

Sığır, koyun ve keçi brucellosis'inin serolojik tanısında konvansiyonel testler ve Coombs testinin kullanılması*

Ömer M. ESENDAL¹, Hakan YARDIMCI¹, Oktay KESKİN², Gülay ALTAY³

¹ Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara; ² Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa; ³ Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mudurnu Meslek Yüksekokulu, Mudurnu, Bolu

Özet: Bu çalışmada, 150'si infekte sürüden olmak üzere toplam 250 sığır ve 250 koyun-keçi serumu *Brucella* antikorları yönünden Rose Bengal plate test (RBPT), serum aglutinasyon testi (SAT) ve Coombs testi (anti-globulin testi-AGT) ile incelendi. Infekte sürüden alınan 150 inek serumundan 98'i (%65.3) RBPT pozitif ve 52'si (%34.7) negatif bulunurken, SAT ile 85'i (%56.7) pozitif, 27'si (%18.0) şüpheli ve 38'i (%25.3) de negatif olarak değerlendirildi. Geriye kalan 100 inek serumundan da 20'si (%20.0) RBPT pozitif ve 80'i (%80.0) negatif olarak saptanırken, SAT ile 44'ü (%44.0) pozitif, 6'sı (%6.0) şüpheli ve 50'si de (%50.0) negatif bulundu. İncelenen 250 koyun-keçi serumundan 94'ü (%37.6) RBPT pozitif ve 156'sı (%62.4) negatif sonuç verirken, SAT ile 111'i (%44.4) pozitif, 84'ü (%33.6) şüpheli ve 55'i (%22.0) de negatif olarak değerlendirildi. Coombs testinde, SAT pozitif toplam 129 sığır serumundan 44'ünde (%34.1) ve 111 koyun-keçi serumundan da 25'inde (%22.5) SAT titresine göre 2-5 sulandırma aralığında Coombs titre artışı belirlendi. SAT şüpheli veya negatif olan toplam 121 sığır serumundan 29'unda (%23.9) ve 139 koyun-keçi serumundan da 16'sında (%11.5) daha düşük Coombs titre artışı gözlemlendi. Infekte ineklerdeki Coombs titre artışı, infekte olmayanlardakine göre daha yüksek bulundu. Brucellosis'in tanısında RBPT ve SAT'ın yanısıra, incomplete veya bloke edici antikorları belirleyen Coombs testinin de kullanılmasının, özellikle aşılama durumu bilinmeyen hayvanlarda, yararlı olacağı kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Brucellosis, Coombs, keçi, koyun, seroloji, sığır

The use of conventional tests and Coombs test in the serological diagnosis of bovine, ovine and caprine brucellosis

Summary: In this study, a total of 250 bovine and 250 ovine-caprine sera were tested for anti-*Brucella* antibodies with Rose Bengal plate test (RBPT), serum agglutination test (SAT) and Coombs (anti-globulin test-AGT) test. Among 250 bovine sera, 150 were obtained from an infected herd. Serological examination of the cattle sera revealed 98 (65.3%) RBPT-positive and 52 (34.7%) RBPT-negative results for the infected group, and 20 (20.0%) RBPT-positive and 80 (80.0%) RBPT-negative results for the suspect group, while in SAT 85 (56.7%), 27 (18.0%) and 38 (25.3%) sera from the infected group, and 44 (44.0%), 6 (6.0%) and 50 (50.0%) sera from the suspect group were evaluated as positive, inconclusive and negative, respectively. Among 250 ovine-caprine sera 94 (37.6%) RBPT-positive and 156 (62.4%) RBPT-negative results were observed, while 111 (44.4%), 84 (33.6%) and 55 (22.0%) of them were regarded as positive, inconclusive and negative in SAT, respectively. Two to five-fold enhancements in average were observed in titres of overall SAT-positive bovine (44/129, 34.1%), and ovine-caprine (25/111, 22.5%) sera in Coombs test. Less pronounced enhancements in titres of overall SAT-suspicious or -negative bovine (29/121, 23.9%), and ovine-caprine (16/139, 11.5%) sera were also detected in Coombs test. However, the anti-globulin enhancement in infected cattle was much more pronounced than the enhancement in non-infected animals. It was concluded that, the use of Coombs (anti-globulin) test, which detects the presence of incomplete or blocking antibodies in serum samples, together with RBPT and SAT in the serological diagnosis of bovine, ovine and caprine brucellosis would be useful, especially if the vaccination status of the animal is unknown.

Key words: Brucellosis, cattle, Coombs, goat, serology, sheep

Giriş

Brucellosis, dünyanın sığır, koyun, keçi ve domuz gibi evcil hayvan yetiştiriciliği yapılan hemen her ülkesinde sıklıkla görülen, kronik seyirli, bulaşıcı ve nekrotik yangısal infeksiyonlarla ortaya çıkan zoonotik bir hastalıktır (1,2,20,22).

Brucellosis'in indirekt tanısı ile birlikte kontrol ve eradikasyon programlarının yürütülmesinde kan serumu, süt ve süt serumu, vaginal mukus ve seminal plazma ile yapılan çeşitli serolojik tekniklerden yararlanılmaktadır (2,5,20,22).

Kan serumunda uygulanan rutin serolojik tekniklerden başlıcaları serum aglutinasyon testi (SAT) (4,14,17-19), Rose Bengal plate test (RBPT) (7,8,17,18, 21), ısı ile inaktivasyon (14), merkaptetanol testi (MET) (15,18,19), dithiothreitol (DTT) (18,25), EDTA (14,25), rivanol testi (11,19) ve brucellosis card test (BCT) (11,21) gibi aglutinasyon testleri, komplement fikzasyon testi (CFT) (6,11,12,18,24) ve agar gel immunodifüzyon (AGID) (13) tekniğidir.

Brucellosis'in tanısında ve eradikasyon programlarının yürütülmesi sırasında en yaygın olarak kul-

* Bu araştırma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (97-10-00-21).

lanılan rutin serolojik teknik, kan serumunda şekillenen IgM ve/veya IgG sınıfındaki aglutininleri belirleyen serum aglutinasyon testi (SAT)'dir. Test infekte hayvanların büyük bir çoğunluğunu belirleyebilse de, tam anlamıyla güvenilir değildir ve infeksiyon veya aşılama sonucu oluşan antikorları ayırt edemez. Test ayrıca, infeksiyonun erken döneminde ve kronik infeksiyonlarda negatif sonuç verebilir. (5,26).

RBPT, hem laboratuvar şartlarında ve hem de saha koşullarında bir tarama testi olarak başarı ile kullanılabilir (1). Rose Bengal boyası ile boyalı bu antijen asit pH'ya (pH 3.6) sahip olması nedeniyle IgM'lerin aktivitesini durdurarak sadece IgG sınıfı aglutininlerin reaksiyon vermesini sağlar. Test ayrıca, non-spesifik aglutininlerin aktivitesini de engeller (5,7,8).

Aşılama sonrası veya aktif infeksiyon sırasında aglutininlerin dışında, antijenle bağlanan fakat aglutinasyon oluşturma yeteneği bulunmayan spesifik antikorlar da şekillenebilir (1). Aşılı hayvanlarda aglutinin titreleri, aglutine edici olmayan antikorlara göre daha erken pik düzeye ulaşır. Buzağılarda belirlenen aglutine edici olmayan antikor aktivitesinden IgG1 sınıfı antikorlar sorumlu iken, az oranda IgG2 sınıfı antikorlar da bu aktivitede rol alabilirler. Buzağılarda olduğu gibi aşılı ergin ineklerde de aglutine edici olmayan antikor aktivitesinden IgG1 sınıfı antikorlar sorumludur. Az oranda IgG2 sınıfı antikorlar da bu aktivitede rol alabilirler (3,4).

Coombs testi (anti-globulin testi-AGT), aglutine edici olmayan ve aglutinasyon testinin hiçbir modifikasyonu tarafından ortaya konulamayan, monovalan yapıdaki inkomple veya bloke edici antikorların varlığını gösteren oldukça duyarlı bir serolojik tekniktir (3-5,18,26). Coombs testinde uygun antiserumlarla muamele sonucunda SAT ile elde edilen titrelerde bir yükselme şekillenebilir. IgM hariç serumundaki bütün antikor sınıfları bu titre artışına neden olabilir (3). Böylece, Coombs testi sadece monovalan antikorların üretildiği ve CFT hariç diğer hiçbir test ile ortaya konulamayan kronik olguları tanımlar. Test aynı zamanda aşılama ve doğal infeksiyon sonucu oluşan antikorların ayırt edilmesinde de kullanılabilir. Infekte hayvanlarda Coombs titresi genellikle SAT titresinden yüksek iken aşılı hayvanlarda böyle bir durum oluşmaz (26). Aşılı hayvanlarda testin yüksek oranda pozitif titreler verdiği de gösterilmiştir. Aneak test, düşük SAT titreli kronik taşıyıcı hayvanların belirlenmesinde değeri olan bir testtir (5).

Yapılan bu çalışmada, infekte olan ve ayrıca brucellosis şüpheli sığır, koyun ve keçi serumlarında RBPT ve SAT gibi konvansiyonel serolojik testlerin yanısıra, inkomple ve bloke edici antikorların varlığını ortaya koyan Coombs (anti-globulin test) testinin kullanılabilirliğinin araştırılması ve test sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Test serumları

Çalışmada, 250 adet sığır ve 250 adet koyun-keçi olmak üzere toplam 500 serum örneği incelendi. Sığır

serum örneklerinden 150 adedi brucellosis epidemisi görülen ve *B. abortus* izole edilen entegre bir işletmeden, geriye kalan 100 sığır ile 250 koyun-keçi serumu ise Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na ve Etlik Hayvan Hastalıkları Merkez Araştırma Enstitüsü'ne, brucellosis yönünden muayene edilmek üzere getirilen örneklerden temin edildi.

Antijenler ve kontrol serumu

SAT ve RBPT'de Pendik Hayvan Hastalıkları Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından *B. abortus* S99 suşundan hazırlanan standart tüp aglutinasyon ve Rose Bengal ile boyalı lam aglutinasyon antijenleri kullanıldı. Serolojik tekniklerde titresi SAT ile 2:1280 olarak belirlenen sığır serumu pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Rose Bengal plate test (RBPT)

Bu testte, 0.03 ml şüpheli serum ile eşit miktarda RBPT antijeni (sodyum laktat-asit tamponlu, pH 3.6) temiz bir lam üzerinde karıştırıldı ve aglutinasyon oluşumu pozitif ve negatif kontrol serumları ile karşılaştırılarak 4 dakika içinde değerlendirildi (1).

Serum aglutinasyon testi (SAT)

SAT'da, test edilecek serum örneklerinin 1:10'dan 1:640'a kadar iki katlı sulandırmaları yapıldı ve üzerlerine eşit miktarda standart *B. abortus* tüp aglutinasyon antijeninden ilave edilerek, 37°C'de 18-24 saatlik inkübasyondan sonra sonuçlar pozitif ve negatif kontrol serumları ile karşılaştırılarak değerlendirildi (1). Aşılı sığır serumları için $\geq 1:80$, aşısız sığır serumları için $\geq 1:40$; aşılı koyun-keçi serumları için $\geq 1:40$, aşısız koyun-keçi serumları için de $\geq 1:20$ SAT titreleri pozitif olarak değerlendirildi (2).

Antiglobulin serumlar

Coombs testinde kullanılan sığır, koyun ve keçi antiglobulin serumları [anti-bovine IgG (Sigma, B 1395), anti-sheep IgG (Sigma, S 1265) ve anti-goat IgG (Sigma, G 5518)] Alton ve ark. (1)'nin bildirdikleri yöntemle göre titre edildi. Bu amaçla ilk olarak her üç hayvan türü için ayrı ayrı olmak üzere, Coombs titreleri SAT titrelerinden daha yüksek olan birer serum örneği belirlendi. Bu serum örneklerinde aglutinasyonun görüldüğü en yüksek serum sulandırmasına karşılık gelen antiglobulin sulandırması olan 1:200 antiglobulin serumun titresi olarak kabul edildi.

Coombs testi (anti-globulin test-AGT)

Coombs testi Alton ve ark. (1)'nin bildirdikleri yöntemle uygulandı. Test serumlarının SAT sonuçları değerlendirildikten sonra aglutinasyon görülmeyen tüpler ayrı ayrı numaralandırıldı ve bu tüpler Hettich marka, Universal 16 A model, çoklu grup godeli başlık içeren santrifüj ile 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Pelet FTS ile orijinal hacminde süspanse edilerek üç kez yıkandı. Son yıkamadan sonra FTS ile orijinal hacminde süspanse edilen pelet üzerine 1 damla (0.05 ml) uygun oranda sulandırılmış antiglobulin serumdan ilave edilerek tüpler 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi ve sonuçlar SAT'da olduğu gibi değerlendirildi.

İstatistiksel analiz

RBPT ve SAT testlerinin sensitivite ve spesifiteleri Thrusfield (23)'in bildirdiği yöntemle göre hesaplandı.

Bulgular**RBPT sonuçları**

Brucellosis'li sürüden sağlanan 150 sığır serumundan RBPT ile 98'i (%65.3) pozitif, 52'si (%34.7) negatif, şüpheli serum örneklerinden de 20'si (%20.0) pozitif, 80'i (%80.0) ise negatif bulundu. Toplamda, 250 sığır serumundan 118'i (%47.2) pozitif, 132'si (%52.8) negatif reaksiyon gösterdi (Tablo 1). İncelenen 250 koyun-keçi serumundan 94'ü (%37.6) pozitif, 156'sı (%62.4) negatif sonuç verdi (Tablo 2). İnfekte sürüden örneklenen 150 hayvanın bakteriyolojik muayenelerine dayanılarak RBPT'nin sensitivitesi %85.7, spesifitesi %94.7 olarak belirlendi.

SAT sonuçları

SAT'da, infekte sürüye ait 150 sığır serumundan 85'i (%56.7) pozitif, 65'i (%43.4) negatif, şüpheli serum örneklerinden de 44'ü (%44.0) pozitif, 56'sı (%56.0) ise negatif bulundu. Toplamda, 250 sığır serumundan 129'u (%51.6) pozitif, 121'i (%48.4) negatif olarak saptandı (Tablo 1). İncelenen 250 koyun-keçi serumundan 111'i (%44.4) pozitif, 139'u (%55.6) negatif sonuç verdi (Tablo 2). İnfekte sürüden örneklenen 150 hayvanın bakteriyolojik muayenelerine dayanılarak SAT'ın sensitivitesi %69.6, spesifitesi de %81.6 olarak belirlendi.

Coombs testi sonuçları

İnfekte sürüye ait SAT pozitif 85 sığır serumundan 39'unda (%45.9), şüpheli sığır serum örneklerinden SAT

pozitif 44 serumdan 5'inde (%11.4) Coombs testi pozitif bulundu. Toplamda, SAT pozitif 129 sığır serumundan 44'ünde (%34.1) Coombs testi pozitif olarak belirlendi (Tablo 1). SAT pozitif 111 koyun-keçi serumundan 25'i (%22.5) Coombs testinde pozitif sonuç verdi (Tablo 2).

İnfekte sürüye ait SAT negatif 65 sığır serumundan 25'inde (%38.5), şüpheli sığır serum örneklerinden SAT negatif 56 serumdan 4'ünde (%7.1) Coombs testi pozitif bulundu. Toplamda, SAT negatif 121 sığır serumundan 29'unda (%23.9) Coombs testi pozitif olarak saptandı (Tablo 1). SAT negatif 139 koyun-keçi serumundan 16'sı (%11.5) Coombs testinde pozitif sonuç verdi (Tablo 2).

Çalışmada incelenen 250 sığır ve 250 koyun-keçi serumunun karşılaştırmalı RBPT, SAT ve Coombs test sonuçları toplu olarak Tablo 3 ve 4'te gösterilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Evcil hayvanlarda brucellosis'in serolojik tanısında en yaygın olarak kullanılan konvansiyonel serolojik teknik SAT'dır (4,14,17-19). Tanıya yardımcı olmak amacıyla CFT (6,11,18,24), 56°C'de SAT (14) ve MET, DTT ve EDTA'lı SAT (14,18,19,25) gibi teknikler de geliştirilmiştir. Geniş çaplı eradikasyon çalışmalarında kullanılmak üzere Rose Bengal boyası ile boyanmış ve pH 3.6'da bufferlanmış antijenlerin kullanıldığı RBPT gibi çabuk tarama testleri de geliştirilmiş ve yaygın kullanım alanı bulmuştur (6,17,18,21).

Brinley Morgan ve ark (6), toplam 6114 sığır, koyun ve keçi serumunu RBPT, SAT ve CFT ile inceledikleri çalışmalarında, kombine SAT/CFT negatif 5823 serumun %7'sini, şüpheli 135 serumun %1.7'sini ve pozitif 156 serumun da %6.6'sını RBPT ile pozitif bularak, RBPT'nin

Tablo 1. Sığır serumlarında pozitif RBPT, SAT ve Coombs sonuçları.
Table 1. Positive RBPT, SAT and Coombs results of bovine sera.

Serum sayısı (n)	RBPT (+)	SAT (+)	Coombs	
			SAT(+) **	SAT(-)***
İnfekte sürüden gelen hayvanlar 150	98 (65.3)*	85 (56.7)	39 (45.9)	25 (38.5)
Şüpheli hayvanlar 100	20 (20.0)	44 (44.0)	5 (11.4)	4 (7.1)
Toplam 250	118 (47.2)	129 (51.6)	44 (34.1)	29 (23.9)

* = Yüzde oranı

** = SAT pozitif serumların Coombs sonuçları

*** = SAT negatif serumların Coombs sonuçları

Tablo 2. Koyun-keçi serumlarında pozitif RBPT, SAT ve Coombs sonuçları.
Table 2. Positive RBPT, SAT and Coombs results of ovine-caprine sera.

Serum sayısı (n)	RBPT (+)	SAT (+)	Coombs	
			SAT(+) **	SAT(-)***
250	94 (37.6)*	111 (44.4)	25 (22.5)	16 (11.5)

* = Yüzde oranı

** = SAT pozitif serumların Coombs sonuçları

*** = SAT negatif serumların Coombs sonuçları

ideal bir tarama testi olduğunu ve testin infekte hayvanları SAT'a göre infeksiyonun daha erken döneminde belirlediğini bildirmişlerdir. Mylrea (17), SAT negatif 910 sığırdan 884'ünü (%97.1) RBPT negatif, 26'sını (%2.9) pozitif, SAT şüpheli 309 hayvandan 200'ünü (%64.7) RBPT negatif, 109'unu (%35.3) pozitif ve SAT pozitif 159 hayvandan da 16'sını (%10.1) RBPT negatif, 143'ünü (%89.9) pozitif bulmuş ve izolasyon sonuçları ile karşılaştırdığında bu iki testin kültürel yönden pozitif olan hayvanları belirlemede başarılı olduklarını bildirmiştir. Mylrea (17)'nin aksine Nicoletti (19), infekte hayvanları belirlemede SAT'ın yetersiz kaldığını, infekte hayvanların ancak %52'sinin SAT ile belirlenirken CFT, MET ve rivanol testleri ile sırasıyla %98'inin, %97'sinin ve %96'sının belirlendiğini açıklamıştır. Ferris ve ark. (11) da doğal infekte 221 domuzda yaptıkları çalışmada SAT'ın duyarlılığını %83 ile diğer testlere göre en yüksek, özgüllüğünü ise %62 ile en düşük olarak belirlemişlerdir. Mohan ve ark. (16), sağmal ineklerde yaptıkları serolojik taramalar sırasında SAT ile RBPT sonuçları arasında uyum bulduklarını, SAT >1:360 titre gösteren serumların tümünün RBPT'de kuvvetli pozitif reaksiyon oluşturduğunu bildirmişlerdir. İzgür ve ark. (14), inceledikleri 320 sığır serum örneğinden 5'ini (%1.6) RBPT ile pozitif, 315'ini (%98.4) negatif bulduklarını, SAT ile bu serumlardan 76'sının (%23.8) 2:10-4:320 arasında pozitif titre gösterdiklerini, 244'ünün (%76.2) de negatif olarak değerlendirildiğini bildirmişlerdir. İzgür ve

ark. (15), yaptıkları başka bir çalışmada ise inceledikleri 158 at serumundan 3'ünü (%1.9) RBPT ve 46'sını (%29.1) da SAT ile pozitif bulduklarını rapor etmişlerdir. Yardımcı ve ark. (25), test ettikleri 101 koyun serumundan RBPT'de 59 (%58.4), MAT'da 64 (%63.4), ME-MAT'da 65 (%64.4), DTT-MAT'da 65 (%64.4) ve EDTA-MAT'da 65 (%64.4) pozitif reaksiyon saptadıklarını bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, incelenen toplam 250 sığır serumundan RBPT ile 118'i (%47.2) pozitif, 132'si (%52.8) negatif, SAT ile de 129'u (%51.6) pozitif, 33'ü (%13.2) şüpheli ve 88'i (%35.2) negatif olarak değerlendirilmiştir. SAT negatif 88 serumdan 2'si (%2.3) RBPT pozitif, 86'sı (%97.7) negatif, SAT şüpheli 33 serumdan 8'i (%24.2) RBPT pozitif, 25'i (%75.8) negatif ve SAT pozitif 129 serumdan da 108'i (%83.7) RBPT pozitif, 21'i (%16.3) de negatif olarak bulunmuştur. İncelenen 250 koyun-keçi serumundan RBPT ile 94'ü (%37.6) pozitif, 156'sı (%62.4) negatif, SAT ile de 111'i (%44.4) pozitif, 84'ü (%33.6) şüpheli ve 55'i (%22.0) negatif olarak değerlendirilmiştir. SAT negatif 55 serumdan tümü negatif, SAT şüpheli 84 serumdan 2'si (%2.4) RBPT pozitif, 82'si (%97.6) negatif ve SAT pozitif 111 serumdan da 92'si (%82.9) RBPT pozitif, 19'u (%17.1) da negatif olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar yapılan diğer çalışmaların bulguları ile paralellik göstermektedir. Brinley Morgan ve ark. (6)'nın bildirdikleri gibi bu çalışmada da RBPT ve SAT kültür pozitif infekte sığırları belirlemede

Tablo 3. Sığır serumlarının RBPT, SAT ve Coombs testi sonuçlarının karşılaştırılması.
Table 3. Comparison of RBPT, SAT and Coombs test results of bovine sera.

Serum sayısı (n=250)	RBPT	SAT titresi (IU/ml)	Coombs (titre artışı)*
79	+	≥1:320 (≥536)	22 (4-6)
20	+	1:160 (≥268, ≤424)	12 (4-5)
7	-	1:160	3 (2-3)
9	+	1:80 (≥134, ≤212)	6 (3-4)
14	-	1:80	1 (2)
8	+	1:40 (≥67, ≤106)	8 (1-5)
25	-	1:40	21 (2-3)
2	+	≤1:20 (≤53)	0
86	-	Negatif	0

*= SAT'a göre Coombs testinde titre artışı gösteren dilüsyon sayısı

Tablo 4. Koyun-keçi serumlarının RBPT, SAT ve Coombs testi sonuçlarının karşılaştırılması.
Table 4. Comparison of RBPT, SAT and Coombs test results of ovine-caprine sera.

Serum sayısı (n=250)	RBPT	SAT titresi (IU/ml)	Coombs (titre artışı)*
69	+	≥1:160 (≥268)	7 (2-4)
17	+	1:80 (≥134, ≤212)	11 (3-4)
8	-	1:80	0
6	+	1:40 (≥67, ≤106)	5 (3-4)
11	-	1:40	2 (3)
2	+	≤1:20 (≤53)	2 (3-5)
82	-	≤1:20	14 (2-4)
55	-	Negatif	0

*= SAT'a göre Coombs testinde titre artışı gösteren dilüsyon sayısı.

başarılı olmuştur. Çalışmada RBPT'in sensitivitesi %85.7, spesifitesi % 4.7, SAT'ın sensitivitesi %69.6, spesifitesi de %81.6 olarak hesaplanmıştır. Bulunan bu değerler Ferris ve ark. (11)'nin bildirdikleri değerlere yakın bulunmuştur.

Monovalan yapıdaki inkomple veya bloke edici antikorların varlığını ortaya koyan Coombs testi birçok araştırmacı tarafından brucellosis'in serolojik tanısında, infekte ve aşılı hayvanların ayırt edilmesinde ve kronik infekte taşıyıcı hayvanların saptanmasında kullanılmıştır (3-5,18,26). Coombs testinin sığır, koyun ve keçi türlerindeki brucellosis'in saptanmasında en duyarlı serolojik teknik olduğu bildirilmiştir. Bu duyarlılık testin yapısından kaynaklanmaktadır. SAT serumdaki aglutininleri veya komple antikor titresini gösterirken, CFT komplemanı fikze eden antikor titresini belirler. Diğer taraftan Coombs testi ise *B. abortus* için spesifik olan total antikor titresini ölçer. Bir serumun SAT titresini ile Coombs titresini arasındaki fark, o serumda bulunan inkomple antikor titresini gösterir (9). Beh ve Lascelles (4), 82 inek bulunan bir sürüde 30 ineği (%36.6) SAT ile pozitif, 25'ini (%30.5) şüpheli ve 27'sini (%32.9) de negatif olarak değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, 30 SAT pozitif inekten 24'ünün (%80.0), 25 SAT şüpheli inekten 11'inin (%44.0) ve 27 SAT negatif inekten de 14'ünün (%51.9) Coombs testinde SAT'a göre önemli ölçüde titre artışı (en az iki veya daha fazla sulandırma) gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, aşılı ineklerde SAT'a göre antiglobulin titre artışının hiçbir zaman için 4-5 dilüsyonu geçmezken, serolojik yönden pozitif infekte ineklerde ise bu antiglobulin titre artışının 5-8 dilüsyon arasında gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Mylrea ve Fraser (18), *B. abortus* izole edilen infekte hayvanlarda 1:320-1:81920 arasında Coombs titreleri belirlemiş ve SAT'a göre titre artışını 3-9 dilüsyon arasında bulmuşlardır. Etken izole edilmemiş fakat infekte olduğu bilinen bir sürüden hayvanlarda $\geq 1:160$ AGT titresini belirlemiş ve SAT'a göre titre artışını 2-7 dilüsyon arasında bulmuşlardır. Infekte olmayan hayvanlarda ise $< 1:10$ AGT titresini belirlemiş ve SAT'a göre titre artışı saptamamışlardır. O'Reilly ve Cunningham (21), inceledikleri 542 SAT negatif serumdan 163'ünü (%30.1) Coombs ve 4'ünü (%0.7) RBPT ile pozitif, 97 SAT şüpheli serumdan 82'sini (%84.5) Coombs ve 34'ünü (%35.1) RBPT ile pozitif, 293 SAT pozitif serumdan da 267'sini (%91.1) Coombs ve 267'sini (%91.1) RBPT ile pozitif bulmuşlardır. Coombs testi aynı zamanda aşılı ve doğal infekte hayvanların ayırt edilmesinde de başarı ile kullanılabilir. Infekte hayvanlarda Coombs titresini genellikle SAT titresinden yüksek iken aşılı hayvanlarda böyle bir durum oluşmaz (3,4,9,10,26).

Yapılan bu çalışmada, incelenen toplam 250 sığır serumundan SAT ile 129'u (%51.6) pozitif, 33'ü (%13.2) şüpheli ve 88'i (%35.2) negatif olarak değerlendirilmiştir. SAT şüpheli ve negatif 121 serumdan 29'u (%23.9) ve SAT pozitif 129 serumdan da 44'ü (%34.1) Coombs testinde SAT'a göre belirgin bir titre artışı göstermiştir. Benzer şekilde incelenen 250 koyun-keçi serumundan SAT ile 111'i (%44.4) pozitif, 84'ü (%33.6) şüpheli ve 55'i

(%22.0) negatif olarak değerlendirilmiştir. SAT şüpheli ve negatif 139 serumdan 16'sı (%11.5) ve SAT pozitif 111 serumdan da 25'i (%22.5) Coombs testinde SAT'a göre belirgin bir titre artışı göstermiştir. Elde edilen bu sonuçlar Beh ve Lascelles (4) ve O'Reilly ve Cunningham (21)'in sonuçları ile uyum göstermektedir. Beh ve Lascelles (4)'in ve Mylrea ve Fraser (18)'in bildirdikleri gibi bu çalışmada da infekte hayvanlarda SAT'a göre Coombs testindeki titre artışı 3-5 dilüsyon arasında oluşurken, aşılı veya infekte hayvanlarda Coombs testindeki titre artışı 1-2 dilüsyonu geçmedi ve çoğu zaman da SAT titresini ile aynı bulundu.

Sonuç olarak, sığır, koyun ve keçi gibi evcil hayvanlarda brucellosis'in serolojik tanısında ve ayrıca kronik infekte taşıyıcı hayvanlarla, eradikasyon programları çerçevesinde aşıli-infekte ayırımının yapılabilmesi için RBPT ve SAT gibi konvansiyonel testlerin yanısıra, Coombs testinin de mutlaka kullanılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Alton GG, Jones LM, Pietz DE (1975): *Laboratory techniques in brucellosis*. Second ed. FAO/WHO Monograph Series. No. 55, Geneva.
2. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS (1997): *Brucella Infeksiyonları*. 110-124. Özel Mikrobiyoloji. 4. Baskı. Medisan Yayın Serisi No. 26. Ankara.
3. Beh KJ (1973): *Distribution of Brucella antibody among immunoglobulin classes and a low molecular weight antibody fraction in serum and whey of cattle*. Res Vet Sci. **14**, 381-384.
4. Beh KJ, Lascelles AK (1973): *The use of the antiglobulin test in the diagnosis of bovine brucellosis*. Res Vet Sci. **14**, 239-244.
5. Brinley Morgan WJ (1967): *The serological diagnosis of bovine brucellosis*. Vet Rec. **80**, 612-620.
6. Brinley Morgan WJ, MacKinnon DJ, Lawson JR, Culen GA (1969): *The Rose Bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis*. Vet Rec. **85**, 636-641.
7. Corbel MJ (1972): *Identification of the immunoglobulin class active in the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis*. J Hyg Camb. **70**, 779-795.
8. Corbel MJ (1973): *Studies on the mechanism of the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis*. Bri Vet J. **129**, 157-166.
9. Cunningham B (1967): *The Coombs test for brucellosis in cattle*. Vet Rec. **80**, 527-528.
10. Cunningham B (1968): *The control and eradication of brucellosis. I. Serological responses in cattle following vaccination with S.19 and killed Brucella 45/20 adjuvant vaccine*. Vet Rec. **82**, 7-11.
11. Ferris RA, Schoenbaum MA, Crawford RP (1995): *Comparison of serologic tests and bacteriologic culture for detection of brucellosis in swine from naturally infected herds*. J Am Vet Med Assoc. **207**, 1332-1333.
12. Herr S, Williamson CC, Prigge RE, Van Wyk A (1986): *The relationship between the microtitration serum agglutination and complement fixation tests in bovine brucellosis serology*. Onderstepoort J Vet Res. **53**, 199-200.

13. **Hilbink F, Wright M, Ross G** (1993): *Use of the double immuno gel diffusion test and the enzyme-linked immunosorbent assay to distinguish false from true reactors in the complement fixation test for Brucella ovis*. New Zealand Vet J. **41**, 111-115.
14. **İzgür M, Akay Ö, Arda M, Erdeğer J** (1992): *Sığır brucellosis'inin teşhisinde EDTA ve 56°C'de aglutinasyon testlerinin kullanılması*. Ankara Üniv Vet Fak Derg. **39**, 191-200.
15. **İzgür M, Akay Ö, Candaş A, İnan A, Ayhan H, Esendal Ö** (1988). *Ankara'da at brucellosis'inin prevalensi üzerinde bir çalışma*. Etlik Vet Mikrobiyol Derg. **6**, 117-126.
16. **Mohan K, Makaya PV, Muvavarirma P, Matope G, Mahembe E, Pawandiwa A** (1996): *Brucellosis surveillance and control in Zimbabwe: bacteriological and serological investigation in dairy herds*. Onderstepoort J Vet Res. **63**, 47-51.
17. **Mylrea PJ** (1972): *The diagnosis of brucellosis in dairy herds*. Aust Vet J. **48**, 369-375.
18. **Mylrea PJ, Fraser GC** (1976): *The use of supplementary test in the serological diagnosis of bovine brucellosis*. Aust Vet J. **52**, 261-266.
19. **Nicoletti P** (1969): *Further evaluations of serologic test procedures used to diagnose brucellosis*. Am J Vet Res. **30**, 1811-1816.
20. **Nicoletti P** (1980): *The epidemiology of bovine brucellosis*. Adv Vet Sci Comp Pathol. **24**, 69-97.
21. **O'Reilly DJ, Cunningham B** (1971): *An assessment of the brucellosis card test*. Vet Rec. **88**, 590-594.
22. **Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR** (1994): *Clinical Veterinary Microbiology*. pp. 261-267. Wolfe Publishing, Spain.
23. **Thrusfield M** (1995): *Veterinary Epidemiology*. Second Ed. Blackwell Science Ltd. University Press. Cambridge.
24. **Yardımcı H, Esendal ÖM, Aydın N** (1996): *Sığır brucellosis'inin serum aglutinasyon, komplement fiksasyon ve immunocomb testleriyle teşhisi*. Etlik Vet Mikrobiyol Derg. **8**, 24-32.
25. **Yardımcı H, Esendal ÖM, Küçükayan U, Erdemoğlu A** (1995): *Koyun brucellosis'inin serolojik teşhisinde dithiothreitol ve EDTA'nın kullanılması*. Ankara Üniv Vet Fak Derg. **42**, 241-245.
26. **Worthington RW, Mülders MSG, McFarlane IS, Becker D** (1973): *A serological investigation on adult cattle vaccinated with Brucella abortus strain 19*. Onderstepoort J Vet Res. **40**, 7-12.

Yazışma adresi:

Doç.Dr. Ömer Memduh Esendal
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 06110 Dışkapı
Ankara

Düzeltilme

Derginin 2000 yılı, 47. cilt, 3. sayısı 351-360. sayfaları arasında yayınlanan "Bıldırcın besisinde enzim, probiyotik ve antibiyotik kullanılması" adlı bilimsel çalışmada yer alan Tablo 8'deki baskı hatasının düzeltilmesi aşağıda verilmiştir.

Tablo 8. Kan serumunda total protein (g/100 ml) ve total lipid (g/l) değerleri ($x \pm Sx$).

Table 8. Total protein (g/100 ml) and total lipid (g/l) values of blood serum ($x \pm Sx$).