

ARAŞTIRMALAR :

Experimental Çalışmalar :

*A.Ü. Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Kliniği ve
Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Biokimya Bölümü*

KONTRİMMUNOELEKTROFOREZİS METODU İLE AVUSTRALYA (Au/SH) ARAŞTIRILMASINDA YENİ BİR TAMPON SOLÜSYONUNUN D E N E N M E S İ

Dr. Erdem Alptuna*
Yüksel Koca***

Dr. Mehmet Türkvan**
Dr. Özden Uzunlinoğlu****

Blumberg ve arkadaşlarının (1) 1965 yılında Avustralya antijenini bulmalarından sonra çeşitli laboratuvar metodları ortaya atıldı. Araştırma gayesine dayanan bu metodlar gerek çok zahmetli olmaları ve gerekse sonuçlarının uzun sürede alınması yönünden pratikte kolayca kullanılamazlardı. Avustralya antijeninin klinik ve koruyucu hekimlik alanlarında kullanılabilmesi ancak süratli netice veren emin metodlarla mümkün olabileceği için bu yönde yoğun çalışmalar yapıldı. Neticede, kontrimmuno-elektroforezis bu ihtiyaçlara cevap verir gibi görünmektedir.

Biz de kliniğimiz laboratuvarlarında Avustralya antijenini ilk defa Gocke ve Kavey (2) ile Pesendorfer ve arkadaşları (3) tarafından kullanılan kontrimmuno-elektroforez tekniği ile tayin ediyoruz. Bu metodun uygulanmasında çeşitli tampon solüsyonlarını kullandık. İde ettiğimiz sonuçlardan sonra, metodda kullanılan tampon solüsyonunu değiştirmek gereğini hissettik. Neticede takdim ettiğimiz tampon solüsyonu ile daha tatminkâr sonuçlar aldığımız kanısındayız.

* A. Ü. Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Kl. Asistanı

** Yüksek İhtisas Hastanesi Biokimya Laboratuvarları Şefi

*** A. Ü. Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Kl. Araştırma Teknisyeni

**** A. Ü. Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Kl. Doçenti

M E T O D

Kontrimmunoelektrofozis metodu için, Sorensenin fosfat tamponu (4) [pH : 8.2, pk : 6.7, M/15 Na_2HPO_4 , M/15 KH_2PO_4] yapılır. Bu tampondan % 2,5 luk agar (Noble veya agarose) hazırlanır ve berrak hale gelinceye kadar kaynadıktan sonra önceden temizlenmiş ve asitle yıkanarak sterilize edilmiş lamlara 2 ml/1 lam miktarında yayılır.

Agar kuruduktan sonra antikorun konacağı tarafda 2 mm ve antijenin konacağı tarafda ise 4 mm çapında ve aralarında 6 mm bulunan 2 adet delik delinir. Serumlar gerekli yerlere konur ve elektroforez aletinin içinde 15 dakika bekletilir. Daha sonra 8 mA/1 lam akım verilerek elektroforeze başlanır. 1 - 2 saat sonra neticeler okunur ve nem odasında saklanır.

T A R T I Ş M A

Avustralya antijeni (Au/SH) araştırılması agar üzerinde immunodifüzyon (ID), kompleman fiksasyonu (CF) ve kontrimmunoelektroforezis olmak üzere başlıca 3 şekilde yapılmaktadır. Bu metodların kullanıldıkları tamponlar, okuma süreleri ve basitliği arasında mühim farklılıklar vardır.

ID metodunda kullanılan serum miktarları çok azdır ve meydana gelebilecek presipitasyon bantları zayıftır. Okunması için 2 - 3 gün geçmesi lâzım gelir.

CF nin ID den daha hassas olduğu bildirilmiştir (5). Tekniği çok karışıktır ve anlaşılması zordur.

Immuno-elektroforezisin (IE) ise ID'den 10 misli (6), hatta 20 misli ve CF'den 2 - 3 misli (7) daha hassas olduğu bildirilmiştir. Test sonucunun okunması için 1 - 2 saat gerekir ki pratik olması bakımından da kliniğe uygulanma olanağı vardır.

IE şimdiye kadar tris tanyonu ve veronal tamponu ile yapılmıştır. Bizim bilgimize göre fosfat tamponu IE de ilk defa kullanılmaktadır.

Karşılıklı mukayeselerimize ve literatürden edindiğimiz bilgilere göre, daha yaygın olarak kullanılan veronal tamponunda antijen zayıfsa band çok fazla seyahat etmekte ve deliğin ya çok kenarında veya hemen üstünde yer almaktadır. Deliğin kenarında ise diğer non-spesifik bantlar bulunduğundan bu durum karışıklığa sebep olmaktadır. Biz fosfat tamponunda antijen zayıflığı

durumunda böyle bir durumla karşılaşmadık. İlâveten fosfat tampon uile delikler etrafında husule gelen non-spesifik bandların miktarı azdır.

Diğer tamyon sislemlerinde mesafe arttıkça ve delik hacmi küçüldükçe testin hassasiyeti de azalmaktadır. Ekonomik olması sebebiyle antikor deliğini 2 mm ufaklıkta delmemize rağmen fosfat tamponunda böyle bir durumla karşılaşmadık. Rutin olarak deliklerimizi antikor için 2 mm ve antijen deliği olarak 4 mm deldik. Bu durumda bandın boyu antikor deliğinin boyu ile orantılı ve yeri iki deliğin tam ortasındadır.

Fosfat tamponu ile 8 mA/1 lam'lık bir akım agarın cinsine göre değişmek üzere 1 - 2 saat sonra açıkça okunabilen bandların yerleşmesine yetti. Buna rağmen veronal tamponunda 8 mA/1 lam'lık akım ile ancak hafif bandlar elde edebildik. Elektroforezi 3 - 4 saat uzatarak bandları koyulaştırmak veya 20 mA/1 lam akım kullanarak koyu band elde etmek mümkündü. Fosfat tamponunda ise 8 mA lik akımla 2 saatten sonra bandların koyulaştığını görmedik.

8 mA gibi düşük akım, 2 saat boyunca 27 test yani 8 saatlik bir iş gününde 106 test yapmağa imkân vermektedir.

Kontrol antijeni ile birkaç defa yanlış müsbet reaksiyon verdiğini gördüğümüzden 3 delikli sistemi kullanmadık.

IE metodu kliniklerde çeşitli karaciğer hastalıkları ve immünolojik bozukluklar ile ilgili hastalıklarda emniyet ile araştırma gayeleri için kullanılabilir. En büyük kullanış sahasını ise, kan donörlerinin taranmasında ve renal transplantasyonlardan önce (8) Au/SH antijeni aranmasında bulacağını tahmin ediyoruz.

Ö Z E T

İmmunelektroforez Avustarlya antijeni araştırılmasında en emin ve hassas metod olarak ortaya çıkmıştır. Bu yazımızda evvelce immunelektroforezde kullanılmamış fosfat tampon solüsyonu ile Avustralya antijeni aramak tekniği izah edilmiş ve fosfat tamponu ile diğer tampon solüsyonları hakkında kliniğimiz laboratuvarlarından edindiğimiz tecrübeler kalitatif olarak mukayese edilmiştir.

SUMMARY

A Study On The Testing Of The Sorensen's Buffer Solution In The Investigation of The Australia - Antigene (Au/SH) By The Contrimmuno-electrophoretic Method

Immuno-electrophoresis has proved itself as the most reliable and sensitive method in Australia (Au/SH) antigen detection. In this paper we present the technique of Au/SH antigen detection with the phosphate buffer hitherto unused in immuno-electrophoresis and qualitatively compare our experiences which we obtained in our laboratories on phosphate and other commonly used buffers.

LİTERATÜR

- 1 — BLUMBERG, B. S., ALTER, H. J. ve VİSNİSCH, S. : J. Amer. Med. Ass. 191 : 541, 1965.
- 2 — GÖCKE, D. J. ve KAVEY, N. B. : Lancet, 1 : 1055, 1969.
- 3 — PESENDORFER, F., KRASSNİTZKY, O. ve WEWALKA, F. : Klin. Wschr. 48 : 58, 1970.
- 4 — SORENSSEN, S. P. L. : Biochem. Z. 21, 131, 1909.
- 4/a. SORENSSEN, S. P. L. : Biochem. Z. 22 : 352, 1909.
- 5 — WILLEMS, C., KUNTS, M. ve ROISER, C. : Lancet, 1 : 958, 1970.
- 6 — GÖCKE, D. J. ve HOWE, C. : J. Immun., 4 : 1301, 1970.
- 7 — ALTER, H. J., HOLLAND, P. V. ve PURCELL, R. H. : J. Lab. Clin. Med. 6 : 1002, 1971.
- 8 — MALLICK, N. P., CLEATOR, G. M., BESWICK, T. S. L. ve ORR. Lancet, II : 159, 1971.

(Mecmuaya geldiği tarih : 18 Nisan 1972)