

Hastalarda ve Sağlıklı Kimselerde Latex Aglutinasyon Metodundan Faydalanarak Avustralya Antijeni Tayini

The Use of Latex Agglutination Method in the Determination of
Australia Antigen in Patients and Healty Subjects.

Gazanfer BİNGÖL (*) - Fuat BİNGÖL (**)

Homolog Serum Sarılığı, Transfüzyon Sarılığı veya Viral Hepatit B de denilen virütik sarılık, kulukça devri 15 - 40 gün arasında değişen enfeksiyöz hepatitise (Viral Hepatit A) kıyasla 40 - 150 gün arasında hatta bazan altı aya kadar varan inkubasyon devri gösteren bir sarılık şeklidir.

Genellikle parenteral yollarla yapılan enjeksiyonlar sonucu sirayet eden Homolog Serum Sarılığı burun boğaz yolu ile de sirayet edebilmektedir.

HASTALIK ETKENİ :

Bu gün genel olarak kabul edildiğine göre hastalığın meydana gelmesine sebep olan etken 1964 yılında Blumberg tarafından keşfedilmiş olan (Hepatitis Associated Antigen, HAA) Avustralya Antijenidir. Avustralya Antijeni denilmesinin sebebi bu antijenin Blumberg tarafından ilk defa Avustralyalı bir hastanın serumunda tesbit edilmiş olmasındandır.

Bu antijenin Viral Hepatitle sıkı bir ilişkisinin bulunduğu 1967 - 1968 yıllarında Bulumberg ve arkadaşları tarafından ortaya konulmuştur.

ANTİJENİN ÖZELLİKLERİ :

Protein yapısında bir maddedir. Ayrıca lipid ihtiva eder. Sudan

Reaksiyona verildiği tarih : 6 Kasım 1973

(*) Biyokimya Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

(**) Biyokimya Kürsüsü, Tıp Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

Black boyası ile hafif boyanır. Elektron mikroskopunda küçük pleomorfik, sferik partiküller halinde veya uzun atipik tubuler şekilde görülür. Sferik partiküller 20 mm, tubuler olanlar ise 40-45 mm çapındadır. Enfeksiyöz Hepatitis virusuna oranla dış etkenlere daha dayanıklıdır. 100 derecede kaynamaya karşı 1-2 dakika süre ile dayanıklıdır. 60 derecede 30 dakika süre ile ısıtıldığında inaktif hale geçer.

ANTIJENİN YAYGINLIĞI:

Homolog Serum Sarılığını meydana getiren Avustralya Antijeni insanlar arasında oldukça yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Sağlıklı görülen bir çok kimseler kanlarında Avustralya Antijeni taşıyabilirler. Amerika'da ve Avrupa'da yaşayan beyaz ırka mensup sağlıklı kimselerden % 0.1-0.5 inin kanında Avustralya Antijeni bulunduğu tesbit edilmiştir. İtalya'da bu oran genellikle %0.5-1 arasında değişmektedir. Sardunya ve Torino'da ise kanında antijen taşıyanların oranı çok daha yüksektir. Dr. Maycok tarafından Avrupa Kan Ekspertleri Alt Komitesi'ne sunulan bir raporda belirtildiğine göre gönüllü kan donörlerinin serumları üzerinde yapılan incelemeler bu donörlerden :

Avustralya'da	% 0.265
Danimarka'da	% 0.1 - 0.3
Finlandiya'da	% 0.17
İsviçre'de	% 0.2 sinin kanlarında Avustralya Antijeni bulunduğunu ortaya koymuştur.

Memleketimizde Dr. N. Mizan ve A. Korkut tarafından 3855 gönüllü kan donörünün kanları üzerinde Latex Agglutinasyon Metodu ile yapılan bir araştırmada bunların %2.62 sinde Avustralya Antijeni bulunduğu tesbit olunmuştur. Ayrıca Prof. Dr. Kılıç Turgay tarafından sağlıklı kimseler üzerinde Agar-jel Difüzyon Metodu ile yapılan bir inceleme sonucunda 1135 kişide %1.7 oranında Avustralya Antijeni bulunduğu tesbit olunmuştur.

Biz Latex Agglutinasyon Tekniğinden faydalanmak suretiyle yaptığımız incelemede teste tabi tutulan ve evvelce sarılık geçirmemiş 100 kişide sadece bir yalancı pozitif reaksiyon tesbit ettik. İmmunodifüzyon Tekniği ile yapılan araştırmada bu pozitif reaksiyo-

nun yalnızca pozitif reaksiyon olduğu meydana çıktı. Zaten 8 ay süre ile gözlem altında bulunan bu şahısta herhangi bir sarılık belirtisi görülmedi. Ayrıca hastahanelerden temin edilen ve karaciğer hastalığı dışındaki sebeplerle hastahane bulunan transaminaz aktivitesi normal 411 hastanın kan serumunda yapılan testlerde Avustralya Antijeni yönünden pozitif olan 5 vak'a tesbit edildi. Bu oran Latex Agglutinasyon Metodu ile tesbit edilen pozitif vak'aların sayısının %0.978 civarında olduğunu göstermektedir.

AVUSTRALYA ANTİJENİNİN TAYİNİNDE FAYDALANILAN TEKNİKLER :

Avustralya Antijeninin aranmasında İmmunodifüzyon, Kounter İmmun Elektroforezis, Komplemant Fiksasyonu, Latex Partikülleri Agglutinasyonu, Radioimmün İnceleme ve İmmun Elektron Mikroskopisi gibi tekniklerden faydalanılmaktadır. Bu tekniklerden Radioimmün İnceleme ve İmmun Elektron Mikroskopisi gibi teknikler oldukça kompleks ve hassas olmalarına karşılık pahalı tekniklerdir. Buna karşılık Latex Agglutinasyon Tekniği basit, süratli ve oldukça hassas olması yönünden Avustralya Antijeninin araştırılmasında geniş ölçüde kullanılmaya elverişli bir tekniktir. Ancak yanlış pozitif ve bazan yanlış negatif reaksiyonlara sebep olması nedeni ile bu tekniğin kullanımında uygun bir kontrol sisteminden faydalanılmalıdır.

LATEX AGGLUTINASYON TEKNİĞİ İLE AVUSTRALYA ANTİJENİNİN ARANMASI :

REAKTİF : Avustralya Antijeninin tayini için Behringwerke Firması tarafından hazırlanan latex agglutinasyon reaktifinden faydalanılmıştır. Bu reaktif polystren-latex parçacıklarına Avustralya Antijenine karşı spesifik antikor ihtiva eden tavşan serumunun immunoglobulinleri emdirilmek sureti ile hazırlanır. Serum içerisinde koruyucu olarak sodyum azid (1 mg./ml.) vardır.

Avustralya Antijeni tayini için hazırlanan reaktif takımı içerisinde ayrıca kontrol amacı ile faydalanılacak Avustralya Antijeni ihtiva eden serum ve bir de antijen ihtiva etmeyen normal serum mevcuttur.

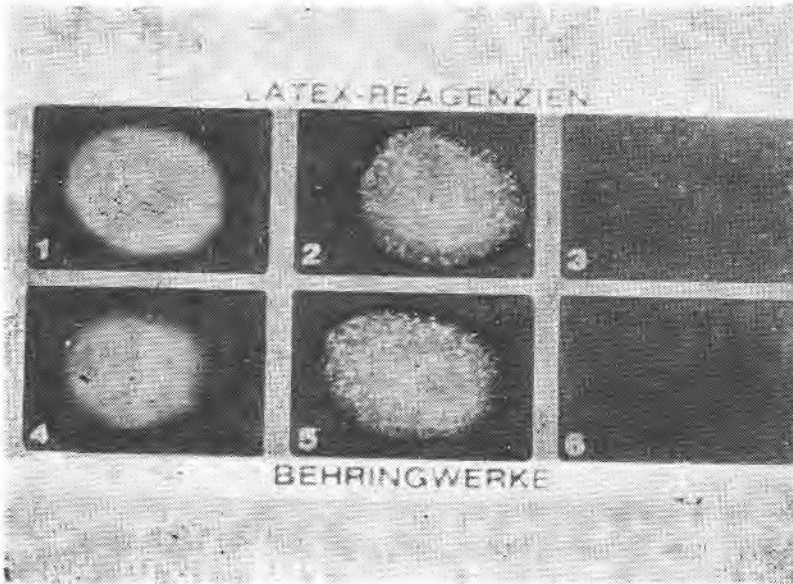
Serumlar etkili antijen ihtiva edebileceğinden kullanımında asepsi kaidelerine riayet edilmelidir.

TEKNİK :

- 1 — Test plağı üzerine bir damla numune serum, bir damla pozitif kontrol reaktifi ve bir damla negatif kontrol reaktifi damlatılır.
- 2 — Latex-HAA reaktifi şişesi iyice çalkalanır ve yukarıdaki reaktiflerin üzerine birer damla ilâve edilir, bir bagetle iyice karıştırılır. Sonra test plağını sağa - sola, yukarı - aşağı çevirmek suretiyle reaktiflerin iyice karışması temin edilir.
- 3 — Kontrol serumları ile kıyaslamak suretiyle numune serumda agglutinasyonun olup olmadığı araştırılır. Negatif serum 5 dakika içinde hiç bir agglutinasyon göstermez.
- 4 — Zayıf agglutinasyonlar bir büyüteç ile daha iyi izlenebilir.

Latex-HAA reaktifi her gün bir defa negatif ve pozitif kontrol serumları ile kontrol edilmelidir.

Nonspesifik pozitif reaksiyonlar serumun rheumatoïd faktörler (anti gamaglobülin) ihtiva etmesinden ileri gelebilir. Nonspesifik pozitif reaksiyonlara sebep olabileceğinden plazma ile deney yapılmamalıdır.



Ö Z E T

İnsan kan serumunda Avustralya antijeni tayininde antikorla kaplanmış lateks partikülleri aglutinasyonu metodu, tekniğin basitliği ve çabukluğu yönünden özellikle diğer tekniklerden faydalanılması mümkün olmayan hallerde faydalanılabilir bir metod olarak gözükmektedir. Bu metoddan faydalanarak yaptığımız araştırmalarda 100 sağlıklı öğrenciden sadece birisinde yalancı pozitif reaksiyona, karaciğer hastalığı dışındaki sebeplerle hastanelerde bulunan ve transaminaz aktivitesi normal olan 411 hasta serumundan 5 tanesinde pozitif reaksiyona rasladık. Yaptığımız bu araştırmada, kendileri sarılık veya karaciğer hastalığı geçirmedikleri halde kan serumlarında Avustralya antijeni bulunan kimselerin oranının %0.978 civarında olduğu tesbit edilmiştir. Bu sonuç ve diğer araştırmacıların değişik metotlarla elde ettikleri sonuçlar memleketimizde görünüşte sağlam olan kimselerden kanlarında Avustralya antijeni tesbit edilenlerin oranınının diğer batı ülkelerine kıyasla yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak bu orantınının bölgelere göre kesilnikle saptanabilmesi için daha geniş araştırmalara ihtiyaç vardır.

S U M M A R Y

Using Latex Agglutination method we tried to find out the incidence of Australia antigen pozitif persons in 100 normal healty students and 411 patients who have not suffered of jaundice or other kinds of hepatitis. No positif reaction was found among 100 healty students except one false positive reaction. Five positive reactions were detected in the group of patients being treated at the hospital because of other illnesses they suffered.

K A Y N A K L A R

- 1 — **BLUMBERG, B.S., Alter, H. S., Visnich, S.** : A «New» antigen in lenkemia sera J.A.M.A. **191** : 541, (1965).
- 2 — **BLUMBERG, B. S., Sutnick, A. I., London, W. T.** : Australia antigen and hepatitis. J.A.M.A. **207** : 1895, (1969).
- 3 — **MAYCOK, Wd'a** : Hepatitis in Transfusion Services, British Med. Bulletin Vol. 28 No : 2 Ps : 163-169, London, (1972).

- 4 — **SOULIER, J. P.** : The Australia Antigen Hepatitis Associated Antigen (HAA) And Corrospounding Antibodies, S. Karger, Basel, (1970).
- 5 — **TAYLOR, P. E., Zuckerman A. J. and Bird Hyg.** : Electron Microscopy of Hepatitis Associated Antigens Tropic Med., **19/3-4** (246-253), London-Voxsang (Basel), (1970).
- 6 — **VERGANI, C.** : Crossover electrophoresis fur the rapid detection of serum hepatitis (Australia) antigen and antibody.
Inst. Pathol. Spec. Med. II, Univ. Milan J. Clin. Path. **24/1** (86-87), (1971).