

4.1 Schutz gegen Viren in einem Rohr (Seroneutralization)

Herzlich Willkommen Sie auf einen neuen Block von Videos dieses Kurses, in dem wir die Diagnose einer Virusinfektion durch die Immunantwort reden, die Viren in der Hostie zu verursachen. Beginnen wir, ich, wie man die schützende Rolle von Antikörpern zu bewerten. Dies geschieht mittels Tests von Serum Neutralisation oder virale Neutralisierung.

Wie Sie wissen, muss Anerkennung für einen Virus, eine Zelle zu infizieren, Occurbetween der Zelle-Rezeptor und bestimmte Moleküle oder Epitope auf der Oberfläche des Virus. Darüber hinaus können bestimmte Antikörper umgeben diese virale Moleküle und verhindern, dass sie durch den Rezeptor erkannt werden. Diese Antikörper werden neutralisierende Antikörper genannt und sie sind sehr wichtig, da sie tatsächlich den Fortschritt der Infektion, blockieren so dass sie Schutz bieten. Ähnlich wie alle Antikörper, sie sind sehr spezifisch, und wenn die virale Moleküle variieren, sie nicht anerkennen und aufhören, schützend zu sein.

Der Neutralisation Test gilt die Technik, die am besten, die Korrelation zwischen Viren und Antikörper in vivo und in vitro widerspiegelt. Es ist eine quantitative Verfahren, so wir werden Verdünnungen des Serums Probe und wir werden eine konstante Menge des Virus hinzufügen. Nach Inkubation um Antigen und Antikörper reagieren zu ermöglichen, werden die Mischungen zu einem anfälligen System zu sehen, die restliche Infektiosität des Virus hinzugefügt. Anfällige Systeme kann Versuchstiere, Eiern mit Embryo oder Zelle Kulturen, wo nicht neutralisiert Viren produzieren eine erkennbare Wirkung, wie Tod, Verletzung, zytopathischen Effekt, Hämagglutination, Syncytia Bildung, etc.

Es gibt mehrere Möglichkeiten, um Serum Verdünnungen vorzubereiten, aber sie unterscheiden sich nur in den Proportionen. Hier wollen wir zweifache Verdünnungsreihen machen. Wir müssen eine Batterie von 10 Röhren, vorbereiten, dem wir 250 µl Kulturmedium hinzufügen. Dann wir 250 µl des Serums, das erste Rohr, wir gut mischen und 250 µl der Mischung der folgenden Röhre und So weiter. Wann immer wir von einem gehen Rohr auf die nächste wir Verdünnen der Menge an Antikörpern im Serum vorhanden um die Hälfte. Das heißt in der ersten Röhre der Verdünnung 1:2, in den nächsten 1:4, in den nächsten 1:8 und so ganz nach der Röhre 10 wo es 1:1024 wird. Wir müssen die gleiche Prozedur mit der positive und negative Kontrolle Sera folgen. Als nächstes wir die 10 Röhren (Verdünnung wieder durch die Hälfte der Menge an Antikörpern) 250 µl der entsprechenden Konzentration des Virus hinzu, wir schütteln und inkubieren Sie für 60 Minuten bei 37° C zu ermöglichen, die möglichen neutralisierenden Antikörpern im Serum, die Epitope des Virus zu reagieren werden von der Zelle-Rezeptor erkannt.

Wie ich bereits erwähnt habe, kann die Neutralisation bei Versuchstieren, Eiern oder in der Gewebekultur getestet werden. Hier sind wir in der Gewebekultur zu tun. Wir übertragen 100 µl jeder Serum-Virus Mischung von vervierfachte sich auf Brunnen einer 96-Well-Platte, in denen wir anfällig für das Virus Zellen kultiviert haben, und wir inkubieren Platten 2 oder 3 Tage oder die notwendige Zeit, um die zytopathischen Effekt mit dem Mikroskop zu beobachten. Es gibt neutralisierende Antikörper im Serum werden wirkungslos. Natürlich müssen wir die Ergebnisse der Stichprobe Serums mit der positiven und negativen Kontrollen vergleichen.

Diese quantitative Methode ermöglicht es uns, festzustellen, den sogenannten Antikörpertiter, in diesem Fall von neutralisierenden Antikörper-Titer, in denen es ist eine vollständige Neutralisation des zytopathischen Effekts in 50 % der ist definiert als der Nenner der höchsten Verdünnung der Brunnen. Um dies festzustellen, wird eine statistische Formel anwenden. So zeigt das Ergebnis nach Eingabe der Daten in der Formel wie viel müssen wir verdünnen das Serum erhalten Schutz in 50 % der Brunnen, Tiere oder Eiern, je nach System, das wir verwendet haben.

Diese Formel ist sehr nützlich, und es wird häufig verwendet, um herauszufinden, die Konzentration des Virus, die Tod oder Infektion in 50 % der Tiere (letale Dosis 50 oder infektiöse Dosis 50, beziehungsweise), in 50 % der Brunnen (das die 50 TCID) usw. produziert.

Wie Sie sehen können, das Serum Neutralisation oder virale Neutralisation Test ist etwas mühsam und langsamer als die Techniken, die wir im folgenden Video sehen, aber es ist sehr spezifisch und sensitiv und gilt als "Goldstandard" für jeden test serologische Titration.

Ich danke Ihnen sehr für Ihre Aufmerksamkeit.