinin tesir ettiği hücre aktive olarak farklılaşır.

B. Aşağıda verilen soruları okuyarak cevaplarını alttaki boşluklara yazınız.

18. Primer immün yanıtı açıklayınız.

.....
.....
.....
.....
.....

19. Secunder immün yanıtı açıklayınız.

.....
.....
.....
.....
.....

20. Hücresel immün yanıtı açıklayınız.

.....
.....
.....
.....
.....

1.2. AŞILAR VE İMMÜN SERUMLAR

Sağlıklı insan ve hayvanlara yapay aktif bağışıklık kazandırmak için aşı yapılır. Aşılama ile bağışıklık sistemini aktive edecek antijenler, gerçek enfeksiyon etkeni vücuda girmeden önce sisteme tanıtılır. Bunun sonucunda da aşının çeşidine göre hücresel veya hümorale bağışıklık şekillenir. Aşılanan canlının vücudunda spesifik antijenlere özgü antikorlar üretilir. Üretilen bu antikorlar da canlıyı hastalığa karşı belli bir süre için korur. Bu yüzden aşılamalar belli aralıklarla tekrarlanır. Buna **rapel aşılama** denir. Rapel aşılamayla canlıyı hastalığa karşı koruyacak antikor miktarı yeterli seviyede tutulur. Çok sayıda serotipi veya alt tipi olan patojen etkenin tek bir serotipini veya alt tipini içeren aşılar **monovalan aşılar** denir. Monovalan aşılar, sadece taşıdığı serotipe karşı canlıyı korur. Örneğin büyükbaş ve küçükbaş ruminantlarda görülen şap hastalığının etkeni, picornaviridae familyasının aphyovirüs alt grubunda yer alan şap virüsüdür. Bu virüsün A, O, C, SAT-1, SAT-2, SAT-3 ve ASIA-1 olmak üzere yedi farklı serotipi bulunur. Aşı materyali bunlardan sadece birini içeriyorsa **monovalan**, ikisini içeriyorsa **bivalan**, üçünü içeriyorsa **trivalan**, dördünü içeriyorsa **kuadriyalan**, beşini içeriyorsa **pentavalan** şeklinde isimlendirilir. Aşı içeriği birden fazla serotipi veya farklı patojen türlerini içeriyorsa buna **polivalan (karma, kombine) aşı** denir. Karma aşılar, içerdiği tüm serotiplere veya patojen türlere karşı bağışıklık oluşturur. Örneğin köpeklere uygulanan karma aşıların içeriğinde köpek gençlik hastalığı, hepatit hastalığı, parainfluenza, parvovirüs ve leptospiira türlerine karşı bağışıklık oluşturacak şekilde antijenler bulunmaktadır.

Liyofilize (kurutulmuş) aşı, sulandırılarak kullanılan aşıdır. Aşı materyalinin uzun süre muhafazası için suyu giderilerek kurutulur. Bu tip aşılar, beraberindeki sulandırma sıvısı ile sulandırılıp homojen hâle getirildikten sonra kullanılır.

Özellikle ölü aşıların (inaktif aşılar) etkinliğini artırmak için antijenik özelliği olmayan yardımcı maddeler kullanılır. Bunlara **adjuvant** denir. İnaktif aşılar vücuttan hızla uzaklaştırıldığı için immün sistemi beklendiği ölçüde uyaramaz. Bu yüzden inaktif aşılar adjuvant eklenerek vücuttan atılma hızı azaltılır. İmmün sistemde beklenen etki oluşturulur. Adjuvant olarak saponin, alüminyum tuzları, su-yağ emülsiyonları vb. kullanılır. Çok bekleyen patateslerin kabuğunun altında oluşan yeşil renkli tabaka saponindir. Ekşi, acımsı bir lezzete sahiptir. Tüketilmesi durumunda insan ve hayvanlarda zehirlenmelere sebep olur.

1.2.1. Aşı Çeşitleri

Aşılar, hazırlama yöntemleri ve içeriklerine göre klasik aşılar ve biyoteknolojik aşılar olmak üzere iki başlık altında incelenir.

Klasik Aşılar

Mikroorganizmalardan ve toksinlerden klasik yöntemler ile hazırlanan aşılardır. Klasik aşılar; canlı, ölü, toksoid, ve subunit aşı olmak üzere dört grupta incelenir.

Canlı Aşılar: Canlı olan hastalık etkeni bazı işlemlerden geçirilerek zayıflatılır. Zayıflatma işlemine **attenüasyon** denir. Bu nedenle canlı aşılar **attenüe aşılar** denir. Etken; kendi konağında, farklı konaklarda, besi yerlerinde, embriyolu tavuk yumurtasında veya hücre kültürlerinde sürekli pasajlar yaparak çoğaltılır. Bu şekilde gücü azaltılan etken hem hücresel hem de hümorale immün sistemi güçlü bir şekilde uyarır. Hastalık oluşturma yeteneği ise azalır. Canlı aşılar, ölü aşılar göre daha uzun süre bağışıklık oluşturur. Çünkü vücutta uzun süre canlı kalır. Canlı aşının tek doz uygulanması yeterli olur. Böylece özellikle hayvan sürülerinin aşılanmasında iş gücü, zaman ve para tasarrufu sağlanır ayrıca hayvanlardaki stres yükü de azalır. Canlı aşılar; enjeksiyon, burun ve göz damlası, sprey, içme suyuna ilave gibi birçok farklı yoldan uygulanabilir. Canlı aşılar, avantajlarının yanında bazı dezavantajlara da sahiptir. Bu tür aşılar, aşılanan hayvanda belirti göstermeden gizli seyreden bir hastalığı daha da alevlendirebilir. Bakımı ve beslenmesi iyi yapılmayan hayvanlar hastalanabilir.



Görsel 1.36: Newcastle aşısı

depolanması gerekir. Açılan ambalaj (flakon), birkaç saat içinde kullanılmalıdır. Aşılama ekibi, iş sağlığı ve güvenliğine uygun davranmazsa örneğin newcastle (yalancı veba) aşılama sırasında üst solunum yolu enfeksiyonu ve göz mukozasında iltihaplanma olur. Brucella aşılama sırasında brucella hastalığına yakalanabilir. Şarbon, mavi dil, brucella abortus S-19, brucella melitensis Rev-1, marek, gumboro, newcastle (Görsel 1.36) ve koyun çiçeği gibi aşılar canlı aşılar olarak gösterilebilir.

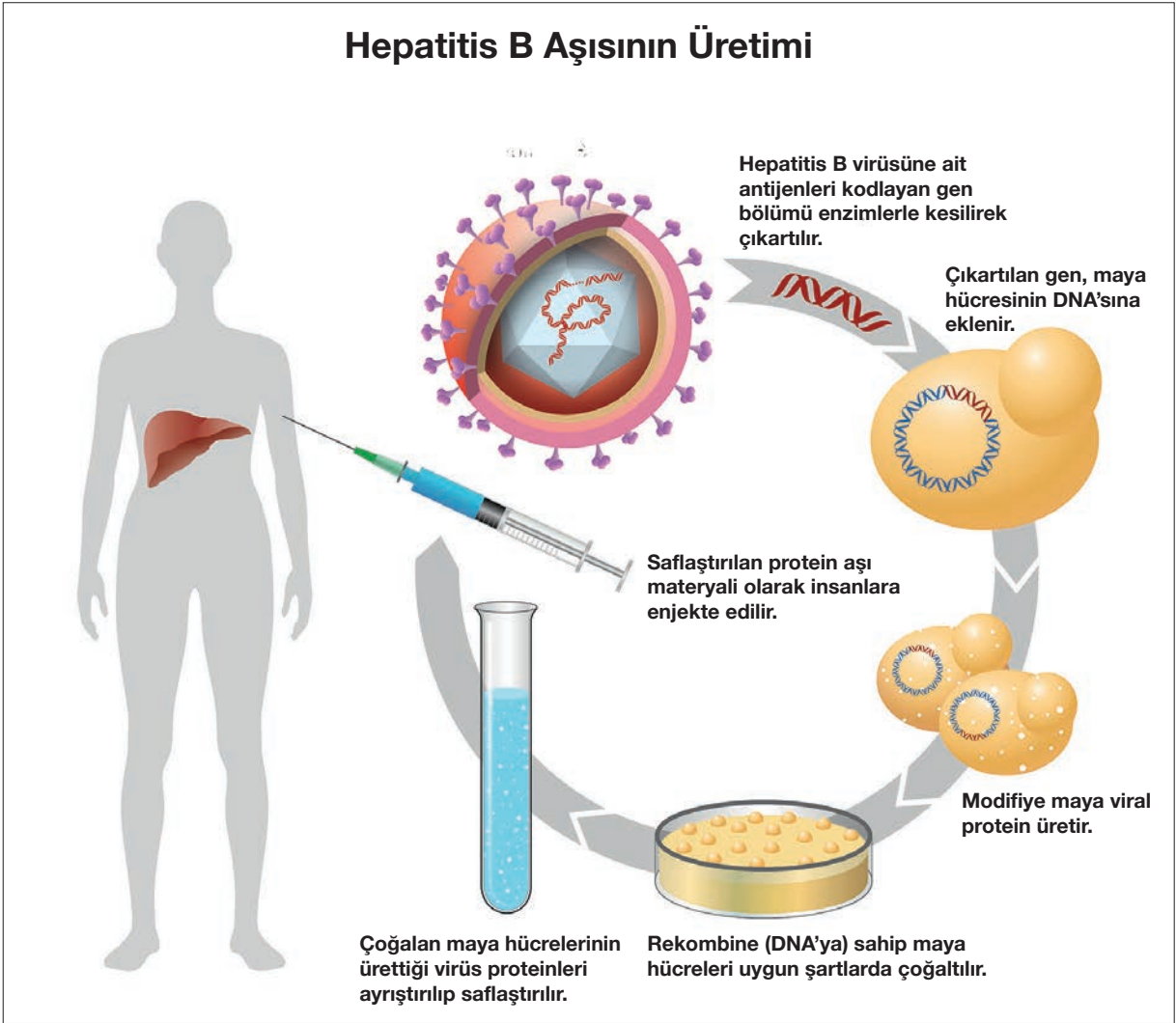
Ölü (İnaktif) Aşılar: Bakterin aşılar ismi de verilir. Aşıda kullanılacak patojen türler üretildikten sonra ultra viyole ışınları, formaldehid, fenol ve otoklav işlemi gibi fiziksel, kimyasal veya termik yöntemlerle öldürülür. Fizyolojik tuzlu su ile aşı dozundaki patojen etken sayısı hesaplanarak doz ayarlanır. Koruyucu amaçla fenol veya merthiolat eklenir. Bu sayede canlı aşılar taşıma ve depolama daha kolay olur. Aşılanan sürüde, aşı suşundan dolayı enfeksiyon oluşmaz. Aşıdan dolayı ölen hayvan az olur. İnaktif aşılarıdaki patojenler, immün sistemde ekzojen antijen şeklinde işlendiğinden virüs gibi hücre içine yerleşen etkenlere karşı güçlü bir bağışıklık oluşturmaz. İnaktif aşılar adjuvant kullanmak gerekir. Güçlü bir bağışıklık için en az iki doz yapılır. Tekrarlayan dozlar hızlı gelişen alerjik reaksiyonlara (anafilaktik reaksiyon) zaman, iş gücü ve para kaybına yol açar. İnaktif viral aşıların üretim maliyeti daha yüksektir. Sığır pastorellozu, koyun vibriosisi, şap hastalığı, kanatlı korizası gibi hastalıklar için inaktif aşılar mevcuttur.

Toksoid Aşılar: Mikroorganizmaların ürettiği toksinlere karşı bağışıklık sağlamak için hazırlanan aşılar. Uygun koşullarda sıvı besi yerinde bakteri üretilir. Bakteri daha sonra formaldehid ve otoklav uygulaması ile öldürülür. Bakterinin ortama bıraktığı toksin filtre edilerek toplanır. Sulandırması uygun ölçüde yapılarak aşı hazırlanır. Clostridium türleri gibi oksijensiz ortamda çoğalan bakteriler, değişik tiplerde toksin üretir. Bu bakterilerin toksinlerine karşı toksoid aşılar üretilmiştir. Koyun, keçi gibi ruminantlarda görülen enterotoksemi (Halk arasında çelermeye hastalığı denir.), insan ve hayvanlarda görülen tetanos hastalığı için hazırlanan aşılar örnek verilebilir.

Subunit Aşılar: Hastalığa sebep olan etkenin bazı antijenik bölümlerinden hazırlanan aşılar. Bir bakterinin kamçı, fimbria (Bakterinin çevresindeki saç benzeri yapı.) ve kapsül gibi tek başına bile

Aşılanan sürüde ölümler şekillenebilir. Bunun için attenüasyon işlemleri dikkatli yapılmalı ve aşı dozundaki etken miktarı da iyi hesaplanmalıdır. Canlı aşıyla aşılanan hayvanlar, hastalık etkenlerini vücut sıvılarıyla dışarı çıkar. Bu da çevredeki diğer duyarlı hayvanların hastalanmasına neden olur. Saklama ve taşıma koşulları, ölü aşılar kıyasla daha zahmetli ve zordur. Soğuk zincirin korunması önemlidir. Dondurularak veya (+2, +8 derece) buzdolabı ısısında

immün sistemi uyaran parçaları ile hazırlanan aşılardır. Ayrıştırılan bu parçaların ısı veya kimyasal maddeler ile inaktive edilmesi gerekmez. Çünkü bunlar enfeksiyon oluşturmaz. İnsanlardaki hepatit-B (Görsel 1.37), meningokok, pnömokok ve E. coli CS III aşısı örnek teşkil eder.



Görsel 1.37: Hepatitis-B aşısı maya hücresi ile viral antijenin üretimi

Biyoteknolojik Aşılar

Biyoteknolojik aşılar şu şekilde sınıflandırılır:

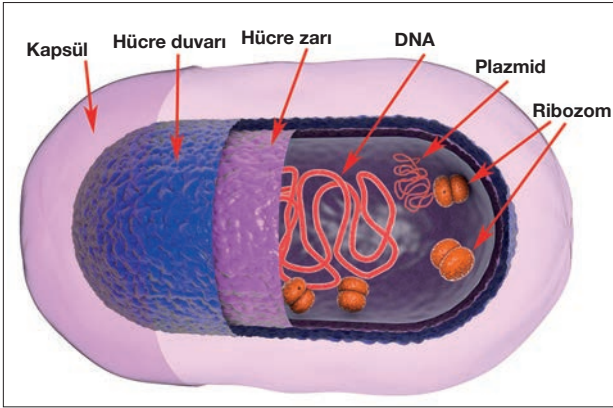
- Genetik mühendisliği teknikleri kullanılarak hazırlanan aşılar
- DNA aşıları
- Sentetik protein aşıları
- Anti idiotip aşılar

Genetik Mühendisliği Teknikleri Kullanılarak Hazırlanan Aşılar

Özellikle kolay bulaşan üretilmesi zor ve pahalı olan hastalık etkenleri, doğrudan üretilerek aşı materyali hazırlanmaz. Bu nedenle bu tür patojenlerin, immün sistemi aktive edecek antijenik parçaları belirlenir. Sadece bu antijenik parçaları kodlayan DNA bölümü, enzimler yardımıyla kesilip çıkarılır. Çıkarılan DNA parçası, üretilmesi kolay ve ucuz olan, bulaşıcı hastalığa yol açmayan

bir hücreye taşıyıcı (vektör) ile eklenir. Vektörün eklendiği hücre, kendisi çoğalırken bizim istediğimiz antijenik proteinleri de çoğaltır. Çoğalan hücrenin kendisi veya ürettiği antijenik proteinler aşı materyali olarak kullanılır.

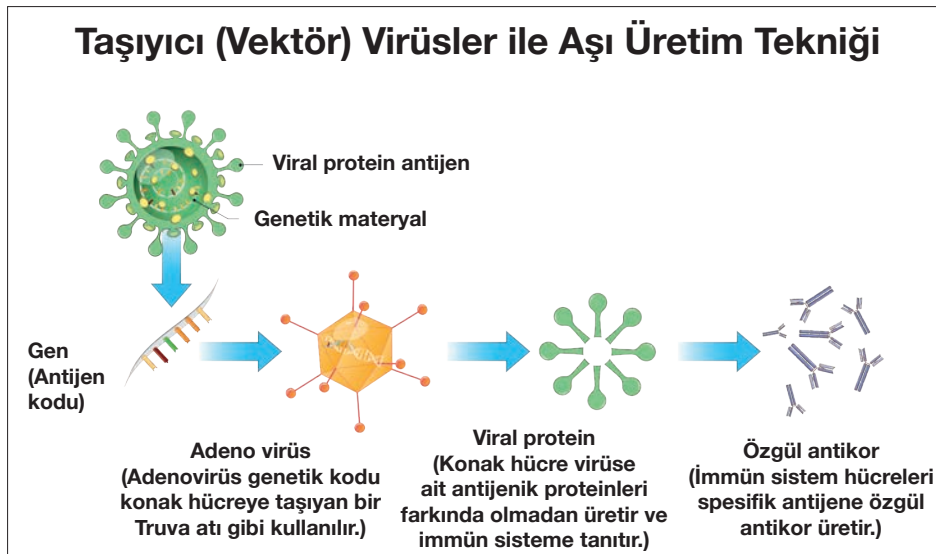
- **Rekombinant DNA Aşıları:** Hastalığa yol açan etkenin immün sistemi uyaran antijen özelliğindeki proteinlerini sentezleyen DNA parçası alınır. Bu parça, vektörler (plazmid, virüs, faj) vasıtasıyla kolay ve güvenli biçimde çoğalan bakteri, maya vb. canlılara aktarılır. Plazmid ile birleştirilen ilgili DNA parçası, direkt taşıyıcı hücre içine sokulur. **Plazmid;** bakteri, maya, mantar, memeli ve bazı bitki hücrelerinde bulunan DNA dışındaki genetik materyaldir (Görsel 1.38). Bakterilerde dairesel şekilli olup kendini eşleyebilir. Plazmid, taşıyıcı hücreye aktarıldığında hücrenin DNA'sı ile eş zamanlı veya bağımsız olarak kendini eşler. Taşıyıcı hücre, kendisi



Görsel 1.38: Bakteri hücresinde plazmid

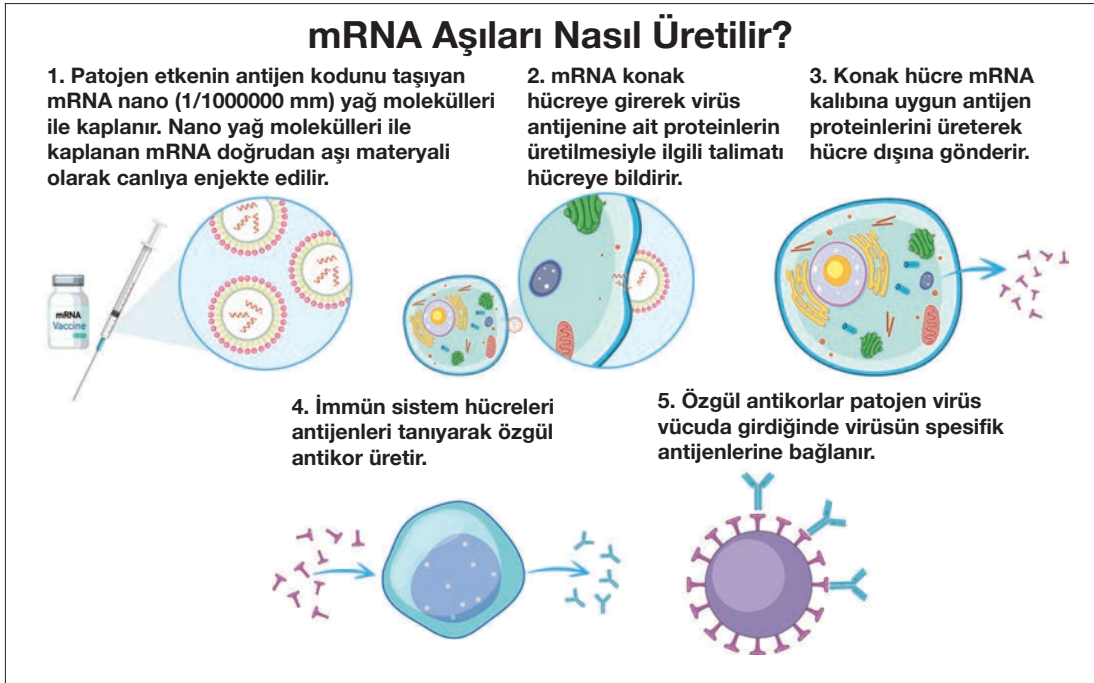
çoğalırken bu yolla antijenik proteinleri de üretir. Proteinler ayrıştırılıp aşı hâline getirilir. Bu yöntemle hazırlanan aşılar **rekombinant antijen aşıları** da denir. Bu aşıların kolay saklanması, ucuz olması, taşıyıcı hücrelerin kolay ve güvenli bir şekilde üretilmesi önemli avantajlar sağlar. Aşının en başta geliştirilmesi zor ve pahalıdır. Çünkü DNA üzerindeki genlerden hangisinin hedefteki antijenik proteinleri kodladığını bulmak zordur. Bulunması durumunda ise bu DNA bölümünün çoğaltılması ve taşıyıcı hücreye nakledilip kararlı hâle getirilmesi zordur.

- **Genetik Olarak Attenu Edilmiş Aşılar:** Patojen etkenin virulansının genetik olarak azaltılmasıdır. Virulans, patojenin hastalık yapma yeteneğidir. Protein vücut içinde doku ve organlardaki ilerleyişini ve çoğalmasını kolaylaştıran enzimler, salgıladıkları toksinler, fagositozdan koruyan kapsül, hareket unsuru olan kamçı, kirpik vb. yapılar virulans faktörlerini oluşturur. Patojende virulans faktörlerini kodlayan genler, çoğalmayı engellemeyecek şekilde genetik olarak etkisiz hâle getirilir. Bu şekilde hazırlanan aşılar **mutant aşılar** veya **genetik-attenue aşılar** denir.
- **Rekombinant Canlı Aşıları:** Bu yöntemde patojenin antijenlerini kodlayan DNA bölümü, vektör olarak kullanılan virüslerden birine nakledilir. Papova virüs, adeno virüs (Görsel 1.39), herpes virüs, pox virüs vb. rekombine edilen virüs hücre kültüründe çoğaltılır. Çoğalan bu virüsler doğrudan aşı materyali olarak kullanılır. Taşıyıcı zararsız virüs, konak hücreye girer. Konak hücre, patojenin antijenik proteinlerini üretir. Bunun sonucunda hücresel ve humoral immün yanıt gelişir.



Görsel 1.39: Virüs vektör aşı mekanizması

mRNA (Mesajcı RNA) Aşıları: Bölünecek veya sentez yapacak hücrelerin, faaliyetleri öncesinde kendisi için gerekli olan proteinleri üretmesi gerekir. Üretilecek proteinin kodları DNA'da bulunur. Bu kodun sitoplazmadaki ribozoma ulaştırılması gerekir. mRNA ile buradaki koda uygun bir antikod oluşturulur. DNA'daki adenin, timin, guanin, sitozin sıralaması mRNA'da karşılık olarak urasil, adenin, sitozin, guanin dizilimi şekline çevrilir. mRNA, bu şekliyle ribozoma ulaşarak üretilmesi gereken proteinler için bir kalıp oluşturur. Gerekli proteinler, bu kalıba uygun üretilir. Bu mekanizma mRNA aşılarının temelini oluşturur. Etkene ait antijenik proteinlerin şifresini içeren mRNA, taşıyıcı moleküllerle kaplanarak doğrudan konak hücreye aktarılır. Konak hücre, antijenik proteinleri kendisi üretir ve immün sisteme tanıtır. Spesifik antikor üretilir (Görsel 1.40).



Görsel 1.40: mRNA aşı mekanizması

DNA Aşıları

DNA aşıları, rekombinant DNA teknolojisi temeline dayanır. Patojene ait antijenik proteinleri kodlayan genlerin olduğu DNA parçası alınıp plazmide eklenir. Plazmid, doğrudan aşı materyali olarak canlıya uygulanır. Canlının vücudunda antijen sunan hücreler antijenik proteinleri üreterek immün sistem hücrelerine tanıtır.

Sentetik Protein (Peptid) Aşıları

Protein, yapısındaki antijenik determinantın aminoasit dizilimi biliniyorsa buna uygun şekilde kimyasal yöntemler uygulanarak sentezlenir ve aşı hâline getirilip kullanılır. Daha güvenilir olmasına rağmen maliyeti yüksek olan aşılardır.

Anti-İdiotip Aşılar

Farklı türdeki bir canlıda antijene karşı oluşan antikorun, başka bir canlıda aşı materyali olarak kullanılmasıdır. Antijenle antikorun bağlanma uçları birbirine özgüdür. Antikorla aşılanan canlıda oluşan antikorlar, bağışıklık sağlar.

Aşı Takvimi

Veteriner hekim aşı takvimini bulunduğu il, ilçe veya köye göre çiftlikteki hastalık, gebelik, yaş, mevsim, önceki aşılama, bakım ve besleme şartları gibi özel durumları dikkate alarak oluşturur. Veteriner hekim, bölgede çıkan hastalıkları ve komşu çiftliklerin uzaklıklarını gözden geçirir. Aşıları üreten firmanın aşı bilgilerine (prospektüs) uygun olarak aşı takvimi hazırlar. Aşı prospektüsünde aşının dozu, uygulama yöntemi, uygulanacak

hayvanların türü, yaşı, gebelerde kullanımı, aşının saklanması, soğuk zincirin korunması vb. bilgiler bulunur. Kanunlara göre kedi ve köpek türlerinde yapılması zorunlu olan ve olmayan aşlar mevcuttur. Hekim, hayvan sahibiyle görüşerek aşının gerekli olup olmadığını değerlendirir. Barınağa veya hayvan otellerine bırakılan kedi ve köpekler, daha fazla risk taşır. Yumurtacı tavuklarda ise hayvanlar yumurtlama dönemine girmeden önce bütün aşları tamamlanır.

Koyun ve Keçilerde Aşı Takvimi

Koyun ve keçilerde uygulanan aşı takvimi Tablo 1.1'de verilmiştir.

Tablo 1.1: Koyun ve Keçilerde Uygulanan Aşı Takvimi

AŞI	1. DOZ	2. DOZ	TEKRAR (RAPEL)	UYGULAMA ŞEKLİ
EKTİMA	Hastalık çıkan yerlerde tüm yeni doğanlara 1-2 gün içinde yapılır. Hastalık çıkmayan bölgelerde her yaştaki kuzu ve oğlağa uygulanır.			Skarifikasyon (Arka bacağın kasık bölgesinde deriye çapraz 3-4 çizik atılır ve aşı buraya damlatılır.)
ENTEROTOKSEMİ	Kuzu ve oğlaklara, yeme başlamadan önce uygulanır.	21 gün sonra	1 yıl sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
ÇİÇEK	Hastalığın görüldüğü bölgelerdeki 20 günlükten büyük kuzu ve oğlaklara uygulanır. Koyun ve keçilere ise koç katımından önce uygulanır.	6 ay sonra	3 yıl boyunca 6 ayda bir yapılır.	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
ENFEKSİYÖZ NEKROTİK HEPATİTİS	Doğumuna 1,5 ay kalan gebeler hariç her yaştaki hayvanlar aşılanır.	21 gün sonra	1 yıl sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
BRUCELLA REV-1	Genç Aşısı: 4-8 aylık tüm kuzu ve oğlaklara yapılır. Ergin Aşısı: 8 aylıktan büyük koyun ve keçilere aşımından 1-2 ay önce veya sağım döneminin sonunda yapılır. Erkekler aşılanmaz.		1 yıl sonra	Göze damla olarak veya deri altına enjekte edilerek uygulanır.
ŞARBON	Riskli bölgelerde ve hastalık mihraklarında derhâl yapılır. Diğer durumlarda 3 aylıktan büyük kuzulara ilkbaharda uygulanır.		1 yıl sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
AGALAKSİA	Koç katımından 1-2 ay önce yapılması idealdir. Ancak gebeliğin ilk iki ayı veya sağımın son iki ayında da uygulanabilir.		6 ay sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
KEÇİ CİĞER AĞRISI	Riskli bölgelerde 6 aylıktan büyük olanlara uygulanır. Gebeliğin son ayında olanlara uygulanmaz.		6 ay sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
SALMONELLA ABORTUS OVIS	Doğuma en az iki ay kala uygulanır.	21 gün sonra		Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
CAMPYLOBACTER (VİBRİO) FETUS	Koç katımından 3-4 hafta önce yapılır.		2 yıl sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
ŞAP	4-5 aylık ve üzerindekiilere uygulanır.	İlk uygulama yapılanlara 21 gün sonra	6 ay sonra	Kas içine veya deri altına enjekte edilerek yapılır.
KOYUN KEÇİ VEBASI (PPR)	6 aylıktan küçük olanlara, altı ay ara ile iki defa uygulanır. Erişkinlere yılda bir kez uygulanır.		1 yıl sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
MAVİ DİL	Riskli bölgelerde, gebeler ve koçlar hariç, sinekler çıkmadan en az bir ay önce tüm hayvanlara uygulanır.		1 yıl sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.

Sığırlarda Aşı Takvimi

Sığırlarda uygulanan aşı takvimi Tablo 1.2'de verilmiştir.

Tablo 1.2: Sığırlarda Uygulanan Aşı Takvimi

AŞI	1. DOZ	2. DOZ	TEKRAR (RAPEL)	UYGULAMA ŞEKLİ
BUZAĞI İŞHAL AŞISI	Gebelerin doğumuna iki ay kala uygulanır.	14 gün sonra		Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
PASTEURELLA	15 günlükten büyüklere uygulanır.	28 gün sonra	4-6 ay sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
BRUCELLA S 19 GENÇ AŞISI	4-8 aylık dişi danalara uygulanır.		2 yıl sonra	Göze damla olarak veya deri altına enjekte edilerek uygulanır.
BRUCELLA S 19 ERGİN AŞISI	8 aylıktan büyük dişilere uygulanır.		2 yıl sonra	Göze damla olarak veya deri altına enjekte edilerek uygulanır.
LEPTOSPIRA	2 aylıktan büyüklere uygulanır.		1 yıl sonra	Kas içine enjekte edilerek uygulanır.
ŞARBON	Riskli bölgelerde ilkbaharda, hastalık çıkan bölgelerde ise derhâl uygulanır.		1 yıl sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
ENTEROTOKSEMİ	Gebeliğin son dönemlerinde uygulanır.	21 gün sonra		Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
YANIKARA	4 aylıktan büyük olanlara meraya çıkmadan önce uygulanır.		8 ay sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
BOTİLİSMUS	Riskli bölgelerde uygulanır.	14 gün sonra	6 ay sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
MASTİTİS	Doğuma iki ay kala uygulanır.	15 gün sonra	6 ay sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
PARATÜBERKÜLOZ	10-30 günlük buzağılara uygulanır. Uygulama bakanlık iznine bağlıdır.	Aşılana hayvanlar ömür boyu tüberkülin testine pozitif sonuç verir.	6 ay sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
ŞAP	2 aylıktan büyüklere uygulanır.	21 gün sonra	6 ay sonra	Kas içine veya deri altına enjekte edilerek uygulanır.
IBR	3 aylıktan büyüklere uygulanır.		6 ay sonra	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
BVD	Gebelere uygulanır.			Kas içine enjekte edilerek uygulanır.
SİĞİR VEBASI	Hastalık çıkan yerlerde her yaştaki sığira uygulanır.			Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
KUDUZ	Riskli bölgelerde buzağılar 3 aylık olduklarında uygulanır.		1 yıl sonra	Kas içine enjekte edilerek uygulanır.
TRİKOFİT	Her yaştaki hayvana uygulanır.	2 hafta sonra	5 yıl sonra	Kas içine enjekte edilerek uygulanır.

Köpeklerde Aşı Takvimi

Köpeklerde uygulanan aşı takvimi Tablo 1.3'te verilmiştir.

Tablo 1.3: Köpeklerde Uygulanan Aşı Takvimi

AŞI	1. DOZ	2. DOZ	3. DOZ	4. DOZ	5. DOZ	TEKRAR (RAPEL)	UYGULAMA ŞEKLİ
DİSTEMPER PARVOVİRÜS ADENOVİRÜS-2 (16 haftalıktan küçük olanlara.)	6 haftalıkken	9 haftalıkken	12 haftalıkken	16 haftalıkken	1 yaşında	3 yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
DİSTEMPER PARVOVİRÜS ADENOVİRÜS-2 (16 haftalıktan büyük olanlara.)	Kliniğe geldiğinde ilk uygulama yapılır.	3 hafta sonra	1 yıl sonra			3 yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
KUDUZ (16 haftalıktan küçük olanlara.)	12-16 haftalıkken	1 yıl sonra				Yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
KUDUZ (16 haftalıktan büyük olanlara.)	Kliniğe geldiğinde ilk uygulama yapılır.	1 yıl sonra				Yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
BORDETELLA BRONCHİSEPTİCA PARAINFLUENZA (16 haftalıktan küçük olanlara.)	2 aylıktan büyüklere uygulanır.	2-4 hafta sonra				Yılda bir	Burun damlası olarak veya deri altına enjekte edilerek uygulanır.
BORDETELLA BRONCHİSEPTİCA PARAINFLUENZA (16 haftalıktan büyük olanlara.)	Kliniğe geldiğinde ilk uygulama yapılır.	3 hafta sonra				Yılda bir	Burun damlası olarak veya deri altına enjekte edilerek uygulanır.
LEPTOSPİRA TÜRLERİ (16 haftalıktan küçük olanlara.)	8-12 haftalıkken	2-4 hafta sonra				Yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
LEPTOSPİRA TÜRLERİ (16 haftalıktan büyük olanlara.)	Kliniğe geldiğinde ilk uygulama yapılır.	3 hafta sonra				Yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
LYME BORRELIOSİS (16 haftalıktan küçük olanlara.)	12 haftalıkken	2-4 hafta sonra				Yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
LYME BORRELIOSİS (16 haftalıktan büyük olanlara.)	Kliniğe geldiğinde ilk uygulama yapılır.	3 hafta sonra				Yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.

Kedilerde Aşı Takvimi

Kedilerde uygulanan aşı takvimi Tablo 1.4'te verilmiştir.

Tablo 1.4: Kedilerde Uygulanan Aşı Takvimi

AŞI	1. DOZ	2. DOZ	3. DOZ	4. DOZ	5. DOZ	TEKRAR (RAPEL)	UYGULAMA ŞEKLİ
PARVOVİRÜS CALİCİVİRÜS HERPESVİRÜS-1 (16 haftalıktan küçük olanlara.)	6 haftalıkken	11 haftalıkken	14 haftalıkken	17 haftalıkken	1 yaşında	3 yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
PARVOVİRÜS CALİCİVİRÜS HERPESVİRÜS-1 (16 haftalıktan büyük olanlara.)	Kliniğe geldiğinde ilk uygulama yapılır.	3-4 hafta sonra	1 yıl sonra			3 yılda bir	Deri altına enjekte edilerek uygulanır.
KUDUZ (16 haftalıktan küçük olanlara.)	12-16 haftalıkken					Yılda bir	Kas içine veya deri altına enjekte edilerek uygulanır.
KUDUZ (16 haftalıktan büyük olanlara.)	Kliniğe geldiğinde ilk uygulama yapılır.					Yılda bir	Kas içine veya deri altına enjekte edilerek uygulanır.

Yumurtacı Tavuk Yetiştirmede Cıvciv ve Piliçlerin Aşı Takvimi

Yumurtacı tavuk yetiştirmede cıvciv ve piliçlere uygulanan aşı takvimi Tablo 1.5'te verilmiştir.

Tablo 1.5: Yumurtacı Tavuk Yetiştirmede Cıvciv ve Piliçlere Uygulanan Aşı Takvimi

AŞI	YAŞ (yumurta çıkışından)	UYGULAMA ŞEKLİ
MAREK	0. günde	Kas içine enjekte edilerek uygulanır.
ENFEKSİYÖZ BRONŞİTİS	1. günde	Sprey, içme suyu, burun göz damla, püskürtme yöntemlerinden biri ile yarım doz uygulanır.
NEWCASTLE	7 veya 10. günde	Burun göz damla, içme suyu, püskürtme yöntemlerinden biri ile uygulanır.
GUMBORO	12 veya 21. günde	İçme suyu ile yarım doz uygulanır.
NEWCASTLE	31. gün	Burun göz damla, içme suyu, sprej
GUMBORO	38. gün	İçme suyu ile tam doz uygulanır.
ÇİÇEK	8. hafta	Kanat zarına batırma ile uygulanır.
NEWCASTLE	13. hafta	Kas içi enjeksiyon, püskürtme veya içme suyu ile uygulanır.
AVİAN ENSEFALOMYELITİS	14. hafta	İçme suyu ile uygulanır.
ENFEKSİYÖZ BRONŞİTİS	15. hafta	Burun göz damla yöntemiyle uygulanır.
EGG DROP SYNDROM (EDS-76) + NEWCASTLE	17. hafta	Kas içine enjekte edilerek uygulanır.

Kasaplık Piliçlerde (Broiler) Aşı Takvimi

Kasaplık piliçlere uygulanan aşı takvimi Tablo 1.6'da verilmiştir.

Tablo 1.6: Kasaplık Piliçlere Uygulanan Aşı Takvimi

AŞI	YAŞ (YUMURTA ÇIKIŞINDAN)	UYGULAMA ŞEKLİ
MAREK	0. günde	Kas içine enjekte edilerek uygulanır.
ENFEKSİYÖZ BRONŞİTİS	1. günde	İçme suyu ile uygulanır.
NEWCASTLE	1. gün	Sprey yöntemi ile uygulanır.
NEWCASTLE	7 veya 10.gün	Sprey veya içme suyu ile uygulanır.
ENFEKSİYÖZ BRONŞİTİS	14 veya 18.gün	Sprey veya içme suyu ile uygulanır.
GUMBORO	14 veya 18.gün	İçme suyu ile uygulanır.
GUMBORO	21 veya 24.gün	İçme suyu ile uygulanır.
NEWCASTLE	28 veya 30.gün	Sprey veya içme suyu ile uygulanır.

Aşı Uygulama Yöntemleri

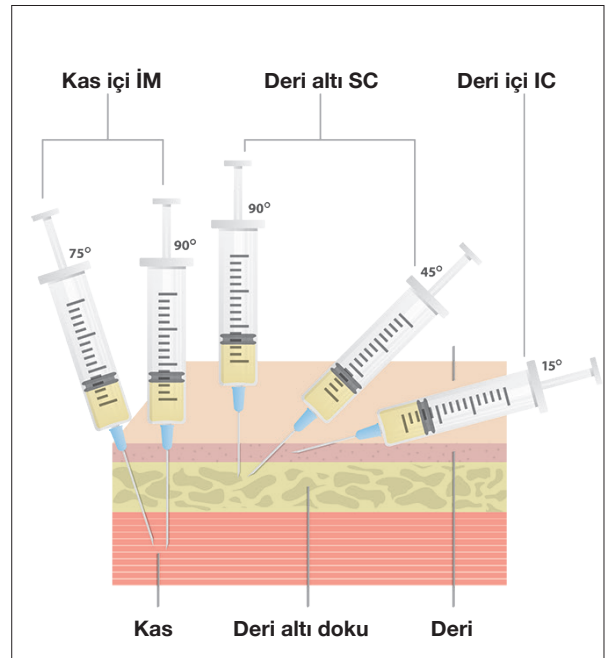
Aşı uygulama yöntemleri seçilirken aşının tipi (canlı, inaktif), beklenen immün yanıtın çeşidi (hücresel, humoral) ve bağışıklığın etkili olmasının istendiği yer belirleyici olmaktadır.

Deri Altı [Subkutan (SC)] Enjeksiyon Yöntemi: Hayvan türlerinde enjeksiyon için farklı bölgeler tercih edilse de damar ve sinirden fakir olan kılsız, tüsüz ve yumuşak

deri bölgeleri seçilir. Bu amaçla boyun, ense, gerdan, dirsek ekleminin gerisi, kuyruk altı ve arka bacağın iç yüzü idealdir. Deri, sol elin baş ve işaret parmakları arasında çekilerek piramit hâline getirilir. Piramidin tepesinden enjektör iğnesi (kanül) kısa ise 90°lik açıyla, enjektör iğnesi uzun ise 45°lik açıyla girilir. Enjeksiyon yapılır (Görsel 1.41). Enjeksiyon bölgesinde, verilen sıvı hacmi kadar kabarıklık oluşur.

Kas İçi [İntramuskuler (İM)] Enjeksiyon Yöntemi: Enjeksiyon için hayvan türlerinde farklı bölgeler tercih edilse de damar ve sinirden fakir olan kaslara enjeksiyon yapılır. Bu amaçla boyun, sırt, kalça, arka ve ön bacakta ki kas grupları tercih edilir. Belirlenen kas grubuna 75- 90°lik dik açıyla girilir (Görsel 1.42).

Deriye Çizik Atma (Skarifikasyon) Yöntemi: Tüysüz deri kısımları, hafif kanama olacak şekilde çizilir. Aşı buraya damlatılır veya sürülür.

**Görsel 1.41:** Kedide deri altı enjeksiyon**Görsel 1.42:** Enjeksiyon Teknikleri

Burun ve Göz Damlası Yöntemi: Aşı materyali burun veya göz mukozasına damlatılır (Görsel 1.43).

Püskürtme Sprey (Aerosol) Yöntemi: Aşılamada kullanılan püskürtücü cihazın damlacık büyüklüğü 100-150 mikron (1mm'nin 1/1.000'i 1 mikron) olacak şekilde ayarlanır. Etkili bir aşılama için hayvanlar 5-10 sn. aerosol aşıya maruz kalmalıdır. 0-4 haftalık kanatlı hayvanlarda bu yöntem uygulanır. 15-20 dakikalık aşılama süresi sonunda havalandırmalar çalıştırılır.

Kanat Zarına Batırma Yöntemi: Aşı materyalinin dolmasına yarayan gözzeneklerin olduğu iki uçlu çatal benzeri özel iğne aşıya daldırılır. Kanadın iç yüzündeki perde benzeri zara batırılır. İğnenin ucu karşı taraftan çıktıktan sonra geri çekilir.



Görsel 1.43: Köpeğe göz damlası uygulaması

İçme Suyu ile Aşılama Yöntemi: Bir litre suya 2 g yağsız süt tozu (2g/l) veya 40 litre suya 1 litre oranında (1/40) yağsız süt ilave edilir. İyiye karıştırıldıktan sonra karışımın homojen olması için 20-30 dakika beklenir. Süt ya da süt tozu, aşıdaki virüsleri öldüren kimyasal maddeleri nötralize eder. Karışımları hazırlamak için plastik kaplar kullanılır. Genellikle sabah saatleri tercih edilir. Bir gün önceden hayvanların en fazla su tükettiği saat belirlenir. Su, temiz ve soğuk olmalıdır. Arıtılmış su kullanılır. Aşılamanın yapılacağı gün suluklar, işlemiden 2-3 saat önce kaldırılıp temizlenir. Temizlik işleminde deterjan ve dezenfektan kullanılmaz. Hayvanların susuz kalması ve verilen aşı suyu bir saat içinde tüketmesi sağlanır.

Gaga Daldırma Yöntemi: Cıvıvlerin burun delikleri de aşı solüsyonuna girecek şekilde gagaları tek tek batırılır.

Tüy Folliküllerine Sürme Yöntemi: Kanatlı hayvanların bacağından 4-5 tüy kopararak folliküller açığa çıkartılır. Aşı materyali, folliküllere damlatılır. Damlatma işleminden sonra sert tel fırça folliküllere ters yönde sürtülür.

1.2.2. İmmün Serumlar

İçinde belli antijenlere karşı yüksek oranda özgül antikor bulunduran serumlara **hiper immün serum (antiserum, antivenom)** denir. İçerdiği antikor, tek bir antijene özgü (monovalan) olabileceği gibi çok sayıda antijene özgü de (polivalan) olabilir. Hiper immün serumlar difteri, tetanos gibi bakteri toksinlerine, akrep, yılan gibi canlıların zehirlerine ve kuduz, Covid-19 gibi viral enfeksiyonlara karşı yapay pasif bağışıklık kazandırmak için üretilir. Hiper immün serumlar, bireylere hastalanmadan önce koruyucu amaçla uygulandığı gibi hastalığın başında tedavi amacıyla da uygulanır. Hastalığın ilerlediği vakalarda ise az etkili veya tamamen etkisizdir. Hiper immün serumun aynı canlıya çok kez uygulanması alerjiye neden olabilir.

Hiper immün serumları üretmek için izole edilen spesifik antijen at, sığır, koyun, keçi gibi hayvanlara düşük dozlarda belli aralıklarla enjekte edilir. Deney hayvanında, verilen antijene karşı hücrel ve hümmoral immün yanıt gelişir. Kanındaki antikor miktarı en yüksek seviyeye ulaştığında hayvanın kanı alınarak serum veya plazması ayrılır. Bu şekilde elde edilen serum veya plazma ambalajlanarak ihtiyaç hâlinde kullanılmak üzere uygun şartlarda muhafaza edilir. Bu yöntemle bakteri toksinlerine (tetanos, difteri) ve akrep, yılan, örümcek zehrine karşı hiper immün serumlar üretilmektedir.

Tetanos Serumu: İnsanlarda, insan serumundan elde edilen hiper immün serum kullanılır. Aynı türdeki canlılardan elde edilen serumlara ise **homolog immun serum** denir. Farklı türdeki canlıdan elde edilene ise **heterelog hiper immün serum** denir. Atlardan elde edilen heterelog hiper immün serum kullanılacağına deri testi uygulanmalıdır. At serumu kullanımında serum hastalığı gelişebilir. İnsandan elde edilen tetanos serumu, koruyucu amaçla 250 IU (International Ünit) kas içine enjekte edilir. Yara çok kirli ise doz iki katına çıkarılır. Tedavi için 3.000-6.000 IU uygulanır.

At serumu kullanılacaksa koruyucu amaçla 5000 IU, tedavi için 150.000-250.000 IU kullanılabilir.

Kuduz Serumu: At veya eşeklerden alınan hiper immün serum, ağır ısırık durumlarında aşının yanı sıra 20 kg canlı ağırlık için 10 cc veya 40 IU/kg kas içine enjekte edilir. Yara çevresine de 10-20 cc enjekte edilir.

Yılan ve Akrep Serumları: At ve eşek gibi hayvanlar, değişik türdeki akrep ve yılan zehrine karşı immünize edilir. Alınan serumlar, ampullerde liyofilize şekilde depolanır. Isırık olduğunda olayın derecesine göre (1-5 ampule kadar) kullanılacak miktarın yarısı kas içine, kalan yarısı da yara çevresine enjekte edilir.

Polivalan Gazlı Gangren Serumu: Atların immünizasyonu ile elde edilir. Yaralanmalarda koruyucu maksatla 100 cc serum kas içine, deri altına ve yaranın çevresine enjekte edilir. Tedavi için kullanılacağında 250-400 cc hiper immün serum, 800 cc serum fizyolojikle karıştırılarak damar içi enfüzyon tarzında uygulanır.

Buzağı Septisemi Serumu: İneklerin immünizasyonu ile hazırlanır. Yeni doğan buzağılarda deri altına enjekte edilir.

Bağışık Ağız Sütü (Kolostrum): E. coli ve salmonella enfeksiyonlarına karşı buzağuları korumak için yöreye adapte olmuş bağışık ineklerin fazla kolostrumu, derin dondurucuda saklanır. İhtiyaç durumunda 45-50 °C'de ılık suyun içinde çözdürülerek yeni doğan öksüz buzağılara içirilir.

Hastalığı bizzat geçiren canlılarda aktif bağışıklık geliştiği için kanlarında yüksek oranda antikor oluşur. Bu durumdakilerden alınan kan serumu veya plazması, ihtiyaç hâlinde kullanılır. Covid-19 hastalığını geçirenlerden alınan hiper immün serumlar, tedavide etkin şekilde kullanılarak ölüm oranları düşürülmüştür.

Gelişen teknoloji sayesinde antijenle uyarılan B-lenfositlerin hibritleri tek tek hücre kültüründe çoğaltılmış ve özgül antikor üretmeleri sağlanmıştır. Bu tekniğe **tekli klonlama (monoklonal anti-kor teknolojisi)** denir. Bu yöntemle elde edilen antikorlar yapay pasif bağışıklıkta, enfeksiyonların teşhisinde ve aşıların hazırlanmasında kullanılır.

1.2.3. Aşı ve Bağışıklık Serumu Arasındaki Farklar

Hekimliğin esası koruyucu hekimlikten oluşur. Tedavi hekimliği ikinci sırada gelir. Koruyucu hekimlik ise temelde aşı ve hiper immün serum ile sağlanır. Aşı ile hiper immün serum arasındaki farklar şunlardır:

- Aşı, yapay aktif bağışıklık kazandırır. Hiper immün serum, yapay pasif bağışıklık kazandırır.
- Aşı, uzun süreli bağışıklık oluşturur. Hiper immün serum, kısa süreli bağışıklık oluşturur.
- Aşı, sadece sağlıklı canlılara uygulanır. Hiper immün serum ise hem hasta hem de sağlıklı canlılara uygulanır.
- Aşırı düşük dozda uygulamak yeterlidir. Hiper immün serumu yüksek dozda vermek gerekir.
- Aşının birçok uygulama yöntemi vardır. Hiper immün serum genellikle deri altı, kas içi ve damar içi yoldan uygulanır.
- Aşı, immün yetmezliği olanlarda işe yaramaz. Hiper immün serum, yapay pasif bağışıklık sağlar.
- Aşı ile antijen verilir. Hiper immün serumla antikor verilir.
- Aşının yan etkisi, hiper immün serumun yan etkisinden daha azdır.
- Aşı hem hücresel hem de hümmoral bağışıklık kazandırır. Hiper immün serum, sadece hümmoral bağışıklık oluşturur.
- Günümüzde aşı kullanımı daha yaygınken hiper immün serum kullanımı daha sınırlıdır.

1.2.4. Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları

Bağışıklık sistemi, bazı insan ve hayvanlarda antijenlere karşı normalin dışında immün tepki oluşturarak hücre ve dokularda hasara yol açar. Bunun sonucunda insan veya hayvanda alerjik hastalıklar gelişir hatta ölümlerle sonuçlanabilir. Alerjenlere karşı duyarlı hâle gelen canlıların aynı alerjenle tekrar karşılaşmasıyla oluşan **immün reaksiyona hipersensitivite (aşırı duyarlılık reaksiyonu)** denir. Alerjen maddeye özgü antikor oluşmasına **duyarlanma** denir. Duyarlı canlının spesifik antijenle ikinci defa karşılaşması durumunda hücre ve dokularda yıkıma sebep olan aşırı duyarlılık reaksiyonuna **alerji** denir. Canlıda özgül antikor oluşturan ve bu antikorla bağlandığında alerjik reaksiyonlara yol açan antijenlere **alerjen** denir.

Aşırı duyarlılık reaksiyonları (hipersensitivite); Tip-1 (anafilaktik reaksiyon, erken aşırı duyarlılık reaksiyonu), Tip-2 (sitotoksik reaksiyon), Tip-3 (immün kompleks reaksiyonu) ve Tip-4 (gecikmiş tip, hücresel tip aşırı duyarlılık reaksiyonu) olmak üzere dört grupta incelenir (Tablo 1.7).

Tablo 1.7: Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları

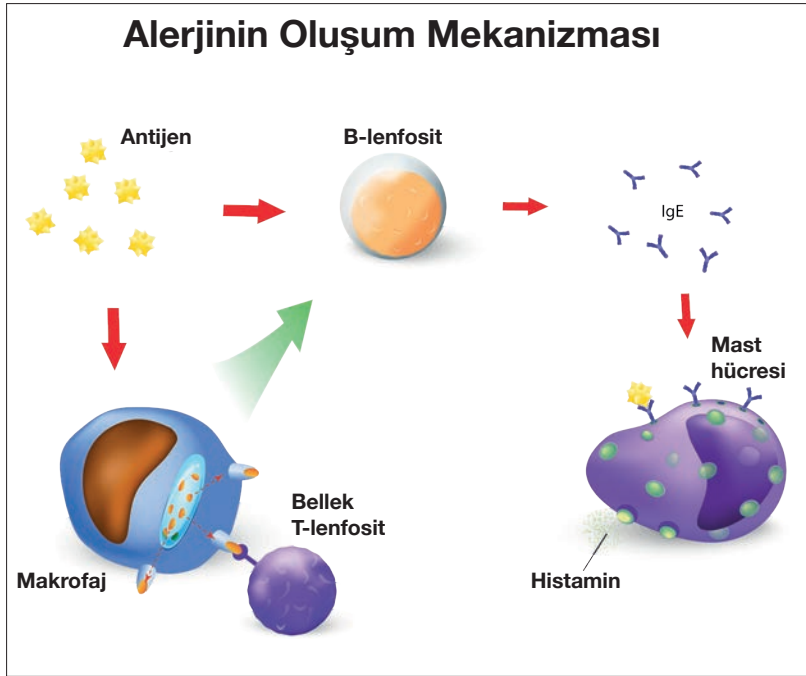
REAKSİYON TİPİ	İMMÜN REAKTÖR MADDE	ORTAMA SALINAN KİMYASAL MADDE	REAKSİYONDA ROL ALAN HÜCRELER	OLUŞAN HÜCRE VE DOKU HASARI	MEYDANA GELEN HASTALIK
Tip-1	IgE	Histamin Serotonin Eozinofil Kemotaktik Faktör vb.	Mast Hücresi, Bazofil Lökositler	Solunum Kanallarının Daralması Ödem Şok	Alerjik rinit Dermatit Anafilaksi
Tip-2	IgG IgM	Komplement (C5a)	Makrofaj, Nötrofil Eozinofil Doğal Katil Hücre	Hücrenin Erimesi ve Fagositozu	Otoimmün Hemolitik Anemi Trombositopeni
Tip-3	IgG IgM	Komplement (C3a, C4a, C5a)	Nötrofil Eozinofil Bazofil	Nötrofil Eozinofil Bazofil Hücre Top- lanması	Arthus Reaksiyonu Serum Hastalığı İmmün Kompleks Glomerulonefritis Romatoid Arthritis
Tip-4	T- Lenfosit	Lenfokinler	Makrofaj Nötrofil Eozinofil Doğal Katil Hücre	Granüloamatöz İltihaplanma	Tüberkülin; Mallein Brusellin vb. Deri Testi Nakil Edilen Doku veya Organın Atılması Kontakt Dermatit

Tip-1 Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Bazı canlılarda çiçek poleni, toz, ilaçlar, gıdalar, arı zehri, aşı, hiper immün serum, hayvan tüyleri vb. birçok madde alerjiye neden olur. Tip-1 alerjinin hızlı gelişen ve ölümcül olan şekline **anafilaktik reaksiyon** denir. Anafilaktik reaksiyona IgE antikorları aracılık eder. Mast hücreleri ve bazofil lökositler, salgıladığı kimyasal maddelerle etkin rol oynar.

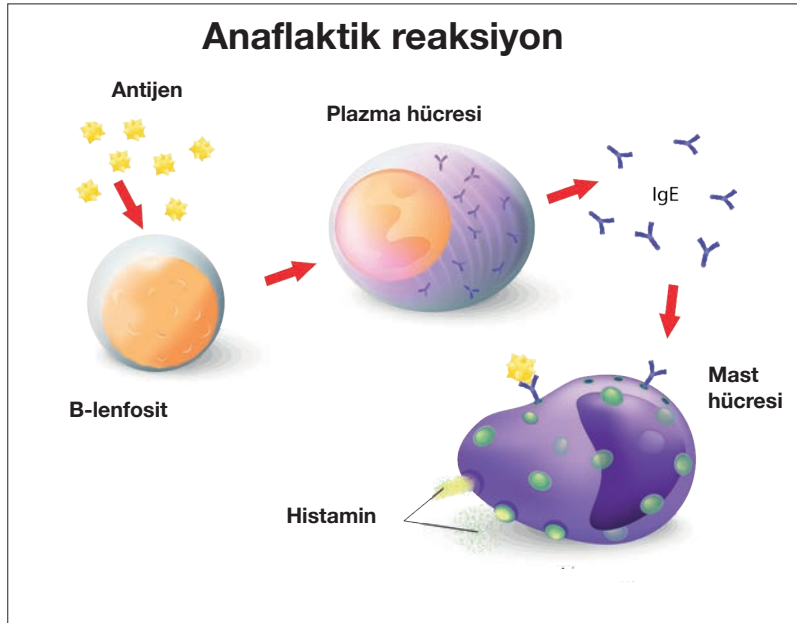
Alerjen maddenin vücuda ilk girişinde antijen sunan hücre, bunu işleyerek yardımcı T-lenfositlere ve B-lenfositlere sunar. B-lenfositler, plazma hücrelerine dönüşerek antijene özgü IgE antikorlarını

sentezler. Üretilen IgE antikorları, mast hücrelerinin ve bazofil lökositlerin yüzeyine tutunarak hücreleri duyarlı hâle getirir (Görsel 1.44).



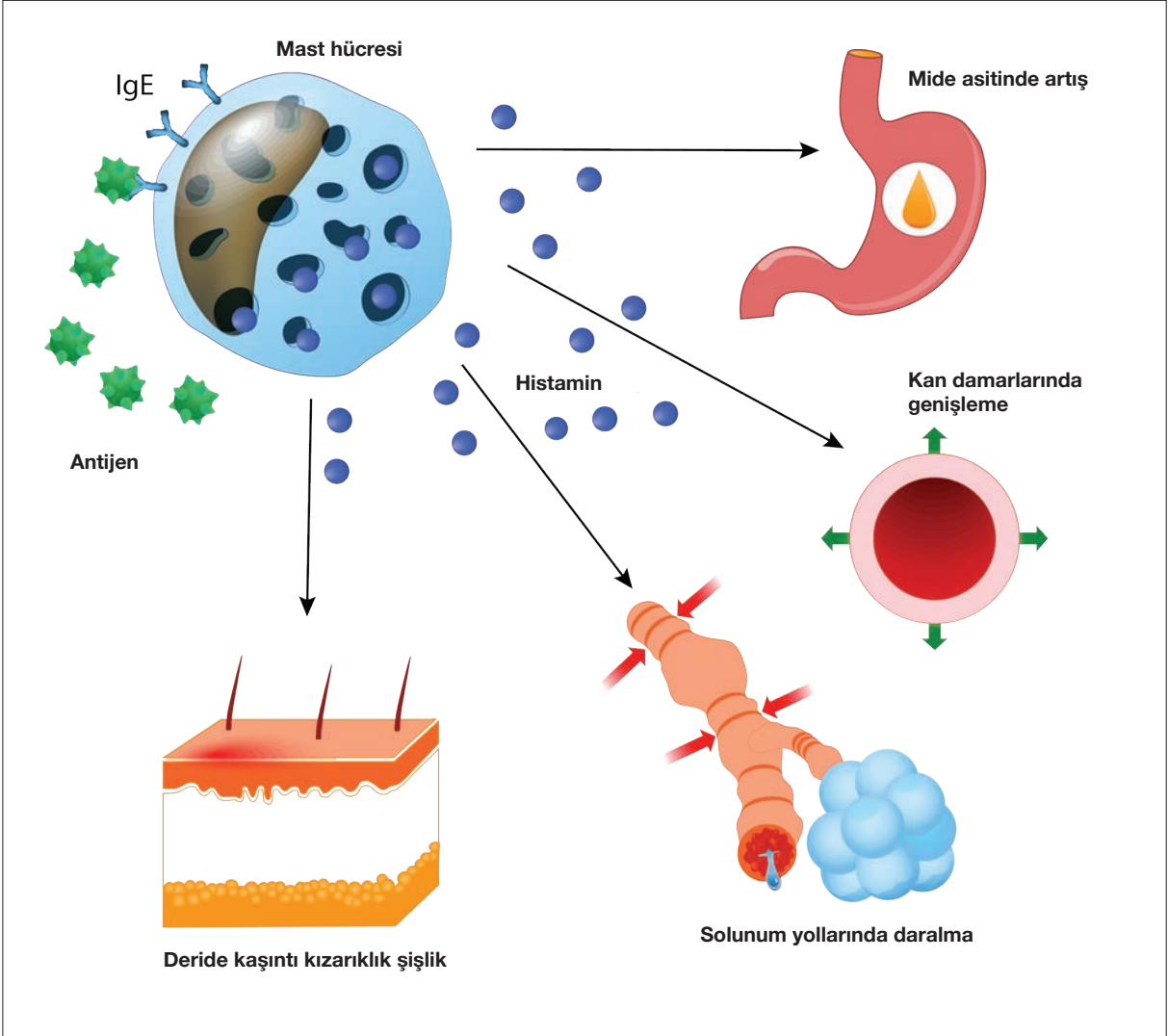
Görsel 1.44: Alerji mekanizması

Aynı alerjen, vücuda sonraki girişlerinde mast hücrelerinin ve bazofil lökositin yüzeyindeki IgE antikoruna ile birleşir. Bu da dokulardaki mast hücreleri ile kandaki bazofil lökositleri aktive eder. Aktivasyon sonucunda kimyasal maddeyle dolu granüller patlar. Ortama histamin, serotonin, bradikinin gibi damarlara, düz kaslara ve endotel hücrelerine tesir eden kimyasallar ile lökotrin gibi kemotaktik maddeler salınır (Görsel 1.45). Bu kimyasal maddelerin etkisiyle hücre ölümü ve doku hasarıyla karakterize alerjik hastalıklar ortaya çıkar.



Görsel 1.45: Anaflaktik reaksiyon

Histaminin etkisi ile damarlarda genişleme olur. Bu durum tansiyonun düşmesine yol açar. Damar geçirgenliği arttığı için kanın sıvı kısmı damar dışına çıkarak akciğerde, gırtlakta, bacaklarda ve vücudun diğer bölgelerinde ödeme sebep olur. Kalbin dakikadaki hızı artar. Akciğer hava kanalları (bronş) daralır. Nefes almak zorlaşır, hırıltılı solunum gözlenir. Duruma müdahale edilmezse şok ve ölüm gerçekleşir (Görsel 1.46). Tedavi için antihistaminik, kortizon ve adrenalin (epinefrin) enjeksiyonu yapılır. Anafilaksiye göre daha hafif olan alerjik astım (akciğer iltihabı), alerjik rinit (burun mukozası iltihabı) ve alerjik dermatit (deri iltihabı) gibi alerjik hastalıklar gelişir.



Görsel 1.46: Mast hücresinden histamin salınımı ile etkilenen doku ve organlar

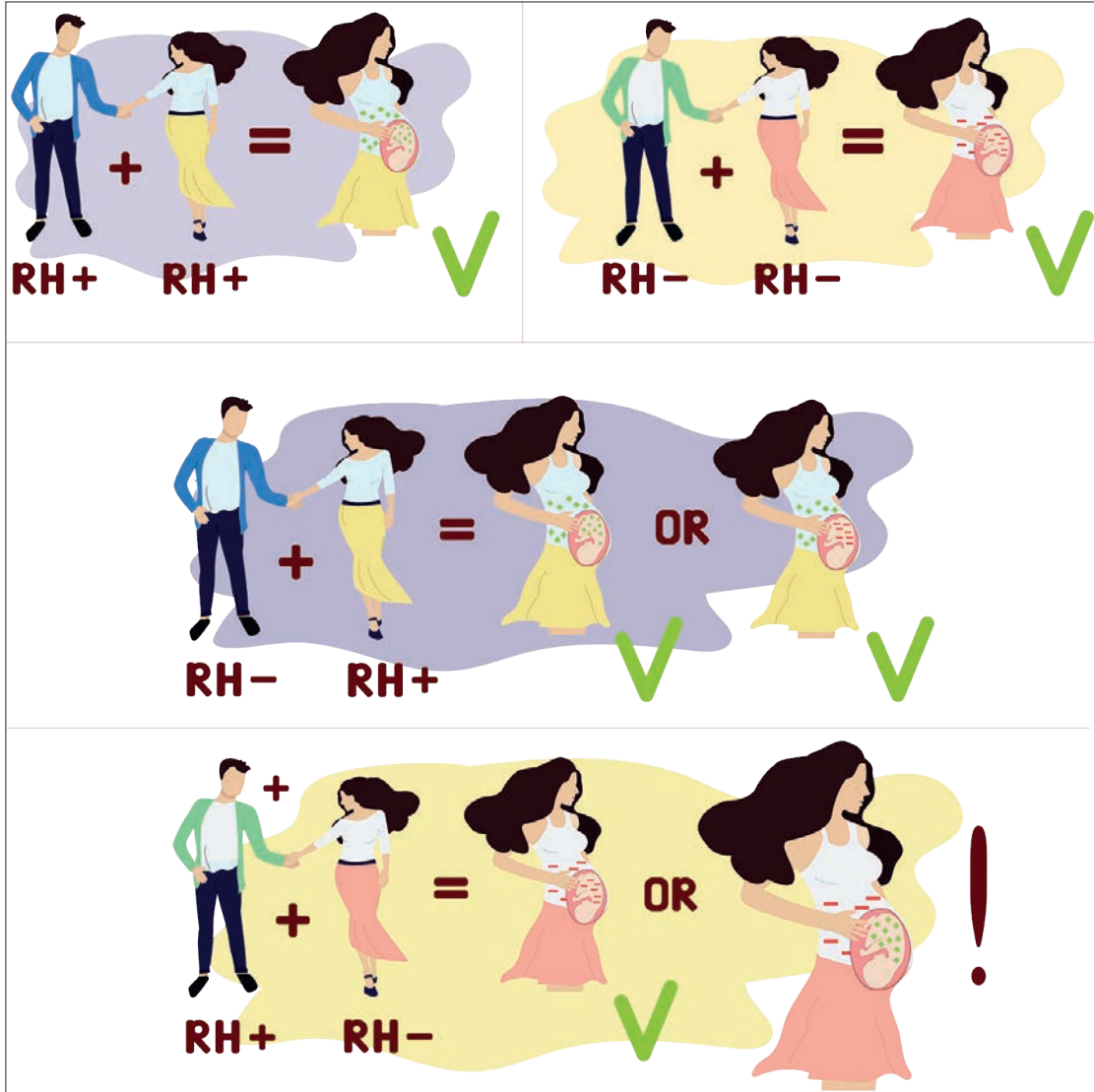
Tip-2 Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Genetik olarak hücre ve dokuların yüzeyinde bulunan antijenik moleküllere (A, B, O, kan grupları ve Rh faktörü) veya daha sonradan hücrelerin yüzeyine yapışan alerjenlerin (penisilin gibi ilaçlar) antikorla bağlanabilecek (epitop) kısımlarına özgün IgG ve IgM tipindeki antikorların oluşmasıdır. Oluşan antikorların bağlanması sonucunda Tip-2 aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişir. Bu nedenle Tip-2 aşırı duyarlılık reaksiyonunu Tip-2a ve Tip-2b olmak üzere iki şekilde incelenir.

Tip-2a Sitotoksik Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu: Komplementi bağlayan IgG ve IgM tipindeki antikolar, genetik olarak hücreye ait olan yüzey antijeniyle birleşir. Birleşme sonrasında komplement antikora tutunarak aktive olur. Aktive olan komplement birimleri (C5a), bir süre hücre membranında kalır. Kemotaktik etki ile nötrofil lökositleri bölgeye çeker. Nötrofil lökositler, antikorun bağlandığı hücreyi fagosite etmek için harekete geçer. Ancak hedef hücre çok büyük olduğundan fagosite edemez. Lizozomal enzimlerini boşaltarak hedef hücreyi eritir (lisis). Bu duruma en iyi örnek A, B, O kan grubu uyumsuzluğudur. Farklı kan grubu transfer edildiğinde IgM tipindeki antikolar antijenle birleşir. Birleşme sonucunda öncelikle hücrelerde yığılma ve çökme (aglutinasyon) olur. Sonrasında komplement aktivasyonu, nötrofil fagositozu ve hedef hücrenin erimesi şeklinde gelişen bir dizi reaksiyon sonucunda hücre ve doku hasarı gerçekleşir.

Tip-2a aşırı duyarlılık reaksiyonuna verilecek bir diğer örneği yeni doğan bebeklerin hemolitik (alyuvarların parçalanması) anemisi oluşturur. Rh faktörüne bağlı gelişen bu durumda, oluşan IgG antikoları göbek kordonundan geçerek bebeğin alyuvarlarının parçalanmasına yol açar.

Bu durum sadece baba Rh (+) anne Rh (-) olduğunda ikinci ve sonraki gebeliklerde şekillenir. Anne ilk gebelikte Rh antijenine karşı duyarlı hâle gelerek antikor oluşturur. Anne daha sonra tekrar gebe kaldığında, oluşan IgG tipindeki antikolar bebeğe ulaşarak alyuvarların parçalanmasına neden olur (Görsel 1.47).



Görsel 1.47: Rh faktörü uyumsuzluk durumu

Tip-2b Hücre Uyarıcı (Sitimüle Edici) Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu: Bazen penisilin, phenacetin (fenasetin), guanidine gibi ilaçlar kana karıştığında alyuvarların yüzey antijenlerine yapışır. Bunun sonucunda antikor oluşumu başlar. Plazma hücrelerinin ürettiği IgG tipindeki özgün antikorlar bu ilaca bağlanır. Bazen de önce ilaçla antikor bağlanır. Sonrasında oluşan ilaç antikor kompleksi alyuvarın yüzey antijenine yapışır.

Başka bir durumda ise oluşan antikor doğrudan ilaç yerine alyuvarın yüzey antijenine bağlanır. İlaçlara karşı oluşan antikorlar alyuvar haricinde nötrofil, lenfosit ve trombositler ile vücuttaki reseptörlere bağlanır. Bu hücrelerin ve reseptörlerin fonksiyonlarıyla ilgili bozukluklar ve hastalıklar ortaya çıkar. Myestania gravis hastalığında asetil kolin reseptörlerine bağlanan antikorlar, çizgili kaslarda fonksiyon kaybına neden olur. Çizgili kasların kasılması azalır. Sıtma tedavisinde kullanılan kinin ilacına karşı oluşan antikorlar, trombositlere bağlanır. Bunun sonucunda kanamalara sebep olan trombosit eksikliği (trombositopeni) görülür. Yüksek tansiyon ve kalp yetmezliği hastalığında kullanılan hidralazin gibi ilaçlar DNA'ya bağlanabilen otoantikorların üretilmesine sebep olur (anti-DNA antikorlar). Böyle bir durumda gelişen reaksiyon sistemik lupus eritematozusu andırır. Bunun sonucunda halk arasında kelebek hastalığı olarak bilinen yüzdeki kırmızı deri döküntüsüyle karakterize sistemik lupus eritematozusu gelişir (Görsel 1.48). Hastalık solunum, sindirim, sinir ve üriner olmak üzere pek çok sistemi etkilemektedir.



Görsel 1.48: Yüzde kelebek benzeri deri döküntüsü

İlaç dışında bazı enfeksiyonlara (mycoplasma pneumonia) karşı oluşan antikorlar da vücutta çapraz reaksiyonlara neden olur. Alyuvarların parçalanmasıyla karakterize anemiler (hemolitik anemi) şekillenebilir. A grubu streptokoklara karşı oluşan antikorlar, kalp dokusu ile çapraz reaksiyon verebilir.

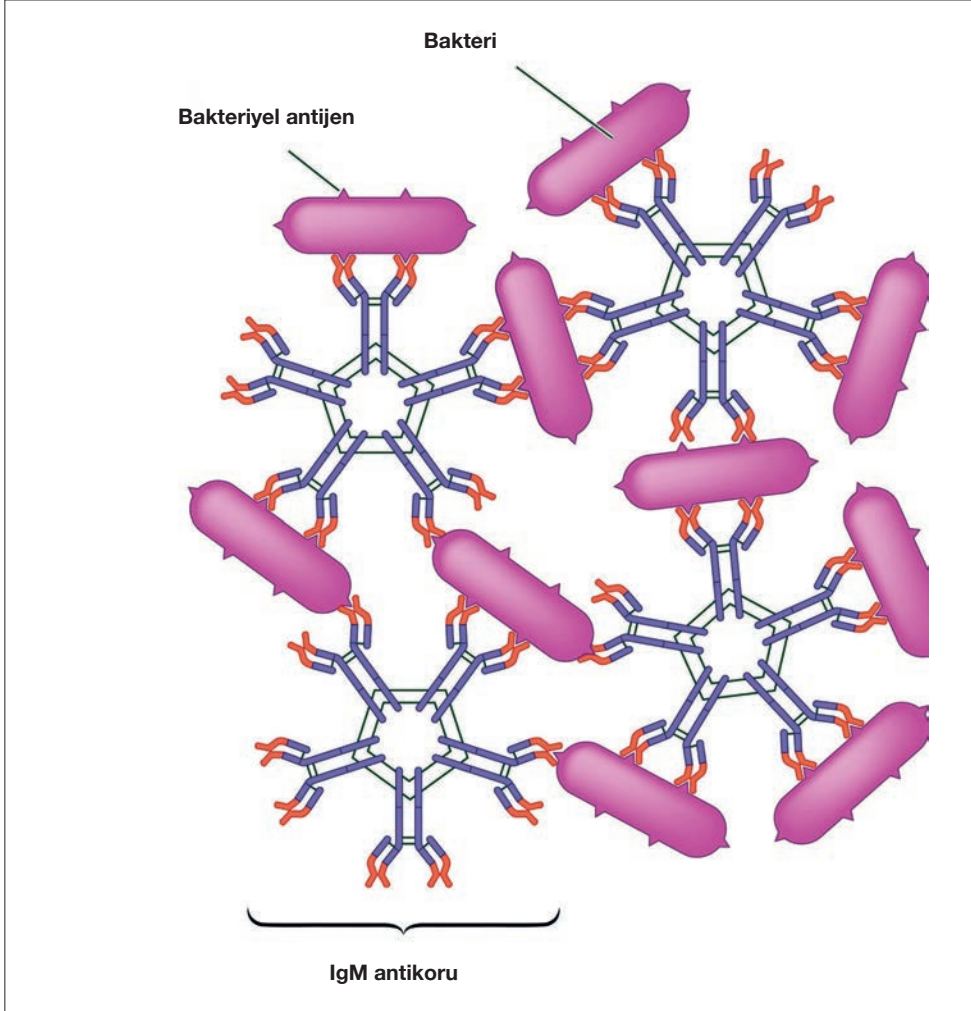
BİLGİ KÖŞESİ

SLE (sistemik lupus eritematozusu) hastalığı hayvanlarda ilk defa 1965 yılında bildirilmiştir. En fazla köpeklerde görülmektedir. Hastalığa yakalanan hayvanlarda otoimmün hemolitik anemi, trombositopeni ve glomerulonefritis görülür. Bunların yanı sıra tüy dökülmesi ve deride kalınlaşma dikkati çeker. Hastalıkta eritrosit, lökosit, trombosit ve hücre çekirdeklerine karşı oluşan antikorlar kas, deri, eklem ve böbreklerde birikerek fonksiyon bozukluğuna neden olur.

İnsanlarda SLE hastalığının bazı ilaçlarla ilgisinin olabileceği bildirilirken hayvanlarda bu konudaki araştırmalar sınırlı kalmıştır. Bazı araştırmacılar "hidrolazin" maddesinin köpeklerde SLE yapabileceğini bildirmiştir. Bazı araştırmacılar da hasta köpeklerden alınan vücut sıvılarının hücresiz filtratlarını farelere enjekte ederek hastalığı deneysel olarak oluşturmuştur. Bu çalışma sonucunda hastalığın viral kökenli olabileceğini ve hatta insanlara da bulaşabileceğini bildirilmiştir.

Tip-3 Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Birbirine özgü antijenle antikorun birleşmesi sonucu oluşan yapıya **immün kompleks** denir. IgG ve IgM tipindeki antikorlar, immün kompleks oluşumunda rol oynar (Görsel 1.49). Tip-3 aşırı duyarlılığa, bakteri virüs gibi patojenlere ait ekzojen kaynaklı antijenler ile endojen kaynaklı serum proteinleri sebep olur.



Görsel 1.49: İmmün kompleks

Makrofajlar, normal şartlarda oluşan immün kompleksleri fagositoz ile uzaklaştırır. Ancak antijen yükü fazla olan ve fagosit edilemeyen immün kompleksler özellikle kan damarlarında, böbreklerde ve eklemlerde birikerek komplement sistemi aktif hâle getirir. Aktive olan komplement sistemi, lokal mast hücrelerinin veya dolaşımdaki bazofil lökositlerin granüllerinin patlamasına ve histamin gibi kimyasal maddelerin ortama bırakılmasına sebep olur. Ayrıca polimorf nükleer hücrelerin bölgeye gelmesi için kemotaktik etki oluşturur. Nihayetinde oluşan membran atak kompleksi ile de hücre ve dokularda hasar meydana gelir.

Alerjik reaksiyonun ortaya çıkması ve şiddeti, oluşan immün kompleksin büyüklüğüne ve vücuttaki dağılımına bağlıdır.

İmmün Kompleksin Büyüklüğü: Büyük olan immün kompleksler karaciğerdeki makrofajlar tarafından kolayca fagosit edilir. Küçük olanlar ise fagositozdan kurtulur.

İmmün Kompleksin Miktarı: İmmün kompleksin fazla miktarda oluşması bunların uzaklaştırılmasını zorlaştırır. Bu da immün kompleksin dokularda, özellikle damar duvarında, eklemlerde ve böbrek glomerüllerinde birikmesine yol açar.

Tip-3 aşırı duyarlılık reaksiyonlarının arthus reaksiyonu ve serum hastalığı olmak üzere iki temel tipi bulunur.

Arthus Reaksiyonu: Spesifik bir antijen, deney hayvanına defalarca verilerek yüksek miktarda antikor oluşturulur. Yüksek titrede antikor oluştuğunda ise aynı antijen, deri altı veya deri içi yolla enjekte edilir. 3-6 saat içinde uygulama yerinde ödem, kızarıklık (eritem) veya kanama (hemoraji) şekillenir. Damar içinde immün kompleks, komplement, nötrofil lökositler ve trombositler çökerek damar tıkanıklığına neden olur. Tıkanan damarın sahasındaki hücreler, beslenemediği için ölür. Bu mekanizma, çiftçi akciğeri denilen alerjik akciğer hava kesesi iltihabı (alerjik alveolitisi) için de geçerlidir. Termofilik actinomyceslerin solunmasıyla hastalık şekillenir.

Serum Hastalığı: Yapay pasif bağışıklık sağlamak için tetanos, kuduz, difteri, yılan, akrep ve örümcek zehrine karşı hazırlanan hiper immün serumların tekrarlayan enjeksiyonları vücuttan atılma sürecini uzatmaktadır. Bu durum immün sistemi uyararak serum proteinlerine karşı antikor sentezini tetikler. Üretilen antikorlar antijenle birleşerek immün kompleksi oluşturur. İmmün kompleksler farklı vücut bölümlerinde birikerek hastalığa sebep olur. Tipik serum hastalığı, hiper immün serum enjeksiyonundan sonraki 1-14 gün içinde kendini gösterir. Ateş, eklem ağrısı, lenf yumrularının şişmesi, dalakta büyüme, deride lokal veya yaygın kızarıklık, döküntü şeklinde kendini gösterir.

İmmün kompleks oluşumuna sebep olan hastalıklar üç grupta incelenir.

Otoimmün Hastalıklar: Romatoid arthritisi, sistemik lupus eritematozus vb.

Antijenik Maddenin Solunması: Çiftçi akciğeri

Hastalık Belirtilerinin Oluşması İçin Uzun Süre Gerektiren (Persistan) Enfeksiyonlar: A grubu β -hemolitik streptokok enfeksiyonları, serum hastalığı, hepatitisi-B, sıtma vb.

Tip-4 Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Tip-4 aşırı duyarlılık reaksiyonuna antikorlar aracılık etmez. Bunda reaksiyona duyarlı hâle gelen T-lenfositler aracılık eder. Bu yüzden serumla bir canlıdan diğerine aktarılamaz ancak duyarlı hâle gelen ve yüzey reseptörü taşıyan T-lenfositlerin transferi ile bir canlıdan diğerine aktarılabilir.

Tip-4 aşırı duyarlılık reaksiyonu canlının alerjenle tanışmasından saatler hatta günler sonra ortaya çıkar. Bu yüzden **gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu** olarak da isimlendirilir. Bu durumdan bazı enfeksiyonların ve alerjik maddelerin teşhisinde faydalanılır. Özellikle hücresel bağışıklığın şekillendiği enfeksiyonların teşhisinde kullanılır. Şüpheli alerjen deri içine enjekte edilerek buna karşı immün yanıt oluşup oluşmadığı değerlendirilir. Vücudun geneliyle ilgili birçok element deride lokalize olmuştur. Bundan dolayı farklı organ ve sistemlere yerleşen enfeksiyon etkenlerinin tespitine yarayan testler rahatlıkla deriye uygulanmaktadır. Deri testlerini uygulamak ve değerlendirmek için tecrübeli olmak gerekir. Deri testlerinin önemli bir yan etkisi bulunmaz. Testin uygulanacağı canlıya testten önce veya test esnasında antialerjik ya da immün sistemi baskılayacak bir ilaç (antihistaminik, kortizon) verilmemelidir. Testin yapıldığı deri kısmında pozitif olgularda deride kalınlaşma, sertleşme, lokal ısı artışı ve kızarıklık meydana gelir.

Kontakt Aşırı Duyarlılık: Nikel ve formaldehit gibi kimyasal maddeler, zehirli sarmaşık, zehirli meşe gibi bitkisel maddeler, sülfonamid ve neomisin gibi ilaçlar, makyaj malzemesi gibi kozmetik ürünler, sabun ve deterjan türleri insan ve hayvanlarda temastan sonraki 12-48 saat içinde alerjiye sebep olur (Görsel 1.50). Bu maddelere ait küçük moleküller (haptent) deriden girerek vücut proteinlerine bağlanır. Gelişen hücresel tip reaksiyon ile deride kızarıklık, kaşıntı, egzama ve nekroz (hücre ölümü)

şekillenir. Kontakt dermatitiste derinin yerleşik makrofajı olan langerhans hücresi, antijen sunan hücre olarak görev yapar.



Görsel 1.50: Kontakt dermatit

siyonların teşhisinde kullanılan deri testi antijenleri üretilmiştir. Mantar, virüs ve paraziter hastalıkların teşhisinde alerjik deri testi yerine serolojik testler kullanılır. Çünkü serolojik testler hem daha pratik hem de doğru sonuç açısından daha güvenilirdir.

Veteriner hekim, sığırlarda tüberkülin testini, atlarda mallein deri testini sahada sıkça uygular. Testin mantığı oldukça basittir. Tüberküloza yakalanan sığır veya ruam hastalığına yakalanan at, enfeksiyon etkenlerinin antijenlerine karşı duyarlı hâle gelir. Test antijeni deri içine (intracutan) enjekte edildiğinde 48-72 saat sonra deride kalınlaşma, ağrı ve kızarıklık olur. Böylece pozitif vakalar tespit edilerek sürüden uzaklaştırılır. Çünkü hastalık bazı hayvanlarda belirti vermeden gizli seyrederek. Yapılan dış muayene ve gözlemlerde hayvanın gayet sağlıklı, semiz ve iştahlı olduğu da tespit edilir. Hastalık hayvandan hayvana, hayvandan insana, insandan hayvana bulaştığı için hasta hayvanların tespit edilerek sürüden çıkarılması son derece önemlidir.

Sığırlarda tüberkülin testi boyun bölgesindeki deriye uygulanır. Boynun hem sağ hem de sol tarafında boyun sathının orta üçte birlik kısmı el ayası büyüklüğünde tıraş edilir. Enjeksiyondan önce derinin kalınlığı birkaç kez kumpasla ölçülerek kaydedilir. Boynun bir tarafına PPD (Purified Protein Derivative) mammalian diğer tarafına ise PPD avian (kanatlı) tip tüberkülininden deri içine 0,1 cc enjekte edilir. 72 saat sonra deri kalınlığı tekrar kumpasla ölçülür ve derideki kalınlaşma, kızarıklık, ısı artışı gibi değişiklikler dikkate alınarak sonuç yorumlanır. Alerjik reaksiyonla birlikte derideki kalınlaşma 3 mm'den az ise sonuç negatif (-), 3-4 mm arasında ise şüpheli (!), 4 mm ve üzerinde ise pozitif (+) olarak yorumlanır.

Her iki tarafın da pozitif olduğu durumda PPD mammalian uygulanan taraftaki kalınlaşma diğer taraftan 4 mm ve üzerinde ise hayvan kesin olarak tüberkülozdur. Her iki taraftaki kalınlaşma eşit veya PPD mammalian uygulanan taraftaki kalınlaşma diğer taraftan biraz fazlaysa hayvan şüpheli kabul edilir. Durum tam tersi ise hayvan paratüberküloz yönünden şüpheli kabul edilir.

Her iki tarafın da negatif olduğu durumlarda ise hayvan tüberküloz değildir.

ARAŞTIRIP ÖĞRENELİM

Aşağıdaki konularla ilgili araştırma yaparak elde ettiğiniz sonuçları sınıfta paylaşınız.

1. Otojen aşılar ve kullanım alanları
2. Otohemoterapi
3. Dünya Sağlık Örgütü kuduz bülteni
4. Gelişmiş ülkelerin kuduz oranları ve kuduzla mücadele çalışmaları
5. Türkiye ve diğer ülkeler arasındaki kuduz vakaları sayı ve türleri karşılaştırması

2. UYGULAMA: AŞIYLA KISIRLAŞTIRMA

AMAÇ: Aşı mekanizmasının ve teknolojisinin enfeksiyonlara karşı bağışıklık sağlama dışındaki alanlarını kavramak.

UYGULAMA SÜRESİ: 10 gün

ARAÇ GEREÇ: Bilgisayar, internet, flaş bellek, yazıcı, A4 kâğıdı, şeffaf dosya, kâğıt, kalem

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak immünolojik kısırlaştırma aşuları hakkında araştırma yaparak sunum hazırlayınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
2. Çalışma için gereken araç gereci hazırlayınız.
3. Konu ile ilgili ön araştırmayı yapınız (Erkek ve dişi hayvanlarda GnRH, FSH, LH hormonlarının üremedeki etkisini, kısırlaştırma aşularının etki mekanizmasını, kısırlaştırma aşularının üretim yöntemini, kısırlaştırma aşısı yapılan hayvanları, piyasada satılan immünolojik kısırlaştırma aşularını araştırınız. Bu aşuların uygulama şeklini, dozunu, avantaj ve dezavantajlarını ayrıca benzer aşuların insanlarda kullanımını araştırınız.).
4. Sunuda kullanacağınız cümlelerin net ve anlaşılır olmasına dikkat ediniz.
5. Sunuda kullandığınız yazının puntosunu uygun seçiniz ve dikkat çekici renkler kullanınız.
6. Sunu sonunda dinleyicilere sorusu olup olmadığını sorunuz.
7. Dinleyicilere teşekkür ediniz.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Aşıyla Kısırlaştırma Değerlendirme Ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

AŞIYLA KISIRLAŞTIRMA UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Konu ile ilgili araştırmaları yaptı.				
3. Sunum hazırlama kurallarına uydu.				
4. Çalışmasını sunum kurallarına uygun olarak sundu.				
5. Sunum sonunda dinleyicilere soru yöneltti.				
TOPLAM PUAN				

BULMACA

İmmün sistem konusuyla ilgili kavramlar bulmacadaki harflerin arasına gizlenmiştir. Kelimeler yatay, dikey, ileri, geri ve çapraz olarak dağıtılmıştır. Aşağıda verilen açıklamalara karşılık gelen kavramları bulmaca içerisinde bularak bulduğunuz kavramın üzerini çizgi ile işaretleyiniz.

İ	N	T	E	R	L	E	U	K	İ	N	V	R	Ö	T	K	A	F	H	R
G	R	A	N	Z	İ	M	H	S	İ	S	K	A	T	O	M	E	K	İ	O
İ	Ş	Z	L	D	O	Ğ	A	L	D	İ	R	E	N	Ç	Ü	R	V	P	M
A	N	D	T	N	A	N	İ	B	M	O	K	E	R	T	F	O	K	E	A
Ö	B	O	A	N	A	F	L	A	K	S	İ	C	Ü	Ç	D	K	İ	R	T
K	Ü	Ğ	T	İ	S	O	F	N	E	L	B	S	L	S	C	İ	L	İ	O
T	İ	A	L	İ	Y	O	F	İ	L	İ	Z	E	Ş	T	N	T	K	M	İ
S	N	L	E	R	T	İ	Y	U	O	İ	Ğ	Ü	B	E	İ	N	İ	M	D
A	İ	K	İ	L	K	İ	Ş	İ	Ğ	A	B	F	İ	T	K	A	Ş	Ü	C
L	L	A	F	A	G	O	S	İ	T	O	Z	V	Z	A	O	L	İ	N	H
K	U	T	A	N	T	Ü	B	E	R	K	Ü	L	İ	N	T	E	Ğ	S	M
O	B	İ	L	G	İ	Z	D	P	L	A	Z	M	A	O	İ	R	A	E	N
E	O	L	İ	H	S	J	L	A	İ	G	J	T	H	Z	S	J	B	R	E
T	L	H	F	A	O	Z	A	T	F	A	F	D	S	Ö	Ç	İ	F	U	J
S	G	Ü	O	N	F	Ç	T	S	O	P	O	T	A	R	A	P	İ	M	İ
O	N	C	N	S	N	F	E	A	R	G	R	A	N	U	L	O	S	İ	T
Ü	Ü	R	İ	S	E	R	U	M	T	E	K	U	Z	B	Ğ	P	A	Ü	N
D	M	E	Z	G	L	Z	C	F	Ö	H	A	L	P	O	T	İ	P	E	A
N	M	A	O	A	T	İ	S	O	N	O	M	U	T	A	N	T	U	P	T
A	İ	J	E	K	O	M	P	L	E	M	E	N	T	L	İ	A	Y	G	D

1. Genetik faktörler sebebiyle elde edilen bağışıklıktır.
2. Hastalığı geçirmek suretiyle veya aşı ile kazanılan bağışıklıktır.
3. Hazır antikolar ile sağlanan bağışıklıktır.
4. Sitoplazmasında granül taşıyan hücrelerin tümüne verilen addır.

5. Fagositoz yapan büyük yiyici hücrenin adıdır.
6. Sitoplazmasında granül taşımayan miyeloid hücredir.
7. Tüberküloz odağında bulunan karakteristik dev hücrelidir.
8. Yeni doğan canlıların ilk emdiği süttür.
9. Polimorf nükleer denildiğinde sayıca en fazla olan hücredir.
10. Hücresel immün yanıtta rol oynayan hücrelerin genel ismidir.
11. Hümorale immün yanıtta değişime uğrayan hücredir.
12. Antikor üreten hücredir.
13. Kemikteki dev hücrelidir.
14. Antikoru bağlandığı moleküldür.
15. "Y" harfine benzeyen moleküldür.
16. Bağışıklık proteininin adıdır.
17. Spesifik bir antijene karşı yüksek oranda antikor taşıyan serumdur.
18. Miyeloid seri hücrelidir.
19. Paraziter enfestasyonlarda miktarı artan hücredir.
20. Hastalıklardan korunmak için sağlıklıyken yapılandır.
21. Kanın hücrelerden ve pıhtılaşma faktörlerinden ayrılan limon sarısı renkteki kısmıdır.
22. Enzim özelliğindeki protein olup "C" harfi ile numaralandırılır.
23. Hücrelerin kendi arasındaki haberleşmeyi sağlayan hormon benzeri maddedir.
24. Antijenin hücre içine alınmasıdır.
25. Antijen sunan hücrelerde bulunan moleküldür.
26. Yardımcı T-lenfositin salgıladığı uyarıcı maddedir.
27. Fagositik hücrelerin travmatik veya enfekte doku/organa gitmesidir.
28. DNA'ya gen eklenmesi ve çıkartılması şeklinde yapılan düzenlemedir.
29. DNA zincirinin bir bölümüne ait bilgileri taşıyan kalıp moleküldür.
30. Kurutularak toz hâline getirilen aşıdır.
31. Genetik yapının değişmesi/değiştirilmesi durumudur.
32. Ölü aşının adıdır.
33. Bazı canlılarda bazı maddelere karşı oluşan, hasara yol açan immün tepkidir.
34. Tüberküloz testinde kullanılan antijenin ismidir.
35. Kan uyumsuzluğu ifade eden durumun adıdır.
36. Kısa sürede ölüme yol açan aşırı duyarlılık çeşididir.
37. Antijenin antikora bağlanmasına yarayan bölümün adıdır.
38. Antikoru antijen bağlama ucudur.
39. Toksoid aşı çeşididir.
40. Eklemlerde gelişen otoimmün hastalıktır.
41. Sistemik lupus eritematozus hastalığıdır.
42. Sitotoksik T-lenfosit enzimidir.
43. Dokulara yerleşen bazofilin adıdır.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıda verilen soruları okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. **Aşılarla ilgili aşağıdaki açıklamalardan hangisi doğru değildir?**

- A) Polivalan aşılar farklı patojen türlerden oluşur.
- B) Liyofilize aşılar sulandırılarak kullanılır.
- C) Antikor düzeyini koruyucu miktarda tutmak için rapel aşılama yapılır.
- D) Adjuvantlar, aşı materyalinin vücutta immün yanıt oluşuncaya kadar kalmasını sağlar.
- E) İnaktif aşılar canlı aşılarla kıyasla daha uzun süre koruma sağlar.

2. **Canlı aşılarla ilgili açıklamalardan hangisi doğru değildir?**

- A) Canlı aşılar etken uzun süre pasajlar yapılarak attenué edilir.
- B) Canlı aşılar duyarlı hayvanları hastalandırır.
- C) Canlı aşıların bağışıklık gücü ölü aşıdan fazladır.
- D) Canlı aşıların tek dozu ölü aşılarla kıyasla yeterli bağışıklık oluşturur.
- E) Canlı aşılar oda sıcaklığında muhafaza edilir.

3. **Biyoteknolojik aşılarla ilgili aşağıdaki açıklamalardan hangisi doğrudur?**

- A) Rekombinant DNA aşılarında patojenin antijenlerini kodlayan DNA parçası vektöre eklenir.
- B) RNA aşılarında patojenin antijenlerini kodlayan mRNA parçası vektöre eklenir.
- C) Rekombinant canlı aşılarında bakteri ve mayalar kullanılır.
- D) Anti-idiotip aşılar anti-antijenik aşılardır.
- E) DNA aşılarında antijenik yapıları kodlayan parça doğrudan konakçı hücreye yerleştirilir.

4. **Aşı uygulama yöntemleriyle ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**

- A) Aerosol uygulama yönteminde aşı buruna da göze damlatılır.
- B) Kas içi enjeksiyonda kanül 45°lik açıyla kasa batırılır.
- C) Deri altı enjeksiyon yönteminde gevşek, tüysüz ve temiz deri bölgeleri seçilir.
- D) İçme suyu ile aşılamada aşı normal şebeke suyuna eklenir.
- E) İçme suyu ile aşılamada aşı metal kabın içinde 1/40 oranında yağlı sütte karıştırılır.

5. **İmmün serumlarla ilgili açıklamalardan hangisi doğru değildir?**

- A) Yapay pasif bağışıklık sağlar.
- B) Monovalan veya polivalan olabilir.
- C) Aynı tür veya farklı tür canlılardan sağlanabilir.
- D) Koruyucu ve tedavi edicidir.
- E) İçerisinde spesifik antijen taşır.

6. **Aşırı duyarlılık reaksiyonlarıyla ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**

- A) Tip-1'de IgG aracılık eder.
- B) Tip-2'de IgE aracılık eder.
- C) Tip-3'de T-lenfositler aracılık eder.
- D) Tip-4'de Arthus reaksiyonu oluşur.
- E) Tip-4'de kontakt tip görülür.

7. **Tip-4 aşırı duyarlılık reaksiyonlarıyla ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**

- A) Tüberkülin deri testi sığırlarda uygulanır.
- B) RH faktörüne bağlı gelişir.
- C) Ani gelişen alerjik reaksiyondur.
- D) İmmün komplekslere karşı şekillenir.
- E) Hücre ve dokulardaki yüzey antijenlerine karşı şekillenir.

8. **Tip-1 aşırı duyarlılık reaksiyonlarıyla ilgili açıklamalardan hangisi doğru değildir?**

- A) IgE bazofil ve mast hücrelerinin yüzeyine tutunarak bu hücreleri aktive eder.
- B) Aktive olan bazofil ve mast hücresi komplemente bağlanır.
- C) Aktive olan bazofil ve mast hücrelerinden histamin, serotonin gibi maddeler salınır.
- D) Alerjik astım, alerjik dermatit ve alerjik rinit gelişebilir.
- E) Anafilaksi epinefrin, antihistaminik ve kortizon ile tedavi edilir.

9. **Tip-2 aşırı duyarlılık reaksiyonu ile ilgili açıklamalardan hangisi doğru değildir?**

- A) Sitotoksik tipi kan grubu uyumsuzluklarında görülür.
- B) Sitotoksik tipte nötrofil lökositler rol oynar.
- C) Hücre uyarıcı tipi enfeksiyon etkenleri sebebiyle gelişir.
- D) Hücre uyarıcı tipte oluşan antikorlar reseptörlere ve diğer hücrelere bağlanır.
- E) Sitotoksik tipte çapraz reaksiyonlar gelişir.

10. **Tip-3 aşırı duyarlılık reaksiyonu ile ilgili açıklamalardan hangisi doğrudur?**

- A) Kontakt dermatit gelişir.
- B) T-lenfositler aracılık eder.
- C) Tüberkülin tipi mevcuttur.
- D) Vücutta biriken immün kompleksler sebep olur.
- E) Jones- Mote reaksiyonu gelişir.

ENFEKSİYON HASTALIKLARIN TEŞHİSİNDE KULLANILAN SEROLOJİK TESTLER



2. ÖĞRENME BİRİMİ



KONULAR

- 2.1. AGLÜTİNASYON TESTLERİ
- 2.2. PRESİPİTASYON TESTLERİ

- 2.3. KOMPLEMAN BİRLEŞMESİ VE FLOKÜLASYON DENEYLERİ
- 2.4. ERKEN TANIYA YÖNELİK SEROLOJİK TESTLER

TEMEL KAVRAMLAR

serolojik test, aglütinasyon, antikor titresi, antijen titresi, lam aglütinasyon, tüp aglütinasyon, inkübasyon, presipitasyon, flokülasyon, kompleman birleşme, nötralizasyon, ELISA, RİA, IFA

NELER ÖĞRENECEKSİNİZ?

- Aglütinasyon testlerinin uygulanması
- Presipitasyon testlerinin uygulanması
- Kompleman birleşme ve flokülasyon deneylerinin uygulanması
- Serolojik testlerin uygulanması

Hazırlık Çalışmaları

1. Ticari serolojik test kitlerinin nasıl üretildiğini araştırınız. Sonuçları sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.
2. Test sonuçlarının kısa sürede çıkması hangi avantajları sağlar? Konuyla ilgili düşüncelerinizi sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

2.1. AGLÜTİNASYON TESTLERİ

Kan serumunu inceleyen bilim dalına **seroloji (serum bilimi)** denir. Serolojik tanı yöntemleri ile kan serumunda ve diğer vücut sıvılarında (süt, sperma, vajinal akıntılar, salya, beyin omurilik sıvısı, eklem sıvısı vb.) antijen veya antikor olup olmadığı varsa ne kadar olduğu tespit edilir. Serolojik testler ile kısa sürede ve yüksek doğrulukta sonuç alınır.

Özgül antikor aranacak kan serumu veya antijen aranacak marazi (hastalık şüpheli materyal) madde, test öncesinde fizyolojik tuzlu su (FTS) vb. elektrolit sıvılarıyla sulandırılır. Belirli bir oran dâhilinde yapılan sulandırma işlemine **dilisyon** denir. Sulandırma işleminden sonra amaca göre antijen veya antikor eklenerek uygun ısıda ve sürede inkübe edilir. İnkübasyon sonrası pozitif sonucun okunduğu en yüksek serum dilisyonu, **serum (antikor) titresi**; antijen dilisyonu, **antijen titresi** olarak isimlendirilir.

Bir hastalığa yönelik özgül antikor aranacağında serum (antikor) titresi şöyledir:

Numune kan serumu + Sulandırma sıvısı + Spesifik antijen + İnkübasyon = En yüksek pozitif sonucun okunduğu tüp

Bir hastalığa yönelik spesifik antijen aranacağında antijen titresi şöyledir:

Numune vücut sıvısı + Sulandırma sıvısı + Özgül antikor + İnkübasyon = En yüksek pozitif sonucun okunduğu tüp

Bazı serolojik testlerde ise aranan antikorun veya antijenin olup olmadığına bakılır. Miktar belirlenmez. Miktar belirtmeyen testlere **kalitatif (nitel)**; miktar belirten testlere **kantitatif (nicel)** testler denir.

Serolojik testlerle enfeksiyon hastalıklarının teşhisi ve takibi yapılır. Vücut sıvılarındaki antijenler belirlenir. Aşılama öncesinde, anneden geçen (maternal) antikorların seviyesi ölçülür ve aşı takvimi buna göre hazırlanır. Aşılama sonrasında, oluşan antikor miktarı ölçülerek sonraki aşı takvimi hazırlanır. Antijen ve antikorlar tiplendirilir. Hümorale immün yetmezlik tespit edilir.

Serolojik testlerin dayandığı ilke, antijenle özgül antikorun reaksiyona girmesi ve bunun gözle veya değişik okuma araçlarıyla tespit edilmesidir. Serolojik testlerdeki antijen-antikor bağlantısı üç farklı derecede şekillenir. Bağlanma derecelerine göre serolojik testler primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere sınıflandırılır.

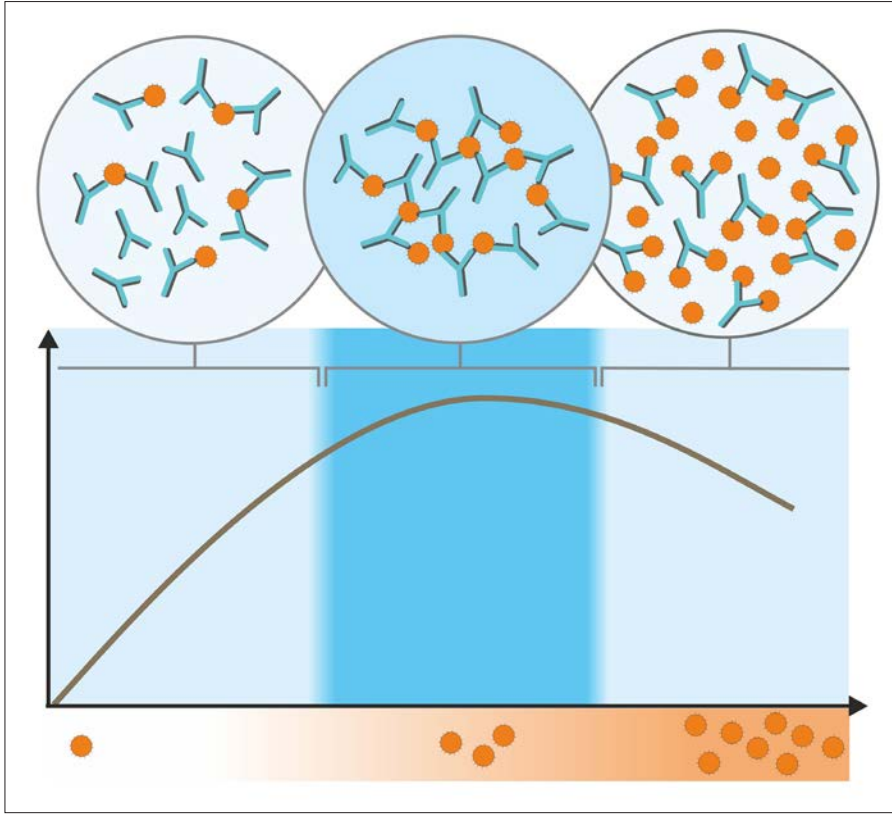
Primer (Birincil) Bağlanma Testleri: Antijen-antikor bağlantısı çıplak gözle görülmez. Sonucu değerlendirmek için reaksiyona giren antijen veya antikor; enzim, boya ve radyoizotop ile işaretlenir. Aletler ile okuma yapılır. ELISA (enzyme linked immünosorbent assay), RIA (radio immüno assay) ve İFA (immunofluoresan assay) testleri Birincil Bağlanma Testlerine örnektir.

Sekonder (İkincil) Bağlanma Testleri: Antijen ve antikor bağlantısının gözle görüldüğü testlerdir. Aglütinasyon, presipitasyon, komplement fiksasyon vb.

Tersiyer (Üçüncül) Bağlanma Testleri: Antijen ve antikor, vücut içinde (invivo) ya da canlı ortamda bağlanır. Örneğin nötralizasyon testi.

Zon Fenomeni

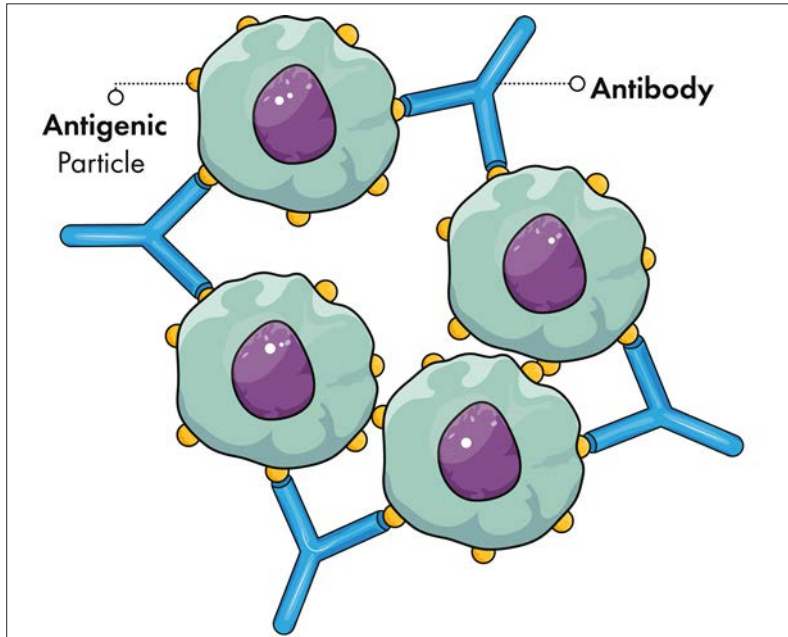
Test ortamında birbirine bağlanacak olan antijen ile antikor miktarının optimum (en uygun) seviyede olması güçlü bir reaksiyona neden olur ve sonuç gözle görülür. Buna **equivalan zon** denir. Test ortamında antikorun antijenden fazla olması oluşan reaksiyonun gözle görülmesini engeller. Bu durum, yanlış negatif sonuca yol açar. Buna **prozon fenomeni** denir. Test ortamında antijenin antikordan fazla olması da reaksiyonun gözle görülmesini engeller. Bu duruma ise **postzon fenomeni** denir. Postzon fenomeni normal olup yanlış negatif sonuca yol açmaz (Görsel 2.1).



Görsel 2.1: Zon fenomeni prozon, equivalen zon, postzon

2.1.1. Aglütinasyon

Fizyolojik tuzlu su (FTS) ve fosfat buffer solüsyonu (PBS) gibi elektrolit sıvılarda spesifik antijen ile özgül antikorun birleşerek gözle görülen kümeler (yığıntı) oluşturmasına **aglütinasyon** denir (Görsel 2.2).

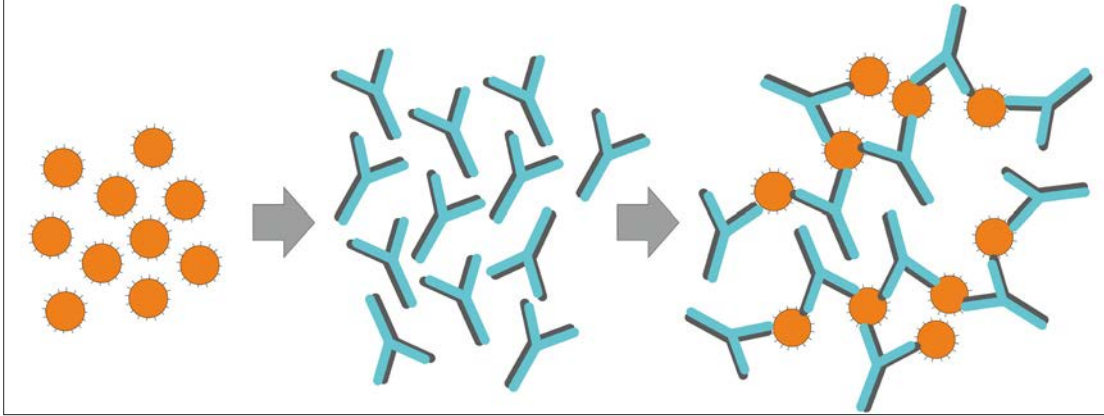


Görsel 2.2: Aglütinasyon

En iyi aglütinasyon veren antikor IgM'dir. Bunu IgG takip eder. Aglütinasyon testleri ile numune kan serumunda özgül antikor ve şüpheli vücut sıvılarında spesifik antijen tespiti yapılır. Ayrıca insan kan grupları kısa sürede belirlenir.

Aglütinasyon testlerinde, reaksiyon için antijenle ilgili üç alternatif işlem söz konusudur. Bu işlemler şunlardır:

- Patojen mikroorganizmaların kendisi veya antijenik parçaları, elektrolit sıvı ortamda süspan-siyon hâline getirilerek şüpheli kan serumu ile karıştırılır. Kümeleşme olup olmadığı gözlenir (Görsel 2.3).



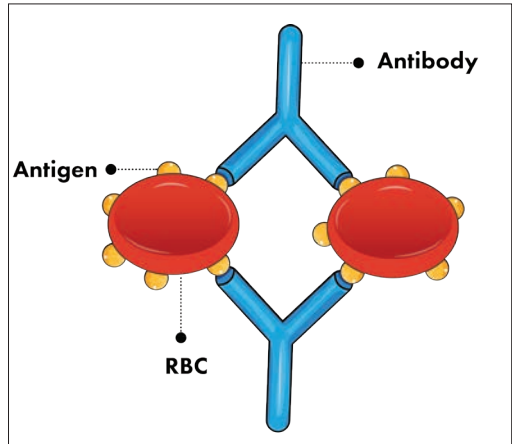
Görsel 2.3: Patojen antijeni ile serumdaki özgül antikorun reaksiyona girmesi ve aglütinasyon oluşması

- Spesifik antijenin eritrosit yüzeyine tutunması (adsorbe) sağlanır. Elektrolit sıvı ortamda şüpheli kan serumuyla karıştırılarak kümeleşme olup olmadığı gözlenir. Aglütinasyonun eritrosit ile sağlanmasına **hemaglütinasyon** denir (Görsel 2.4).
- Spesifik antijenin, latex adı verilen plastik parçacıkların (partikül) yüzeyine tutunması (adsorbe) sağlanır. Elektrolit sıvı ortamda numune kan serumuyla karıştırılarak kümeleşme olup olmadığı gözlenir. Aglütinasyonun latex ile sağlanmasına **latex aglütinasyon** denir.

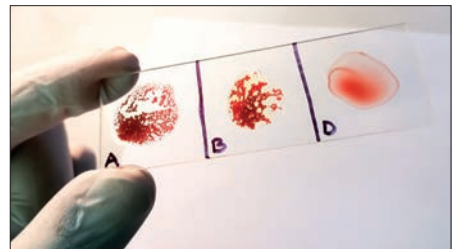
Lam aglütinasyon, tüp aglütinasyon, hemaglütinasyon, latex aglütinasyon, hemaglütinasyon inhibisyon, pasif hemaglütinasyon, koaglütinasyon, indirekt (pasif) aglütinasyon gibi birçok çeşidi olmakla beraber en çok lam aglütinasyon ile tüp aglütinasyon ya da tüp yerine mikroplyette yapılan mikroaglütinasyon yöntemleri kullanılır.

Lam (Slayt) Aglütinasyon Testi: Numune kan serumunda özgül antikor varlığını belirlemek veya özgül antikor ile bakteri identifikasyonu (izole edilen bakteri cinsine ait türün tespiti) yapmak için kullanılır. Birkaç dakika içinde sonuç alınır. Bu nedenle çabuk **lam aglütinasyon testi** de denir. Oda ısısında temiz lam üzerinde bir damla şüpheli serum ile bir damla spesifik antijen kürdan, öze veya tek kullanımlık cam baget yardımıyla karıştırılır. İki dakika boyunca rotator veya el ile dairesel hareketler yapılarak kum taneciklerine benzer kümeleşme olup olmadığı gözlenir (Görsel 2.5).

Kümeleşme olanlar pozitif (+), kümeleşme olmayanlar negatiftir (-). Uzun süre bekleyenlerde kurumaya bağlı olarak kümeleşmeler gözlenir. Bunlar pozitif kabul edilmez.



Görsel 2.4: Hemaglutinasyon



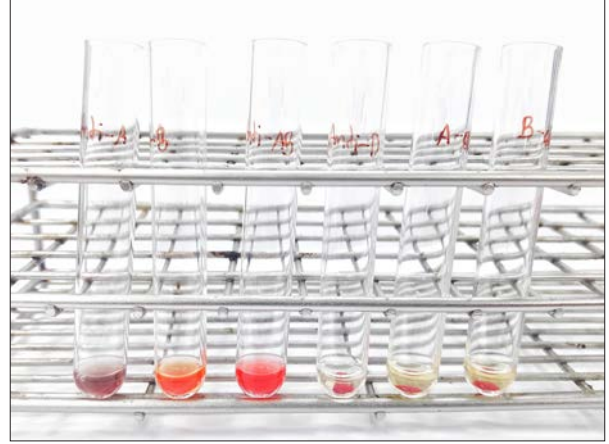
Görsel 2.5: AB Rh (-)

Tüp Aglütinasyon Testi: Bu test ile çoğunlukla şüpheli kan serumundaki özgül antikor titresi tespit edilir. Vücut sıvılarındaki antijen titresini belirlemek de mümkündür. Şüpheli kan serumu, cam tüpler içinde bir seri sulandırma (dilisyon) işlemine tabi tutulur. Sulandırması yapılan tüplere eşit hacimde spesifik antijen eklenir. İnkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda tüpün üst kısmı berrak olup dip kısmında dantel şeklinde kümeleşme olanlar pozitifdir. Negatif tüplerin ise üst kısmı bulanık olup dip kısmı düğme şeklinde görülür. Bu görüntüye, kendi ağırlığı nedeniyle birleşmeden çöken antijen ve antikor sebep olur (Görsel 2.6).

2.1.2. Aglütinasyon Test Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Dikkat Edilecek Hususlar

Aglütinasyon testlerinin sonuçları değerlendirilirken dikkat edilecek hususlar şunlardır:

- Numune kan serumunun ve test reaktiflerinin kullanımdan önce oda ısısında olması sağlanmalıdır. Test reaktifleri, kullanılmadan önce iyice çalkalanarak homojen hâle getirilmelidir.
- Değerlendirmeler gün ışığında yapılmalıdır ancak gün ışığı yeterli değilse gün ışığına yakın bir aydınlatmanın olduğu kapalı ortamda ve oda ısısında yapılmalıdır. Bazı tüp aglütinasyon testlerinde güçlü bir aydınlatma kaynağından yararlanılabilir.
- Lam aglütinasyon ve latex aglütinasyon testleri, iki dakikalık rotasyon işleminden sonra değerlendirilmelidir. Pozitif olanlarda kum taneciklerine benzeyen kümeleşmeler olur. Aglütinasyon taneciklerinin belirgin iri kum taneciği şeklinde olması **pozitif (++)**, zayıf ve küçük kum taneciği biçiminde olması **pozitif (+)**, hiç olmaması **negatif (-)** olarak değerlendirilir.
- Lam aglütinasyonun güçlü bir şekilde oluşması yani büyük kum taneciklerine benzeyen kümeleşmeler, antikor titresinin yüksek olduğunu işaret eder.
- Pozitif ve negatif kontrol serumları ile karşılaştırma yapılmalıdır.
- Tüp aglütinasyon testlerinde değerlendirme, inkübasyon sonrasında yapılmalıdır.
- Tüp aglütinasyon testinde muayene yapılırken ışığın tüpe üst ve ön kısımdan gelmesi sağlanmalıdır. Böylece tüpün arka kısmı gölgede veya karanlıkta kalır. Tüpün dibinde oluşan dantel şeklindeki çökelti rahat gözlemlenir. Aglütinasyon şekillenen tüplerin üst kısımları berrak olur. Negatif tüpler ise bulanık olur. Kontrol sırasında tüpler karıştırılmaz veya çalkalanmaz.
- Aglütinasyon gözlenen en yüksek sulandırma oranına sahip olan tüp, aglütinasyon titresini gösterir.
- Aglütinasyon gösteren son birkaç tüp, üst kısmının berrak olmasına göre **%100 berrak (++++)**, **%75 berrak (++++)**, **%50 berrak (++)**, **%25 berrak (+)** olarak değerlendirilir.
- Hayvanların aşılama durumları ve sahip oldukları maternal (anneden geçen) antikorlar, yanlış pozitif sonuçlara yol açar. Bu nedenle pozitif çıkanlarda bir hafta veya on gün sonra ikinci kez test yapılmalı ve antikor titresi değerlendirilmelidir. Pozitiflik, hastalıktan kaynaklıysa antikor titresi yine yüksek çıkar. Aşıya bağlıysa düşük çıkar.
- Kros reaksiyonlar, yanlış pozitif sonuçlara yol açar. Şüpheli pozitif vakalarda, doğrulayıcı başka test ve klinik muayeneler de yapılmalıdır.
- Hemoliz olan kan serumları, yanlış pozitif sonuç verir. Hemoliz olan serumlar test için kullanılmaz.



Görsel 2.6: Kan grupları tüp aglütinasyon (1, 2, 3. tüpler negatif; 4, 5, 6. tüpler pozitif)

- Mümkünse numune kan serumları, bekletilmeden taze şekilde çalışılmalıdır.
- Prozon fenomeni sebebiyle serum dilisyonu dikkatli bir şekilde yüksek oranlara kadar yapılmalıdır.
- FTS'de kullanılan tuz iyi derecede saflaştırılmış olmalıdır (Markette satılan tuz kullanılmaz.). FTS (fizyolojik tuzlu su) veya PBS (fosfat buffer solüsyon) ticari olarak da temin edilebilir.

2.1.3. Gruber-Widal Testi

Gruber-Widal testi, veteriner hekimlikten ziyade beşerî hekimlikte uygulanır. İnsanlarda görülen tifo ve paratifo hastalığının teşhisinde kullanılır. Bu maksatla tüp aglütinasyon ve latex aglütinasyon teknikleri geliştirilmiştir.

Salmonella typhi (tifo), salmonella paratyphi (paratifo) A, salmonella paratyphi B, salmonella paratyphi C serotiplerinin "H" (Hauch) ve "O" (Ohne Hauch) antijenlerine karşı özgül antikorların oluşup oluşmadığı tespit edilir.

Salmonella bakterisinin kamçısında (flagella) bulunan "H" antijeni ile somatik hücre duvarında bulunan "O" antijenine karşı oluşan özgül antikorları tespit etmeye yöneliktir. Tifo ve paratifo enfeksiyonunda "O" antijenine karşı oluşan antikorlar, hastalığın 8. gününden sonra; "H" antijenine karşı gelişen antikorlar, hastalığın 10-12. gününden sonra tespit edilir. Akut hastalık tanısı için 10-15 gün arayla alınan serum örneklerindeki titre artışı değerlendirilir. Tek başına "H" antijenlerindeki pozitiflik aşılama ya bağlı olarak "O" antijenlerindeki pozitiflik hastalığı işaret eder. Test, tek başına teşhis için yeterli olmayıp diğer klinik muayene sonuçları ile birlikte değerlendirilir. Erken dönemde tedaviye alınan hastalarda pozitiflik görülmeyebilir.

Gruber-Widal Tüp Aglütinasyon Testi İçin Gerekli Malzemeler

- Ticari olarak temin edilecek test antijenleri (S. typhi "AO ve AH", S. paratyphi "AO, AH, BO, BH, CO, CH")
- Hasta serumu
- Fizyolojik tuzlu su (FTS)
- Tüp spor (iki adet)
- Deney tüpleri (bir adet ana dilisyon tüpü, her antijen çeşidi için sekiz adet tüp)
- Otomatik pipet ve pipet uçları
- Etüv veya benmari
- Laboratuvar saati

Gruber-Widal Tüp Aglütinasyon Testinin Yapılışı

- "O" antijenleri ile "H" antijenleri için yapılacak dilisyonlar, ayrı tüp sporlarda gruplandırılır. Çünkü inkübasyon, "O" antijenleri için oda ısısında; "H" antijenleri için etüvde yapıldığı zaman aglütinasyon daha net şekillenir.
- Her antijen tipi için kontrol tüpü ayrıldıktan sonra tüplerin üzerine dilisyon (sulandırma) oranları 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 şeklinde yazılır.
- Ana dilisyon tüpüne 4 cc, diğerlerine ise kontrol tüpü de dâhil olmak üzere 1 cc FTS konur.
- Ana dilisyon tüpüne 1 cc hasta serumu eklenir. Pipetaj yapılarak karıştırılır.
- Her antijen tipinin 1/10 yazan ilk tüpüne ana dilisyon tüpünden 1cc aktarılır.
- Pipetaj işlemiyle iyice karıştırılan örnekten 1 cc alıp 1/20 yazan tüpe aktarılır. Pipetaj işleminden sonra 1 cc olarak 1/40 yazan tüpe geçilir. Dilisyon işlemi, benzer şekilde son tüpe kadar sürdürülür. Son tüpte (1/640) pipetaj yapıldıktan sonra 1 cc olarak atılır. Kontrol tüpüne hasta serumu konmaz.

- Her antijen çeşidi, iyice çalkalandıktan sonra kendi serisinde bulunan dilisyon oranı yazılı tüm tüplere ve kontrol tüplerine birer damla damlatılarak karıştırılır.
- İnkübasyon için her iki tüp spor, etüvde 37 °C’de 4 saat bekletilir. 4 saat sonra “O” antijenlerinin olduğu tüp spor etüvden alınarak oda ısısında 18-24 saat inkübasyona bırakılır. “H” antijenleri ise etüvde 18-24 saat inkübasyona devam ettirilir.

Testin Değerlendirilmesi

- Kontrol tüplerinde aglütinasyon olmamalıdır yani negatif olmalıdır.
- Pozitif “O” aglutinin daha yüksek titreye sahip olması hastalığın başlangıç evresinde olduğunu gösterir.
- “O” veya “H” aglutinin titresinin eşit olması veya “H” aglutinin titresinin daha yüksek çıkması aktif enfeksiyonu gösterir.
- “H” aglütinasyonun daha yüksek titrede çıkması geçirilmiş enfeksiyonu veya hastanın aşılanmış olduğunu gösterir.
- Bir hafta veya on gün sonra yapılan ikinci yoklamada “O” ve “H” aglütinin titrelerinde meydana gelen bir kat ve daha üzerinde olan artış teşhis açısından önemlidir.

Gruber-Widal Slayt Aglütinasyon Testi

Hazır ticari kitler ile kısa sürede uygulanan pratik testlerdir. Kit içeriğinde salmonella typhi ve salmonella paratyphi serotiplerine ait tüm antijen çeşitleri olduğu gibi bazı ticari kitlerde bir kısmı bulunur. Ticari kitlerde reaksiyonun gerçekleşeceği dairesel alanların olduğu slayt, pozitif ve negatif kontrol serumları, tek kullanımlık cam baget ve damlalık olur.

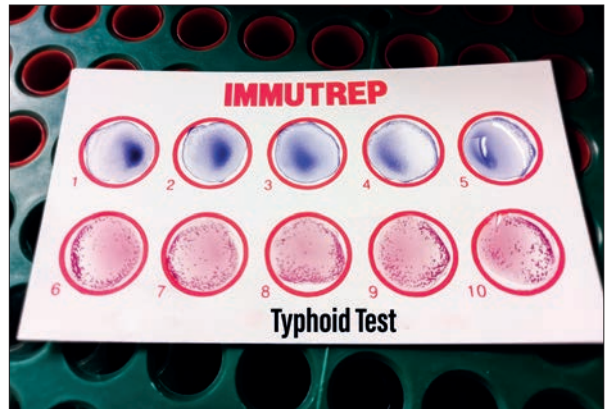
Antijen çeşidinin pozitif ve negatif kontrol serumlarının test slaytı üzerinde nereye damlatılacağı harf veya rakam ile gösterilmiştir (Görsel 2.7).

Test İçin Gereken Malzemeler

- Test antijenlerinin bulunduğu ticari kit
- Otomatik mikro pipet veya damlalık
- Hasta serumu
- Cam baget
- Laboratuvar saati

Testin Yapılışı

- Slayt üzerindeki dairesel bölgelerin içine hasta serumundan birer damla damlatılır.
- Oda ısısına getirilip iyice çalkalanan test antijenleri (S.typhi “AO” ve “AH”, S.paratyphi “AO, AH, BO, BH, CO, CH”), farklı bölmelerdeki hasta serumu üzerine damlatılır.
- Antijen ve hasta serumu, bagetle karıştırılır.
- Slayt iki elle tutularak iki dakika boyunca dairesel bilek hareketleri ile sallanır. Süre sonunda aglütinasyon gösterenler pozitif olarak değerlendirilir. Sonucun yorumu pozitif aglutinin tiplerine göre yapılır.



Görsel 2.7: Widal test slaytı (tümü pozitif)

1. UYGULAMA: GRUBER-WİDAL SLAYT AGLÜTİNASYON TESTİNİN YAPILMASI

AMAÇ: Gruber - widal slayt aglütinasyon test tekniği ile insanlarda tifo ve paratifoyu teşhis etmek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati

ARAÇ GEREÇ: Hasta serumu, test antijenlerinin bulunduğu ticari kit, otomatik mikro pipet veya damlalık, cam baget veya kürdan, laboratuvar saati

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak Gruber-Widal slayt aglütinasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereçleri önceden hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Ticari test kitinin kutusunu açınız. Test kitinin içinde bulunan üretici firmanın hazırladığı kullanma kılavuzunu okuyunuz.
4. Antijenlerin ve hasta serumunun oda ısısına gelmesi için 30-60 dk. bekleyiniz.
5. Test antijenlerini kullanmadan önce iyice çalkalayınız.
6. Kitten çıkan test kartını (slayt) masanın üzerine koyunuz.
7. Test kartının üzerindeki dairesel bölgenin birine pozitif kontrol serumunu, diğerine negatif kontrol serumunu damlatınız.
8. Diğer dairesel alanlara da hasta serumundan pipet veya damlalık ile birer damla damlatınız.
9. S.typhi "AO ve AH", S.paratyphi "AO, AH, BO, BH, CO, CH" farklı bölmelerdeki hasta serumu üzerine damlatınız.
10. Pozitif kontrol serumu üzerine kontrolü yapılacak antijen çeşidini damlatınız.
11. Negatif kontrol serumu üzerine kontrolü yapılacak antijen çeşidini damlatınız.
12. Serum ve antijeni cam baget veya kürdan ile karıştırınız. Her alan için baget veya kürdanın temiz uçlarını kullanınız.
13. İki dakika boyunca elle veya rotator ile test kartına dairesel hareketler uygulayarak antijen ve antikorun iyice karışmasını sağlayınız.
14. İki dakika sonunda pozitif ve negatif kontrol serumları ile karşılaştırıp aglütinasyon gösterenleri pozitif (+), göstermeyenleri negatif (-) olarak teşhis ediniz.
15. Test kartına, rotatorla veya elle iki dakika boyunca dairesel hareketler uygulayarak antijen ve antikorun iyice karışmasını sağlayınız.
16. Boşalan antijen şişelerini ve diğer kontamine malzemeleri tıbbi atık kutusuna atınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Gruber-Widal slayt aglütinasyon testi, değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir. Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

GRUBER-WİDAL SLAYT AGLÜTİNASYON TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. İş sağlığı ve güvenliği için gerekli tedbirleri aldı.				
2. Ticari test kitinin kullanma talimatını okudu.				
3. Test slaytını, test antijenlerini ve hasta serumunu masa üzerine yerleştirip oda sıcaklığına gelmesi için bekledi.				
4. Slayt üzerindeki dairelere hasta serumundan antijen çeşidinin sayısı kadar daire içine birer damla damlattı. Kalan iki daireye de pozitif ve negatif kontrol serumlarını damlattı.				
5. Hasta serumu ve antijen tiplerini bagetin temiz uçları ile karıştırdı. 2 dakika boyunca slaytı dairesel hareketler ile çalkaladı. Pozitif ve negatifleri control serumlarına bakarak tespit etti.				
TOPLAM PUAN				

2. UYGULAMA: GRUBER-WİDAL TÜP AGLÜTİNASYON TESTİNİN YAPILMASI

AMAÇ: Gruber-Widal tüp aglütinasyon testi ile tifo ve paratifo yönünden pozitif çıkan vakalarda anti-kor titresini ölçerek kişinin hasta olup olmadığını tespit etmek.

UYGULAMA SÜRESİ: Bir gün arayla 4 ders saati

ARAÇ GEREÇ: Ticari olarak temin edilecek test antijenleri (S.typhi "AO ve AH", S.paratyphi "AO, AH, BO, BH, CO, CH"), hasta serumu, fizyolojik tuzlu su (FTS), tüp spor (2 adet), deney tüpleri (1 tane ana dilisyon tüpü ve her antijen çeşidi için 8 adet tüp), otomatik pipet ve pipet uçları, etüv veya benmari, laboratuvar saati, latex eldiven.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak Gruber-Widal slayt aglütinasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereci önceden hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Ticari test kitinin kullanma kılavuzunu okuyunuz.
4. Test kitinde bulunan antijenleri masanın üzerine diziniz. Hasta kan serumu ve diğer kullanacağınız ekipmanlar oda sıcaklığına ulaşıncaya kadar (30-60 dk.) bekleyiniz.
5. Bu süreçte tüplerin üzerine dilisyon oranlarını yazınız. "O" ve "H" antijenleri için kullanacağınız iki ayrı tüp spora tüpleri yerleştiriniz. Tüp sporları karıştırmamak için birinin köşesine "O" diğerine "H" yazınız.
6. Her antijen tipi için kontrol tüpünü ayırdıktan sonra, tüplerin üzerine dilisyon (sulandırma) oranlarını 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 şeklinde yazınız.
7. Ana dilisyon tüpüne 4cc, diğerlerine ise kontrol tüpü de dahil olmak üzere 1cc FTS ekleyiniz.
8. Ana dilisyon tüpüne 1cc hasta serumu ilave ediniz. Pipetaj ile karıştırınız.
9. Her antijen tipinin 1/10 yazan ilk tüpüne ana dilisyon tüpünden 1cc aktarınız.
10. Pipetaj yaparak iyice karıştırdığınız örnekten 1cc alıp 1/20 yazan tüpe aktarınız. Pipetaj işleminden sonra 1cc alıp 1/40 yazan tüpe ekleyiniz. Dilisyon işlemi benzer şekilde son tüpe kadar sürdürünüz. Son tüpte (1/640) pipetaj yaptıktan sonra 1cc kadarını atınız. Kontrol tüpüne hasta serumu koymayınız.
12. Her antijen çeşidini iyice çalkaladıktan sonra bunu, kendi serisinde bulunan dilisyon oranı yazılı tüplere ve kontrol tüplerine bire damla damlatarak karıştırınız. Tüp sporu, dairesel hareketlerle karıştırınız.
13. İnkübasyon için her iki tüp sporu, 37°C'de etüvde 4 saat bekletiniz. 4 saat sonra "O"antijenlerinin olduğu tüp sporu, etüvden alarak oda ısısında 18-24 saat inkübasyona bekletiniz. "H"antijenleri ise etüvde 18-24 saat inkübasyona devam ettiriniz.
14. İnkübasyon süresi sonunda kontrol serumu ile karşılaştırarak testi değerlendiriniz.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Gruber-Widal tüp aglütinasyon testi, değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

GRUBER-WİDAL TÜP AGLÜTİNASYON TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. İş sağlığı ve güvenliği için gerekli tedbirleri aldı.				
2. Ticari test kitinin kullanma talimatını okudu. Gerekli araç ve gereci hazırladı.				
3. Tüp sporlar üzerine "H ve O" antijen isimlerini yazdı. Tüplerin üzerine dilisyon oranlarını yazdı.				
4. Dilisyon işlemini doğru şekilde yaptı.				
5. İnkübasyon sonunda pozitif ve negatifleri control serumlarına bakarak sonucu tespit etti.				
TOPLAM PUAN				

2.1.4. Brucella Tanısında Kullanılan Aglütinasyon Testleri

Yavru atan (abort) hayvanlarda, atığa brucella hastalığının neden olup olmadığını anlamak için serolojik yoklamalardaki ön tanı işleminde lam aglütinasyon testi kullanılır. Pozitif çıkanlarda antikor titresini belirlemek için tüp aglütinasyon testi yapılır.

Rose Bengal Plate (Tabak) Testi

Brucella hastalığının ön tanısında kullanılan lam aglütinasyon tekniğidir. Şüpheli hayvanın kan serumunda brucella antijenine karşı özgül antikor olup olmadığı araştırılır.

Test İçin Gereken Malzemeler

- Hasta serumu
- Ticari brucella test antijeni
- Mikro pipet ve pipet uçları
- Lam veya beyaz zeminli fayans
- Kürdan veya tek kullanımlık cam baget
- Laboratuvar saati

Testin Yapılışı

- Serumlar ve antijen, oda sıcaklığında 10-15 dakika bekletilir. Antijen, kullanılmadan önce iyice çalkalanır. Temiz bir lamın veya beyaz zeminli fayansın üzerine bir damla şüpheli kan serumu konur.
- Kan serumunun üzerine bir damla rose bengal plate test antijeni eklenir.
- Serum ve test antijeni kürdan, öze veya tek kullanımlık cam bagetle karıştırılır.
- Yan yana birden fazla uygulama yapılacağına kürdanın veya cam bagetin her karıştırma işlemi için temiz olan uçları kullanılır. Her iki ucu da kirlenen çubuklar yenisiyle değiştirilir.
- Serum ve antijen, iki dakika boyunca elle veya rotatorla dairesel hareketler yapılarak karıştırılır.

Testin Değerlendirilmesi

- Pozitif örneklerde kum tanesine benzeyen kümeleşmeler olur. Karakteristik iri taneli aglütinasyon, **pozitif (++)**; hafif ince taneli aglütinasyon, **pozitifir (+)**.
- **Negatif (-)** sonuçta karışım homojen hâlde kalır. Değişiklik olmaz.

3. UYGULAMA: ROSE BENGAL YÖNTEMİ İLE BRUCELLA HASTALIĞININ TEŞHİSİ

AMAÇ: Rose bengal plate testini lam veya beyaz zeminli fayans üzerinde uygulayarak sonucu değerlendirmek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati

ARAÇ GEREÇ: Hasta serumu, ticari brucella test antijeni, mikro pipet ve pipet uçları, lam veya beyaz zeminli fayans, kürdan veya tek kullanımlık cam baget, laboratuvar saati

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak rose bengal plate testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereci hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Temiz bir lamın veya beyaz zeminli fayansın üzerine bir damla şüpheli kan serumu koyunuz.
4. Kan serumunun üzerine bir damla rose bengal plate test antijeni ekleyiniz.
5. Serum ve test antijenini kürdan, öze veya tek kullanımlık cam bagetle karıştırınız.
6. Yan yana birden fazla uygulama yaparken her karıştırma işlemi için kürdanın veya bagetin temiz ucunu kullanınız. Her iki ucu da kirlenen kürdan ve bagetleri yenisiyle değiştiriniz.
7. Serum ve antijeni, elle veya rotator ile dairesel hareketler yaparak iki dakika boyunca çalkalayınız.
8. Testin sonucunu değerlendiriniz (Pozitif örneklerde kum tanesine benzeyen kümeleşmeler olur.).
9. Testi yaparken ve sonuçları değerlendirirken sabırlı, özverili ve dikkatli olunuz.
10. Boşalan antijen şişelerini ve diğer atıkları, tıbbi atık kutusuna atınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmen tarafından Rose Bengal Testi ile Brucella Hastalığının Teşhisi Değerlendirme Ölçeği” kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

ROSE BENGAL TESTİ İLE BRUCELLA HASTALIĞININ TEŞHİSİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Temiz bir lamın veya beyaz zeminli fayansın üzerine bir damla şüpheli kan serumu ve test antijeni ekleyip karıştırdı.				
3. Lamı veya fayansı, dairesel hareketler yaparak iki dakika boyunca çalkaladı.				
4. Pozitif sonucu tespit etti.				
5. Negatif sonucu tespit etti.				
TOPLAM PUAN				

Brucella Tüp Aglütinasyon Testi

Numune kan serumundaki antikor titresini tespit etmek için tüp aglütinasyon testi yapılır. B. abortus S 99 suşundan (Bir bakteri veya virüs cinsine ait alt türlerin genetik yönden farklılık taşıyan gruplarına **suş** denir. Farklı suşların dış etkenlere, ilaç vb. tesirlere karşı mukavemeti farklı olur.) hazırlanan standart anti brucella abortus serumu ile standardize edilmiş brucella enfeksiyonlarının (B. abortus, B. melitensis, B. suis) teşhisinde kullanılan test antijeninden yararlanır.

Test İçin Gereken Malzemeler

1. Hasta serumu
2. Ticari brucella test antijeni
3. Deney tüpleri
4. Tüp spor
5. Mikro pipet ve pipet uçları
6. Etüv veya benmari
7. Cam yazar kalem
8. %0,5 fenollü FTS

Testin Yapılışı

1. Ebatı 100 x 13 mm, dip kısmı "U"şeklinde olan 8-10 adet hemaglütinasyon tüpü, tüp spora dizilir.
2. Tüplerin üzerine cam yazar kalemlle 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640... şeklinde dilisyon oranları yazılır. Antijen kontrolü için ayrılan tüpe bir şey yazılmaz.
3. Birinci tüpe 0,8 cc, diğer tüplerin tamamına (antijen kontrol tüpü dâhil) 0,5 cc %0,5 fenollü %0,85'lik NaCl (FTS) eklenir. Test, koyun veya keçi serumunda yapılacaksa %5'lik NaCl çözeltilisi kullanılır.
4. Şüpheli serum örneğinden 0,2 cc alarak birinci tüpe eklenir. Pipetajla (Pipetle çekip bırakma işlemi.) iyice karıştırılır. 0,5 cc alarak ikinci tüpe aktarılır. Aktarma işleminden sonra otomatik mikropipetin ucu değiştirilir. Bu tüpte de pipetajla sıvılar iyice karıştırılır. 0,5 cc alarak üçüncü tüpe aktarılır. Pipet ucu yine değiştirilir. Bu işlemler son tüpe kadar aynı şekilde sürdürülür. Son tüpe gelindiğinde karıştırma işleminden sonra 0,5 cc alarak atılır.
5. Antijen kontrol tüpü de dâhil olmak üzere tüm tüplere 0,5 cc brucella tüp aglütinasyon antijeni konur.
6. Tüpler hafifçe çalkalanarak ağızları kapatılır. 37 °C'deki etüve alınarak 20±1 saat inkübe edilir.
7. İnkübasyon sonunda sonuçlar değerlendirilir.

Testin Değerlendirilmesi

- Aglütinasyonun görüldüğü son tüpün üzerinde yazan değer, aglütinasyon (antikor) titresini gösterir. İnsan ve koyunlarda $\geq 1/40$, sığırlarda ise $\geq 1/80$ titredeki serumlar pozitif kabul edilir.
- Aşılınmış hayvanlarda bu titrelerin bir yukarısı (koyunlarda 1/80, sığırlarda ise 1/160 titre) pozitif olarak kabul edilir. Ancak 3-6 ay önce aşılanan hayvanlarda antikor miktarı azalacağı için normal değer üzerinde çıkan titreler, enfeksiyona bağlı yeni oluşan antikorlar olarak yorumlanır.
- İnsanlarda değerlendirme yapılırken hastanın klinik tablosu ve mesleği göz önüne alınır.

4. UYGULAMA: TÜP AGLÜTİNASYON TEKNİĞİ İLE BRUCELLA ANTİKOR TİTRESİNİN ÖLÇÜLMESİ

AMAÇ: Brucella tüp aglütinasyon testini, brucella tüp aglütinasyon test antijeni kullanarak yapmak ve sonucu değerlendirmek.

UYGULAMA SÜRESİ: 4 ders saati

ARAÇ GEREÇ: Hasta serumu, ticari brucella test antijeni, deney tüpleri, tüp spor, mikro pipet ve pipet uçları, etüv veya benmari, cam yazar kalem, %0,5 fenollü FTS

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak brucella tüp aglütinasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereci hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. İşlemleri sabır ve özenle yapınız. Hatalı işlemlerin ekonomik kayıplara yol açacağını, hastalığın insanlara bulaşarak toplum sağlığına zarar vereceğini unutmayınız. Meslek etiğini koruyunuz.
4. Tüplerin üzerine dilisyon oranlarını yazıp tüp sporuna yerleştiriniz.
5. Birinci tüpe 0,8 cc, diğer tüplerin tamamına (antijen kontrol tüpü dâhil) 0,5 cc %0,5 fenollü %0,85'lik NaCl (FTS) ekleyiniz (Test koyun veya keçi serumunda yapılacaksa %5'lik NaCl çözeltisi kullanılır.).
6. Birinci tüpe 0,2 cc numune serumdan ekleyiniz. Pipetaj yaparak karıştırınız.
7. Birinci tüpten 0,5 cc alarak ikinci tüpe aktarınız. Pipet ucunu değiştiriniz. Pipetajla karıştırınız. 0,5 cc alarak üçüncü tüpe aktarınız.
8. Dilisyon işlemlerini benzer şekilde son tüpe kadar devam ettiriniz. Son tüpte pipetajdan sonra 0,5 cc alarak uzaklaştırınız.
9. Bütün tüplere (antijen kontrol tüpü dâhil) 0,5 cc brucella tüp aglütinasyon test antijeni koyunuz.
10. Tüpleri hafifçe çalkalayıp 37 °C'de etüve kaldırınız. 20±1 saat inkübe ediniz.
11. Test sonuçlarını değerlendirip kaydediniz.
12. Boşalan veya imha edilecek antijen şişelerini, tıbbi atık kutusuna atınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Tüp Aglütinasyon Testi ile Brucella Antikor Titresinin Tespit edilmesi Değerlendirme Ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

TÜP AGLÜTİNASYON TESTİ İLE BRUCELLA ANTİKOR TİTRESİNİN TESPİT EDİLMESİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Dilisyon işlemlerini gerçekleştirdi.				
3. Brucella tüp aglütinasyon test antijenini ekledi.				
4. Tüpü etüve kaldırıp inkübasyona bıraktı.				
5. Pozitif ve negatif sonuçları tespit edip kaydetti.				
TOPLAM PUAN				

Brucella tüp aglütinasyon test sonuçlarını tam yorumlamak için bazı ayrımları yapmak gerekir. Bunun için zenginleştirme yöntemleri uygulanır. Bu amaçla yapılması gereken testler şunlardır:

Brucella Rivanol Tüp Aglütinasyon Testi

Ülkemizde aşılamalarda brucella abortus S-19 ve brucella melitensis Rev-1 aşısı kullanılır. Aşılamalardan sonra IgM tipinde antikorlar oluşur. Enfeksiyona bağlı oluşan antikorlar ise IgG tipindedir. IgM tipindeki antikorların inaktif hâle getirilmesi sonrası tespit edilen antikor titresinin aşığı mı yoksa enfeksiyona mı bağlı olduğu bir dereceye kadar çözülebilir.

Brucella rivanol tüp aglütinasyon testinde farklı olan tüp aglütinasyon testinin başlangıcında bir kısım şüpheli serum ile üç kısım %0,4'lük rivanol çözeltisinin karıştırılmasıdır. Oda ısısında 5-60 dakika arasında bekletilerek IgM'lerin bağlanması sağlanır. Bekleme süresi bir saati aşmamalıdır. Karışım 1.000 devirde 5-10 dakika santrifüj edilir. Üstteki sarı berrak sıvı alınarak tüp aglütinasyon testinde şüpheli serum olarak kullanılır.

EDTA'lı Brucella Tüp Aglütinasyon Testi

Bu zenginleştirme yönteminde amaç IgM'leri inaktive etmektir. FTS içine testteki son konsantrasyonu 10 mM (milimol) olacak şekilde EDTA (etilen diamin tetra asetik asit) eklenir. Düşük titreli serumlar bu teknikle daha hassas değerlendirilebilir. Testin sonraki basamakları aynıdır.

Merkaptoetanol Brucella Tüp Aglütinasyon Testi

Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için FTS veya PBS (phosphate buffered saline) solüsyonunun 99,42 cc'sine 0,52 cc merkaptoetanol katarak test yapılır.

Bloking Testi

Tüp aglütinasyon testinin negatif olduğu durumlarda bloking testi uygulanır. Negatif sonucun zon fenomenine bağlı olup olmadığı araştırılır. Bu maksatla tüplere sırayla pozitif olduğu bilinen yüksek titreli serumdan birer damla eklenip tekrar inkübe edilir. İnkübasyon sonunda gerçekten negatif olan tüplerde aglütinasyon meydana gelir. Negatiflik zon fenomeninden kaynaklıysa sonuç yine negatif olur.

Sütte Brucella Ring Testi

Bireysel testlerde (özellikle sürü taramalarında) süt sağımının kan almaya göre daha kolay olması hayvanda daha az strese yol açar. Bu nedenle çok tercih edilen test türüdür. Brucella teşhisi için sütte bulunan antikorlardan (IgA, IgG, IgM) faydalanılır.

Test İçin Gerekli Malzemeler

- Numune sığır, koyun, keçi sütü
- Ticari brucella ring test antijeni
- Deney tüpü
- Pipet
- Etüv veya benmari
- Laboratuvar saati

Testin Yapılışı

- Sağılan çiğ süttten 3-5 cc alınarak deney tüpüne konur.
- Her 1ml süt için bir damla ring test antijeni damlatılıp karıştırılır. Tüp, baş ve işaret parmakları arasına alınıp alt üst edilerek sütü köpürmeden karıştırılır.

- Karışım, oda ısısında 3-4 saat; etüvde, 37 °C'de 1,5-2 saat inkübe edilir.

Testi Etkileyen Faktörler

- Az yağlı veya aşırı yağlı sütler testin değerlendirilmesini zorlaştırır.
- Test yapılacak sütler buzdolabında 4 °C'de en fazla iki hafta saklanabilir.
- Yalancı pozitif reaksiyonları engellemek için alınan numune sütler, buzdolabında 2-3 gün 4 °C'de bekletildikten sonra çalışılmalıdır.
- Mastitisli, kolostrumlu, kaynatılmış ya da pastörize edilmiş sütler ile kuru döneme çıkarılan hayvanların sütleri test için uygun değildir.

Testin Değerlendirilmesi

- Örnek sütte brucella antikorları varsa bunlar süt yağı ile yüzeyde toplanacağı için boyalı antijen + antikor kompleksi, yüzeyde kırmızı renkte bir halka oluşturur.
- Negatif durumlarda süütün her tarafı pembe renge boyanır.

2.1.5. ASO (Anti Streptolizin-O) Testi

ASO testi, veteriner hekimlikten ziyade beşerî hekimlikte β -hemolitik streptococcuslara bağlı olarak yaşanan veya önceden geçirilen bir enfeksiyonun durumunu tespit ve takip etmek için kullanılır. Bu test, A grubu β -hemolitik streptococcusların salgıladığı toksin olan streptolizin "O"ya karşı oluşan antikorların tespitine yöneliktir. Antijen antikor reaksiyonunun gözle görülmesi için eritrositlerin kullanıldığı bir yöntemdir.

Hasta serumunda streptolizin "O"ya karşı oluşan antikor var ise antijenle birleşir ve alyuvarlarda hemoliz (erime) meydana gelmez. Eritrositler, ağırlığından dolayı tüpün dibine çöker. Ters durumda ise streptolizin "O"ya karşı antikor olmadığında alyuvarlar parçalanır. Tüp içindeki sıvı, kırmızı renge bürünür.

Test İçin Gereken Malzemeler

- SLO (streptolizin "O") antijeni ve SLO tampon çözeltisi ticari olarak temin edilir.
- %5'lik yıkanmış eritrosit süspansiyonu (insan veya tavşan)
- 14 adet 13 x 100 mm ölçülerinde deney tüpü
- Bir adet tüp sporu
- Pipet
- Hasta serumu
- Santrifüj
- Etüv veya benmari
- Laboratuvar saati

Testin Yapılışı

- ASO testi için gerekli %5'lik eritrosit süspansiyonu hazırlamak için insan ya da tavşan kanı kullanılır. Kan, heparinli veya sodyum sitratlı kan tüpüne alınır. Hemolize neden olmamak için çalkalama yapmadan hafif bilek hareketleriyle tüp alt üst edilerek antikoagülantla kanın karışması sağlanır. Tüp 1.500-2.000 devirde 5 dakika santrifüj edilir. Tüpün üst kısmında toplanan plazma uzaklaştırılır. Dipteki alyuvarların üzerine FTS ekleyip pipetajla homojen hâle getirdikten sonra santrifüj tüpüne aktarılır. Tüpün 3/4'üne gelecek kadar fizyolojik tuzlu su

(FTS) eklenir. 1.000-1.500 devirde 5 dakika santrifüj edilir. Yüksek devirde veya düşük devirde uzun süre santrifüj yapmak hemolize yol açar. Alyuvarlar, santrifüj sonrası tüpün dip kısmında toplanır. Üstte kalan sıvı uzaklaştırılır. Sonra tekrar FTS ekleyip hemolize neden olmadan karışım pipetajla homojen hâle getirilir. Tekrar 1.000-1.500 devirde 5 dakika süreyle santrifüj edilerek aynı işlemler tekrarlanır. Tüpün üstündeki sıvı kısım berrak oluncaya kadar iki üç defa yıkama işlemi sürdürülür. İstenen berraklık elde edildiğinde üstteki sıvı dökülür. Tüpün dibinde kalan yıkamış alyuvar süspansiyonundan 5 cc alarak 100 cc'ye SLO tampon çözeltisi ile tamamlanır. Bu şekilde %5'lik yıkamış eritrosit süspansiyonu hazırlanır.

- Muayene edilecek hasta serumunun 1/10'luk, 1/100'lük ve 1/500'lük sulandırmaları yapılır. Sulandırma sıvısı olarak SLO tampon sıvısı kullanılır. SLO tampon sıvısı oksidasyonla 10 dakika gibi kısa bir sürede bozulduğundan sulandırma işlemi her şey hazır olunca yapılmalıdır. 1/10'luk sulandırmada 0,5 cc hasta serumu alınır, üzerine 4,5 cc SLO tampon çözeltisi eklenir. 1/100'lük sulandırmada 1/10'luktan 1 cc alınır, üzerine 9 cc SLO tampon çözeltisi eklenir. 1/500'lük sulandırmada 1/100'lükten 2 cc alınır, üzerine 8 cc SLO tampon çözeltisi eklenir.
- 14. deney tüpü, tüp spora dizilir. 13. tüp, eritrosit kontrolü için bırakılır. 14. tüp, SLO kontrolü için bırakılır.
- 1/10'luk hasta serumundan 1. tüpe 0,8 cc, 2. tüpe ise 0,2 cc geçilir.
- 1/100'lük hasta serumundan 3. tüpe 1 cc, 4. tüpe 0,8 cc, 5. tüpe 0,6 cc, 6. tüpe 0,4 cc, 7. tüpe 0,2 cc geçilir.
- 1/500'lük hasta serumundan 8. tüpe 1 cc, 9. tüpe 0,8 cc, 10. tüpe 0,6 cc, 11. tüpe 0,4 cc, 12. tüpe 0,2 cc geçilir.
- 13 ve 14. tüp, kontrol için bırakılır (Bunların dışında testin güvenilirliği açısından pozitif serum kontrolü maksadıyla titresi bilinen bir serum örneği 15. tüpe konulabilir.).
- Tüplerdeki toplam sıvı hacmi 1 cc olacak şekilde tamamlanır. Eksik olanlar ise SLO tampon çözeltisiyle tamamlanır. Örneğin 1. tüpe 0,2 cc, 2. tüpe 0,8 cc konur. 3. tüpe, içinde zaten 1 cc olduğu için ekleme yapılmaz. Eritrosit kontrolü için ayrılan tüpe 1,5 cc, SLO kontrolü için ayrılan tüpe de 1 cc SLO tampon sıvısı konur.
- Eritrosit kontrolü için ayrılan tüpün haricindeki bütün tüplere 0,5 cc SLO çözeltisi eklenir.
- Tüm tüplere 0,5 cc eritrosit süspansiyonu eklenir. Hafif çalkalama ile karıştırılan tüpler 37 °C'de 45 dakika bekletilir. İnkübasyon sonunda tüm tüpler 1.500 devirde 1 dakika santrifüj edilir.

ASO Testinin Değerlendirilmesi

- Antistreptolizin "O" antikorlarının yeterli olduğu tüplerde hemoliz oluşmaz. Antikoru yetersiz olduğu tüplerde ise hemoliz olur. Hemolizin olmadığı son tüpün titrasyonu ASO'nun ünitesini gösterir. Bu değerler Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1: ASO Ünitesi

1. Tüp	2. Tüp	3. Tüp	4. Tüp	5. Tüp	6. Tüp	7. Tüp	8. Tüp	9. Tüp	10. Tüp	11. Tüp	12. Tüp
12 Ü	50 Ü	100 Ü	135 Ü	166 Ü	250 Ü	333 Ü	500 Ü	625 Ü	833 Ü	1.250 Ü	1.500 Ü

- ASO titresi ≤ 100 Ü'den az olan hastalarda kesin olarak yeni bir streptococcus enfeksiyonu olmadığı veya streptococcuslara bağlı romatizmal bir durumun gelişmediği gözlenir.
- Test, ASO titresi $\leq 160-200$ Ü'den fazla olan hastalarda bir ay sonra tekrarlanır. Tekrarlanan test sonucu yine aynıysa ya da daha yüksekse hastanın yeni bir streptococcus enfeksiyonu geçirdiği veya eski hastalığın tekrarladığı kanaatine varılır.

ASO Latex Slayt Aglütinasyon Testi

Slayt üzerinde, aglütinasyon yöntemi ile ASO titresinin hızlı şekilde ölçülmesine yarayan metottur. Hızlı ve pratik olması uygulama kolaylığı sağlar.

Test İçin Gereken Malzemeler

- ASO latex test kiti ticari olarak temin edilir. Kit içinde streptolizin "O" ile kaplanmış latex reaktifi, pozitif kontrol serumu, negatif kontrol serumu, slayt, tek kullanımlık damlalık ve cam baget bulunur.
- Hasta serumu
- Hasta serumunu aktarmak için pipet veya damlalık
- Rotatör (El ile de rotasyon işlemi yapılabilir.)
- Laboratuvar saati

Testin Yapılışı

- Test reaktifleri ve hasta serumu buzdolabı sıcaklığında ($2-8$ °C) muhafaza edildiği için bunlar test öncesinde oda sıcaklığına getirilip iyice çalkalanır.
- Slayt üzerindeki dairesel bölmelerin içine hasta serumu, pozitif ve negatif kontrol serumları damlatılır. Pozitif ve negatif serumların konulduğu bölümler karıştırılmasını diye (+) ve (-) olarak slaytın kenarına yazılır.
- Hasta serumlarının ve kontrol serumlarının olduğu bölümlerin üstüne ASO latex antijeni damlatılıp baget ile karıştırılır.
- Slayt, rotatorla veya elle dairesel hareketler yapılarak iki dakika boyunca sallanır. Bu işlem sırasında güçlü bir ışık kaynağı altında aglütinasyon olup olmadığı gözlenir.

Testin Değerlendirilmesi

- Aglütinasyon olması pozitif sonucu verir. Başka bir ifade ile hasta serumunda bulunan ASO titresinin 200 IU/ml'ye eşit veya daha fazla olduğu anlaşılır.
- Aglütinasyon olmaması ise sonucun negatif olduğunu gösterir. Bu durumda hasta serumunda bulunan ASO titresi 200 IU/ml'nin altındadır.

5. UYGULAMA: ASO LATEX SLAYT AGLÜTİNASYON TESTİNİN YAPILMASI

AMAÇ: ASO latex slayt aglütinasyon testi ile ASO titresinin titresini hızlı şekilde ölçmek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: ASO latex ticari test kiti, hasta serumu, pipet veya damlalık, rotatör (ellede yapılabilir.), laboratuvar saati, latex eldiven, laboratuvar önlüğü.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak ASO latex slayt aglütinasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereci önceden hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Ticari test kitinin kullanma kılavuzunu okuyunuz.
4. Test kitinde bulunan antijenleri masanın üzerine diziniz. Hasta kan serumu ve diğer ekipman oda sıcaklığına ulaşınca kadar yaklaşık 30-60 dk. bekleyiniz. Ortam sıcaklığı ve mevsim şartlarına göre süre daha kısa da olabilir (15-20 dk.)
5. Test antijenlerini kullanmadan önce iyice çalkalayınız.
6. Kitten çıkan test kartını (slaytını) masanın üzerine koyunuz. Kart üzerindeki dairesel bölümlere hasta serum örneklerini mikro pipet veya damlalık ile bir damla damlatınız.
7. Dairesel alanlardan birine pozitif (+) kontrol serumunu, birine de negatif kontrol serumunu damlatınız. Bunlar için kart üzerine, eğer yoksa, isim veya numara yazınız. (Bunu yapmadığınızda unutup yanlış değerlendirme yapabilirsiniz.)
8. Test antijeninden hem hasta serumlarının üstüne hem de kontrol serumlarının üstüne bir damla damlatınız.
9. Kürdanla ya da kitte yer alan tek kullanımlık plastik veya cam bagetler ile daire dışına çıkmadan karıştırınız. Farklı alanları karıştıracağınızda kürdan veya bagetin temiz ucunu kullanınız.
10. Test kartını, rotatorla veya elinizle dairesel hareketler yaparak iki dakika boyunca çalkalayınız.
11. Süre sonunda güçlü ışık kaynağı altında pozitif ve negatif kontrol serumları ile kıyaslayarak aglütinasyon olup olmadığını değerlendiriniz. Aglütinasyon olanlar pozitif, olmayanlar negatiftir.
12. Kullandığınız malzemeleri tıbbi atık kutusuna atınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından ASO latex slayt aglütinasyon testi, değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

ASO LATEX SLAYT AGLÜTİNASYON TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. İş sağlığı ve güvenliği için gerekli tedbirleri aldı.				
2. Ticari test kitinin kullanma talimatını okudu.				
3. Slayt üzerinde numara veya işaretleme yaparak hasta serumlarının, pozitif ve negatif kontrol serumlarının karışmasını önledi.				
4. Her alanı bagetin temiz ucu ile karıştırdı.				
5. Aglütinasyon durumunu pozitif ve negatif kontrol serumlarına bakarak tespit etti.				
TOPLAM PUAN				

2.1.6. CRP (C-Reaktif Protein) Testi

CRP (c-reaktif protein); akut faz proteini olup beşeri hekimlikte enfeksiyon hastalıklarının, kanser hastalıklarının takibinde ve değerlendirilmesinde kullanılır. Yüksek serum CRP'si, bakteriyel enfeksiyonlar için karakteristiktir. Serum CRP'sinin yüksek olması kalp hastalıklarının erken habercisidir. Serumda 5mg/dl'nin üzerindeki CRP değerleri, romatoid arthrit takibinde eklem erozyon arttığını gösterir.

BİLGİ KÖŞESİ

CRP, ilk defa pneumokoklarda tespit edilmiştir. Solunum sisteminde enfeksiyona neden olan pneumokokların C-proteinine bağlanarak opsonize olmasını sağlayan C-Reaktif Protein bulunur. Bu protein, bakteriyi opsonize ederek komplemanın bağlanmasını ve fagositozun kolay olmasını sağlar.

Slayt Yöntemiyle CRP Latex Aglutinasyon Testi

Bu test ile hasta serumunda bulunan CRP düzeyi, slayt üzerinde hızlı ve güvenilir bir şekilde tespit edilmektedir.

Test İçin Gereken Malzemeler

- Ticari olarak temin edilecek CRP latex aglutinasyon test kiti
- Hasta serumu
- Otomatik pipet veya damlalık
- Laboratuvar saati

Testin Yapılışı

- Reaktifler ile hasta serumu oda sıcaklığına ulaştırılır. Reaktifler, kullanmadan önce iyice çalkalanır.
- Slaytta bulunan bölmeler üzerine hasta serumu, pozitif ve negatif kontrol serumu damlatılır.
- Tüm serumların üzerine CRP latex test antijeni damlatılır.
- Cam bagetle antijen ve serumlar, buldukları bölümlerin içinde karıştırılarak yayılır.
- Slayt, rotatorla veya elle dairesel hareketler yapılarak iki dakika boyunca sallanır.
- Kümeleşme olup olmadığı pozitif ve negatif kontrol serumları ile kıyaslanır.

Testin Değerlendirilmesi

- Hasta serumunda aglutinasyonun şekillenmesi pozitif olarak değerlendirilir. Hasta serumundaki CRP, konsantrasyonunun 0,6 mg/dl veya daha üzerinde olduğu anlamına gelir. Bu da olması gereken değer üzerinde demektir.
- Hasta serumunda aglutinasyonun olmaması negatif olarak değerlendirilir. Serum CRP düzeyi 0,6 mg/dl'nin altındadır. Sonuç olarak CRP seviyesi normal değerdedir.

6. UYGULAMA: SLAYT YÖNTEMİ İLE CRP LATEX AGLÜTİNASYON TESTİ

AMAÇ: Hasta kan serumundaki CRP düzeyini, CRP latex aglütinasyon testi ile belirlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: CRP latex ticari test kiti, hasta serumu, otomatik pipet, pipet ucu veya damlalık, rotatör (elle de yapılabilir.), laboratuvar saati, latex eldiven, laboratuvar önlüğü.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak CRP latex slayt aglütinasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereci önceden hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Ticari test kitinin kullanma kılavuzunu okuyunuz.
4. Test kitinde bulunan antijenleri masanın üzerine diziniz. Hasta kan serumu ve diğer ekipman oda sıcaklığına ulaşıncaya kadar 30-60 DK. bekleyiniz. Ortam sıcaklığı ve mevsim şartlarına göre süre daha kısa da olabilir (15-20 dk.)
5. Test antijenlerini kullanmadan önce iyice çalkalayınız.
6. Test kartında bulunan alanların içine hasta serumundan bir damla (40-50µl) damlatınız. Kart üzerindeki alanlardan birine pozitif (+) kontrol serumunu, birine de negatif (-) kontrol serumunu damlatınız.
7. Tüm alanların üzerine (hasta serumu ve kontrol serumları) CRP latex test antijeninden bir damla damlatınız.
8. Kürdan veya test kitinden çıkan baget ile karıştırınız.
9. Slaytı, rotatorla veya elinizle dairesel hareketler yaparak iki dakika boyunca çalkalayınız.
10. Kümeleşme olup olmadığını pozitif ve negatif kontrol serumları ile kıyaslayınız. Kümeleşme olanlar pozitif, olmayanlar negatiftir.
11. Kullandığınız bulaşık malzemeleri tıbbi atık kutusuna atınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından RF latex slayt aglütinasyon testi, değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

SLAYT YÖNTEMİ İLE CRP LATEX AGLÜTİNASYON TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. İş sağlığı ve güvenliği için gerekli tedbirleri aldı.				
2. Ticari test kitinin kullanma talimatını okudu. Gerekli araç ve gereci hazırladı.				
3. Slayt üzerinde numara veya işaretleme yaparak hasta serumlarının ve pozitif, negatif kontrol serumlarının karışmasını önledi.				
4. Her alanı bagetin temiz ucu ile karıştırdı.				
5. Aglütinasyon durumunu, pozitif ve negatif kontrol serumlarına bakarak tespit etti.				
TOPLAM PUAN				

2.1.7. RF (Romatoid Faktör) Testi

Beşerî hekimlikte, romatoid artritın teşhisinde ve takibinde kullanılan latex aglütinasyon testidir. Hastalık, veteriner hekimlikte köpeklerde görülür. Romatoid artrit bir otoimmün hastalıktır. Hastalık birçok eklemde görülmesine rağmen özellikle parmak eklemlerini ve tarak kemiklerine ait eklemleri etkileyen yangısal (iltihabi) bir hastalıktır. Bu hastalıkta eklemdeki synovial membranda bulunan lenfositler, normal olmayan IgG antikorları üretir. Bu anormal IgG'ler, immün sistem tarafından antijen olarak algılanır ve bunlara karşı özgül IgM ve IgG antikorları sentezler. Özgül IgM ve IgG antikorları, antijenik anormal IgG ile reaksiyona girerek immün kompleks oluşturur. Oluşan immün kompleksler, kompleman sistemi aktive ederek eklemde hasara neden olur. RF değeri romatoid artrit dışında sistemik lupus eritematozus (SLE), kronik viral enfeksiyonlar, karaciğer hastalıkları, lösemi, böbrek hastalıkları ve bakteriyel kalp iltihabı vb. hastalıklarda yükselir.

Slaytla RF Latex Aglütinasyon Testi İçin Gereken Malzemeler

- Ticari RF latex aglütinasyon test kiti
- Otomatik mikro pipet
- Hasta serumu
- Rotatör (El ile de yapılabilir.)
- Laboratuvar saati

RF Latex Aglütinasyon Testinin Yapılışı

- Tüm reaktifler ve hasta serumları oda sıcaklığına getirilir.
- Reaktifler iyice çalkalanır.
- Slayt üzerindeki dairesel alanlara hasta serumu, pozitif ve negatif kontrol serumları damlatılır.
- Bunların üzerine birer damla RF latex test antijeni ilave edilir.
- Cam bağetin ucuyla küçük daireler çizerek antijenle serum örnekleri karıştırılıp yayılır.
- Slayt, rotatorla veya elle dairesel hareketler yapılarak iki dakika boyunca sallanır.
- Yeterli ışık altında pozitif ve negatif kontrol serumları ile karşılaştırılarak aglütinasyon değerlendirilir.

Testin Değerlendirilmesi

- Sağlıklı insanlarda serum RF seviyesi < 20 IU/ml'nin altındadır.
- Hasta serumunda aglütinasyonun gözlenmesi testin pozitif olduğunu, romatoid faktörün varlığını ortaya koyar. Serum RF değerinin 20 IU/ml'nin üzerinde olduğunu gösterir.
- Hasta serumunda aglütinasyon olmaması testin negatif olduğunu gösterir. Hasta serumunda RF faktörünün olmadığı anlamına gelir.

Yarı Kalitatif (Miktar Tespiti) Slaytla RF Latex Aglütinasyon Testi

Hasta serumu belli oranlarda dilüe edilerek slayt ile RF latex aglütinasyon testi uygulanır.

Test İçin Gereken Malzemeler

- Deney tüpü 7 adet
- FTS (serum fizyolojik)

7. UYGULAMA: SLAYT YÖNTEMİ İLE RF LATEX AGLÜTİNASYON TESTİ

AMAÇ: Hasta kan serumunda RF olup olmadığını, RF latex aglütinasyon testi ile belirlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: RF latex ticari test kiti, hasta serumu, otomatik pipet, pipet ucu veya damlalık, rotatör (ellede yapılabilir.), laboratuvar saati, latex eldiven, laboratuvar önlüğü.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak CRP latex slayt aglütinasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereci önceden hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Ticari test kitinin kullanma kılavuzunu okuyunuz.
4. Test kitinde bulunan antijenleri masanın üzerine diziniz. Hasta kan serumu ve diğer ekipman oda sıcaklığına ulaşmaya kadar yaklaşık 30-60 dk. bekleyiniz. Ortam sıcaklığı ve mevsim şartlarına göre süre daha kısa da olabilir(15-20 dk.)
5. Test antijenlerini kullanmadan önce iyice çalkalayınız.
6. Slayt üzerindeki dairesel alanlara hasta serumundan birer damla (40-50µl) damlatınız. Dairelerden birine pozitif (+) kontrol serumu, diğerine de negatif (-) kontrol serumu damlatınız.
7. Bunların üzerine birer damla RF latex test antijeni ilave ediniz.
8. Cam bagetin ucuyla küçük daireler çizerek antijenle serum örneklerini karıştırınız. Her daire için bagetin temiz ucunu kullanınız.
9. Test slaytını, rotatörle veya elinizle dairesel hareketler yaparak iki dakika boyunca çalkalayınız.
10. Yeterli ışık altında aglütinasyon olup olmadığını pozitif ve negatif kontrol serumları ile karşılaştırarak değerlendiriniz.
11. Kullandığınız bulaşık malzemeleri tıbbi atık kutusuna atınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından RF latex slayt aglütinasyon testi, değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

SLAYT YÖNTEMİ İLE RF LATEX AGLÜTİNASYON TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. İş sağlığı ve güvenliği için gerekli tedbirleri aldı.				
2. Ticari test kitinin kullanma talimatını okudu. Gerekli araç ve gereci hazırladı.				
3. Slayt üzerinde numara veya işaretleme yaparak hasta serumlarının, pozitif ve negatif kontrol serumlarının karışmasını önledi.				
4. Her alanı bagetin temiz ucu ile karıştırdı.				
5. Aglütinasyon durumunu, pozitif ve negatif kontrol serumlarına bakarak tespit etti.				
TOPLAM PUAN				

2.1.8. Hemaglütinasyon Testi

Çoğunluğu virüs olan bazı mikroorganizmaların (newcastle, enfeksiyöz bronşitis, EDS 76, çiçek, avian influenza, mycoplasma, E. coli vb. enterobakteriler) ve maddelerin (penisilin, yumurta albumini, sığır serum albumini, DNA, PPD vb.) memeli ve kanatlı alyuvarlarının yüzeyine yapışma özelliği vardır. Bu özellikten dolayı alyuvarların kümeleşmesine **hemaglütinasyon** denir. Hemaglütinasyon olayında antikor görev almadığı için serelojik bir test olarak değerlendirilmez (Görsel 2.8).

	Components	Interaction	Microtiter Results
A	RBCs		
B	Virus RBCs		
C	Virus Antibody RBCs		

Görsel 2.8: A) Hemaglütinasyon (-) B) Hemagglutinasyon (+) C) Hemagglutinasyon inhibisyon

Hemaglütinasyon reaksiyonu ile hemaglütinasyon yeteneğine sahip olan virüsler tespit edilir. Bir enfeksiyona karşı hemaglütinasyon inhibisyon (HI) testi yapılacağında test için gereken antijen titresi (bir hemaglütinasyon ünitesi, 1 HAÜ) belirlenir.

Test, çabuk hemaglütinasyon ve yavaş hemagglutinasyon olmak üzere iki şekilde yapılır.

Çabuk Hemagglutinasyon Testi

Laboratuvara gelen marazi maddede hemaglütinasyon özelliğine sahip virüsün olup olmadığı, virüs varsa hangi türlere ait eritrositleri hemagglutine ettiği belirlenir.

Test İçin Gereken Malzemeler

- Virüs süspansiyonu
- Eritrosit süspansiyonu
- Lam
- Cam baget
- Laboratuvar saati

8. UYGULAMA: LAM ÜZERİNDE ÇABUK HEMAGLÜTİNASYON TESTİNİN YAPILMASI

AMAÇ: Numune virüs süspansiyonunda bulunan virüsün hemaglütinasyon kabiliyetinin olup olmadığını belirlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: Virüs süspansiyonu, eritrosit süspansiyonu, lam, cam veya plastik baget, damlalık veya otomatik pipet ve ucu, latex eldiven, laboratuvar önlüğü, laboratuvar saati, santrifüj, FTS veya PBS

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak lam üzerinde çabuk hemaglütinasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereci önceden hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. İnokulum hazırlamak için hayvanların sakatlarından (akciğer, karaciğer, böbrek, kalp, beyin, uterus, testis, lenf yumrusu vb.) temin ediniz. Bunları bistüri ile küçültüp kıyma haline getiriniz. Havan içerisinde iyice eziniz. Üzerine FTS ilave edip karıştırınız.
4. Karışımdan santrifüj tüpüne yeteri miktar koyup 5.000 devirde 5-10 dk. santrifüj ediniz. Santrifüj sonrası üstteki sıvıyı inokulum olarak kullanabilirsiniz veya veteriner teşhis laboratuvarlarından hemaglütinasyon yeteneği gösteren virüs süspansiyonu temin ediniz.
5. Alyuvar süspansiyonu hazırlamak için hayvanlardan antikoagülanlı tüplere kan alınız (Alyuvar süspansiyonunu veteriner teşhis laboratuvarlarından da temin edebilirsiniz.).
6. 1.000-1.500 devirde 5-10 dakika santrifüj ediniz. Ayrılan plazmayı pipetle çekerek uzaklaştırınız.
7. Dipte kalan alyuvarların üzerine tüpün 2/3'üne gelecek şekilde FTS veya PBS (fosfat buffer solüsyonu) ekleyiniz. Hafif bilek hareketleri veya pipetaj işlemi ile homojenize edip tekrar santrifüj ediniz. Üstteki sıvı berrak hâle gelinceye kadar 2-3 defa işlemi tekrarlayınız. Yıkama işleminden sonra kullanılacağınız için % 5 oranında PBS veya FTS ile sulandırıp homojen hâle getiriniz.
8. Temiz kuru bir lamın üzerine bir damla inokulum, bunun üzerine de bir damla alyuvar süspansiyonu damlatınız.
9. Lamı, rotatorla veya elinizle dairesel hareketler yaparak iki dakika boyunca çalkalayınız. 2 dk. boyunca elinizle veya rotator ile lama dairesel hareketler yaparak çalkalayınız. Hemaglutinasyon şekillenip şekillenmediğini gözleyiniz. Dantel şeklinde kümeleşmelerin olması pozitifdir. Karışımın homojen kalması negatiftir.
10. Kullandığınız malzemeleri tıbbi atık kutusuna atınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından lam üzerinde çabuk hemaglütinasyon testi, değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

LAM ÜZERİNDE ÇABUK HEMAGLÜTİNASYON TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. İş sağlığı ve güvenliği için gerekli tedbirleri aldı.				
2. İnokulum hazırladı.				
3. Alyuvar süspansiyonu hazırladı.				
4. Lam üzerinde çabuk hemaglütinasyon testini yaptı.				
5. Hemaglütinasyon şekillenip şekillenmediğini tespit etti.				
TOPLAM PUAN				

Yavaş Hemaglutinasyon Testi

Yavaş hemaglutinasyon testi, genellikle antijenin hangi yoğunlukta kullanılacağını tespit etmek için yapılır. Hemaglutinasyon ünitesi saptanır. Bu değer, hemaglutinasyon inhibisyon testinde hemaglutinasyon inhibisyon titresini belirlemek için kullanılır. Bu test ile virüsün hemaglutinasyon özelliğinin olup olmadığı belirlenir ve izole edilen virüsün identifikasyonu da yapılır. Yavaş hemaglutinasyon testi tüp veya mikroplyet kullanılarak yapılabilir.

Tüpte Yavaş Hemaglutinasyon Testi İçin Gereken Malzemeler

- Denev tüpü (8-9 adet)
- Tüp spor
- Otomatik pipet
- Virüs süspansiyonu
- %1-2'lik eritrosit süspansiyonu
- Laboratuvar saati

Testin Yapılışı

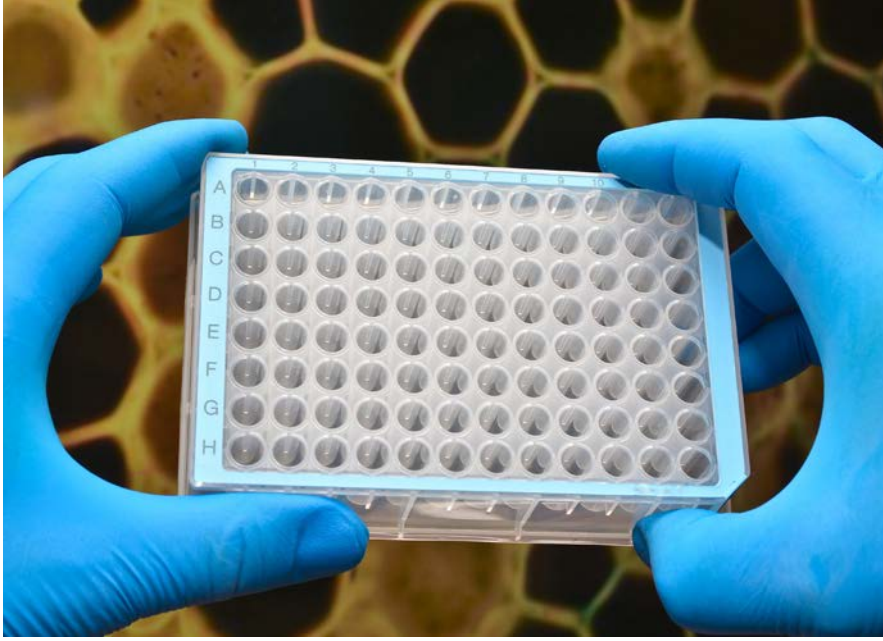
- Tüplerin üzerine sırayla 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 ve 1/256 dilisyon oranları yazılır. İki tüp de FTS ve eritrosit kontrolü için ayrılır.
- Dilüsyon yapılacak 8 tüpe ve FTS kontrolü yapılacak 9. tüpe 1 cc FTS konur.
- 1. tüpe 1 cc virüs süspansiyonu eklenir. Pipetaj yapılarak karıştırılır. 1 cc alınarak 2. tüpe geçilir. Pipet ucu değiştirilip pipetaj yapılır. 1 cc alınarak 3. tüpe aktarılır. Pipet ucu değiştirilip pipetaj yapılır ve 4. tüpe 1 cc aktarılır. İşlem, benzer şekilde son dilisyon tüpüne kadar sürdürülür. Son tüpten (1/256) 1 cc alınarak atılır.
- Tüm dilisyon tüplerine ve eritrosit kontrolü yapılacak tüpe %1-2'lik eritrosit süspansiyonundan 1 cc eklenir.
- Oda ısısında 30-60 dk. inkübasyona bırakılır.

Testin Değerlendirilmesi

- Hemaglutinasyonun olduğu tüplerde alyuvarlar, tüpün dibinde dantel şeklinde yayılmış vaziyette gözlenir. Bunlar pozitifdir. Hemaglutinasyonun olduğu en yüksek dilüsyon, 1 hemaglutinasyon ünitesi (1HAÜ) olarak kabul edilir. Örneğin hemaglutinasyon görülen son antijen dilisyonu 1/128 ise bu 1 HAÜ'dür. 1/64 2 HAÜ, 1/32 4 HAÜ, 1/16 8 HAÜ, 1/4 16 HAÜ ve 1/2'de 32 HAÜ olarak değerlendirilir. Hemaglutinasyon inhibisyon testinde 4 HAÜ veya 8 HAÜ antijen kullanılır.
- Hemaglutinasyonun görülmediği yani sonucun negatif olduğu tüplerde, alyuvarlar tüpün dibinde düğme benzeri çökelti oluşturur.

Mikro Pleytte (Tablet) Yavaş Hemaglütinasyon Testi

Deney tüplerinin yerine mikropleyitin kullanıldığı tekniktir (Görsel 2.9). Tüm işlemler aynı şekilde yapılır. Sadece mikropleyitin çukurcukları küçük olduğu için hacim ml'den µl düzeyine indirilir. Tüpte 1 ml sıvı aktarılırken bu yöntemde 50 veya 100 µl aktarılır.



Görsel 2.9: Mikro pleytt

Testin Yapılışı

- Mikropleyitin birinci sırasındaki 10 çukura 50 µl FTS dağıtılır. Son iki çukur FTS ve eritrosit süspansiyonunun kontrolü için ayrılır.
- İlk çukura virüs süspansiyonundan 50 µl eklenir, pipetaj yapılır. 50 µl alınarak 2. çukura geçilir. Pipet ucu değiştirilip pipetaj yapılır. 50 µl alınarak 3. çukura geçilir. Pipet ucu değiştirilip pipetaj yapılır ve bu şekilde dilisyon serisi tamamlanır. Son çukurdan (1/256) 50 µl atılır.
- Tüm dilisyon çukurlarına ve eritrosit kontrol çukuruna 50 µl %1-2'lik eritrosit süspansiyonu konur.
- 30-60 dk. oda ısısında inkübe edilir. Sonuçlar aynı şekilde değerlendirilir.

Hemaglütinasyon İnhibisyon Testi

Hemaglütinasyon özelliğine sahip olan virüsün bu özelliğinin özgül antikorlar kullanılarak ortadan kaldırılması prensibine dayanan serolojik bir testtir. Bu test ile kan serumunda bulunan özgül antikorlar belirlenerek hayvandaki hastalığın teşhisi yapılır. Aşılana hayvanlarda ise antikor titresi ölçülerek bağışıklığın yeterli olup olmadığı ortaya konur. Bu sebeple test, serum sulandırma ve virüs sulandırma tekniği olmak üzere iki şekilde yapılır. Testler tüp veya mikropleyt kullanılarak yapılabilir.

Mikro Hemaglütinasyon İnhibisyon (Engelleme, Durdurma) Testi

Serum Sulandırma Metodu: Hasta serumunda özgül antikor olup olmadığı, varsa titresi bu yöntemle belirlenir.

Test İçin Gereken Malzemeler

- Mikropleyt
- Hasta kan serumu
- 4 HAÜ veya 8 HAÜ virüs süspansiyonu
- %2'lik eritrosit süspansiyonu
- Laboratuvar saati
- Otomatik mikropipet
- FTS veya PBS

Testin Yapılışı

- Mikropleytin bir sırasındaki tüm çukurlara 50 µl FTS konur.
- İlk çukura şüpheli serum örneğinden 50 µl eklenerek 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512 şeklinde dilisyonu yapılır.
- Tüm çukurlara 50 µl 4 HAÜ'deki virüs süspansiyonu eklenir. Hafif çalkalanıp oda ısısında 15-20 dakika inkübasyona bırakılır. Şüpheli serumda özgül antikor varsa bu şekilde bilinen antijenle antikorun bağlanması sağlanır.
- Tüm çukurlara %2'lik eritrosit süspansiyonu eklenir.
- Oda ısısında 45-60 dk. inkübasyona bırakılır.
- İnkübasyon sonunda serum örneğinin hangi dilisyon derecesine kadar hemagglütinasyonu inhibe ettiği değerlendirilir. Sonuç logaritmik değerlere göre kaydedilir. Örneğin serum sulandırmasındaki 1/2 titre log₂ 2-1, 1/4 titre log₂ 2-2, 1/8 titre log₂ 2-3 1/2048 titre log₂ 2-11 şeklinde yazılır.

Testin Değerlendirilmesi

- Hemagglütinasyonun oluşmadığı (-) en yüksek serum dilisyonu tespit edilir. Hemagglütinasyon olmayan mikropleyt kuyularında alyuvarlar, kuyunun dibinde düğme şeklinde gözlenir. Hemagglütinasyon olanlarda ise kuyunun dibinde dantel şeklinde kümeleşme olur. Örneğin 1/2 (-), 1/4 (-), 1/8 (-), 1/16 (-), 1/32 (-), 1/64 (+), 1/128 (+), 1/256 (+) şeklinde ise 1/32 (log₂2-5) dilisyon hemagglütinasyonun olmadığı (inhibe olduğu) en yüksek serum sulandırmasıdır.
- Serum hemagglütinasyon inhibisyon titresini hesaplamak için Serum HI titesi = Kullanılan hemagglütinasyon ünitesi (HAÜ) x Hemagglütinasyon oluşmayan en yüksek serum dilisyonu $4 \times 1/32 = 1/8$ şeklinde hesaplanır.

2.1.9. Soğuk Agglütinasyon Testi

İnsanlarda görülen mycoplasma pneumonia gibi enfeksiyonlarda ve bazı otoimmün hastalıklarda oluşan IgM tipindeki özgül antikorlar, 4 °C'de alyuvarları aglütine etme özelliğine sahiptir. Bu özelliğe sahip olan antikorlara **soğuk aglütinler** denir. IgM tipindeki soğuk antikorlar, soğuk havalarda vücudun uç noktalarında (burun ucu, kulak ucu, parmak ucu vb.) alyuvarlara yapışarak aglütinasyona neden olur. Kan, kalbe doğru yaklaştıkça sıcaklığı arttığı için soğuk aglütinler alyuvarlardan ayrılır ancak bu durum alyuvarlarda yıkımlanmalara neden olur. Yıkımlanmalar dalakta şekillenir.

IgG tipindeki soğuk aglütinler ise aglütinasyona sebep olmaz. Bunlar komplement sistemi aktive ederek alyuvarların parçalanmasına (hemoliz) yol açar.

İnsanlarda mycoplasma pneumonia enfeksiyonunun teşhisinde soğuk aglütinasyon testinden yararlanılır.

Test İçin Gerekli Malzemeler

- Tüp spor
- 12 adet test tüpü
- FTS
- %3'lük O Rh (-) insan alyuvar süspansiyonu
- Mikropipet
- Buzdolabı
- Etüv veya benmari
- Cam yazar kalem
- Hasta kan serumu

Testin Yapılışı

- Hastadan alınan kan örneği 37 °C'de bekletilerek serumun ayrılması sağlanır. Pıhtısı ayrılmadan buzdolabına kaldırılan örneklerde soğuk aglütinasyon, hastanın kendi alyuvarlarına yapışarak aglütinasyona sebep olur. Ayrılan kan serumu inaktive edilmez. Aksi durumda soğuk aglütinasyon yıkımlanır. Bu durum yanlış negatif sonuca yol açar.
- %3'lük O Rh (-) taze insan kanı, antikoagülanlı (EDTA vb.) kan tüpüne alınır. 1.500-2.000 devirde 5-10 dk. santrifüj edilerek plazması ayrılır. Plazması uzaklaştırıldıktan sonra tüpün dibinde kalan alyuvarların üzerine tüpün 3/4'üne kadar FTS eklenip homojen hâle getirilir. Tekrar 1.500-2.000 devirde 5-10 dk. santrifüj edilir. Üstteki kısım yine dökülür. Tüpün dibinde kalan alyuvarların üzerine yine aynı şekilde FTS eklenir ve homojen hâle getirilir. Bu işlem, üstteki sıvı açık berrak hâle gelinceye kadar 2-3 kez tekrar edilir. Nihayetinde dipte kalan yıkanmış alyuvarlardan FTS ile %3'lük süspansiyon hazırlanır.
- 12 tane tüp, tüp spora dizilir.
- Tüplerin üzerine dilüsyon oranları; 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048 olacak şekilde yazılır.
- 1. tüpten başlanarak tüm tüplere 0,3 cc FTS konur.
- 1. tüpe 0,3 cc hasta serumu eklenir. Pipetaj yapılarak karışması sağlanır. Pipetaj sonrası 0,3 cc alınarak 2. tüpe aktarılır. Pipetaj ile karıştırılır. 0,3 cc alınarak diğer tüpe aktarılır. İşlem aynı şekilde 11. tüpe kadar yapılır. 11. tüpte pipetaj bitince 0,3 cc alınarak dışarı atılır. 12. tüpe serum konmaz. 12. tüp kontrol tüpüdür.
- Tüm tüplere %3'lük O Rh (-) alyuvar süspansiyonu eklenir. Tüpler elde hafifçe çalkalanarak karışım homojen hâle getirilir.
- İnkübasyon için 4 °C'de buzdolabına kaldırılır. 30 dk. inkübe edilir. Süre sonunda tüpler ısınmadan aglütinasyon olup olmadığı gözlenir.

Testin Değerlendirilmesi

- 1/4 ve üzerindeki sulandırılmalarda hemaglütinasyon şekillenmiş ise anlamlıdır. Hemaglütinasyon şekillenen sulandırma oranları kaydedilir. 1-2 hafta sonra aynı hastadan kan alınarak test tekrarlanır. Hemaglütinasyon titresinin ilk teste göre daha yüksek sulandırılmalarda görülmesi hastalık açısından pozitif bir durumdur.

9. UYGULAMA: SOĞUK AGLUTİNASYON TESTİNİN YAPILMASI

AMAÇ: İnsanlarda Mycoplasma pneumonia enfeksiyonun teşhisi için soğuk aglutinasyon testini yapmak.

UYGULAMA SÜRESİ: 2 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: Tüp spor, 12 adet test tüpü, FTS, % 3'lük "O Rh (-)" insan alyuvar süspansiyonu, mikropipet, buzdolabı, etüv veya benmari, cam yazar kalem, hasta kan serumu

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak soğuk aglutinasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerine uyunuz.
2. Kullanacağınız araç gereci önceden hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Hastadan alınan kan örneğini 37 °C'de etüv veya benmaride bekleterek serumun ayrılmasını sağlayınız.
4. %3'lük (ORh-) taze insan kanı süspansiyonunu hazırlayınız.
5. 12 tane tüpü, tüp spora diziniz.
6. Tüplerin üzerine dilisyon oranları 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048 olacak şekilde yazınız.
7. 1. Tüpten başlayarak tüm tüplere 0,3cc FTS koyunuz.
8. 1. Tüpe 0,3cc hasta serumu ekleyiniz. Pipetaj yapınız. Pipetaj sonrası 0,3cc alarak 2.tüpe geçiniz. Pipetaj ile karıştırınız. 0,3 cc alıp diğer tüpe aktarınız. İşlemi aynı şekilde 11. tüpe kadar yapınız. 11. tüpte pipetaj bitince 0,3 cc alınarak dışarı atılır. 12. tüpe serum konmaz. 12. tüp kontrol tüpüdür.
9. Tüm tüplere % 3'lük "O Rh (-)" alyuvar süspansiyonu ekleyiniz. Tüpleri elinizde hafifçe çalkalayarak karışımı homojen hâle getiriniz.
10. İnkübasyon için 4° C'de buzdolabına kaldırınız. 30 dk. inkübe ediniz. Süre sonunda tüpler ısınmadan hemaglutinasyon olup olmadığını kontrol ediniz.
11. Kullandığınız bulaşık malzemeleri tıbbi atık kutusuna atınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından soğuk aglutinasyon testi, değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

SOĞUK AGLUTİNASYON TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. İş sağlığı ve güvenliği için gerekli tedbirleri aldı.				
2. 37 °C de hasta kan serumunu ayırdı.				
3. (O Rh-) %3 lük alyuvar süspansiyonu hazırladı.				
4. Dilisyon yaptı.				
5. Hemaglutinasyon şekillenip şekillenmediğini tespit etti.				
TOPLAM PUAN				

ARAŞTIRIP ÖĞRENELİM

1. Elektrolit sıvılar, aglütinasyon testlerinde neden kullanılır? Araştırınız. Elde ettiğiniz bilgileri sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.
2. Serolojik testlerde kullanılan spesifite (özgüllük) ve sensitivite (hassasiyet) arasındaki ilişkiyi araştırınız. Elde ettiğiniz bilgileri sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

BULMACA

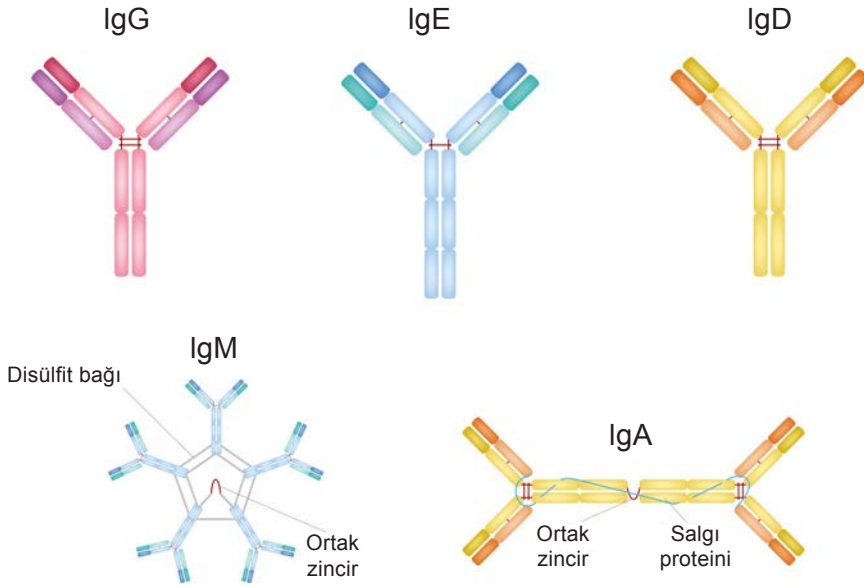
Aglütinasyon konusu ile ilgili aşağıda tanımları verilen kavramlar harflerin arasına gizlenmiştir. Kelimeler yatay, dikey, ileri, geri ve çapraz olarak yerleştirilmiştir. Aşağıdaki ipuçlarını kullanarak kelimeleri bulunuz.

I	G	M	W	H	E	X	K	N
B	R	U	C	E	L	L	A	İ
N	O	D	J	M	İ	A	N	E
E	M	İ	K	A	S	T	T	T
W	A	L	O	G	A	E	İ	O
C	T	İ	T	L	Z	X	T	R
A	O	S	Y	Ü	M	N	A	P
S	İ	Y	E	T	U	S	T	F
T	D	O	L	İ	R	Q	İ	İ
L	A	N	P	N	E	H	F	T
E	R	L	O	A	S	T	O	K
Y	T	İ	R	S	A	E	L	A
A	R	Z	K	Y	S	P	M	E
G	İ	İ	İ	O	O	İ	Ö	R
I	T	S	M	N	T	P	Ç	C

1. Rose bengal testi ile teşhis edilen hastalıktır.
2. RF testi ile takip edilen hastalıktır.
3. Alyuvarların aglütinasyonudur.
4. Nicelik belirtir.
5. Gizli enfeksiyonların tespitinde kullanılır.
6. Gruber widal testiyle teşhis edilen hastalıktır.
7. Birincil bağlanma testidir.
8. Kanatlı hayvanlarda görülen yalancı veba hastalığıdır.
9. Antijenin plastik partiküllere yapıştırılmasıdır.
10. β -hemolitik streptokokların teşhisinde kullanılan testtir.
11. Pıhtılaştıran kandan ayrılan limon sarısı renkteki sıvıdır.
12. Seyreltme işlemidir.
13. Serum fizyolojiktir.
14. Tüp aglütinasyon testlerinde tüp yerine kullanılan gereçtir.
15. Hücrenin erimesi, parçalanmasıdır.
16. En iyi aglütinasyon veren antikordur.
17. Pipetaj işlemi kullanılır. β -hemolitik streptokokların teşhisinde kullanılan testtir.
18. Pıhtılaştıran kandan ayrılan limon sarısı renkteki sıvıdır.
19. Tüp aglütinasyon testlerinde tüp yerine kullanılan gereçtir.
20. Hücrenin erimesi, parçalanmasıdır.
21. En iyi aglütinasyon veren antikordur.
22. Pipetaj işlemi kullanılır.

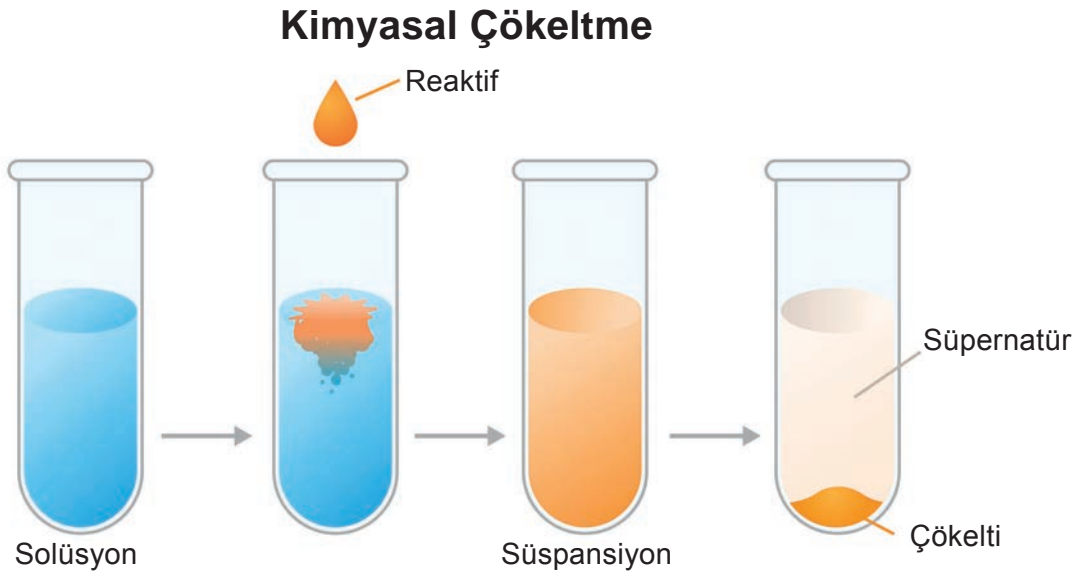
2.2. PRESİPİTASYON TESTLERİ

Suda erimiş durumdaki antijenlerin, elektrolitli ortamda kendilerine özgü immünglobulinler (antikorlar) tarafından bağlanarak çöktürülmesi prensibine dayanan serolojik testlere **presipitasyon testleri** denir. Presipitasyon için suda erimiş antijenler, multivalan (çok değerlikli); antikorlar, en az bivalan (çift değerlikli) olmalıdır. Antikorlar içinde IgG, IgM ve IgA'nın presipitan özelliği vardır (Görsel 2. 10).



Görsel 2.10: Antijen-antikor birleşimi

Uygun ortamlarda birleşen antijen ve antikorların birleştikleri ortamda önce bir bulanıklık meydana gelir. Birkaç saat içinde oluşan antijen-antikor kompleksleri tüpün dibine çöker. Bu olaya **presipitasyon** denir. Antijen-antikor kompleksine **presipitat** denir. Presipitasyon testleri sıvı veya yarı katı ortamda uygulanır (Görsel 2.11).



Görsel 2.11: Presipitasyon

10. UYGULAMA: HALKALI PRESPİTASYON TESTİ

AMAÇ: Halkalı prespitasyon testi ile bakteri ve virüs antijenlerini belirlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 2 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: Tüp taşıyıcısı, 3-5 mm iç çaplı altı adet cam tüp, aranmakta olan antijenlere karşı serumlardan elde edilmiş bağışık serumlar, içinde antijen aranacak olan test sıvısı, normal serum, aranmakta olan antijeni içeren antijen sıvısı (olumlu kontrol), pastör pipetleri ve fizyolojik tuzlu su.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak halkalı prespitasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gereci hazırlayınız.
3. Test tüplerini numaralandırarak tüp taşıyıcısına yerleştiriniz.
4. 1. tüpe birim hacim bağışık serum + 1/1 sulandırılmış test sıvısı koyunuz.
5. 2. tüpe birim hacim bağışık serum + 1/2 sulandırılmış test sıvısı koyunuz.
6. 3. tüpe birim hacim bağışık serum + olumlu kontrol (antijenli sıvı) koyunuz.
7. 4. tüpe birim hacim bağışık serum + tuzlu su koyunuz.
8. 5. tüpe birim hacim normal serum + test sıvısı koyunuz.
9. 6. tüpe birim hacim tuzlu su + test sıvısı koyunuz.
10. Presipitasyon halkasının oluşması bekleyiniz. Genellikle 15 dakikadan itibaren sıvıların birleşme yüzeylerinde presipitasyon halkası oluşmaya başlar.
11. Bazı durumlarda bunun daha belirginleşmesi için 37 °C'de 2 saat bekletilir. Bazen de bunun arkasından bir gece buzdolabında bekletilmesi gerekebilir.
12. Deney kontrollerini yapınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Halkalı prespitasyon testi değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

Not:

- 3 numaralı tüp pozitif bulunmalıdır.
- 4,5 ve 6 numaralı tüp negatif bulunmalıdır.
- 1 ve 2 numaralı tüpte presipitasyon halkalarının görülmesi test sıvısında bağışık serumdaki anti-kora uygun antijenin var olduğu anlamını taşır.

HALKALI PRESPİTASYON TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Tüpleri numaralandırarak tüplüğe yerleştirdi.				
3. Tüplere uygun şekilde serum ve test sıvılarını ilave etti.				
4. Tüplerde presipitasyon halkasının oluşup oluşmadığını gözlemledi.				
5. Deneyin sonucunu raporladı.				
TOPLAM PUAN				

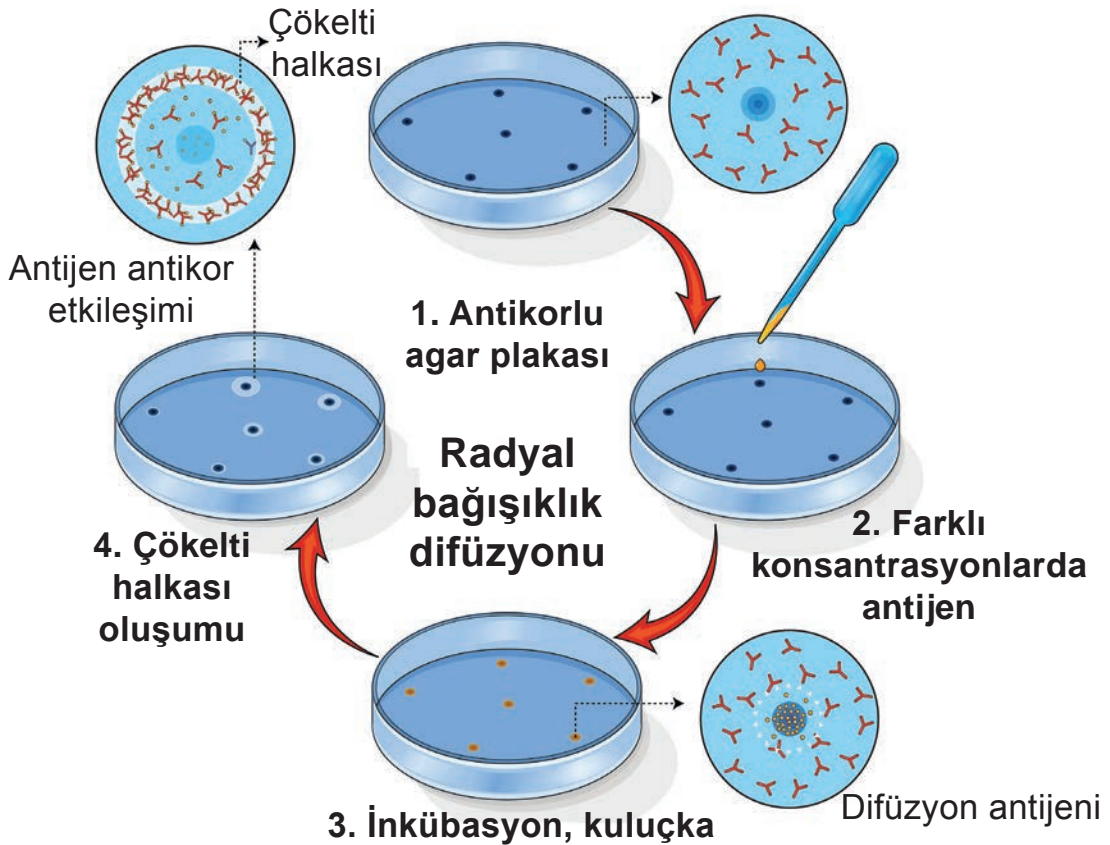
2.2.2. Jel İçinde Yayılma Presipitasyon Testinin Uygulanması

Jelde presipitasyon (immünodifüzyon), antijen ve antikor moleküllerinin birbirine doğru yayılabilirdiği jel veya yarı katı ortamlarda yapılır. Jel içinde birbirine doğru yayılan antijen ve antikor, optimal oranda bulunduğu bölgelerde reaksiyona girerek bir presipitasyon çizgisi veya bandı oluşturur.

Jelde presipitasyon (immünodifüzyon) yapıma şekilleri şunlardır:

- Radyal immünodifüzyon (Mancini metodu)
- Çift yönlü immünodifüzyon (Ouchterlony metodu)
- İmmünoelektroforez
- Zıt yönlü immünoelektroforez
- Laurell (roket) immünoelektroforez

Radyal İmmünodifüzyon (Mancini Metodu): Aranacak antijen için antikor, agarla karıştırılır ve bir tabaka oluşturacak şekilde bir plağa dökülür. Plağa dökülen agarda çukurlar açılır ve aranan antijen azalan sulandırmalarla açılan çukurlara konur. 48-72 saat inkübe edilir. Çukurlardaki antijen, agarın içine doğru yayılır ve bir presipat oluştuğunda çukurun çevresinde bir halka veya hale meydana gelir (Görsel 2.12). Mancini, çukurdaki antijenin konsantrasyonu ile oluşan halkanın çapı ile karesi arasında doğru orantının olduğunu belirlemiştir. Kantitatif ölçümler için standart eğri hazırlanır.



Görsel 2.12: Radyal immünodifüzyon

11. UYGULAMA: RADYAL İMMÜNODİFÜZYON (MANCİNİ METODU)

AMAÇ: Radyal İmmünodifüzyon (Mancini Metodu) ile hazırlanan plakların içinde antijen ve antikorun karşılaşmasında oluşan presipitasyon halkalarının veya halelerin oluşumunu gözlemlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 4 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: Steril petri kutuları, %0,85 tuzlu su ya da 0,2 M fosfat tampon eriyiği, %2'lik agar, antijenli sıvı, pastör pipetleri ve bağışık serumlar.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak Radyal İmmünodifüzyon (Mancini Metodu) testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gereci hazırlayınız.
3. Steril petri kutuları düz bir zemine yerleştiriniz.
4. pH'ı 7,2 olan fizyolojik tuzlu su veya fosfat tamponlu tuzlu su içinde %2'lik agarı eriterek antikorla karıştırınız.
5. Petri kutularına 10 ml agar dökerek yaklaşık 1,5 mm kalınlığında plaklar şeklinde katılaşmasını bekleyiniz.
6. Katılaştıran plaklara 4-5 mm çapında çukurlar açınız.
7. Aranan antijen, azalan sulandırmalarla çukurların içine koyunuz.
8. 48-72 saat inkübe ediniz. (Antijen, çukurdan agarın içine doğru yayılır ve bir presipat oluştuğunda çukurun çevresinde halka veya hale meydana gelir.).
9. Deney kontrollerini ve sonucunu raporlayınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Radyal İmmünodifüzyon (Mancini Metodu) değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

RADYAL İMMÜNODİFÜZYON (MANCİNİ METODU) UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Petri kutularını düz bir zemine yerleştirdi.				
3. Petri kutularına 10 ml agar koyarak katılaşmasını bekledi.				
4. Petri kutularına 4-5 mm çapında çukurlar açarak, aranan antijeni çukurlara koydu.				
5. Petri kutularını 48-72 saat inkübe etti ve deneyin sonucunu raporladı.				
TOPLAM PUAN				

Çift Yönlü İmmünodifüzyon (Ouchterlony Metodu): Jel içinde 1 cm aralıkla 5 mm çaplı çukurlar açılır. Plağa dökülmüş agarın ortasına bir, çevresine birkaç çukur açılır. Antijen ve antikor molekülleri agar plağı üzerinde karşılıklı çukurlara konur. Etüvde 8-10 saat inkübe edilir. Antijen ve antikor, agar içinde birbirine doğru yayılır ve optimal konsantrasyonlarda karşılaştıklarında bir presipitasyon bandı veya çizgisi oluşur. Serumda antikor aranıyorsa ortadakine bilinen antijen, kenardaki çukurlara serum damlatılır. Serumda antijen aranıyorsa ortadakine bilinen antikor, kenardakilere antijen aranan dilüsyonlar damlatılır. Bu testte, aynı seruma karşı teste tabi tutulan birçok antijenin birbirine yakınlığı da ortaya çıkarılabilir.

İmmünoelektroforez: Çift yönlü jel difüzyonunun hızlandırılmış şeklidir. Protein karakterindeki maddelerin elektrik yükleri birbirinden farklı olduğu için hareketleri de farklılık gösterir. Elektriksel alanda antijenlerin elektroforetik olarak ayrıştırılması işlemine **elektroforez** denir. Bu yöntemde agar, ince bir tabaka hâlinde lama yayılarak çukur açılır. Daha sonra bu çukura antijen eklenir ve lam bir elektrik alanına konur. Antijen molekülleri, spesifik pH'de elektrik yüklerinin farklı olmasından dolayı ayrılır. Elektroforez işleminden sonra agardan hareket yönüne paralel bantlar kesilip çıkarılır ve yerlerine antiserumlar doldurulur. Antiserumun yayılması için bir süre beklenir. Uygun antijen antikorla karşılaştığında presipitasyon bandı oluşur. Bu yöntemin kullanıldığı durumlar şunlardır:

- Vücut sıvılarında antijenlerin varlığını ya da yokluğunu saptarken hızlı ve kalitatif bir teknik olması
- Serumda viral antijenleri ve BOS bakteriyel antijenleri saptaması

Zıt Yönlü İmmünoelektroforez: Çabuk yapılan çift yönlü jel difüzyon deneyidir. Lam üzerine 1,5 mm kalınlığında yayılan agarın iki ucuna birer çukur açılır. Çukurun birine antijen diğerine antiserum konur. Antikorum bulunduğu taraf, pozitif kutba; antijenin bulunduğu taraf, negatif kutba bağlanır. Negatif yüklü olan antijen, antiseruma doğru; antikor, elektroendozmozla antijene doğru hareket eder. Karşılaştıkları yerde bir presipitasyon bandı oluşur.

Laurell (Roket) İmmünoelektroforez: Antikor içeren ve pH'yi antikorum hareketsiz antijenin negatif yüklü olmasını sağlayacak şekilde ayarlanmış agarda açılan çukurlara, değişen konsantrasyonlarda antijen veya değişik antijenler eklenir. Elektriksel alan uygulandığında rokete benzer şekilde presipitasyon bandları oluşur. Oluşan presipitasyon bandlarının yüksekliği, eklenen antijen konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Standart eğri hazırlanarak kantitatif ölçüm de yapılabilir.

Jel İçinde Presipitasyon Testi Uygulamaları

Jel içinde presipitasyon deneylerinde tuzlu su içinde çözündürülen agar, düz tabanlı petri kutularına aktarılır ve agarın jel hâlinde katılaşması beklenir. Jel hâlinde katılaştıran agara belirli mesafelerde çukurlar açılır. Antijen ve antikor, karşılıklı çukurlara konulur. Agarda açılan çukurlara koyulan antijen ve antikor birbirine doğru hareket eder ve uygun koşullarda karşılaştığında bir presipitasyon çizgisi oluşturur.

12. UYGULAMA: ÇİFT YÖNLÜ İMMÜNODİFÜZYON (OUCHTERLONY METODU)

AMAÇ: Çift Yönlü İmmünodifüzyon (Ouchterlony Metodu) ile hazırlanan plakların içinde antijen ve antikorun karşılaşmasında oluşan presipitasyon çizgilerinin oluşumunu gözlemlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 2 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: Pastör pipeti, 90 mm çapında düz tabanlı petri kutuları, %0,85 tuzlu su ya da 0,2 M fosfat tampon eriyiği, %1'lik agar, %0,1 sodyum azid (NaN₃), bağışık serumlar ve antijenli sıvı.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak Çift Yönlü İmmünodifüzyon (Ouchterlony Metodu) testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gereci hazırlayınız.
3. % 1'lik agar, %0,85 tuzlu su ya da 0,2 M fosfat tampon eriyiği (pH: 7.2) içinde karıştırıp eritiniz.
4. Çözündürülen agarın içine koruyucu olarak %0,1 sodyum azid ekleyiniz.
5. Düz tabanlı petri kutularına on ml agar dökülerek yaklaşık 1,5 mm kalınlığında plak şeklinde katılaştırınız.
6. Jel içinde 1 cm aralıklarla 5 mm çaplı çukurlar açılır. Plağa dökülmüş agarın ortasına bir, çevresine birkaç çukur açınız.
7. Antijen ve antikor molekülleri, agar plağı üzerinde karşılıklı çukurlara koyunuz. Etüvde 8-10 saat inkübe ediniz. Antijen ve antikor, birbirine doğru agar içinde yayılır ve optimal konsantrasyonlarda karşılaştığında bir presipitasyon bandı veya çizgisi oluşur.
8. Serumda antikor aranıyorsa ortadakine bilinen antijen, kenardaki çukurlara serum damlatınız.
9. Serumda antijen aranıyorsa ortadakine bilinen antikor, kenardakilere antijen aranan dilüsyonlar damlatınız.
 - Bu testte, aynı seruma karşı teste tabi tutulan birçok antijenin birbirine yakınlığı da ortaya çıkarılabilir.
10. Deney kontrollerini yapınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Çift Yönlü İmmünodifüzyon (Ouchterlony Metodu) değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

ÇİFT YÖNLÜ İMMÜNODİFÜZYON (OUCHTERLONY METODU) UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Fizyolojik tuzlu su ile agarı jel hâline getirdi.				
3. Jeli, test tüplerine ilave etti.				
4. Tüplerin üzerine, aranacak antijen test sıvısını ilave etti.				
5. Tüpte presipitasyon halkasının oluşup oluşmadığını kontrol etti.				
TOPLAM PUAN				

13. UYGULAMA: JEL İÇİNDE TÜPTE TEK YÖNLÜ PRESİPİTASYON TESTİNİN YAPILMASI

AMAÇ: Jel içinde tüpte tek yönlü presipitasyon oluşumunu gözlemlemek ve değerlendirmek.

UYGULAMA SÜRESİ: 2 ders saati

ARAÇ GEREÇ: Pastör pipeti, %1,2'lik agar, tüp, tüplük, fizyolojik tuzlu su veya fosfat tamponlu tuzlu su, içinde antijen aranacak test sıvısı, aranmakta olan antijeni içeren antijen sıvısı (olumlu kontrol) ve bağışık serum

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak jel içinde tek yönlü presipitasyon testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gereci hazır ediniz (**Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.**).
3. Agarı, fizyolojik tuzlu su veya fosfat tampon çözeltisi ile karıştırarak jel hâline getiriniz (**Tüpleri numaralandırınız**).
4. Jel hâline getirdiğiniz agarın üzerine bağışık serum ilave ederek karıştırınız ve numaralandırdığınız tüplere ilave ediniz (**Çalışmanızı en az iki paralel ile yapınız.**).
5. Agar-serum karışımı katılaştıktan sonra 1 numaralı tüpün üzerine antijen aranacak sıvıdan yavaşça ekleyiniz. 2 numaralı tüpe olumlu kontrol için antijen içeren sıvıdan ilave ediniz (**Tüpleri dik bir şekilde oda sıcaklığında bekletiniz.**).
6. Bağışık serumdaki antikorlara uygun (**1 numaralı tüp**) antijen varsa bir süre sonra agarlı kısımda bir presipitasyon bulanıklığının oluşmaya başlayıp başlamadığını kontrol ediniz (**Bulanıklık belirli bir bölgede yoğunlaşır**).
7. Antijen-antikor miktarının en uygun bulunduğu uzaklıkta bir presipitasyon diski (zonu) oluşumunu gözlemleyiniz (**2 numaralı tüp pozitif olmalıdır.**). Arkadaşlarınızla yardımlaşınız.
8. İncelenen serumda farklı uzaklıklarda presipitasyon halkaları oluşup oluşmadığını kontrol ediniz (**İncelenen serumdaki antikorlar için uygun birden çok antijen varsa her biri için ayrı uzaklıklarda ayrı presipitasyon diskleri oluşur.**).
9. Deney kontrollerini yapınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Jel İçinde Tek Yönlü Presipitasyon Değerlendirme Ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

JEL İÇİNDE TEK YÖNLÜ PRESİPİTASYON DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Fizyolojik tuzlu su ile agarı jel hâline getirdi.				
3. Jeli, test tüplerine ilave etti.				
4. Tüplerin üzerine, aranacak antijen test sıvısını ilave etti.				
5. Tüpte presipitasyon halkasının oluşumunu kontrol etti.				
TOPLAM PUAN				

2.3. KOMPLEMAN BİRLEŞMESİ VE FLOKÜLASYON DENEYLERİ

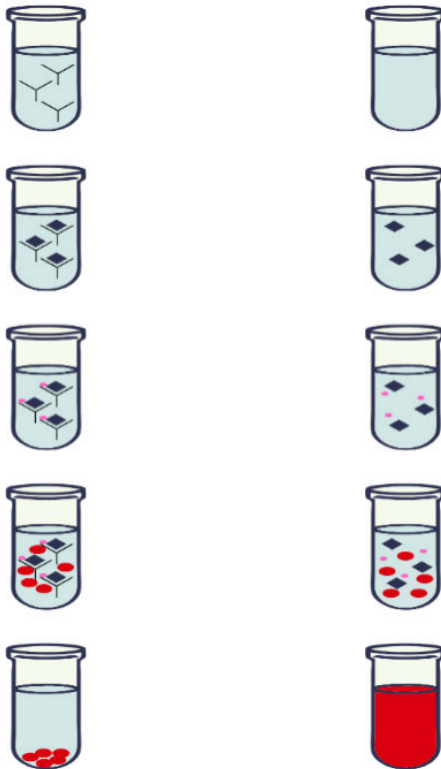
Kompleman birleşmesi, hücre lizisine neden olan bir serum proteindir. Eritrosit hücreleri, spesifik antikor ile bir araya geldiğinde ortamda antijen varsa antijen-antikor kompleksine bağlanan komplement eritrositi lize eder. Komplement fiksasyon (CF) testi, serumdaki antikor varlığını ortaya koyan ikincil bağlanma testidir. Komplement sistemi içinde yirmiden fazla serum proteini bulunur. Bunların her biri numaralandırılmış C harfi ile (C1, C2, C3... C9) gösterilir.

2.3.1. Kompleman Birleşme Deneyleri

Kompleman birleşmesi, antijen-antikor oranına dayalı iki aşamalı bir testtir. Antikor aranan serumların azalan miktarda seri dilüsyonları hazırlanır. Hazırlanan antikor seri dilüsyonlarına eşit miktarda antijen ilave edilir. Serum örneğine eklenen antijenle antikor (var ise) birleşerek immün kompleks oluşturur. Serum titrasyonu yapılmış ve antijen eklenmiş olan tüplerin her birine eşit miktarda kompleman eklenir. Eklenen kompleman, immün kompleks oluşmuş tüplerde aktive olur ve tüketilir (Antijen-antikor kompleksine bağlanır.). Dilüsyon nedeniyle belirli bir tüpten sonra eklenen kompleman, antijen-antikor kompleksi oluşmadığı için tüketilmez.

Hemolitik Sistem: Testte kullanılan koyun eritrositleri + anti-koyun eritrosit antikorlarına **hemolitik sistem** adı verilir. Hemolitik sistem, testte indikatör sistem olarak kullanılır (Tavşan kulak venasına koyun eritrositleri verilerek elde edilen anti-koyun eritrosit serumu.).

Bütün tüplere indikatör hücreler (anti-eritrosit antikor kaplı eritrositler) eklenir. İmmün kompleks aracılığı ile tüplere eklenen kompleman tüketilmiş ise eklenen indikatör hücrelerde parçalanma olmaz, zamanla tüpün dibine çöker. Diğer bir ifade ile hemolizin görülmemesi sonucun pozitif olduğunun (serumda antikor bulunduğunun) göstergesidir. Hemolizin görülmesi sonucun negatif olduğunun (serumda antikor bulunmadığının) göstergesidir (Görsel 2.13).



Sol baştaki tüpte antikor (+), sağdaki tüpte antikor (-) bulunmaktadır. Tüplere antijen eklenir. Soldaki tüpte antijen-antikor reaksiyonu gerçekleşir. Sağdaki tüpte antijen-antikor reaksiyonu gerçekleşmez. 3. tüplere kompleman eklenir. Soldaki tüpte kompleman antijen antikor kompleksine bağlanır. Sağdaki tüpte kompleman bağlanmaz. 4. tüplere hemolitik sistem eklenir. Soldaki tüpte açıkta kompleman olmadığından hemolitik sisteme katılmaz. Sağdaki tüpte kompleman olduğundan hemolitik sisteme katılır. 5. tüpte eritrositler dibe çöker (hemoliz yoktur). Sağdaki tüpte eritrositler kompleman tarafından hemoliz edilir.

Görsel 2.13: Kompleman birleşme

14. UYGULAMA: KOMPLEMAN BİRLEŞME DENEYLERİNDE ANTİKOR - ANTİJEN OLUŞUMU

AMAÇ: Kompleman birleşme deneylerinde antikor – antijen oluşumunu gözlemlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 4 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: Pastör pipeti, titre edilmiş şüpheli serum, titre edilmiş bilinen antijen, komplement, hemolitik sistem, deney tüpü, tüplük ve etüv.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak Kompleman birleşme deneyleri testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gereci hazırlayınız.
3. Tüplere aranan antikorun azalan miktarlarda seri dilüsyonlarını hazırlayınız.
4. Hazırladığınız seri dilüsyonların üzerine eşit miktarda titre edilmiş antijen ilave ediniz.
5. Tüplerin üzerine komplement ilave ediniz.
6. 37 °C'lik etüvde 30 dk. bekletiniz. Şüpheli serum içinde antijene karşı homolog antikor (varsa) antijenle birleşir ve komplementte bu komplekse bağlanır. Eğer antikor yoksa antijenle birleşme olmaz, komplementte bağlanamaz ve serbest kalır.
7. Birinci aşamada komplementin bağlandığını veya bağlanmadığını anlamak için tüplere hemolitik sistem olarak adlandırılan (hemolitik serum + koyun alyuvarları) bir karışım ilave ediniz. Tüpler iyice karıştırınız ve yine 37 °C'de 30 dk. inkübe ediniz. Sürenin sonunda alyuvarlarda erime yoksa komplement birinci aşamada yani antikor-antijen kompleksinde tutulmuştur. Bu durum şüpheli serumda antikorun varlığını gösterir (pozitif reaksiyon).

Not: Eğer hemoliz varsa komplement birinci reaksiyonda tutulamamış ve serbest kalan komplement, hemolitik serumun alyuvarlarını eritmesine yol açmıştır (negatif reaksiyon). Bu testte, aynı seruma karşı teste tabi tutulan birçok antijenin birbirine yakınlığı da ortaya çıkarılabilir.

8. Deney kontrollerini yapınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Kompleman birleşme deneyleri değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

KOMPLEMAN BİRLEŞME DENEYLERİNDE ANTİKOR - ANTİJEN OLUŞUMU UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Antikor seri dilüsyonlarını hazırladı.				
3. Tüplere eşit miktarda antijen ve komplement ilave ederek 37 °C'de 30 dk. bekletti.				
4. Tüplere hemolitik sistem ilave ederek 37 °C'de 30 dk. bekletti.				
5. Tüplerde hemolizin oluşup oluşmadığını kontrol etti ve sonucu raporladı.				
TOPLAM PUAN				

2.3.2. Flokülasyon Deneyleri

Flokülasyon, toksin (antijen) ve antitoksin (antikör) arasında meydana gelen reaksiyon sonucunda tüpte yaygın bir bulanıklığın meydana gelmesidir. Flokülasyon dar bir bölgede oluşur. Bu bölge dışında kalan kısımlarda prozon ve postzon olayları görülür.

Flokülasyon deneyinde serumda antitoksin (antikör) araması yapılırken serumun azalan miktarda dilüsyonları hazırlanarak tüplere aktarılır. Tüplere aktarılan dilüsyonların üzerine eşit miktarda toksin (antijen) ilave edilir ve karışım 52 °C'de tutulur. Tüpler sık sık kontrol edilir ve ilk bulanıklık görülen tüp, flokülasyon titresini verir. Toksinin miktarı, Lf (Flokülasyon sınır birimi.) cinsinden ifade edilir. Bir Lf birimi, bir birim antitoksini en çabuk floküle eden toksin miktarıdır.

Treponema pallidum bakterisinin neden olduğu sifilis hastalığının (frengi) serolojik tanısında uygulama kolaylığı olması, çabuk sonuç vermesi nedeniyle çok kullanılan ve presipitasyon temeline dayanan VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), RPR (Rapid Plazma Reagin) flokülasyon deneyidir (Görsel 2.14).



Görsel 2.14: Anti sifilis test kaseti

15. UYGULAMA: ANTİ-SİFİLİS KASET TESTİ

AMAÇ: Anti-Sifilis kaset testi ile *Treponema pallidum* antikörleri kalitatif olarak tespit etmek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: Pastör pipeti ve anti-sifilis test kaseti.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak Anti-Sifilis kaset testi değerlendirme deneyleri testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gereci hazırlayınız.
3. Test kasetini, poşetinden çıkarıp düz bir zemin üzerine yerleştiriniz.
4. Numune deliğine 2 damla numune/serum damlatınız.

Testin Değerlendirilmesi

- 10 dk. sonra okunur.
- Yalnız "C" harfi üzerinde kalan bölümde yer alan tek çizgi oluşursa sonuç negatiftir.
- Test kasetinde hem "C" hem "T" harfi üzerinde kalan bölümde yer alan çizgiler (hangi çizginin önce belirlediği dikkate alınmayacak) oluşursa sonuç pozitiftir.
- Test kasetinde 10 dakika içinde herhangi bir çizgi belirmezse sonuç geçersizdir. Test tekrar edilmelidir

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Anti-Sifilis kaset testi değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

ANTİ-SİFİLİS KASET TESTİ UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Test kitini düz bir zemine yerleştirdi.				
3. Numune deliğine 2 damla numune/serum damlattı.				
4. 10 dk. sonra test kitini kontrol etti.				
5. Sonucu raporladı.				
TOPLAM PUAN				

2.3.3 Nötralizasyon Testlerinin Uygulanması

Hücrede enfeksiyon yapan virüsün, kendisine spesifik oluşmuş antikorla (antiviral antikor) enfeksiyon yapma yeteneğinin yok edilmesi işlemine **nötralizasyon** adı verilir. Aynı odada yaklaşık 30-40 dk. bekletildikten sonra virüs, canlı hücrelere tekrar ekilerek etkisinde azalma ya da yok olma görülmesi beklenir.

Nötralizasyon testi, virüsler dışında toksin ve enzimler için de uygulanabilir. Nötralizan antikorların ortaya konması için hücre kültürlerinden ve embriyolu yumurtalardan yararlanılır. Hücrelerde sitopatik etki (cytopathic effect = cpe) yapan veya embriyolu yumurtalarda ölüme neden olan virüsler, kendine karşı oluşmuş antiviral antikorla oda ısısında 30-40 dk. tutulduktan sonra canlı sistemlere ekildiğinde hücrelerde CPE'ler ve embriyolarda ölüm görülmez (nötralizasyon pozitif) veya bu olgularda antikorun miktarına göre değişik derecede azalmalar görülür.

Nötralizasyon testi hem antijenlerin (virüslerin) hem de spesifik nötralizan antikorların belirlenmesinde kullanılabilir. Nötralizasyon reaksiyonundan deneme hayvanlarında proteksiyon (koruma) testi olarak da yararlanılabilir. Virüslerin ve antikorların nötralizasyon testiyle infektif titreleri (%50) ve nötralizan titreleri (%50) saptanabilir.

Nötralizasyon testlerinin spesifitesi ve sensitivitesi yüksek testler olmalarından dolayı ancak donanımlı ve gelişmiş laboratuvarlarda uygulanabilir.

CPE: Virus üremesine bağlı olarak hücrelerde meydana gelen ve mikroskopik olarak tespit edilebilen değişikliklere **sitopatik etki (cytopathic effect = cpe)** denir.

Spesifite: Bir serolojik testin gerçek negatif sonuçları verme yeteneğinin ölçüsüdür.

Sensitivite: Bir serolojik testin gerçek pozitif sonuçları verme yeteneğinin ölçüsüdür.

2.4. ERKEN TANIYA YÖNELİK SEROLOJİK TESTLER

Serolojik testlerin amacı antijen ve antikor molekülleri arasında meydana gelen kimyasal reaksiyonları tespit etmektir.

2.4.1. Tekniğine Uygun Olarak Serolojik Testleri Uygulama

Viral veya bakteriyel enfeksiyonların sonucunda meydana gelen hastalığı veya aşılama sonrasında vücutta oluşan antikor miktarını tespit etmek amacıyla şüpheli serum sulandırılıp üzerine uygun miktarda antijen eklenir. Daha sonra serum uygun sıcaklık ve sürede inkübe edilerek, uygun antikorun oluşup oluşmadığı gözlemlenir. Konakçının vücut sıvılarında veya dokularında infeksiyöz bir hastalık etmeni aranacaksa antijen sulandırılıp, üzerine uygun miktarda antikor eklenerek belirli sıcaklıkta ve sürede inkübe edilir. İnkübasyon süresi sonucunda reaksiyonun gözlemlendiği en yüksek antijen sulandırması antijen titresini verir. Bazı testler sulandırma yapılmadan direkt uygulanır. Bu durumda serumun veya antijenin titresini belirlemez ve sonuç kantitatif (pozitif veya negatif) olarak değerlendirilir. Serolojik testlerin kullanım amacı şudur:

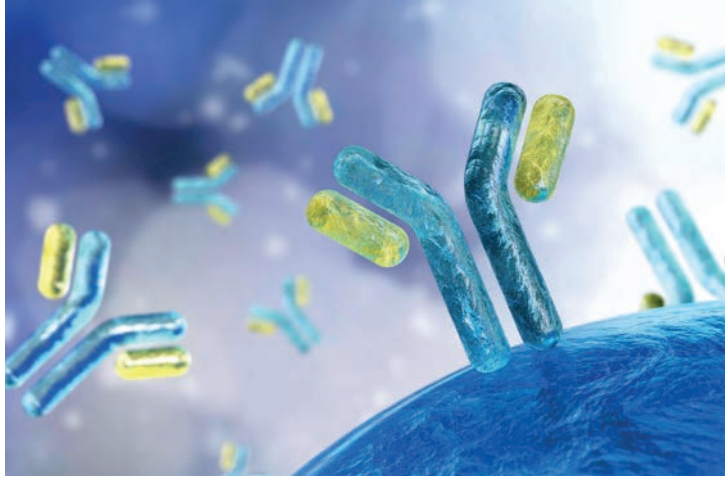
- İnfeksiyöz hastalıkların tanısı
- Aşı programlarının düzenlenmesi amacı ile aşılama öncesi maternal antikor düzeyinin belirlenmesi ve aşı uygulamalarından sonra koruyucu bağışıklığın saptanması
- Humoral immün yetmezliklerin belirlenmesi
- Vücut dokularında veya kan, lenf vb. vücut sıvılarında antijen varlığının saptanması
- Antijen ve antikor moleküllerinin tiplendirilmesi

2.4.1.1. Floresans [İmmünfluoresans (IFA)] Antikor Testi

Bir antijen-antikor reaksiyonu olan bu testte, bilinen antikorlar fluorokrom bir boya (FITC, Auramine, Rhodamin vb.) ile boyanıp antijen bulunan homolog preparat üzerine konursa boyalı antikorlar antijenle birleşir. UV-ışınlarıyla donatılmış mikroskop altında sarı-yeşil parlak bir floresans verildiğinde kolayca fark edilir. Bu test iki şekilde uygulanabilir.

Direkt IFA Testi: Şüpheli numune (sıvı, hücre kültürü vb.), temiz bir lâm üzerine yayılır ve asetonla fikse edilir. Üzerine FITC (fluorescein isothiocyanate) ile boyalı bilinen antikordan konur. Bir süre bekletildikten sonra yıkanır, kurutulur ve UV-ışınları altında mikroskopta incelenir. Eğer preparat üzerinde homolog antijen varsa boyalı antikorla birleşerek mikroskop altında parlaklığı görülecektir (pozitif reaksiyon). Antijen yoksa veya başka bir etken varsa böyle bir birleşme olmayacak, boyalı antikor yıkanma sırasında giderileceğinden mikroskop altında parlaklığı görülmeyecektir (negatif reaksiyon).

İndirekt IFA Testi: Temiz bir lâm üzerine bilinen antijen konarak fikse edilir. Üzerine şüpheli serum ilave edilerek bir süre bekletilir ve yıkanır. Kuruduktan sonra lâm üzerine FITC ile boyanmış antiglobulin (antihuman, antibovine vb.) ilave edilir ve bir süre sonra yıkanır kurutulur. Mikroskop altında muayene edilir. Eğer şüpheli (boyasız, birinci serum) serumda lâmdaki antijene karşı homolog antikor varsa antijenle birleşir ve preparat üzerinde kalır. Yıkanınca gitmez. Bunun üzerine boyalı antikor konduğunda bu ikinci antikor kompleksle birleşerek mikroskop altında sarı yeşil bir parlaklık gösterir [pozitif reaksiyon (Görsel 2.15)]. Eğer şüpheli serumda (ilk serum) antikor yoksa (veya serum başka bir etkene ait ise) lâm üzerinde birleşme olmaz ve boyalı antikor da bağlanamayacağından mikroskop altında floresans gözlenemez (negatif reaksiyon).



Görsel 2.15: İndirekt IFA testi

BİLGİ KÖŞESİ

Fluorescens (Floresans) Mikroskop

Aydınlanmasında güçlü kaynaklar kullanılan (ultraviyole ışınları yayan civa veya xenon yakan arka lambaları) bir mikroskop çeşididir. Floresan maddelerin karanlık bir zemin üzerinde parlak ışıklar yaydığı ve insan gözünün görme sınırı altındaki dalga boylu ışınların kullanıldığı, doku kesitlerinin görülebilirliğini sağlayan mikroskop türüdür. Biyolojik örnekler önceden elde edilmiş özgül antikorlarla boyanarak istenilen yapı görüntülenir. Görüntü elde edebilmek için bu ışınlarla karşılaştığında floresan veren boyalar kullanılır. Parazitoloji ve bakteriyolojide önemli yer tutar (Görsel 2.16).



Görsel 2.16: Floresans mikroskop

16. UYGULAMA: FLORESAN MİKROSKOBU İLE DİREKT İFA TESTİ

AMAÇ: Floresan mikroskopu ile direkt İFA testi uygulamak.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati.

ARAÇ GEREÇ: Floresan mikroskop, aseton, lam, boyalı bilinen antikor ve şüpheli numune

GÖREV: Verilen işlem basamaklarını uygulayarak Anti-Sifilis kaset testini yapınız.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gerecin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Şüpheli numuneyi lam üzerine yayarak asetonla fikse ediniz.
4. Lamın üzerine bilinen boyalı antikordan ilave ediniz.
5. Bir süre bekledikten sonra yıkayarak kurutunuz.
6. Floresan mikroskopta inceleyiniz.

Not:

- Eğer preparat üzerinde homolog antijen varsa boyalı antikorla birleşerek mikroskop altında parlıtlı olarak görülecektir (pozitif reaksiyon).
- Antijen yoksa veya başka bir etken varsa böyle bir birleşme olmayacak, boyalı antikor yıkanma sırasında giderileceğinden mikroskop altında parlıtlı görülmecektir (negatif reaksiyon).

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Floresan mikroskopu ile direkt İFA testi değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

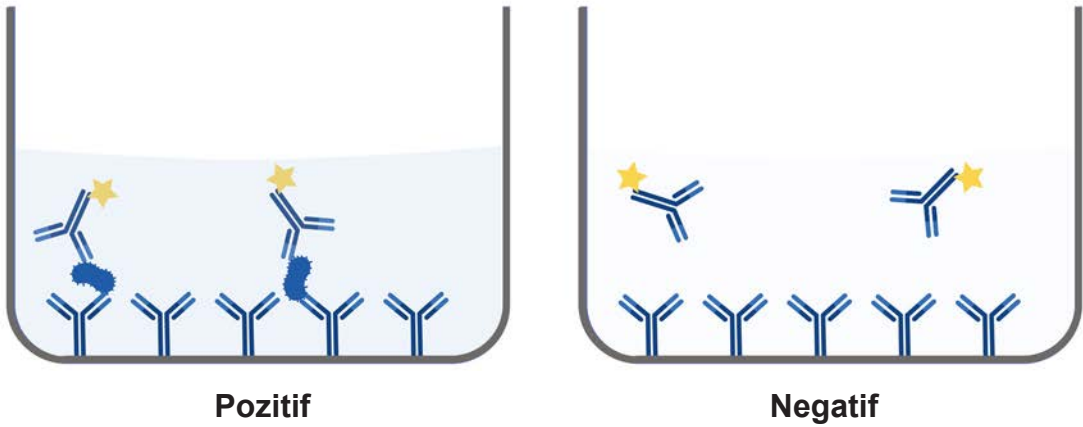
FLORESAN MİKROSKOBU İLE DİREKT İFA TESTİ UYGULAMASI ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Numuneyi lamın üzerine yaydı ve asetonla fikse etti.				
3. Üzerine bilinen boyalı antikor ilave etti.				
4. Lamı yıkayarak kuruttu.				
5. Floresan mikroskop ile incelemeleri yaparak sonucu rapor etti.				
TOPLAM PUAN				

2.4.1.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay [(Enzim linkit immünosorbent aziy (ELİZA)]

Kullanışlı, duyarlı ve spesifik bir testtir. Bu test enzime immunoassay (EIA) (enzim linkit immünosorbent aziy) (ELİZA) olarak da tanınır ve test için çeşitli aletler geliştirilmiştir. Burada ikinci antikor, bir enzimle (horse redish peroksidase) işaretlenmiştir. Ortama katılan kromojen substrat, pozitif olgularda renk meydana getirir ve buna göre değerlendirme (kolorimetrik olarak) yapılır. ELISA ile hem antikor hem de antijen aranabilir. Antikor araması yaparken bilinen antijen, plastik yüzeylere (plastik boncuk, plastik tüp, vb.) adsorbe edilir. Üzerine şüpheli serum konur. Bir süre inkübe edildikten sonra yıkanır. Üzerine enzimle işaretli antiglobulin (antihuman, anti bovine vb.) ilave edilir. Bir süre inkübe edildikten sonra yıkanarak üzerine enzime uygun kromojen substrat eklenir. İnkübe edilir ve yıkanır. Eğer şüpheli serum (ilk serum), antijene ait homolog antikor taşıyorsa plastik yüzeyde bir antijen-antikor kompleksi oluşur. Bunun üzerine enzimle işaretli ikinci antikor konulunca bu antikorlar komplekse birleşerek kompleks üzerinde kalır. Komplekse ilave edilen kromojen substrat, enzimle reaksiyona girerek renk oluşturur ve bu renk kolorimetrik olarak değerlendirilir (pozitif reaksiyon). Negatif olguda renk oluşmaz (Görsel 2.17).

Sanwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)



Görsel 2.17: ELISA testinde pozitif ve negatif görünüm

Kromojen substratlar, kullanılan enzime göre değişiklik gösterir. Peroksidaz enzimi için 5-aminosalisilikasit, alkalen fosfataz enzimi için ise 4-nitrofenil fosfat kullanılır.

Antijen araması yaparken plastik yüzeylere bilinen antikor adsorbe edilir. Bunun üzerine şüpheli (bilinmeyen) antijen konur. Bir süre inkübe edildikten sonra yıkanır. Üzerine bilinen (aranan) antijene karşı elde edilmiş ve enzimle işaretli antikor ilave edilir. İnkübe edilerek yıkanır. Yıkama işleminden sonra enzime uygun kromojen substrat eklenir, bir süre inkübe edildikten sonra yıkanır. Oluşan renge göre bir değerlendirme yapılır. Bu testte eğer şüpheli materyal içinde plastik yüzeye bağlanmış olan antikorlar için homolog antijen varsa bunlar antikorlar için birleşir ve bir immün kompleks oluşur. Sonradan katılan, antijene karşı oluşturulmuş ve enzimle bağlanmış spesifik antikor da bu kompleks-teki antijene bağlanır. En son katılan kromojen substrat da komplekste var olan enzimle reaksiyona girerek renk verir ve kolorimetrik olarak değerlendirilir (pozitif reaksiyon). Negatif olguda (yani antijen yok veya homolog değilse) renk meydana gelmez. Çünkü immün kompleks oluşmadığından enzimle işaretli ve antijene spesifik antikor da birleşemez, yıkanınca giderilir. Ortamda enzim olmayınca substrat reaksiyona giremez aynı kalır ve bu da yıkanınca plastikten çıkar. Böylece renk oluşamaz.

ARAŞTIRIP ÖĞRENELİM

ELISA yönteminin kullanım alanlarını araştırınız. Araştırma sonuçlarınızı slayt şeklinde sınıf arkadaşlarınıza sununuz.

17. UYGULAMA: ELISA YÖNTEMİ İLE ANTİKOR TESTİ

AMAÇ: ELISA yöntemi ile antikor aramak.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati

ARAÇ GEREÇ: Plastik tüp, plastik boncuk, tüplük, içinde antikor aranacak test sıvısı, bilinen antijen, antiglobulin ve kromojen substrat.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarına uyarak örnekte antikor olup olmadığını belirlemeniz beklenmektedir.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gereci hazırlayınız. Malzemelerin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Bilinen antijeni plastik tüp veya plastik boncuğa adsorbe ediniz.
4. Üzerine şüpheli serum koyunuz.
5. Bir süre inkübe ettikten sonra yıkayınız. Sabırlı olunuz.
6. Üzerine enzimle işaretli antiglobulin (antihuman, anti bovine vb.) ilave ediniz.
7. Bir süre inkübe ettikten sonra yıkayarak üzerine enzime uygun kromojen substrat ekleyiniz (İnkübe edilir ve yıkanır.).
8. Komplekse ilave edilen kromojen substrat, enzimle reaksiyona girerek renk oluşturursa sonucu pozitif raporlayınız, renk oluşmaz ise sonucu negatif raporlayınız.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından Elisa Yöntemi ile Antikor Aramak Değerlendirme Ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

ANTİKOR TESTİ UYGULAMASI DERECELENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Antijeni plastik malzemeye adsorbe etti.				
3. Üzerine şüpheli serumdan ilave ederek inkübe etti.				
4. Üzerine enzime uygun kromojen substrat ilave etti.				
5. Renk oluşumunu gözlemleyerek sonucu rapor etti.				
TOPLAM PUAN				

2.4.1.3. Radioimmünassay (RIA)

Antikor veya antijen aramada yararlanılan bu test ELISA'nın bir benzeridir ancak bu testte immünglobulinler (antihuman, antibovine vb.) radyoaktif maddelerle (radioisotoplar ^{14}C , ^{125}I vb.) konjuge (eşlenik) edilmiştir. Pozitif reaksiyonlarda antijenle antikor birleştiğinde meydana gelen immün kompleks, bir radyoaktivite kazanır. Bu da özel sayıcılarla (gama sayıcısı dedektör) saptanır. Belirlenen radyo aktivitenin derecesi ölçülür. Negatif olgularda bir radyoaktivite tespit edilemez. Kompetitif RIA'da ise saptanan maddelerin miktarı da belirlenebilir. RIA testleri ancak donanımlı ve gelişmiş laboratuvarlarda uygulanabilir.

2.4.1.4. Bazı Virütik Hastalıkların Serolojik Tanı Testlerinin Uygulanması

Hasta kanında antikor araştırması yapılarak serolojik tanı konur. Virüs enfeksiyonlarında oluşan antikorların ortaya çıkarılması ve ölçülmesi amacıyla birçok yöntem kullanılır.

Hepatit B (HBsAg) Testi: Hepatite neden olan virüsler içinde en çok rastlanılan virüsdür. Hepatit B virüsü en ağır tahribatı karaciğerde oluşturur. Hepatit B tedavi edilmediği takdirde çok ağır seyreden karaciğer enfeksiyonlarına (siroz) ve karaciğer kanseri gibi hastalıklara neden olur. Hepatit B virüsünün kuluçka süresi 1-6 ay arasında değişir.

Hepatit B virüsü; diş tedavisinde kullanılan sterilize edilmemiş malzemelerden, kan ürünlerinden, cinsel temastan, damar yoluyla alınan uyuşturucu iğnenin ortak kullanımından, sterilize edilmemiş dövme, akupunktur ve kulak delme aletlerinden bulaşabilir. Ayrıca anne karnındaki bebeğe, anne tarafından veya doğum esnasında hepatit B virüsü bulaşabilir. HBsAg testi, mikrobiyoloji laboratuvarında otoanalizörde veya ticari olarak satışı yapılan değişik firmaların ürettiği test kitleri ile yapılır (Görsel 2.18). Test kitleri, numune içinde 0,5ng/ml oranına kadar HBsAg virüsünü tespit edebilir.



Görsel 2.18: Hepatit B test kiti

İnsan serum ya da plazmasında hepatit B yüzey antijenine karşı vücutta antikor oluşup oluşmadığını belirlemek amacıyla yapılan bir testtir. Bu testte hepatit B immünokromatografik tabanlı kalitatif olarak belirlenir.

İmmün Yetmezlik Sendromu (AIDS, Acquired Immune Deficiency Syndrome): AIDS'in etkeni HIV (Human Immüne Deficiency Virüs) adlı virüsdür. HIV1 - HIV2 olarak iki tipi bilinmektedir. Virüs insanlara cinsel ilişki, kan ve kan ürünleri ile bulaşır. Gebelik döneminde annenin hastalığa yakalanması durumunda hastalık fetüse de bulaşır. HIV testi, mikrobiyoloji laboratuvarında otoanalizörde bakılabildiği gibi immünokromatografik prensibe dayanan hastalığa karşı özel olarak üretilmiş ve sonucu kantitatif olarak veren test kitleri de geliştirilmiştir (Görsel 2.19).

İnsan serum ya da plazmasında HIV1-HIV2 virüsüne karşı antikor oluşup oluşmadığını kantitatif olarak belirlemek amacıyla yapılan bir testtir.



Görsel 2.19: HIV test kiti

18. UYGULAMA: İNSAN SERUM YADA PLAZMASINDA HEPATİT B YÜZEY ANTİJENİ ARAMA

AMAÇ: İnsan serum ya da plazmasında hepatit B yüzey antijenine karşı vücutta antikor oluşup oluşmadığını immünokromatografik tabanlı kalitatif olarak belirlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati

ARAÇ GEREÇ: HBsAg test kiti, tek kullanımlık plastik damlalık ve taze serum veya plazma örneği

GÖREV: Verilen işlem basamaklarına uyarak insan serum ya da plazmasında hepatit B yüzey antijeni aramanız beklenmektedir.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gerecin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Oda sıcaklığında bulunan test kiti, poşetinden çıkarılarak düz bir zemine yerleştiriniz.
4. Plastik damlalık yardımıyla serum veya plazmadan alınan numuneden test kiti deliğine 2-3 damla damlatınız.
5. Sonucu en geç 20 dk. içinde okuyunuz.

Sonucun Değerlendirilmesi

- Test kitinde yalnız "C" harfinin çizgisi renk değiştirirse sonuç negatiftir.
- Eğer hem "C" hem de "T" harfi belirginleşirse sonuç pozitiftir.
- 20 dk. içinde herhangi bir çizgi oluşmazsa test tekrarlanmalıdır.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından insan serum ya da plazmasında hepatit B yüzey antijeni arama Değerlendirme Ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

İNSAN SERUM YA DA PLAZMASINDA HEPATİT B YÜZEY ANTİJENİ ARAMA UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Test kitini düz bir zemine yerleştirdi.				
3. Test kitine serumdan 2 -3 damla damlattı.				
4. Test kitini kontrol etti.				
5. Sonucu raporladı.				
TOPLAM PUAN				

19. UYGULAMA: İNSAN SERUM YA DA PLAZMASINDA HIV1-HIV2 VİRÜSÜNÜ KALİTATİF OLARAK BELİRLEME

AMAÇ: İnsan serum ya da plazmasında HIV1-HIV2 virüsüne karşı antikor oluşup oluşmadığını kalitatif olarak belirlemek.

UYGULAMA SÜRESİ: 1 ders saati

ARAÇ GEREÇ: Anti HIV test kiti, tek kullanımlık plastik damlalık, serum ya da plazma örneği.

GÖREV: Verilen işlem basamaklarına uyarak insan serum ya da plazmasında HIV1-HIV2 virüsünü kalitatif olarak belirlemeniz beklenmektedir.

İŞLEM BASAMAKLARI

1. İş sağlığı ve güvenliği önlemlerini alınız.
2. Kullanacağınız araç gerecin temiz ve kuru olmasına dikkat ediniz.
3. Oda sıcaklığında bulunan test kiti, poşetinden çıkarılarak düz bir zemine yerleştiriniz.
4. Plastik damlalık yardımıyla serum veya plazmadan alınan numuneden test kiti deliğine 2 damla damlatınız.
5. Sonuçları en geç 20 dk. içinde okuyunuz.

Sonucun Değerlendirilmesi

- Test kitinin üzerinde bulunan "C" ve "T" harflerinin bulunduğu çizgiler renk verirse sonuç pozitifdir (HIV'e karşı vücutta antikor var demektir.).
- Yalnız "C" harfinin bulunduğu kısımda renk değişimi olursa sonuç negatiftir (Vücutta HIV'e karşı antikor yok demektir.) diye raporlanır.
- Yirmi dakika içinde herhangi bir renk oluşumu görülmez ise test tekrarlanmalıdır.
- Test kitinin verdiği sonuçlar, mutlaka ek tanı ve teşhis yöntemleriyle uzmanlar tarafından desteklenmelidir.

DEĞERLENDİRME: Çalışmanız ders öğretmeni tarafından İnsan serum ya da plazmasında HIV1-HIV2 virüsünü kalitatif olarak belirleme değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilecektir. Öğrencinin bu ölçekteki toplam puanı 50 ve üzerinde ise bu öğrenme için başarı düzeyi yeterlidir. Öğrencinin ölçekteki toplam puanı 49 ve altında ise uygulama tekrar edilmelidir.

Çalışmanızı planlarken ölçekte yer alan ölçütleri dikkate alınız.

İNSAN SERUM YA DA PLAZMASINDA HIV1-HIV2 VİRÜSÜNÜ KALİTATİF OLARAK BELİRLEME UYGULAMASI DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

ÖLÇÜTLER	DERECELER			
	Çok iyi (20)	İyi (15)	Orta (10)	Geliştirilebilir (5)
1. Çalışma öncesi gerekli hazırlıkları yaptı.				
2. Test kitini düz bir zemine yerleştirdi.				
3. Test kitine serumdan 2 damla damlattı.				
4. Test kitini en geç 20 dk. sonra kontrol etti.				
5. Sonucu raporladı.				
TOPLAM PUAN				

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A. Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise “D”, yanlış ise “Y” yazınız.

1. () Antijenlerin elektrolitli ortamda kendilerine özgü antikorlar tarafından bağlanarak çöktürülmesi prensibine dayanan serolojik testlere presipitasyon testleri denir.
2. () Antijen-antikor kompleksine presipitasyon denir.
3. () Halkalı presipitasyon testinin uygulanmasında tüplerin çapına ve büyüklüğüne göre 0, 5 ml ile 2 ml oranında antikor ile azalan miktarlarda antijen sıvısı eklenir.
4. () Mancini metodunda inkübasyon süresi 48-72 saattir.
5. () Kompleman birleşme deneylerinde hemolizin görülmesi sonucun negatif olduğunun (serumda antikor bulunmadığının) göstergesidir.
6. () Antikor ve antijen moleküllerinin tam olarak reaksiyona girdiği optimal düzeye post zon adı verilir.

B. Aşağıdaki sorularda verilen boşlukları uygun sözcüklerle doldurunuz.

7. Presipitasyon için suda erimiş antijenler multivalan (çok değerlikli), antikorlar ise en az olmalıdır.
8. Enfeksiyon hastalıklarında presipitasyondan koymak amacıyla yararlanılır.
9. Antijenlerin elektroforetik olarak ayrıştırılması işlemine denir.
10. Serum titrasyonu yapılmış ve antijen eklenmiş olan tüplerin her birine eşit miktarda eklenir.
11. Toksin (antijen) ve antitoksin (antikor) arasında meydana gelen reaksiyon sonucunda tüpte yaygın bir bulanıklığın oluşmasına adı verilir.
12. Virüs ve bakterilerin enfeksiyon yapma yeteneğinin yok edilmesi işlemine adı verilir.

C. Aşağıda verilen soruları cevaplayarak alttaki boşluklara yazınız.

13. Aglütinasyonu açıklayınız.

.....
.....

14. Zon fenomenini açıklayınız.

.....
.....

15. Lam aglütinasyon testi hangi amaçla yapılır? Pozitif ve negatif sonuç nasıl anlaşılır?

.....
.....

16. Tüp aglütinasyon testi hangi amaçla yapılır? Pozitif ve negatif sonuç nasıl anlaşılır?

.....
.....

17. Aglütinasyon titresini açıklayınız.

.....
.....

18. Serum antikor titresini açıklayınız.

.....
.....

19. Antijen titresini açıklayınız.

.....
.....

20. Tüp aglütinasyon testlerinde dilisyon neden yapılır, açıklayınız.

.....
.....

21. Hemaglütinasyon testinin diğer aglütinasyon testlerinden farkı nedir?

.....
.....

22. Hemaglütinasyon inhibisyon testinin amacı nedir?

.....
.....

23. Lateks aglütinasyon testinin prensibi nedir?

.....
.....

24. Rose bengal testinin yapıma amacı nedir?

.....
.....

25. Gruber widal testi neden yapılır?

.....
.....

26. ASO testi neden yapılır?

.....
.....

27. RF testi neden yapılır?

.....
.....

28. Serolojik testlerin kullanım amacını yazınız.

.....
.....

29. Başlıca primer bağlanma testlerinin adlarını yazınız.

.....
.....

KAYNAKÇA

1. Çerçeve öğretim programı
2. TDK sözlük
3. TDK İmla Kilavuzu
4. 12. Hafta Kedi köpek aşıları (acikders.ankara.edu.tr).
5. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi VET 208 İmmünoloji Seroloji Dersi Uygulama Kitapçığı 2021 (akademik.adu.edu.tr).
6. Cemal Nadi AYTUĞ, Erol ALAÇAM, Ümit ÖZKOÇ, Cahit YALÇIN, Hilmi TÜRKER, Hazım GÖKÇEN, Koyun Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği Kitabı, Tüm Vet Hayvancılık ve Veteriner Hizmetleri San.Tic. Ltd.İstanbul 1990.
7. Cemal Nadi AYTUĞ, Sacit GÖRGÜL, Şakir Doğan TUNCER, Erol ALAÇAM, Hazım GÖKÇEN, Kemal YILMAZ, Sığır Hastalıkları Kitabı, Tüm Vet Hayvancılık ve Veteriner Hizmetleri San.Tic.Ltd. Yayını No.3, İstanbul 1991.
8. Dilşad Mungan İmmünoloji Alerji 2016-2017 Eğitim Öğretim Yılı Ders Notları Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (acikders.ankara.edu.tr).
9. Editörler (Hüseyin ERDEM, Emine ÇİFTÇİ, M.Kürşat IŞIK, M.Ümit YORGANCILAR) Kuzu ve Oğlak Kayıplarının Önlenmesinde Koyun Keçi Sağlığı ve Yetiştiriciliği Kitabı, T.C. Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Konya Ovası Projesi Bölge Kalkınma İdaresi Başkanlığı 2021.
10. Hasan ÜLKER, Sinan BAŞ, Orhan KARACA, Özdal GÖKDAL, İmmünolojik Kısırlaştırma ve Rekombinant GnRH Aşıları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü III. Ulusal Zootečni Kongresi 14-16 Ekim 2002 (akademik.adu.edu.tr).
11. Hasan BAŞKAYA, Ahmet MİNBAŞ, Kümes Hayvanları Hastalıkları Kitabı, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları: 354 Ankara 1979.
12. K. Tayfun CARLI, K. Serdar DİKER, Hakan YARDIMCI, Ayşin ŞEN, Mihriban ÜLGEN, Cengiz ÇETİN, Mehmet AKAN, Barış SAREYYÜPOĞLU Temel Veteriner Mikrobiyoloji ve İmmünoloji T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No:2338 Açık öğretim Fakültesi Yayını No:1335 Temel Veteriner(ets.anadolu.edu.tr).
13. Kanatlılarda Aşılar ve Aşılama Yöntemleri (cdn.istanbul.edu.tr).
14. Kuduz Profilaksi Rehberi T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Zooteknik ve Vektörel Hastalıklar Daire Başkanlığı Ankara 2019 (hsgm.sağlık.gov.tr).
15. Kürşat TURGUT, Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis Kitabı, Geliştirilmiş 2. baskı Bahçıvanlar basım san. AŞ. 2000.
16. Laboratuvar Testleri (srm.metu.edu.tr).
17. M.Kemal ERBİL, Laboratuvar Testleri ve Klinik Kullanımı Kitabı, Gata Komutanlığı Basımevi Müdürlüğü, Ankara 2007.
18. Nilüfer AYTUĞ, Ragıp KILIÇASLAN, Hüseyin YILMAZ, Erman, Mehmet Kazım BÖRKÜ, Mehmet Çağrı KARAKURUM, Zeki YILMAZ, Ebru YALÇIN, Öznur ARSLAN, Halil MAHZUNLAR Küçük Hayvan Veteriner Hekimler Derneği Aşı Rehberi İstanbul Eylül 2018 (www.kvhd.org.tr).
19. Nuri ALTUĞ, Ramazan ÖZDEMİR, Zafer CANTEKİN Ruminantlarda Koruyucu Hekimlik I. Aşı Uygulamaları (ercivet.erciyes.edu.tr).
20. Oktay GENÇ, Seroloji Serolojik Testler, İmmün Yöntemler (avys.omu.edu.tr).

21. Osman ERGANİŞ, Ersin İSTANBULLUOĞLU, İmmünoloji Kitabı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya 1999.
22. Seyyal AK, Serkan İKİZ, A.Funda BAĞCIGİL İmmünoloji ve Seroloji 2014-2015 Eğitim Öğretim Yılı Uygulama Ders Notları (cdn.istanbul.edu.tr).
23. Sezgin ŞENTÜRK, Bayram ŞENLİK, Koyun Keçi Hastalıkları Pratik Yaklaşım Kitabı, Bursa İli Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliği,2014.
24. Veysi ASLAN, Evcil Hayvanların İç Hastalıkları, Mimoza Yayınları, Konya 1994.

GENEL AĞ KAYNAKÇASI

25. Mustafa ALTINIŞIK İmmünolojik Teknikler ADÜTF Biyokimya AD 2004 (Erişim tarihi 07.03.2022, saat 18:15).
26. Nüket ÇALIŞKAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Teknikleri İmmünolojik Yöntemler 2020. (Erişim tarihi 22.03.2022, Saat 14:50).
27. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/76988/mod_resource/content/0/serolojik%20tepkimler%20sunum.pdf (Erişim tarihi 14.03.2022, Saat 15:40).
28. <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFA79D6F5E6C1B43FFF92BF18EBEA041E6#03.01>.(Erişim tarihi 22.03.2022, saat 16:05).
29. <https://silo.tips/download/dokuz-eyll-nverstes-tekstl-fz-ders-dodrrmt-hals-erdoan-aragryasemn-sek> (Erişim tarihi 24.12.2022, Saat 00:10)

GÖRSEL KAYNAKÇASI



Kitabın görsel kaynakçasına bu karekodu okutarak ulaşabilirsiniz.

CEVAP ANAHTARI

1. Öğrenme Birimi

1.1. BAĞIŞIKLIK

1. D	4. A	7. E	10. D	13. E	16. B
2. A	5. E	8. B	11. D	14. B	17. D
3. B	6. E	9. B	12. E	15. A	

18. Vücuda ilk defa giren antijene karşı oluşan hümmoral immün yanıtta primer immün yanıt denir. Düşük seviyede antikor oluşur. Canlıyı uzun süre korumaz. Oluşan antikorların çoğu IgM'dir. Bellek B-lenfositler oluşur.

19. Daha önce vücuda giren antijenin tekrar vücuda girmesi durumunda Bellek B-lenfositler aktive olarak plazma hücresine dönüşür. Yüksek seviyede antikor üretir. Oluşan antikorların çoğu IgG'dir. Oluşan antikorlar canlıyı uzun süre korur.

20. Sitotoksik T-lenfositler ve NK hücreleri tarafından hücre içine yerleşen mikroorganizmalara, tümör hücrelerine ve yabancı doku antijenlerine verilen immün yanıtıdır. Sitotoksik T-lenfositler, MHC Sınıf I antijenleri veya interleukinler ile uyarıldığında farklılaşır çoğalır. Bir kısmı sitotoksik T-lenfositlere dönüşürken bir kısmı da sitotoksik bellek T-lenfositlere dönüşür.

Aktive olan sitotoksik T-lenfositler, hedef hücre yüzeyindeki özgül antijen molekülü ile bağlanır. Bağlantı sonrasında perforin ve granzim enzimleriyle hücrenin ölmesine yol açar.

NK hücreleri ise yüzey molekülleri olmadığından antijene bağlanan IgG1 ve IgG3 antikorlarına bağlanarak hedef hücreyi perforin enzimleriyle öldürür.

NK hücrelerini sitokinlerde uyarır. Özellikle virüsle enfekte olan hücreler salgıladıkları sitokinlerle NK hücrelerine sinyal gönderir. NK hücreleri de hedef hücreyi perforin enzimiyle öldürür.

1.1. İMMÜN SİSTEM BULMACA CEVAPLARI

DOĞAL DİRENÇ, AKTİF BAĞIŞIKLIK, PASİF BAĞIŞIKLIK, GRANULOSİT, MAKROFAJ, MONOSİT, LANGHANS, AĞIZSÜTÜ, NÖTROFİL, TLENFOSİT, BLENFOSİT, PLAZMA, OSTEOKLAST, ANTİJEN, ANTİKOR, İMMÜNGLOBULİN, HİPERİMMÜNSERUM, DOĞAL KATİL HÜCRE, EOZİNOFİL, AŞI, SERUM, KOMPLEMENT, SİTOKİN, FAGOSİTOZ, MHC, İNTERLEUKİN, KEMOTAKSİS, REKOMBİNANTDNA, MRNA, LİYOFİLİZE, MUTANT, İNAKTİF, ALERJİ, TÜBERKÜLİN, RHFAKTÖR, ANAFLAKSİ, EPİTOP, PARATOP, TETANOZ, ROMATOİD, SLS, GRANZİM, MAST

1.2. AŞI VE SERUM

1. E	4. C	7. A	10. D
2. E	5. E	8. B	
3. A	6. E	9. E	

2. Öğrenme Birimi

1. Doğru	4. Doğru	7. bivalan (çift değerlikli)	10. kompleman
2. Yanlış	5. Doğru	8. tanı	11. flokülasyon
3. Yanlış	6. Yanlış	9. elektrofarez	12. nötralizasyon

13. Aglütinasyon, elektriği ileten sıvı ortamda spesifik antijen ile özgül antikorun reaksiyona girerek birbirine bağlanması ve gözle görülen bir kümeleşme oluşturmaktır.

14. Aglütinasyon reaksiyonunda reaksiyona giren antijen antikor miktarına bağlı reaksiyon durumu izah eden fenomene **zon fenomeni** denir. Reaksiyona giren antijen ve antikor miktarı denk ise gözle görülen kümeleşme meydana gelir (equivalan zon). Reaksiyona giren antikor miktarı antijenden fazla ise gözle görülen bir kümeleşme olmaz (prozon). Reaksiyona giren antijen antikordan fazla ise yine gözle görülen kümeleşme olmaz (postzon).

15. Hastalık sebebiyle numune kan serumunda spesifik antijene karşı gelişen antikorun olup olmadığı tespit edilir. Bir damla numune kan serumu ile bir damla spesifik antijen karıştırılır. Numune serumda antikor varsa kum tanecikleri gibi gözle görülen kümeleşmeler olur (+). Aksi halde homojen bulanık bir karışım meydana gelir (-).

16. Çoğunlukla tıp aglütinasyon testi, hastadan alınan kan serumunda spesifik antijene karşı oluşan antikorların miktarını belirlemek için yapılır. Bazen de vücut sıvılarındaki spesifik antijen miktarını ölçmek için uygulanır. Aglütinasyonun olduğu tüplerde (+), tüpün dibinde dantel şeklinde kümeleşme olurken üstte kalan sıvı berrak olarak gözlenir. Negatif olgularda (-) ise tüpteki sıvı bulanık olarak görülür. Dipte düğme şeklinde birikinti gözlenir.

17. Tüp aglütinasyon testinde aglütinasyonun gözleendiği (+) en yüksek sulandırma derecesi aglütinasyon titresidir.
18. Serum antikor miktarını tespit etmek için yapılan tüp aglütinasyon testinde aglütinasyon şekillenen en yüksek serum sulandırma oranı serum (antikor) titresidir.
19. Vücut sıvılarındaki antijen miktarını tespit etmek için yapılan tüp aglütinasyon testinde aglütinasyon şekillenen en yüksek antijen sulandırma oranına antijen titresi denir.
20. Antijen veya antikorun miktarını belirlemek zon fenomeninden kaynaklanan yanlış negatif durumdan kurtulmak için dilisyon yapılır.
21. Diğer aglütinasyon testlerinde antijenle antikor reaksiyona girer. Hemaglutinasyon testinde ise virüs, bakteri ve ilaç gibi bazı maddeler alyuvarlara yapışarak alyuvarları aglutine eder.
22. Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi: Hemaglutinasyon yeteneğine sahip olan virüs ve bakterilerin neden olduğu hastalıkları, aşılama sonrasında antikor titresini ve vücut sıvılarındaki antijen titresini tespit etmek için yapılır.
23. Ticari latex test kitlerinde spesifik antijenlerin latex adı verilen plastik parçacıklara adsorbe (yüzeyine yapışma) olmaları sağlanmıştır. Spesifik antijenle özgül antikorun reaksiyona girdiği latex parçacıkların aglütinasyon yapması sonucu gözle görünür kılınmıştır.
24. İnek, koyun, keçi gibi hayvanlarda brucella hastalığını teşhis etmektir.
25. İnsanlarda görülen tifo ve paratifo hastalığının teşhisi için yapılır.
26. İnsanlarda hastalığa yol açan "A" grubu β hemolitik streptokokların salgıladığı streptolizin "O" enzimine karşı hastada oluşan özgül antikorları tespit ederek hastalığı teşhis etmek için "ASO" testi yapılır.
27. İnsanlarda görülen romatoid artrit teşhisini yapmak ve takibini sürdürmek için "RF" testi yapılır.
28. • İnfeksiyöz hastalıkların tanısı • Aşı programlarının düzenlenmesi amacı ile aşılama öncesi maternal antikor düzeyinin belirlenmesi ve aşı uygulamalarından sonra koruyucu bağışıklığın saptanması • Humoral immün yetmezliklerin belirlenmesi • Vücut dokularında veya kan, lenf vb. vücut sıvılarında antijen varlığının saptanması • Antijen ve antikor moleküllerinin tiplendirilmesi amacıyla kullanılır.
29. • Serolojik testler şunlardır; • Floresans antikor testi • ELISA testi • Radioimmünassay (RIA)
2.1. AŞI SERUM BULMACA CEVAPLARI BRUCELLA, ROMATOİD ARTRİT , HEMAGLUTİNASYON, KANTİTATİF , C REAKTİF PROTEİN, TİFO , ELİSA, NEWCASTLE , LATEX, ASO , SERUM, DİLİSYON , FTS, MİKROPLEYT , LİZİS, IGM , PİPET