

## BRUCELLA ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASINDA SPOT, ROSE-BENGAL VE WRIGHT AGLÜTİNASYON TESTLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr.Bülent BAYSAL \*, Naci Kemal KIRCA \*\*, Dr. Mahmut BAYKAN \*\*\*

### ÖZET

Çeşitli kliniklerden bruselloz şikayeti ile brusella antikorlarının araştırılması için laboratu-  
rumıza gönderilen 200 hastada SPOT (ST), ROSE BENGAL (RBT) ve WRIGHT AGLUTINASYON  
(WAT) testleri yapılmış ve değerlendirilmiştir. Bir hastada ST ve RBT olumsuz çıkmasına karşın WAT  
1/40 oranında olumlu bulunmuştur. Bir hasta serumunda RBT olumlu, ST zayıf olumlu ve aglutinasyon  
titresi 1/40 olumlu bulunmuştur. Aglutinasyonla elde edilen 1/80 ve daha yukarı olumlu titrelerde ST  
ve RBT %100 uyumluluk göstermektedir.

### SUMMARY

#### *The Comparisons of SPOT, ROSE BENGAL and WRIGHT AGGLUTINATION Tests.*

*On a group of patients which were sended to our laboratories and suspected of having brucellosis  
who were admitted to our hospital's in patient and out patient clinics, Wright agglutination tests  
(WAT), Rose Bengal Tests (RBT), and Spot tests (ST) were performed and evaluated for Brucella abor-  
tus.*

*While ST and RBT were negative, WAT was 1/40 positive, in a patient's serum. RBT was posi-  
tive, and WAT was 1/40 positive, have been found, in another serum.*

*ST and RBT were positively correlated with 1/80 and higher dilutions of WAT (100 per cent).*

### GİRİŞ

Brusella enfeksiyonlarının tanısında kan ve kemik iliği kültürlerine ve sonuçlarına ilişkin tartışmaların yanısıra bir başka tartışmalı konu da serolojik tanıyla ilgilidir. Günümüz mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak uygulanan özel ve değerli bir tanı yöntemi olan Wright aglutinasyon testi (WAT)'dir. Bu test için gerekli antikorlar ancak hastalığın 10-12 nci gününden sonra kanda belirgin bir düzeye çıkabilmektedir. Bu testle 1/80 - 1/160 oranındaki titreler anlamlı kabul edilmektedir. Aglutinasyon testinin negatif olması hastalığın bruselloz olmadığını söylemek için yeterli değildir. Oluşabilecek blokan antikorlar nedeniyle sonuçlar negatif çıkabilmektedir. Böyle olgularda blokan aktivite gösteren 7S immunoglobulinlerin Coombs testi ile gösterilmesi yararlı olabilmektedir. Bu gibi durumlarda önerilen testler içersinde Rose Bengal testi de bulunmaktadır (1, 2, 3).

Akut brusellozda Rose Bengal testi Wright aglutinasyon reaksiyonuna göre daha çabuk ve yüksek sonuç vermektedir ve bu test de yalnızca pozitiflik söz konusu değildir (1, 2, 3). Bu suretle tedaviye hemen başlanmasını mümkün kılmaktadır (1, 2, 3).

İster akut, isterse kronik hastalık olsun aktif dönemde IgG (7S7 yapısındaki) antikor-  
ların bulunuşu enfeksiyon için önemli bir ayrıcalıktır. Bu grup immunoglobulinler IgM'in  
2-mercanto-ethanol'e duyarlılığından yararlanılarak yapılan testlerle ortaya konabilmekte-

\* S.Ü. Tıp Fak. Mikrobiyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi, Doç.

\*\* S.Ü. Tıp Fak. Mikrobiyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi, Yr. Doç.

\*\*\*S.Ü. Tıp Fak. Mikrobiyoloji A.B.D. Araş. Gör.

dir (1, 2, 3, 4).

Biz bu çalışmamızda tamponlu eriyiklerdeki brusella antijenleri ile yapılan mikrosereolojik deneyler olan RBT ve ST ile WAT'inin karşılaştırmasını yapmayı amaçladık.

## MATERYAL ve METOD

Çalışmamızda, fakültemizin çeşitli kliniklerine başvuran ve fizik muayeneleri sonucunda bruselloz şüphesi uyandıran ve bu nedenle Rose Bengal ve Wright Aglütinasyon reaksiyonları için Abalilim Dalımız laboratuvarlarına gönderilen 200 hastanın serumu ve ST içinde tam kan kullanılmıştır.

WAT: Antijen olarak Pendik Veteriner Araştırma Enstitüsü'nden (PVAE) temin edilen Brusella abortus antijenleri kullanıldı. Antijenler daha önceden titresi bilinen serumlarla test edilerek kontrolleri yapıldı. Test standart yöntemle yapıldı (1, 5).

ST: ST, tam kan kullanılarak yapılan lam aglütinasyonu deneyidir. Özellikle kitle taramalarında kullanılmaktadır. Antijen PVAE'den temin edildi. Antijenin bir damlası üzerine parmak ucundan alınan bir damla tam kan damlatıldı ve aglütinasyon görülen olgular olumlu sonuç olarak değerlendirildi.

RBT: Brusella abortus'un 99-S kökeninden hazırlanan ve özel teknikle Rose Bengal boyası ile boyanan, tamponlu tuzlu sudaki yoğun brusella antijeni kullanıldı. Antijen PVAE'den temin edildi. Cam bir plak üzerinde 0.03 ml. antijen üzerine aynı miktar serum damlatılarak elde çevrildi, 4 dakika içinde bakterilerin kümeleşerek aglütine olmaları olumlu sonuç olarak değerlendirildi.

## BULGULAR

I-Değerlendirilen serum örneklerinin cinsiyet ve testlere göre seropozitiflik dağılımı TABLO: I'de gösterilmektedir. Buna göre, çalışılan 200 hasta serumunun, 29 (%14.5)'unda WAT ile 1/160 ve yukarısı titrelerde pozitif antikor varlığı bulunmuştur. 1/40-1/80 titrelerde olumlu antikor varlığı görülen 7(%3.5) olgu değerlendirmeye alınmamıştır. Brusella abortus antikorları varlığı, 18(%62)'i erkek, 11(%38)'i kadın olmak üzere belirlenmiştir.

II- TABLO: II'de görülen WAT'a göre pozitif antikor titreleri ve cinsiyetlerine göre dağılımıdır. Buna göre: 1/160 titrede 8(%27.5), 1/320 titrede 14(%48.2), 1/640 titrede 1 (%3.3), 1/1280 titrede 6(%21) hasta pozitif antikor titrelerine sahip bulunmuştur.

III-WAT ile 1/160 ve üzeri titrelerde seropozitif olan 29 hastanın tümünde (%100) RBT ve ST ile alınan sonuçlar uyumluluk göstermektedir (TABLO:III).

WAT ile 1/40 titrede seropozitif olan bir hastada RBT (pozitif), ST (Negatif), 1/40 titrede seropozitif olan bir diğer hastada RBT ve ST negatif ve başka bir 1/40 titrede seropozitif olan bir hasta seromunda ise RBT olumlu, ST ise zayıf olumlu bulunmuştur.

TABLO-I

*Değerlendirilen Serum Örneklerinin Cinsiyet ve Seropozitiflik Dağılımı  
(1/160 ve Yukarısı Titrelerde)*

Hasta Grubu	Örnek Sayısı	Sayı	%
Erkek	115	18	15.6
Kadın	85	11	12.9
TOPLAM	200	29	14.5

TABLO-II

*B.abortus* Yönünden Seropozitif Olan 36 Serum Örneğinde Elde Edilen Pozitif Antikor Titre-  
ri ve Cinsiyetlerine Göre Dağılımı

Hasta Grubu	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Toplam
Erkek	-	2	2	5	9	1	3	22
Kadın	-	2	1	3	5	-	3	14
Toplam	-	4	3	8	14	1	6	36

TABLO-III

WAT, RBT ve ST ile Alınan Değerlerin Dağılımı

WAT Titre	Sayı	RBT	ST
1/40	(1)	-	-
1/40	(1)	++++	+
1/40	(2)	++++	++++
1/80	(3)	++++	++++
1/160	(8)	++++	++++
1/320	(14)	++++	++++
1/640	(1)	++++	++++
1/1280	(6)	++++	++++
Toplam	36	35	35

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Brusella enfeksiyonlarının tanısında serolojik reaksiyonlardan yararlanmak daha pratik bir yöntemdir (1, 2, 3, 4, 5, 6). Hastaların kanında 2 nci haftadan itibaren ortaya çıkan IgG ve IgM yapısındaki antikorlar hastalık geçtikten çok sonra bile ortaya çıkabilmektedirler (7). WAT ile 1/160 ve üzerindeki titreler anlamlı kabul edilmekte olup yüksek antikor titreleri klinik bulgularla uyduğu takdirde tanı kolay olmaktadır. Ancak nükslerde ve kronik olgularda aglütinin titreleri zaman zaman düşük kalmakta ve karışıklığa yol açabilmektedir.

Klinik olarak açıkça bruselloz olguları gösterdiği halde olumsuz serolojik sonuç veren kimselerin serumları blokan antikorlar bakımından araştırılmalıdır. Brusellozda oluşan antikorların önemli bir kısmı bu nitelikte olduğundan blokan antikorları ortaya koyabilmek bakımından %5'lik tuzlu su ile aglütinasyon (Coombs serumu ile), Rose Bengal Testi, kompleman birleşmesi ve indirekt flöresans antikor testleri önerilmektedir (1).

Özellikle Rose Bengal testi akut brusellozda Wright aglütinasyonuna göre daha çabuk ve yüksek sonuç verdiği için ayrıca yalancı pozitiflik söz konusu olmadığı için yararlıdır (5, 6, 7).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz serum ve kan örnekleri semptomatik hastalara ait olup

örneklerden %14.5 oranında 1/160 ve üzeri titrelerde seropozitiflik saptanmıştır. Bulgularımız ülkemizde değişik bölgelerden elde edilen değerlere (%2.68-14.4) uyumluluk göstermektedir (8). Erkek hastalardaki seropozitiflik oranının yüksek oluşu da literatür bilgileri ile uyumlu bulunmuştur (8).

Altan ve arkadaşları (9) yapılan bir karşılaştırmalı çalışmada standart agglütinasyon testi ile negatif olan 23 hasta serumundan 10'unun Rose Bengal testi ile kontrol edildiği zaman pozitif sonuç alındığı bildirilmektedir. Bu olgu agglütinlerin geç oluşmakta olması ve ancak enfeksiyonun üçüncü haftasından itibaren kanda tesbit edilebilmesiyle açıklanmakta ve Rose Bengal testinin üstünlüğüne değinilmektedir.

Biz bu çalışmamızda, 1/160 ve yukarı titrelerde WAT ile elde ettiğimiz olumlu sonuçlara %100 uyumluluk gösteren RBT ve ST sonuçları elde ettik.

Almış olduğumuz sonuçlar WAT sonuçları için bekleme süresini kısaltabilecek ve bir an önce tedaviye başlanabilmesi açısından bilgi verebilecek bir test olarak RBT ve ST testlerinin kullanılabilirliğini ifade edebilmektedir. Bu testlerin kolay uygulanabilmesi ve 4 dakika gibi kısa bir sürede sonuç verebilmesi ve kitle taramalarında kullanılabilir nitelikte olması diğer avantajları olarak belirtilebilir.

## KAYNAKLAR

1. Alton, G.G., Jones, L.M. et al: Laboratory Techniques in Brucellosis: World Health Organization. Monograph Series No: 55, WHO, Geneva. 1975.
2. Arda, M.: Brucellosis'de Laboratuvar Yöntemleri (Bildiri). Brucellosis Semineri, Pendik-istanbul, 23-25 Kasım 1983.
3. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri enfeksiyonları, Bilgehan Basımevi, İzmir, 1986-200, 1986.
4. Töre, O.: Bruselloz Tanısına İlişkin Sorunlar. 1. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, İzmir, 162-165, 1987.
5. Alton, G.G., Naw, J., et al.: The Serological Diagnosis of Bovine Brucellosis: An Evaluation of The Complement Fixation, Serum Agglutination and Rose Bengal Tests, Australian Veterinary Journal, 51:57, 1975.
6. Rey, J.L.: Un Nouveau Test Diagnostique de la Brucellose Applicable Sur le Terrain et Dans Les Laboratoires Peripherique: Le Test a L'antigene Tamponne Colore Au Rose Bengale. Medicine Tropicale, 37: 5, 593, 1977.
7. Allah, G.S., Chappel, R.J., et al.: A Quantitative Comparison of the Sensitivity of Serological Tests for Bovine Brucellosis to Different Antibody Classes. J. Hyg., Camb., 76: 287, 1976.
8. Altan, N.: Brusellosis Epidemiyolojisi, 1. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, İzmir, 179-185, 1987.
9. Altan, N., Büke, M., Günhan, C.: Bruselloz: Klinik ve Laboratuvar Bulgularına Göre Vakaların Değerlendirilmesi. E.Ü. Tıp Fak. Derg., 22:3:619-627, 1983.