

Koyun ve Keçi Serumlarının Brusellosis Bakımından Plate ve Tüp - Aglutinasyon Testleriyle mukayeseli olarak muayeneleri

Mes'adet DOĞUER

Yetiştirme Hastalıkları Laboratuvarı Şefi

Ö N S Ö Z

Bilindiği üzere çabuk aglutinasyon metodu Brusellosisde takriben kırk sene evvel HUDDLESON tarafından bildirilen, önce Amerika sonra Avrupa mem'eketlerinde tatbik edilmeğe başlanan en sonra Orta ve Uzak Şark lâboratuvarlarında denenen çok pratik bir usuldür. Geniş bir saha içinde halk elinde bulunan büyük veya küçük baş çift tırnaklı hayvanlardaki Brusellosis taramasında en-deşesizce kullanılabilecek bir metod olarak bildirilmekteyse de daha emin bir test olarak bilinen Tüp - sero - aglutinasyon metodu ile mutabakat veya inhiraf nisbetini tesbit maksadiyle şimdilik koyun ve keçi serumlarında tatbik etmeği düşünmüş ve mıntıkamıza dahil Çifteler harasında yapılacak sistematik muayene zamanını beklিয়ে- rek T. B. Vet. İş. G. Müdürlüğünün 15 Ağustos 1964 gün ve S. I, 11093 - 68935 sayılı emirleri gereğince mezkûr haraya gidilip koyun, keçi ve çoban köpeklerine ait olmak üzere cem'an 2271 kan serumu Brusellosis bakımından Tüp - aglutinasyon testiyle ve Plate testle mukayeseli olarak muayeneye tâbi tutulmuştur.

Memleketimizde mevcudu takriben 60 milyonu bulan koyun ve keçinin bugünkü şartlarla kan serumlarının batı usulle muayenele- rinin imkânsız olduğu aşikârdır. Yapılması kolay, çabuk netice ve- ren ve aynı zamanda serum gönderme zahmeti olmıyan bu test'in hiç olmazsa şimdilik bu gibi hayvanların toplu halde bulunduğu Dev- lete ve halka ait çiftliklerde tatbik imkânı olması metodun lehine

kaydedilecek hususlardır. Bu konu ile alakalı meslektaşlarımıza, bir faydası olur düşüncesiyle, alınan neticeleri bildirmeği uygun bulduk.

L İ T E R A T Ü R

Yerli ve yabancı literatürde sığır ve koyunlara ait süt veya kanla yapılmış bazı araştırmalar mevcutsa da koyun ve keçi kan serumu ile çabuk aglutinasyon çalışmalarına daha az rastlanmaktadır. Yukarda da bahsedildiği gibi bu test Brusellosis'in teşhisinde ilk defa olarak Amerika'da HUDDLESON tarafından bildirilmiştir. BAŞKAYANIN (1952) mesaisinden elde edilen bilgiye göre Erdöl, 446 serumdan, müsbet vak'alarda % 93, menfi vak'alarda % 97, netice itibariyle % 96 vak'ada yavaş aglutinasyonla alınan neticelerin birbirini karşıladığını bildirmiştir. BAŞKAYA (1952) kendisinin hazırlanmış olduğu kristal violeli bir antijenle Plate test üzerinde yaptığı çalışmalarda antijen için 0.04 lük ve serum için 0.02 cc. lik iki tip öze ve AYGÜN tarafından bulunmuş olan aglutinasyon kutusu kullanılarak önce birinci öze ile aldığı antijeni cam levhaya koyup ikinci öze ile aldığı serumu antijenle karıştırıp 18 - 25 C. derecede yapmış olduğu çalışmalardan 3 - 5 dakika içinde iyi neticeler aldığını, Ankara mezbahasında 1942 - 1943 yılı içinde kesilen yerli ve yabancı 3774 baş sığır üzerinde yaptığı incelemelerde bunlardan 39 unun kan serumu çabuk aglutinasyonla, 33'ünün kan serumu da yavaş aglutinasyonla Brusellosis bakımından müsbet bulunduğunu, BEŞE (1959), 179 koyun kan serumunu Amerika'da Z. Vekâletine ait bir müessesede imâl edilmiş bir antijenle Plate teste tâbi tutmuş olup % 33.5, yavaş aglutinasyon deneyinde ise % 44.6 müsbet ve % 6.6 şüpheli reaksiyon tesbit ettiğini, STABLEFORTH ve GALLOWAY (1959), Plate testin kan serumu, süt serumu ve kanla tatminkâr neticeler verdiğini, muhtelif yerlerde farklı boya ve metodlarla antijenler hazırlansa bile bunların İnternasyonal standart serumla yeknesak bir hassasiyete standardize edilmelerinin ve kabul edilen titrede bariz bir müsbet reaksiyon vermelerinin, aynı zamanda mümkün olduğu kadar non-spesifik reaktiviteden uzak olmalarının icap ettiğini bildirmişlerdir. İran'da RAZİ enstitüsünde (1960) Gensian viole ve Brilliant green karıştırılarak 119-3 suşu ile hazırlanmış olan antijenin koyun ve keçi serumlarıyla Plate testde kullanıldığı, bu testin kolay bir metod olduğu, dalgalı hummanın teşhisinde İran'lı

doktorların da bu testi insan serumlarında kullandıkları bildirilmiştir. CEDRA ve arkadaşları (1960), üç eyalete ait sürülerdeki 400 keçi kan serumunu plate teste tâbi tuttuklarını neticelerin bu testin faydalı olduğunu gösterdiğini, Brusellosis bakımından yapılacak yoklamalarda bu test'in kullanılabilceğini, DAS ve arkadaşları (1961), Hindistan'da bir mahalde kasaplık koyun ve keçilerde yapılan serî ve batî aglutinasyon testleriyle koyunlarda % 2.47, keçilerde % 5.19 nisbetinde reaktör tesbit edildiğini, CEDRO ve arkadaşları (1962) keçi serumlarıyla yaptıkları çalışmalarda Plate testle Tüp-aglutinasyon testleri arasında mutabakat olduğunu, MURTY ve KAUSHİK (1963), Huddleson'un 1943 senesinde bildirdiği şekilde bir çalışma yaptıklarını, 2 cm. kutruna kareler çizilmiş ve alt tarafından aydınlatma tertibatı olan camı havi bir kutuda bu testi tatbik ettiklerini, hususî derece'î pipetlerle 0.04 ve 0.08 ml. miktarında iki kareye kan, bunların üzerine de 0.04 ml. bir damla kadar renkli antijen damlattıklarını, steril kürdanlarla karıştırıldıktan 5 dakika sonra reaksiyon görüldüğünü, kullanılan bu renkli antijenin İngiltere'de Weybridge lâbratuvarından getirildiğini, bu mesainin Brusella enfeksiyonunun mevcut olduğu 35 köyden elde edilen sığır kanlarıyla yapıldığını ve bu Kanla - plate testin (Whole - blood - plate test) diğer Serum - plate test, Serum - tüp test, Ring test, Süt - plate test, kazeini alınmış süt suyu ile plate test (Whey - plate test) ve Süt suyu ile tüp test (Whey - tüp test) mukayese edildiğini neticede, hastalığı taramak gayesiyle saha araştırmalarında bu test'in kat'î olarak faydası olduğunu bildirmişlerdir.

MATERYAL VE METOD

MATERYAL : SERUM : Çifteler harasına ait 819 baş dağlıç koyununa, 1331 baş tiftik keçisine, kesim sürüsüne ait 97 baş koyuna ve 24 baş çoban köpeğine ait olmak üzere cem'an 2271 adet kan serumu Brusellosis bakımından Tüp aglutinasyon ve aynı zamanda Plate teste tâbi tutularak mukayeseli bir şekilde muayene edilmiştir. Haranın bir yaşını tamamlamamış koyun ve keçileri muayenelere dahil edilmemiştir.

ANTİJEN : Tüp - aglutinasyonu ile Plate testde kullanılmakta olan her iki antijen de 189 sayılı Brusellosis Mücadele Talimatnamesine göre Pendik Bakterioloji enstitüsü Brusellosis laboratuvarında istihsal edilmiştir.

METOD : Batı ve Seri aglutinasyon testleri T. B. Vet. İş. G. Müdürlüğüne bağlı laboratuvarlarda, mezkûr talimatnameye göre halen tatbik edilmekte olan metodlar olduğundan burada zikredilmekten sarfınazar edilmiş koyun ve keçiler için elimizde ayrı bir talimatname ve nizamname mevcut olmadığından 15/4/1958 gün ve 167 sayılı B. S. M. Kurulunun hükümlerine bağlı kalınmış, müsbet ve şüpheli kriterlerinin tesbitinde yabancı literatürde bildirildiği veçhile kan serumunun mililitresinde 50 veya daha fazla İnternasional Brusella Anticor Ünitesi ihtiva eden koyun ve keçiler müsbet reaktör, Plate testde ise 1/100 lük serum-antijen karışımında reaksiyon gösteren serumlar müsbet kabul edilmiştir.

ÇALIŞMALARIMIZ

Çifteler harasına ait koyun ve keçi kan serumlarının Brusellosis bakımından Batı ve Seri aglutinasyon testleriyle mukayeseli olarak yapılan muayenelerden alınan neticeler aşağıda 1 No. lu tabloda gösterilmiştir.

T A B L O : 1

SERUMUN		TÜP-AGLUTINASYON TESTİ					PLATE TEST				
Nev'i	Adedi	Müsbet	%	Şüpheli	%	Menfi	Müsbet	%	Şüpheli	%	Menfi
Koyun	916	42	4.6	18	1.9	856	33	3.6	28	3	855
Keçi	1331	4	0.3	7	0.5	1320	—	—	13	0.9	1318
Toplam	2247	46	2	25	1.1	2176	33	1.4	41	1.8	2173

Tabloda da görüleceği üzere her iki testle tesbit edilen müsbet ve şüpheli reaktör adedi birbirine çok yakın bulunmuş olup, 2247 adet koyun ve keçi kan serumunun Tüp - aglutinasyon testiyle yapılan muayenesinde tesbit edilen müsbet ve şüpheli reaktör adedi 71, Plate testle 74 dür. Bu netice bize Plate testin koyun ve keçi serumlarının bilhassa mahallinde yapılacak Brusellosis taramalarında yalnız başına kullanma cesaretini vermektedir.

Çifteler harasına ait koyun ve keçi kan serumlarının Brusellosis

bakımından Tüp - aglutinasyon metodu ve Plate - testle mukayeseli olarak yapılan muayenelerinden alınan neticelere göre uyarlık nisbeti 2 No. lu tabloda gösterilmiştir.

(T A B L O : 2)

TÜP - AGLUTINASYONU VE PLATE - TEST ARASINDA

SERUMUN		U Y A R L I K				A Y K I R I L I K		
Nev'i	Adedi	Müsbet	Şüpheli	Menfi	Uyarlık nisbeti	Müsbet	Şüpheli	Menfi
Koyun	916	33	18	855	98.9	9	10	1
Keçi	1331	—	7	1318	99.5	4	6	2
Toplam	2247	33	25	2173	99.2	13	16	3

2 numaralı tabloda da görüleceği üzere Bati ve Seri usulle yapılan iki muayeneden hemen hemen aynı neticeler elde edilmiş olup koyun serumlarının her iki testle yapılan muayenelerinden alınan neticelerin uyarlık nisbeti % 98.9, keçilerinde % 99.5 dur. Fakat bu arada koyun serumlarıyla yapılan plate teste nazaran keçi serumlarıyla yapılan Seri - aglutinasyonda bazı farklar müşahade edilmiş, koyun serumlarında müsbet vak'alarda her dört serum - renkli antijen karışımında insan ve sığır serumlarında olduğu gibi gayet aşikâr bir reaksiyon görüldüğü halde, keçi serumlarıyla müsbet vak'alar bile okunurken fazla dikkate ihtiyaç göstermiş, serum - antijen çöküntüsü diğerlerindeki gibi iri korpüsküller halinde olmayıp gayet ufak tanecikler şeklinde teşekkül etmiştir. 1 No. lu tabloda da görüleceği üzere, bu sebepten keçi serumlarıyla yapılan Plate testde müsbet vak'alar ancak şüpheli olarak kabul edilebilmiştir. Antikorların bir kısmını kandaki albüminlerin taşıdığı, plasmadaki protein komponentlerinin elektroforetik mobiliti ve miktar bakımından hayvan nevelerine göre bariz olarak fark'ı bulunduğu (DUKES, 1955), kan serumunda aglutininlerin en fazla globulinlerle birleşik bir halde oldukları, globulin miktarının ise hayvan nevelerine göre değiştiği, aynı zamanda aglutinasyon reaksiyonuna tesir eden faktörler-

den elektrolit hassasını da kandaki tuzların verdiği, bunların miktarlarının da nevilere göre azda olsa bir fark göstermesi reaksiyonların neticelerine tesir edebileceği, bundan başka önemli bir faktöründe serumun reaksiyonunun yine hayvan nevilere göre biraz da olsa değişik olmasının test'e tesir edeceği, antijenlerin aglutininleri en kuvvetli olarak pH. 7 de adsorbe ettiğine göre hayvan nevilerde kan serumunun pH derecesinin yine az da olsa değişik olmasının aglutinasyonda da farklar husule getireceği aşikârdır. Bu bakımdan Plate test de sırasıyla sığır, koyun hattâ insan serumlarına nazaran keçi serumlarının çok ufak korpusküller halinde teşekkül etmesi yukarıda bahsedilmiş olan sebeplerden ileri gelebileceği düşünülebilir.

Literatür bilgisine göre Zone hâdisesine, keçi serumlarına nazaran koyun serumlarında daha seyrek tesadüf edilmekte olduğu bildirilmektedir (Stableforth ve Galloway, 1959). Biz de bu araştırmamız esnasında Bati - aglutinasyon testiyle yapılan muayenelerde koyun kan serumlarında % 7.3, keçi serumlarında ise % 9 nisbetinde Zone hâdisesine rastlamış bulunuyoruz.

ÜNEL VE SARISAYIN (1960), Karacabey harası ve Bandırma Merinos çiftliğine ait çoban köpeklerinde Brusellosis bakımından yaptıkları serolojik muayenelerde müsbet buldukları köpeklerden mikrop izole ettiklerini bildirmişlerdir. Biz de bu araştırma münasebetiyle Çifteler harasının koyun ve keçi sürülerine ait 24 baş çoban köpeğinin kan serumunu muayene etmiş 7 müsbet, 1 şüpheli reaktör tesbit etmiş bulunuyoruz.

Ö Z E T

1 — Çifteler harasına ait 916 adet koyun serumu Brusellosis bakımından İngiltere'de Weybridge Enstitüsünde tatbik edilmekte olan Standard Tüp - aglutinasyon metodu ve Plate testle mukayeseli olarak muayeneye tâbi tutulmuş olup bu iki test arasında mutabakat nisbeti % 98.9 olarak tesbit edilmiştir.

2 — Aynı haraya ait 1331 tiftik keçisinin kan serumu her iki testle mukayeseli olarak muayene edilmiş olup uyarlık nisbeti % 99.5 bulunmuştur.

3 — Her iki testle tesbit edilen müsbet ve şüpheli reaktör adedi birbirine çok yakın bulunmuş olup, 2247 adet koyun ve keçi kan

serumunun Tüp - aglutinasyon testiyle yapılan muayenesinde tesbit edilen müsbet ve şüpheli reaktör adedi 71, Plate testle 74 dür. Bu netice bize, Plate test'in koyun ve keçi serumlarının Brusellosis bakımından bilhassa mahallinde yapılacak taramalarda, yalnız başına kullanılabilceği cesaretini vermiştir.

4 — Bu araştırma esnasında Bati - aglutinasyon testiyle yapılan muayenelerde koyun kan serumlarında % 7.3 keçi serumlarında % 9 nisbetinde Zone fenomeni tesbit edilmiştir.

5 — Koyun serumlarıyla yaptığımız Plate testde insan ve sığır serumlarında olduğu gibi müsbet ve şüpheli vak'alarda umumiyetle gayet aşikâr bir çöküntü husule gelmişse de keçilerde, serum - anti-jen karışımından ibaret korpüsküller çok ufak olarak teşekkül ettiğinden teamüller güçlükle okunabilmiş ve bu sebeptende müsbet reaksiyonlar ancak şüpheli olarak kabul edilebilmiştir. Neviler arasındaki bu farkın serumdaki tuz, albumin, globulin miktarlarının ve aynı zamanda serumun nevilere göre pH reaksiyonunun farklı oluşundan ileri geldiği zannedilmektedir.

6 — Haranın koyun ve keçi sürülerine ait 24 baş çoban köpeğinin kan serumları da Brusellosis bakımından muayene edilmiş olup 7 müsbet 1 şüpheli reaksiyon tesbit edilmiştir.

7 — Türkiye'de mevcudu 60 milyonu bulan koyun ve keçinin bugünkü şartlarla kan serumlarının Brusellosis bakımından, Tüp - aglutinasyon testiyle muayeneleri imkânsız olduğundan, çabuk netice veren, tatbiki kolay olan ve aynı zamanda serum gönderme külfeti olmayan bu metod'un şimdilik bu gibi hayvanların toplu bir halde bulunduğu Devlet'e ve halka ait çiftliklerde tatbik imkânı olması bundan başka aslında yine çabuk aglutinasyon metod'u olan Ring test yalnız laktasyon devrinde yapılabildiği halde bu metod'un her zaman tatbik edilebilmesi Plate test'in lehine kaydedilecek hususlardır.

8 — Bu araştırmadan elde ettiğimiz neticelere istinaden, bütün dünya lâboratuvarlarınca Brusellosis'in teşhisinde emin bir test olarak kabul edilmiş olan Tüp - aglutinasyon testiyle cem'an 2247 adet koyun ve keçi serumu üzerinde yapılan mukayeseden alınan neticelerin % 99.2 nisbetinde birbirine tetabuk etmesi Plate - test'in bu gibi hayvanların Brusellosis bakımından yapılacak taramalarında endişesizce kullanılabilceğini göstermektedir.

S U M M A R Y

(Comparative Examination for Brusellosis of Sheep and Goat Sera by Plate and Tube - Agglutination Tests)

1. 916 sheep sera from Çifteler Breeding Station have been subjected to comparative testing for Brusellosis by Standard - Tube agglutination method used at the Weybridge Laboratory, England, and Plate test and the percentage of confirmation was found 98.9 %

2. Blood sera of 1331 mohair goats belonging to the same station were also comparatively tested by two methods and the percentage of confirmation was found 99.5 %.

3. Numbers of positive and suspected reactors in each of these two tests were found almost identical. In fact, positive and suspected reactors determined in 2247 sheep and goat blood sera by Tube - agglutination method and Plate tests were 71 and 74 respectively. This result encourages us to depend on plate test regarding sheep and goat sera especially when locally screening flocks for Brusellosis.

4. While conducting the foregoing researches, zone phenomena up to 7.3 % in the sheep and 9 % in the goat sera were established by Tub - Agglutination test.

5. Although in plate tests using sheep sera a generally visible flocculation in positive and suspected cases-as in human and cattle sera was produced, in goats reactions could be read with difficulty since the corpuscles formed, consisting of serum - antigen mixture, were very tiny. Therefore, the positive cases are determined as suspected. Presumably, the differences are due to the different pH reactions and amounts of salt, albumin and globulin in the serum of each species.

6. Blood sera of 24 shepherd dogs guarding the sheep and goats in the station were also tested for Brusellosis.

7. The fact is that since, facilities being what they are today, it is quite impossible to inspect the blood sera of Turkey's 60 million sheep and goats population by Tube - Agglutination tests, the pate test method becomes all the more favourable for it gives quicker results, is easy to apply and does not require the sending

of sera. It is, also, favoured in the Ring Test, which is a rapid agglutination test, for its applicability regardless the time; for the other tests is limited to the lactation period.

8. On the basis of results obtained and the fact that laboratories all over the world have accepted Tube - agglutination test as a safe method to diagnosis of Brusellosis, as well as on the face of conclusion that 99.2 % confirmation was realized at the end of comparative tests that were carried out on a total of 2247 sheep and goat sera, Plate test method can safely be used in screening flocks for Brusellosis.

Bu araştırma dolayısıyla başta Sayın Müdürümüz Dr. Ahmet Özsoy olmak üzere yardımlarını esingememiş olan diğer kıymetli meslektaşlarım Çiçek aşısı lâboratuvarı Şefi Avni Özaksit, Çifteler Harası Müdürü Mürsel Uz, Koyunculuk Servisi Mütahassıslarından Hilmi Köseoğlu, Zeki Özer, Recep Tekmen, Muammer Küçükkaya, Kemal Akgöz'e ve lâboratuvarımızın teknik elemanlarından Perihan Çetinyaparla, Ahmet Güldürmez'e bu vesileyle teşekkürlerimi bildiririm.

B İ B L İ O G R A F İ

- AYGÜN, SÜREYYA (1957) Veteriner Fakültesi Yayınları : 39 Ders Kitabı : 41
BAŞKAYA, HASAN (1962) Veteriner Fakültesi Yayınları, No. 21 Çalışmaları : 5
BEŞE, MUZAFFER (1959) Veteriner Fakültesi Yayınları, No. 99 Çalışmalar : 52
CEDRO, V. ve arkadaşları (1960) Vet. Bull. No. 5, Vol. 31, Mayıs, 1961.
CEDRO, V. arkadaşları (1962) Vet. Bull. No. 5, Vol. 33, Mayıs, 1963.
DAS, J ve arkadaşları (1961) Vet. Bull. Vol. 32, No. 5, Mayıs, 1962.
DUKES, H.H. (1955) The Physiology of Domestic Animals.
MURTY, D.K. ve KAUSHIK, R.K. (1963) The Indian Vet. Journal Vol. 40 No. 12, Aralık, 1963.
ÜNAL, SABAHAT ve SARISAYIN, FUAT (1960) Vet. Hek. Derneği Dergisi Mart - Nisan Sayı 162 - 163.
THE RAZİ ENSTİTÜSÜ İnan (1960) Cento Annexe 0 to EC/9/AG/D3.
STABLEFORTH, A.W. ve GALLOWAY, I.A. (1959) Infectious Disease of Animals, London, Vol. 1.