

## Fluorescein Yüklü Antikor Metodu ile Sığır ve Kobay İdrarından Leptospira Pomonanın Meydana Çıkarılması (\*)

Yazan :  
F. H. White ve M. Ristic

Çeviren :  
Müth. Vet. Necati Ünlüblebici

Leptospiralar experimental olarak enfekte edilen 48 No: lu dananın idrarından, ateşli devrenin görülmesinden 6 gün sonra hem fluorescent antikor tekniği ile ve hemde karanlık saha mikroskopisi ile müşahade edildiler. Serum agglütinasyon testlerinin ve idrarın karanlık saha muayenelerinin ve fluorescent antikor boyamalarının neticeleri I No: lu tabloda gösterilmiştir.

Karanlık saha ve fluorescent antikor teknikleri arasındaki münasebetin iyi olmasına rağmen sonuncusu daha hassas bulundu. Leptospiralar, 5,5 haftalık iken fluorescent antikor (karanlık saha değil) tekniği ile meydana çıkarılmıştır. 8 hafta sonra yapılan muayenede yine yalnız fluorescent antikor tekniği ile tesbit edilmiş olup karanlık saha ile meydana çıkarılamamıştır. 9,5 hafta sonra leptospiralar 48 No. lu dananın idrarından fluorescent antikor metodu ile de meydana çıkarılamadı.

Kontamine olan idrar numune'lerinin, porozitesi 0.3 mikron olan milipore filtrelerinden doğrudan doğruya Fletcher vasatının içine süzülmesiyle yapılan kültür'lerin ancak 9 tanesinden, ikisinde leptospiralara rastlanabildi. 48 No: lu dananın idrarındaki leptospiraların fotomikrografları muhtelif günlerde toplanan idrarda müşahade edildiği gibi çeşitli derecede fluorescence gösterdi.

Leptospiraların belirli morfolojik özelliklerinden dolayı idrarla yapılan çalışmalarda spesifik olmayan fluoresans mevzu bahis değildir. Fluorescein mahfazalı antikor ile boyandığı zaman normal danaların idrarından yapılan preparasyonlarda leptospira benzeri bir şeye rastlanmamıştır.

151 No: lu danada, 48 No: lu dananın enfekte idrarı ile inokülasyonundan 4,5 hafta sonra serolojik olarak leptospiral enfeksiyo-

(\*) (Aralık, 1964 cilt 2, sayı 2 de çıkan tercümenin son kısmı)

TABLO I

Fluoresans Antikor Tekniği ile 48 No : lu enfekte dananın idrarından leptospiraların meydana çıkarılması

İnokülasyon haftaları	S e r u m Agglütininin titri	İdrardan leptospiraların Meydana çıkarılması	
		Karanlık saha Muayenesi ile	Fluoresans Antikor tekniği i'e
0	0	—	—
1	0	—	—
1	400	+	+
2	1600	+	+
2	400	+	+
3	400	+	+
3	400	+	+
4	400	+	+
4	400	+	+
5	400	+	+
5	400	—	+
6	100	+	+
6	100	+	+
7	400	+	+
7	400	+	+
8	1600	+	+
8	1600	—	+
9	6400	—	+
9	6400	—	+
10	1600	—	—
11	1600	—	—
12	400	—	—

Tam agglutinasyonun görüldüğü en yüksek serum dilisyonunun reciprocal'ı 1/100 den aşağı agglutinasyonlar negatif kabul edilmiştir.

(+) = Leptospiralar müsbet. (—) = Leptospiralar negatif.

nun mevcudiyeti tesbit edildi. 151 ve 48 No: lu bu iki hayvan bir arada bulunduğu için sanki 151 No: lu dananın hastalığı sun'i yolla değil de 48 No: lu danadan kontak suretiyle olduğu kanaati uyanıyor. Yukardaki enfeksiyonun gecikmesinden ve ümid edilmemesinden dolayı vücut dereceleri alınmıyordu. Bundan dolayı vücut harareti ile leptospiraların ilk meydana çıkarılması arasındaki zaman belli değildir. Buna rağmen leptospiraların ilk meydana çıkarılmaları fluorescent mikroskopi ile olmuştur.

Leptospiralar 151 No: lu dananın idrarından muntazam fasıla

larla hem karanlık saha muayenesi, hemde fluorescent antikor tekniği ile meydana çıkarıldılar. Karanlık saha muayenesi ile ilk defa meydana çıkarılmalarından 5 hafta sonra artık bu metodla tesbit edilemedikleri gibi fluorescent antikor metodu ile ilk görülmesinden 7,5 hafta sonra bu metodlarda meydana çıkarılamadılar. Leptospiralara, aynı zamanda milipore filtresinden geçirildikten sonra Fletcher vasatında yapılan 5 kültürün 4'ünde rastlanabilmektedir.

413 No; lu dana, ilk defa serum agglutinininin görülmesiyle leptospiralarla enfekte oldukları tesbit edilmiştir. Bu, diğer bir kontak enfeksiyonu gösteren leptospirali idrar ile tecrübe inokülasyonundan 9 hafta sonra meydana geldi. 6 gün sonra leptospiralar idrarda hem karanlık saha muayenesi ve hemde fluorescent antikor tekniği ile görüldüler. Halihazırda ilk tesbitlerinden 4 hafta sonra leptospiralar hem karanlık saha muayenesi ve hemde fluorescent antikor metodu ile muntazaman meydana çıkarılıyorlar.

**IDRAR NÜMUNELERİNİN SAKLANMASI :** Eğer enfekte idrar 0.85 % NaCl solusyonunda (Buffered pH. 7.4 ve 0.8 % formalinli) toplanıp iki hafta oda derecesinde (Takriben 28°) saklanırsa leptospiraların yine fluorescent antikor boyama tekniği ile boyandıktan sonra meydana çıkarılabildikleri tesbit edilmiştir.

**SİĞİR KANININ MUAYENESİ :** 48 No: lu dananın plazmasında leptospiremik devrede iken fluorescent antikor metodu ile leptospiraları demonstre etmek için yapılan teşebbüsler tamamlanmıştır. Bazı hallerde hem karanlık saha muayenesi ve hemde fluorescent antikor metodu ile leptospira benzeri cisimler görülmüştür. Bu benzeri strüktürler normal hayvanların plazmasında da bulunmuştur. Bunlar leptospiraların morfoloji'lerine benzemediği gibi daha zayıf fluoressans göstermektedirler. Çok az benzerliklere rastlanmaktadır. Bunlar ihtimal ki fibrindir. Daha ilerdeki çalışmalar fluorescent antikor tekniği ile kanda leptospiraların meydana çıkarılması işini kolaylaştırmak ve değerlendirmek esasına yöneltilmelidir.

**MÜNAKAŞA :** Hayvanlarda leptospira enfeksiyonlarının klinik bulguları değişik olduğundan, hastalığın klinikman teşhisi güçleşmektedir. Leptospiraların bu kritik tabiatından dolayı leptospira enfeksiyonunun sür'atle tam olarak pratik laboratuvar metodları ile meydana çıkarılmasında güçlüklerle karşılaşılacaktır. Leptospiremik devrede kan kültürü tavsiyeye değersede bir çok faktörlerden dolayı çok fazla kullanılmıyor. Bu faktörler şunlardır : Bakteriyel

kontaminasyon, son teşhisten evvel istenen inkubasyon zamanı ve leptospiremik devrenin kısa oluşu.

Doğrudan doğruya veya sonda ile alınan idrardan yapılan direkt kültürler ekseriya bakteriyel kontaminasyondan dolayı iyi netice vermemektedir. Kobay veya Hemster inokulasyonlarından alınan idrarla leptospiraların meydana çıkarılması masraflı ve zamana ihtiyacı gösterdiğinden tavsiyeye şayan değildir. Kanın, plazmanın ve idrarın karanlık saha muayenesi de emniyetli değildir. Zira kandaki veya plazmadaki protoplazmik uzantılar ve fibrinler leptospiralarla karışabilmektedirler. Organizmlerin idrarda çok kısa yaşamalarında bu tekniğin kullanılmasında ciddi bir engel teşkil eder.

Leptospiraların teşhisinde en çok kullanılan testler serolojik usüllerdir. Fakat bunların neticeleride bazen çok güçtür. Çift serum (biri hastalığın ilk devresinde, diğeri 2 hafta sonra alınmış) nümuneleri titrede bir yükselme gösterebilirler. Bu serolojik reaksiyonlardaki güçlükler, diğeri organizmlerle meydana gelecek kros reaksiyonlar, iyileşmiş hayvanlardaki devamlı titre ve vaksınasyondan mütevellit antikorlardan ileri gelmektedir.

Leptospiralarda, başlıca bulaşma portör hayvanların idrarı ile olur. Portör hayvanı derhal bulup çıkarmak ve sürüden ayırmak ve temiz sürüye sokmamak çok önemlidir. Bu mesaide bahsedildiği gibi, portörleri bulup çıkarmada fluorescent antikor metodu ile idrarın muayenesi en uygun bir yol olarak görülmektedir. Bazan bir kaç tane olan leptospiralar fluorescent antikor ile tesbit edildiği halde karanlık saha muayeneleri ile görülememektedir. Leptospiraların belli özelliklerinden dolayı fluorescent tekniği bunların idrardan meydana çıkarılmasında bilhassa çok uygun bir metoddur.

Bu özellikler şunlardır :

a) Organizmaların morfolojisi, idrardaki diğeri elementlerin zayıf fluoresanslarına rağmen çok kuvvetli boyanma özelliklerinin oluşu.

b) Leptospiralar buffere edilmiş formüllü tuzlu suda toplanan idrarda haftalarca canlılıklarını idame ettirirler. Bu da saha vakalarının pratik teşhisinde fluorescent tekniğinin tatbikine yardım eder.

c) İdrar nümunelerindeki leptospiralar morfolojik karakterlerinden hiçbir şey kaybetmemeksizin laboratuvarda santrifügasyon ile konsantre edilebilirler.

L. Pomonanın fluorescein mahfazalı antikor'u, L. Canicola, L. İcteroheamorrhagia ve L. Sejroe'nın antijenlerini boyadığından reaksiyon spesifik serotip olmadığı görülüyor. İlerdeki çalışmalar antikor absorpsiyonu veya diğer vasıtalarla reaksiyonun serotip spesifik yapıp yapılamadığı üzerinde olacaktır. Böyle bir çalışmaya henüz devam edilmektedir.

ÖZET : Leptospira Pomona sun'i olarak enfekte edilen kobayın böbrek ve idrarından fluorescent antikor tekniği ile demonstre edilmiştir.

L. Pomona, sun'i olarak enfekte edilen danaların idrarı ile dışarıya çıktıkları devirde fluorescein mahfazalı antikor ile muntazaman demonstre edildi. Fluorescent antikor tekniği, karanlık saha mikroskopiye nazaran sığır idrarından leptospiraları ayırmak için daha uygundur.

İzah edildiği gibi fluorescent antikor tekniği Leptospiraların tesbitinde kültürel ve serolojik metodlara nazaran daha avantajlıdır.