

## KUDUZ HASTALIĞININ LABORATUVAR TEŞHİSİNDE FLORESAN ANTİKOR, FARE İNOKULASYON TESTİ VE KUDUZ DOKU KÜLTÜRÜ ENFEKSİYON TESTLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

(Comparison of Fluorescence Antibody Technique, Mouse Inoculation Test and Rabies Tissue Culture Infection Tests in Laboratory Diagnosis of Rabies)

Tülin GÜZEL (\*) Orhan AYLAN (\*)

### ÖZET

Bu araştırmada T.K.I.B. Etlık Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Kuduz Teşhis Laboratuvarına gönderilen materyallerde, kuduzun teşhisinde kullanılan laboratuvar yöntemlerinden FAT, Fare İnokulasyon Testi ve Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testlerinin karşılaştırmalı olarak çalıŐılması amaçlanmıŐtır. Araştırmada 14 il ve ilçelerinden gönderilen 13 farklı hayvan türüne ait 143 adet materyal test edilmiştir.

Üç ayrı teknikle test edilen 143 adet beyin numunesinin 23'ü pozitif, 118'i de negatif sonuç vermiştir. FAT ve Fare İnokulasyon Testi ile pozitif sonuç veren 2 numune Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testi ile negatif sonuç vermiştir. 141 numune her üç teknikle de benzer sonuç vermiştir.

### SUMMARY

In this study, comparative application of FAT, MIT and RTCIT are aimed and used for the purpose of laboratory diagnosis of rabies that the materials are submitted to Rabies Diagnosis Laboratory of Etlık Veterinary Control and Research Institute. In this study, 143 materials belonging 14 province and their districts were tested.

Of these 143 brain specimens tested by different three techniques, 23 positives and 118 negatives were found. Only 2 materials being positive for FAT

and MIT, were negative for RTCIT. 141 specimens gave similar results each three techniques.

## GİRİŞ

Kuduz, memeli hayvanlar ve insanlar başta olmak üzere diğer sıcak kanlı hayvan türlerinde de görülebilen akut seyirli, ölümle sonuçlanan önemli bir viral enfeksiyondur (3,4,8,9).

Enfeksiyon hayvandan hayvana ve hayvandan insana direkt ısırma ile bulaşmaktadır. Ayrıca mevcut yaralara enfekte salyanın bulaşması ile de enfeksiyon meydana gelmektedir. Enfeksiyon zincirinin taşıyıcıları olan köpek, kedi, vahşi etoburlar ve yarasalar virusun ara konakçıları olarak kabul edilebilir (3).

Bu hayvanlar, enfeksiyon siklusunda önemli rol oynarlar ve enfeksiyonun son konakçısı olan hayvanlara ve özellikle de insanlara naklinde büyük değer taşırlar (2,3).

Dünyadaki insan kuduz vakalarının yıllık insidansı 25.000'nin üzerindedir. İnsanlardaki kuduz, ısırma sonrası zamanında tedavi ile önlenir (2). Kuduz hayvan tarafından ısırılan insanlara kuduz aşısı uygulanırken, şüpheli hayvanlarda 10 gün süre ile gözetim altında tutulur. Gözetim süresi içinde ölen hayvanın beyin dokusundan kuduz teşhisi için çeşitli testler yapılır.

Enfeksiyona maruz kalma sonrası, aşılama programlarının tam uygulanabilmesi için, laboratuvar sonuçlarının kesin ve en kısa sürede alınmasının önemi büyüktür.

Kuduz hastalığının laboratuvar teşhisinde, tüm dünyada, Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği üç yöntem kullanılmaktadır: Sellers Boyama, FAT, Fare İnokulasyon Testi.

Son zamanlarda gelişmiş ülkelerde bu metotlara ek olarak kuduz teşhisinde, RREID (2,8,18) RTCIT (1,2,6,17) gibi yeni testlerde kullanılmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği laboratuvar tanı yöntemlerinden olan FAT, ilk defa 1950'de Coons ve Kaplan (5) tarafından gerçekleştirilmiştir. 1958 yılında Goldwasser ve Kissling (10) yaptıkları çalışmalarla FAT'ni kuduzun teşhisine adapte etmişlerdir.

Mc. Queen ve arkadaşları da (13) kuduzla yakalanmış hayvanların beyin dokularında, FAT ile kuduz antijeninin tesbit edilebileceğini, testin çabuk ve

pratik olduğunu bildirmişlerdir.

Dean ve Abelseth'de (7) yaptıkları çalışmalarla FAT'ini kuduz teşhisi için daha da geliştirmişlerdir.

Bourhy ve arkadaşlarının (2), bildirdiğine göre kuduz teşhisinde Fare İnokulasyon Testini ilk defa 1935 yılında Webster ve Dawson kullanmıştır. Daha sonra Kaprowski (12) bu testin rutin teşhis yöntemlerinden biri olarak kullanılmasını sağlamıştır.

Güley ve arkadaşları (11), üç ayrı teşhis metodu ile karşılaştırmalı olarak yaptıkları çalışmada 809 adet numuneyi test etmişlerdir. Hayvan deneyinin esas olarak alındığı bu çalışmada Sellers Boyamanın, Fare İnokulasyon Testi ile %83.1, FAT ile %98.4 oranında uygunluk gösterdiği saptanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

Araştırmada Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Etlık Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Kuduz Teşhis Laboratuvarına çevre il ve ilçelerden gönderilen kuduz şüpheli 143 adet beyin kullanıldı.

Floresan Antikor Tekniği, Fare İnokulasyon Testi ve Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testleri için beyinler Tierkel'in bildirdiği yöntemle göre hazırlandı. Bu yöntemle göre kafatası üzerinde yapılan kesitler sonucu calvarium uzaklaştırıldı. Sonra açığa çıkan cerebrum steril bir petriye alındı. Buradan da yine bir steril petriye Cornu ammonis'ten, Cerebrumun cortex kısmından ve cerebellumdan birer parça alındı.

FAT'de T.K.İ.B. Etlık Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Kuduz Teşhis Laboratuvarlarından sağlanan ve 1/14 litreye sahip konjugat, Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testinde Centocor, Inc. Great Valley Parkway Malvern P.A. 19355 U.S.A. dan sağlanan 1/100 litreye sahip konjugat kullanıldı.

FAT'deki konjugatın sulandırılmasında kullanılan Normal ve Enfekte Fare beyni süspansiyonları T.K.İ.B. Etlık Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden sağlandı.

Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testinde kullanılan Fare Neuroblastoma Hücresi (N2a, ATCC, CCL 131) Enstitü Pasteur'dan alındı.

Fare İnokulasyon Testinde kullanılan 3-4 haftalık Beyaz İsviçre Fareleri T.K.İ.B. Etlık Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden temin edildi.

#### **-Floresan Antikor Testi:**

Bu test Dean ve Abelseth (7) tarafından bildirilen yöntemle yapıldı.

Şüpheli bir hayvana ait beyin Cornu Ammonisinden alınan ince bir parça, kurutma kağıdı üzerine konuldu. Daha önce alkolden geçirilmiş ve temizlenmiş olan lamın sağ ve sol tarafına çok ince dokundurma preparatı yapıldı. Oda derecesinde kurutuldu. -20°C'lik deepreezde bulunan bir lam kabındaki soğuk aseton içine atılarak 4 saat süreyle fikzasyona bırakıldı. Deepfreezden çıkarılan preparatlar oda derecesinde 5-10 dakika tutuldu. İki ayrı tüpte, titresini 1/14 olan konjugattan 1 No'lu NFB (Normal Fare Beyni) +Konj. ve 2 No'lu EFB (Enfekte Fare Beyni) +Konj. süspansiyonları konjugat ile karıştırılarak hazırlandı. Preparatın sol tarafına 1 damla No 1 süspansiyonundan, sağ tarafına ise No 2 süspansiyonundan damlatıldı. Preparatlar, zeminine ıslak kurutma kağıtları konarak nemlendirilmiş büyük petri kutularında "U" şeklindeki baget üzerine yerleştirildi, petrinin kapağı kapatılarak 37°C'lik inkubatörde 30' bırakıldı.

Süre sonunda petri kutusu inkubatörden çıkarıldı. Boş petriler içine yerleştirilen preparatların yüzeylerini kaplayacak şekilde PBS (pH = 7.4) konuldu ve boşaltıldı. Daha sonra yine PBS konulup 10 dakika beklenildi. Süre bitiminde PBS dökülüp, 1 kez distile su ile yıkandı. Kurutulduktan sonra preparatın sağ ve sol tarafındaki doku kısımlarına gliserin (%90 gliserin + %10 PBS) damlatılıp, lamelle kapatıldı. Sonra floresan mikroskopta 20'lik objektif kullanılarak değerlendirildi.

#### **- Fare İnokulasyon Testi:**

Bu test Koprowski (12) tarafından bildirilen tekniğe göre yapıldı. Kuduz şüpheli beyinin Cornu Ammonisinden kesilen bir parça, steril bir havanda iyice ezildi. Üzerine 10x konsantre antibiyotikli tuzlu sudan %10 süspansiyon olacak şekilde ilave edildi. Buradan santrifüj tüpüne alınan inokulüm 3000 devirde +4°C de 30 dakika santrifüj edildi. Her bir kuduz şüpheli beyin için 5'er fare olmak üzere hazırlanan inokulümden bu farelere 0.03 ml. miktarında I.C. olarak verildi. Fareler kafeslerinde 21 gün süreyle gözlem altında tutuldu.

**- Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Test:** Petri kutusunda bulunan şüpheli beyinin cortex ve cornu ammonisi her bir numune için 1:4 (vol/vol) oranında Eagle MEM vasatı ile homojenize edildi. İçine 30 µgr/ml Gentamycin, 0,4 mgr/ml Vancomycin ve 40 µgr/ml Amphotericin B ve % 40 Yeni Doğmuş Buzağı

Serumu ilave edilerek pH=7'ye ayarlandı. Bu süspansiyon 2000 devirde 30 dakika ve +4°C santrifüj edildi.

Daha önce 75 cm<sup>2</sup>lik kültür şişelerinde üretilmiş olan N2a hücresi trypsinize edildi. Sonra ml'sinde 4x10<sup>5</sup> hücre olacak şekilde % 10 Yeni Doğmuş Buzağı serumu içeren Eagle MEM vasatlı hücre süspansiyonu hazırlandı. Bu hücre süspansiyonundan 8 gözlü (\*Lab-Tek) slaytın her bir gözüne 400'er µl konuldu.

30-60 dakika 37°C de inkube edildikten sonra her bir numunenin supernatant sıvıları 50'şer µl olarak her bir göze inokule edilip hafifçe karıştırıldı. 37°C'de % 5 CO<sub>2</sub> li etüvde 24 saat inkube edildi. Süre sonunda gözlerdeki vasat dikkatlice aspire edildi. Sonra 8 gözlü slaytın üst kısmı uzaklaştırıldı ve slayt kurutuldu. 30 dakika soğuk asetonda fixe edildi. Kuduz antinükleokapsit konjugatı ile boyanıp Floresan Mikroskopta bakıldı.

## SONUÇLAR

Araştırmada 13 hayvan türüne ait beyin numuneleri kullanılmış olup bu numunelerde 14il ve ilçelerinden gönderilmiştir. Bunlara ait detaylı bilgiler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. 13 Farklı hayvan türüne ait, 14 il ve ilçelerinden gönderilen 143 adet numunenin dağılımı.

İller	Hayvan Cinsi												
	Köpek	Kedi	Tavşan	Siğir	Malak	Keçi	Kurt	At	Koyun	Sansar	Sincap	Maymun	Geyik
Ankara	35	17	6	-	-	1	-	-	-	1	1	1	1
Bolu	22	1	-	5	-	1	1	-	1	-	-	-	-
Zongul.	3	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Kastom.	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kayseri	6	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eskişehir	7	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Çenkiri	3	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kırıkkale	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nevşehir	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Şivas	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Yozgat	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kütahya	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Konya	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kırşehir	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	88	27	6	12	1	2	1	1	1	1	1	1	1

\* Lab -Tek 8 Chamber Slides

Miles Laborotories, Naperville III. U.S.A.

### **FAT ve Fare İnokulasyon Testlerinin Değerlendirilmesi, Sonuçlar:**

Floresan mikroskopta önce kontrol preparatına bakılarak boyamanın iyi olup olmadığı tesbit edildi. Sonra şüpheli preparata bakıldı. Müsbet olan vakalarda, preparatın sol tarafında yani konjugat +N.F.B. damlatılan kısımda grimsi yeşil doku içinde büyüklü, küçüklü, filizi yeşil renkte, floresan veren cisimler tespit edildi. Bu cisimler oval veya yuvarlak etrafı yeşil, merkezine doğru parlaklığı azalan yapılar şeklindedir. Aynı zamanda preparatın, konjugat +E.F.B. süspansiyonu damlatılan sağ tarafında ise grimsi yeşil boyanmış dokudan başka bir şey görülmediği tesbit edildi.

Gözlem altında tutulan farelerde ilk 5 gün içinde oluşan ölümler travmatik şok olarak kabul edildi. 6. günden itibaren meydana gelen ölümler kuduz şüphesini ortaya koyar. Kuduzla ilgili olarak oluşan semptomlar tüylerde dikleşme, karışma, titreme, şuursuz hareketler ve ayaklarda felçtir. Bu semptomları gösteren farelerin beyinleri alındı ve tekrar Sellers ve FAT uygulandı. Bu beyinlerden de sonuç alınmazsa test negatif olarak değerlendirildi.

Her iki test ile elde edilen 143 adet çeşitli hayvan türüne ait numunelerden 25 adedi pozitif, 118 adedi negatif olarak saptanmıştır.

### **Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testininin Değerlendirilmesi, Sonuçlar:**

FAT'de olduğu gibi kuduz antinükleokapsit konjugatı ile boyanan Lab-Tek slaytına Floresan mikroskopta bakıldı. Pozitif vakalarda hücrelerin yeşil floresan verdiği, negatif olaylarda ise hücrelerin enfekte olmayışına bağlı olarak portakal sarısı renginde olduğu saptandı. Bu test ile de test edilen 143 adet numunenin 23 adedi pozitif, 120 adedi de negatif olarak saptanmıştır.

### **FAT, Fare İnokulasyon Testi, Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testleri arasında ki korelasyon:**

FAT ve Fare İnokulasyon Testi arasında sonuçlar açısından %100 bir uygunluk bulunmaktadır. FAT ile Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testi arasındaki uygunluk %98.6'dır (Tablo 2). Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testinde negatif sonuç veren iki numune diğer iki testte pozitif sonuç vermiştir (Tablo 3).

**Tablo 2. FAT ve Kuduz Doku Kültürü Enfeksiyon Testleri Arasındaki Uygunluk**

Top. Num. Sayısı	+FAT +KDKET	-FAT -KDKET	+FAT -KDKET	-FAT +KDKET	Uygunluk %
143	23	118	2	0	98.6

**Tablo 3. Sonuçlar Açısından Her Üç Test Arasındaki Korelasyon**

Sonuçlar					
FAT Sonuçları	KDKET + FIT +	KDKET + FIT -	KDKET - FIT +	KDKET - FIT -	Toplam
+	23	0	2	0	25
-	0	0	0	118	118

## TARTIŞMA

Kuduzda çabuk teşhis, ısırma sonrası (post-exposure) tedavi için çok acil bir gereksinimdir.

Bir çok ülkede FAT veya biyolojik testlerden fare inokulasyonu ve doku kültürü enfeksiyon testlerinin kullanılması ülkelerin iklim ve sosyoekonomik faktörleriyle ilgilidir. Az gelişmiş ülkelerde hala Seller's metodu uygulanmaktadır.

Kuduzdan ölen hayvanların laboratuvar teşhisinde tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği üç yöntem uygulanmaktadır: Sellers Boyama, Floresan Antikor Tekniği ve Fare Inokulasyon Testi.

Bu araştırma T.K.I.B. Etlik Veteriner ve Kontrol Araştırma Enstitüsü Kuduz Teşhis Laboratuvarına gönderilen numunelerde, kuduz teşhisinde kullanılan laboratuvar yöntemlerinden FAT, FIT ve KDKET'lerinin karşılaştırılması ile ilgili ilk çalışmadır. Araştırmada Enstitüsü Kuduz Teşhis Laboratuvarına 14 il ve ilçelerinden gönderilen 143 adet farklı hayvan türlerine ait numuneler

kullanılmıştır.

Her üç teknik ile test edilen 143 adet beyin numunesinin 23'ü pozitif, 118'i de negatif sonuç vermiştir. FAT ve FIT ile pozitif sonuç veren 2 numune KDKET ile negatif sonuç vermiştir. FAT ile FIT arasındaki uygunluk %100 iken, FAT ile KDKET arasındaki uygunluğun %98.6 olduğu saptanmıştır.

Rudd ve Trimarchi (15) yaptıkları benzeri bir çalışmada 1984 ve 1985 yılları arasında 2390 numuneyi her üç teknikle test etmişlerdir. 2112 numune her üç test ile negatif sonuç vermiştir. 278 numune FAT ve FIT ile pozitif sonuç verdiği halde KDKET ile 206 numune pozitif sonuç vermiştir. Geri kalan 72 (%3) numuneden KDKET ile tatminkar olmayan sonuçlar elde edilmiştir. FIT'ne göre KDKET'de %3 oranında saptanan yanlışlar araştırmacılarla (15) bazı faktörlere bağlanmıştır. Araştırmacıların bildirdiğine göre bu faktörler test edilecek şüpheli dokunun bozulmaya yakın olması ile teknikte kullanılan N2a hücrelerinde oluşan erime ve kümeleşmeyle ilgilidir.

Ayrıca araştırmacılar KDKET için optimal inkubasyon süresinin 4 ile 5 gün olduğunu da bildirmişlerdir. Benzeri çalışmalar yapan diğer araştırmacıların da bu süreyi, 24 saat olarak bildirdiklerini de araştırmacılar rapor etmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar, (24 saatlik inkubasyon süresinin) yeterli miktarda virus içeren test inokulumu kullanıldığı zaman istenilen sonuçların alınabileceğini de bildirmişlerdir. (Yeterli miktar virus içermesi ise, bu çalışmada  $10^{1.5}$  DKID<sub>50</sub> herbir 0.2 ml test inokulumu ile KDKET 24 saat içinde pozitif sonuç vermektedir).

Barrat ve ark. (1) yaptıkları bir başka çalışmada, FIT ve KDKET'lerini iki ayrı laboratuvar halinde karşılaştırmalı çalışmışlardır. Bu çalışmaya göre A laboratuvarında 225 numune her iki testte pozitif 15 numune FIT'de negatif iken, KDKET'de pozitif, 3 numune de FIT'de pozitif iken, KDKET'de negatif sonuç vermiştir.

B laboratuvarında 159 numune her iki testte pozitif, 4 numune FIT'de negatif iken KDKET'de pozitif, 16 numune de FIT'de pozitif iken, KDKET'de negatif sonuç vermiştir. Sonuçlara göre B laboratuvarında FIT çok daha duyarlı olmasına karşın A laboratuvarında tam aksi sonuç elde edilmiştir.

Araştırmacılar bu sonuçlarla ilgili olarak KDKET'nin epidemiyolojik teşhisler için iyi bir test olduğunu, fakat FIT'nin özel vakalarda uygulanması gereken bir referans teknik olduğunu vurgulamışlardır.

Bourhy ve ark. (2) FAT, KDKET ile RREID testlerini karşılaştırmalı olarak



çalışarak 2290 numuneyi test etmişlerdir. 2290 numunenin 302'si FAT ile pozitif sonuç vermiştir. 5 numune (% 1.7) KDKET'de pozitif iken, RREID'de negatiftir. 7 numune (%2.3) KDKET'de negatif iken RREID'de pozitiftir. 10 numune (%3.3) KDKET ve RREID testlerinde negatif sonuç vermiştir. 1988 numune ise FAT ve KDKET'de negatif iken sadece 3 numune (% 1.5) RREID testinde pozitif sonuç vermiştir. FAT ve KDKET'leri arasındaki uygunluk %99.26 iken, FAT ile RREID arasındaki uygunluk ise %99.21 olmuştur.

Bu çalışmada araştırmacılar, 10 numunenin (%3.3) FAT ile pozitif sonuç verirken, KDKET ile RREID testlerinde negatif sonuç vermesinin neye bağlı olarak şekillendiği üzerinde önemle durmuşlardır. Acaba bu 10 numune FAT'de gerçekten de pozitif midir veya yanlış pozitif sonuç vermiş midir? Araştırmacılar yanlış sonuç vermedeki olasılıklardan birisinin, FAT'de bu numunelerin çok zayıf bir reaksiyon vermesine bağlı pozitif olarak değerlendirilmesidir. Bir diğer temel özellik ise RREID testinin güvenilirliğinin bazı numunelerde kokuşmuş olmasıyla etkilenmemesidir.

Bu çalışma sonunda araştırmacılar, KDKET ile RREID testlerinin rahatlıkla karşılaştırılabilecek nitelikte olduğunu ve RREID testinin diğer teste oranla biraz daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Rudd ve Trimarchi'nin (14) yaptıkları bir diğer çalışmada ise Sokak virusunun izolasyonunda BHK-21 ve Fare Neuroblastoma hücrelerinin duyarlılıkları karşılaştırılmıştır. Çalışmada çok az miktarda kuduz virusu içeren 20 fare beyni test edilmiştir. İki araştırmacı FAT ile 19 fare beyninin pozitif olduğunu, bir araştırmacı 1'ininde pozitif olduğunu, diğer araştırmacı da negatif olduğunu saptamıştır. FIT testi ile 18 numune pozitif, 2 numune negatif sonuç vermiştir. KDKET'de N2a hücresi ile 19 pozitif ve 1 negatif sonuç alınmıştır. BHK-21 hücresi ile 3 pozitif ve 17 negatif sonuç saptanmıştır.

Araştırmacılar N2a hücresinin sokak kuduz virusunun izolasyonunda BHK-21 hücrelerine oranla çok daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda N2a hücresi ile virus izolasyonunun sensitivite açısından FIT ve FAT ile rahatlıkla karşılaştırılabilecek düzeyde olduğunu da ortaya koymuşlardır.

Daha sıklıkla fazla miktarda antijen içeren pozitif numunelerde FAT, FIT ve KDKET (N2a) hücresi ile teşhis çok kolaylıkla yapılabilmektedir. Bununla birlikte bazı teşhis laboratuvarlarında zayıf pozitif beyin numuneleri ile çoğunlukla yanlış teşhisler yapılabilmektedir. Bu çalışmada da zayıf pozitif beyin numuneleri

kullanarak, FAT ile teşhis yapan 136 laboratuvar görevlisi % 15.6 gibi bir hata yapmışlardır.

Araştırmacılar, bu çalışmada her üç testin birbirine eşit bir duyarlıkta sonuç verdiklerini bildirdikleri gibi aynı zamanda bazı inhibitör faktörlerden de söz etmişlerdir. Örneğin bir süspansiyonunun hazırlanmasındaki dilüsyon faktörü gibi. Araştırmacılar, deneyimlerine göre 5 ve 10 katlı sulandırmalarda bu tip inhibitör etkilerin ortadan kalktığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak 143 numunenin test edildiği bu çalışmada da, diğer araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sadece FAT ve FIT'lerinde pozitif sonuç elde edilen 2 numune KDKET de negatif sonuç vermiştir. Bu durumda diğer araştırmacıların sonuçlarında bildirdikleri gibi inhibitör faktörlerle ilgili olabilir şeklinde açıklanabilir.

Ayrıca diğer iki test kadar da duyarlı olan KDKET, FIT'de olduğu gibi sonuçların alınması için 21 gün gibi bir süre beklemeyi gerektirmektedir. Bu test ile 24 saat içinde sonuç alınmaktadır. Bu nedenle doku kültürü laboratuvar çalışmaları için gerekli olanaklara sahip kuduz teşhis laboratuvarları içinde çabuk ve spesifik bir testtir.

## KAYNAKLAR

1. BARRAT, J., BARRAT, M.J., PICARD, M., AUBERT, MF.A.: Diagnosis of rabies on cell culture: comparison of the results of inoculation of a murine neuroblastoma cell line and mouse inoculation. *Comp. Imm. Microb. and Inf. Dis.* 11: 207-214, 1988.
2. BOURHY, H., ROLLIN, P.E., VINCENT, J., SUREAU, P.: Comparative field evaluation of the fluorescent antibody test, virus isolation from tissue culture and enzyme immunodiagnosis for rapid laboratory diagnosis of rabies. *J. Clin. Microbiol.* 27: 519-523, 1989.
3. BURGU, I.: Özel Viroloji, Teksir. A.Ü. Vet. Fak., 1989.
4. BUXTON, A., FRASER, G.: Rhabdoviruses. *Animal Microbiology.* Blackwell Scientific Publication, Edinburgh pp. 553-567, 1977.
5. COONS, A.H., KAPLAN, M.H.: Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a methode for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J.Exp.Med.* 91: 1-13, 1950.

6. CRICK, J., KING, A.: Culture of Rabies Virus in vitro. In: Campbell, J.B., Charlton, K.M.: Rabies Kluwer Academic Publishers. U.S.A. pp. 47-65, 1988.
7. DEAN, D.J., ABELSETH, M.K.: The fluorescent antibody test. In: Kaplan, M.M., Koprowski, H., Laboratory Techniques in Rabies W.H.O. Monograph 23, 3rd. ed. 73-84, 1973.
8. DELETOILLE, P.: La rage et son diagnostic. Labarama Diagnostics Pasteur, 27: 6-11, 1988.
9. GILLESPIE, J.H., TIMONEY, J.F.: Hagan and Brunner's Infectious Diseases of Domestic Animals 7th. ed., Cornell Universty Press, pp. 758-781, 1981.
10. GOLDWASSER, R.A., KISSLING, R.E.: Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. Proc. Soc. Exp. Bio. and Med., 98:219-223, 1958.
11. GÜLEY, M., TUNUS, M.M., TOKER, M., ŞENTÜRK, M.: Floresan Antikor Tekniği ile kuduz teşhisi. Etlik Vet. Bakt. Enst. Dergisi 3(6): 104-108, 1968.
12. KOPROWSKI, H.: The mouse inoculation test In: Kaplan, M.M., Koprowski, H. Laboratory Techniques in Rabies. W.H.O. Monograph 23, 3rd. ed. 85-93, 1973.
13. Mc. QUEEN, J.L., LEWIS, A.L., SCHNEIDER, N.J.: Rabies diagnosis by fluorescent antibody I. It's evaluation a public health laboratory. American Journal Public Health 50: 1743-1752, 1960.
14. RUDD, R.J., TRIMARCHI, C.V.: Comparison of sensitivity of BHK-21 and Murine Neuroblastoma cells in the isolation of street strain rabies virus. J. Clin. Microbiol. 25: 1456-1458, 1987.
15. RUDD, R.J., TRIMARCHI, C.V.: Development and evaluation of an in vitro virus isolation procedure as a replacement for the mouse inoculation test in rabies diagnosis. J.Clin.Microbiol. 27: 2522-2528, 1989.
16. TIERKEL, E.S.: Rapid microscopic examination for Negri bodies preparation of specimens for biological test. In: Kaplan, M.M. Koprowski, H. Laboratory Techniques in Rabies. W.H.O. Monograph 23.3rd. ed. 73-93, 1973.
17. WEBSTER, W.A.: A tissue culture infection test in routine rabies diagnosis. Can. J. Vet. Res. 51: 367-369, 1987.
18. WORLD HEALTH ORGANIZATION: Rapid Rabies Enzyme Immunodiagnosis Kit. Bulletin of the World Health Organization 88.29: 1-15, 1988.