TÜBERKÜLOZUN SEROLOJİK TANISINDA KOMPLET VE İNKOMPLET ANTİKORLARIN MİDDLEBROOK-DUBOS, BOYDEN VE COOMBS HEMAGLÜTİNASYON TESTLERİYLE ARAŞTIRILMASI *

Firdevs Mercangöz **

(Dergiye verildiği tarih : Ekim 1975)

Tüberküloz hastalığında aktivite tayininde diğer serolojik testlere nazaran üstünlüğü bir çok araştırıcı tarafından kabul edilmiş olan hemaglütinasyon testinin üç ayrı modifikasyonu ile yapmış olduğumuz çalışmadan elde edilen bulgulara göre; Middlebrook-Dubos (M-D) yöntemi ile aktif akciğer tüberkülozlu hasta serumlarında % 88 oranında, Boyden yöntemi ile ise, aynı hastalarda % 90 oranında olumlu sonuç alınmıştır. Hastalığın çok ileri dönemlerinde olanlarda ve kaviteleri kapanmış bulunan hastalarda, her iki test ile de hemaglütinasyonun menfi veya düşük titrelerde pozitif olduğu müşahade edilmiştir. Her iki yöntem ile elde edilen pozitiflik yüzdeleri arasında yapılan t testi ile istatistikî bir fark bulunamamıştır. Bununla beraber, tüberküloz harici hastalıklarda gösterdiği düşük titre ve az sayıdaki (% 4) olumluluk nisbeti göz önüne alınacak olursa, Boyden yöntemi M-D metoduna tercih edilebilir. Fakat uygulanması Boyden yöntemine nazaran daha kolay olan M-D testinin de aktivitesi katiyetle tayin edilemeyen vakalarda diğer bulgularla beraber mütelâa edildiği takdirde gelişmiş laboratuvarlarda yardımcı bir teşhis metodu olarak kullanılabileceği görülmektedir.

Giriş

Bir enfeksiyöz hastalığın teşhisi, ekseriya etken mikroorganizmanın izolasyon ve idantifikasyonu ile mümkündür. Tüberkülozda

---

* Bu çalışma, A.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Kürsüsünde Doktora çalışması olarak yapılmıştır (1973).

** A.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Kürsüsünde Uzman, Ankara, Türkiye.

hastalardan basilin izole ve idantifiye edilmesi, gelişmiş olan laboratuvar metodları ile oldukça kolaylaşmıştır. Bununla beraber, klinik, radyolojik ve bakteriyolojik olarak teşhis edilemeyen veya şüpheli kalan bir çok vak'alar yine de mevcuttur (1 - 3).

Tüberkülozun teşhisi için bir çok serolojik deneyler vardır. Ancak, ileride izah edileceği üzere, bunlar aktif ve inaktif enfeksiyonları ayırmada ve bir kısım tüberküloz-dışı hastalıklarda da bir ölçüde olumlu sonuç elde edilmesi dolayısıyle, günlük laboratuvar teşhis metodları arasına henüz girmemişlerdir. Bununla beraber, aktif tüberküloz vak'alarının erken teşhisinde, mümkün olduğu kadar özgül, süratli ve basit bir serolojik testin çok faydalı olacağı düşünülerek bir çok araştırmalar yapılmış ve bu alanda inkomplet antikorların dahi rolü araştırılmıştır (4 - 21).

Yapılan serolojik testler, aglütinasyon (22), kompleman fiksasyonu (2, 5, 23, 27) hemaglütinasyon (28, 29, 30), Coombs testi (31, 32), kaolen partiküllerinin aglütinasyonu (33), agar jel presipitasyon testi (34, 35), İmmünofloresan test (36), C. Reaktif protein tayin testi (37) ve lateks aglütinasyon testidir (38).

Biz, tüberküloz teşhisinde denenmiş olan bu testlerden diğerlerine nazaran daha fazla ümit verici görülen Middlebrook-Dubos ve Boyden pasif hemaglütinasyon metodlarının modifikasyonları ile hasta ve sağlam şahıslardaki antikorları, pozitiflik yüzdelerini ve inkomplet antikorların durumunu araştırdık.

Materyel ve Metod

Serumlar :

Çeşitli hastahane ve sanatoryumlardan temin edilen, tüberkülozlu hastalara ait 160 serum ile kürsümüze çeşitli serolojik testler için gelen, tüberküloz hastalığı ile ilgileri olmadığı kabul edilen 100 şahsa ait olmak üzere, toplam 260 serum üzerinde çalışılmıştır.

Antijenler :

Ham tüberkülin : 1 cc'de 100.000 ünite.

PPD : 0,1 cc. de 500 tüberkülin ünitesi ihtiva etmekteydi.

Her ikisi de Ankara Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü BCG Aşı Hazırlama ve Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir.

Anti-Human globulin serum : Hem tarafımızdan hazırlanmış ve hem de kendi serumumuzu kontrol etmek için, «DADE» firmasının Michael Reese Rescarch Foundation Chicago Ill. U. S. Licance No : 113 Standard serumu kullanılmıştır.

Metod :

A — Middlebrook-Dubos (M-D) Testi :

Scoot, M.A., Nancy, B. nin (39) modifiye metodu, koyun eritrositleri yerine Rh negatif şahsın eritrositleri kullanılarak, laboratuvarımızda bazı değişikliklerle uygulandı.

Reaktifler :

«0» grubu Rh negatif kan, Kan Bankasından eşit hacim modifiye Alsever solüsyonuna (40) alındıktan ve 4°C de bir gece kaldıktan sonra Csizmas metodunun modifiye şekliyle (41) formalinlenerek deneylerimizde kullanıldı.

B — Boyden Tekniği ile Hemaglütinasyon :

1951'de ilk kez Boyden tarafından tüberkülozun serolojisine uygulanan bu yöntem, o zamandan bu yana pek çok enfeksiyonun serolojik tanısında kullanılmaktadır. Uyguladığımız teknik, Boyden (29) ve Stavitsky'nin (43) uygun yönlerini ihtiva etmektedir. Onlardan bir farkı bizim formalinli eritrosit kullanmış olmamızdır.

Reaktifler :

a — Eritrositler : Daha önce Middlebrook-Dubos (M-D) testinde anlatıldığı şekilde hazırlanmış olan formalinize stok eritrositler kullanıldı.

b — Tampon solüsyonları : M-D testinde pullandığımız pH : 7.2'lik ve pH : 6.4'lük tampon solüsyonları iki haftada bir tazelenerek, bu testte de kullanıldı.

c — Tannik asit solüsyonu : Merck firmasının tannik asidinden hazırlandı.

— Stok tannik asid solüsyonu : Fizyolojik tuzlu suda 1/100'lük solüsyonu yapıldı ve 4°C de stok olarak saklandı. Bu ana solüsyon, haftada bir yenilendi.

— Duyarlandırmada, yine fizyolojik tuzlu su içinde bu stoktan 1/20.000'lik dilüsyonu günlük hazırlanarak kullanıldı (29, 42).

d — Tavşan serumu : Tüberküloz basiline karşı antikorların varlığı M-D testi ile araştırılmış ve negatif bulunmuş olan tavşan serumları alınarak 56°C de 30 dakika inaktive edildi ve steril şartlarda küçük hacimlere bölünerek — 20°C de saklandı.

e — Antijen : 0.1 cc. sinde 500 tüberkülin ünitesi bulunan PPD kullanıldı. 1 Tüberkülin ünitesi = 0.000028 mgr'a tekabül etmektedir (44).

C — Coombs antiglobulin testi :

Middlebrook-Dubos testinin modifiye şekli olan bu test, önce Richardson ve Minson (45) tarafından 1953'te uygulanmıştır. Prensip, M.-D. testinin aynıdır. Aradaki fark, testin sonunda ilâve edilen anti-human globulinden ibarettir. Richardson Jones tekniği, formalinize eritrositler ve kendi elde ettiğimiz anti-human globulin serum ve «DADE» firmasının anti-human globulin serumu kullanılarak uygulandı.

Anti-human globulin serum elde edilişinde birkaç metod birden denendi (40, 46, 47). En iyi sonuç aldığımız metod tezde ayrıntıları ile bildirilmiştir (40).

Bulgular

Çalışmamızda hasta ve sağlam şahıslarda tesbit ettiğimiz hemaglütinasyon titreleri arasında yaptığımız istatistiki standard sapma ve standard hata metodları ile, bizim toplumumuzda enfeksiyonu gösterebilecek kriter titrenin 1/8 olarak alınabileceği hesaplandı ve bulgularımız buna göre değerlendirildi. Literatürde de yapılan araştırmaların büyük çoğunuğunda, 1/8 müsbet titrenin teşhis kriteri olarak kabul edildiği görülmektedir (31, 32, 39, 45).

Çalışmamızda, Middlebrook-Dubos yöntemi ile incelenen 135 akciğer tüberkülozlu hastadan 119'u (% 22) olumlu, 16'sı (% 11.8) ise olumsuz bulundu. Aynı hasta serumları Boyden yöntemi ile de incelendi; 123'ü (% 90) olumlu, 12'si (% 8.8) olumsuz bulundu. 12 menenjit, 5 kemik, 2 böbrek ve 2 adenit tüberküloz olmak üzere M-D yöntemi ile incelenen toplam 21 diğer organ tüberkülozlu serumların 12'i (% 57.1) olumlu; 9'u (% 42.9) olumsuz bulundu. Boyden

yöntemi ile de aynı değerler saptandı. Kontrol grubu olan 100 serumun M-D yöntemi ile 11'i (% 11) olumlu; 89'u (% 89) olumsuz bulundu. Boyden yöntemi ile ise, 4'ü (% 4) olumlu; 96'sı (% 96) olumsuz bulundu. Tablo 1'de tüberkülozlu ve sağlam şahıslarda her iki yöntemle elde edilen hemaglütinasyon bulguları gösterilmiştir.

Akciğer tüberkülozlulara ait serumlarda, lezyonlara bağlı olarak, titreler arasında farklar mevcuttur. Kavitesiz lezyonlu serumların 46'sının 38'i (% 82.6) olumlu; 8'i (% 17.3) olumsuz bulundu. Halbuki, kaviteli lezyonlu 61 serumun hepsi (% 100) olumlu sonuç verdi. Lezyonları kalsifiye olmuş 7 hasta serumunun 4'ü (% 57.1) olumlu 3'ü (% 42.5) olumsuz bulundu.

80 akciğer tüberküloz hastasına ait serumda M-D hemaglütinasyon ve Coombs hemaglütinasyon testleri birlikte uygulandı. M-D ile 76 (% 95) müsbet; Coombs ile 73 (% 91.2) müsbet bulundu. 73 serum numunesi yalnız M-D ile pozitif; 4 serum numunesi ise her iki test ile de olumsuz bulundu. Bu 80 serumun 28'inde (% 35) 2 log. kat titre artışı; 11'inde (% 13.7) titre düşmesi saptandı.

Tartışma

Tüberkülozun immünolojisinde uğranılan muvaffakiyetsizliklerin en muhtemel sebeplerinden biri, basilin bünyesinde taşıdığı antijenleri tam olarak bilmeyişimizdir (48, 49). Araştırıcılara göre, tüberküloz basilinin antijen yapısı karışıktır ve her bir antijene karşı oluşan antikorlar da değişik özellik taşımaktadır (48, 50). Boyden ve Sorkin, 1955'te bu konuda çok geniş bir çalışma yapmışlardır (51, 52). Bu çalışmalarında Mikobakterium tüberkülozis'in kültür filtratlarının analizi ile, lipidlerin, proteinlerin ve polisakkaridlerin tanınmaları mümkün olmuştur. Ancak, bu maddelerin kesin yapıları bilinmediğinden, meydana gelen antikorların özgüllüğü hakkında tatmin edici bir hükme varılamamaktadır.

Tüberkülozda antikorları tesbit etmek için teklif edilen bütün metodlar istenilen mükemmellikte olmamakla beraber, yine de bu metodlar sayesinde bu antikorları ortaya koymak mümkündür. Middlebrook-Dubos testinin hassasiyetinin arttırılması için yapılan bir çalışmada, 124 hastadan % 81'inde inkomplet veya non-presipitan antikorların tayini mümkün olmuş ve Hall ve Manion's modifikasyonu ile, indirekt Coombs testi tekniği ilâve edilmiştir (35, 53).

TABLO I. TÜBERKÜLOZLU VE SAĞLAM ŞAHISLARDA HEMAGLÜTİNASYON BULGULARI

	Vaka Sayısı	Middlebrook - Dubos Hemaglütinasyon Testi				Boyden Hemaglütinasyon Testi			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Akciğer Tüberkülozu	135	119	88	16	11,8	123	90	12	8,8
Menenjit Tüberküloz	12	7	58,3	5	41,7	7	58,3	5	41,7
Kemik Tüberkülozu	5	2	40	3	60	2	40	3	60
Adenit Tüberküloz	2	1	50	1	50	1	50	1	50
Böbrek Tüberkülozu	2	2	100	—	—	2	100	—	—
Sağlam, PPD menfi şahıslar	4	—	—	4	100	—	—	4	100
Sağlam şahıslar	100	11	11	89	89	4	96	4	96

Memleketimizde Middlebrook-Dubos (M-D) metodu ile ilk çalışma H.H. Plevnelioğlu tarafından 1954'te yapılmış ve % 52.4 oranında olumlu sonuç alındığı bildirilmiştir. 1955'te, buna benzer bir çalışma, İ. Barutçu, A. Gürsel ve F. Tezok (54) tarafından yapılmış; 103 tüberkülozlu vakada % 4.6 ve 76 lepralı hastanın hepsinde 1/8 ve daha yüksek dilüsyonlarda müsbet netice elde etmişlerdir.

R. Edgar ve arkadaşları (55), M-D testi ile 136 tüberküloz hastasının % 92.6'sında 1/2 üzeri titrede olumlu; tüberkülin testleri menfi olan 175 şahısta % 100 oranında olumsuz sonuç aldıklarını bildirmişlerdir. J.M. Verstraeten (56), 53 ilerlemiş tüberkülozlu hastada M-D testi ile % 80, tüberküloz-harici 45 hastada ise % 20 olumlu netice elde etmiştir. H. Gerson ve arkadaşları (57) 339 pulmoner tüberkülozlu hastaya uyguladıkları M-D testi ile % 56.04 olumlu sonuç aldıklarını bildirmişler ve kaviteli ve kavitesiz lezyonlu hastalardan alınan hemaglütinasyon testi neticeleri arasında da istatistikî önemli fark olduğunu bulmuşlardır. S. Rothbard ve arkadaşları (38) aktif pulmoner tüberkülozlu 168 hastada M-D hemaglütinasyon metodu ile % 92.3'ünde; 216 normal ve tüberküloz-harici hastalıklı şahısta ise, % 5.5 olumlu netice elde etmişlerdir.

D. Smith ve arkadaşları (59), 24 aktif tüberkülozlu hastada M-D testi ile % 70.8 oranında olumlu hemaglütinasyon neticesi elde etmişlerdir. R. Gernez ve arkadaşları (60), aktif pulmoner tüberkülozlu 504 şahısta M-D testi ile %79.8 244 normal şahsın teşkil ettiği kontrol grubunda ise % 6.9 oranında müsbetlik bulduklarını bildirmişlerdir. M. William ve arkadaşları (61), 64 aktif tüberkülozlu hastadan % 57'sinin M-D reaksiyonu ile pozitif reaksiyon verdiğini bildirmişlerdir. Tüberküloz menenjit, perikardit ve plörezililerde, reaksiyonu ya negatif veya düşük titrelerde müsbet bulmuşlardır. 251 tüberküloz-harici hastada ise, % 50 nisbetinde olumlu netice elde etmişlerdir. J.R. Thurston ve arkadaşları (62), M-D testini çift diffüzyonlu agar-jel presipitasyon testi ile birlikte uygulamışlardır. M-D ile, ileri derecede aktif 73 vak'anın % 83'ünde, 70 tüberküloz olmayan şahısta da % 8.5 oranında; çift diffüzyonlu agar-jel presipitasyon testi ile de takriben aynı pozitiflik yüzdelerini bulduklarını kaydetmektedirler. W. Garby ve arkadaşları (63), M-D testi ile 68 aktif tüberkülozlu hastada % 88, tüberküloz-harici hastalıklı 174 hastada ise % 21.3 oranında olumlu bulduklarını bildirmektedirler. C. Choremis ve arkadaşları (64), M-D testi ile tüber-

küloz hastası 162 şahısta % 67.3, BCG ile aşılı sağlam şahıslarda % 28.5, tüberküloz menenjitli 90 şahısta ise % 84 oranında olumlu; tüberküloz olmayan sağlam 111 şahısta testi % 100 oranında menfi bulduklarını bildirmektedirler.

Biz, çalışmamızda M-D metodu ile 135 akciğer tüberkülozlu hastada % 88 oranında olumlu sonuç aldık. Bulgularımız daha önce benzer çalışmalar yapan B. Nancy (40), J.M. Verstraeten (56), J. R. Thurston (62) ve W. Gaby (63) nin bulguları ile uygunluk göstermektedir. Literatürde adları geçen R. Edgar (55) 1/2 titreyi, H. Gerson (57) 1/16 titreyi, biz ise 1/8 titreyi pozitif kabul ettiğimizden, bu müelliflerin sonuçlarıyla bulgularımızın karşılaştırmasını yapamadık. J. Barutçu (54) ve D. Smith (59)'in bulgularına göre değerlerimiz yüksek; R. Rothbard (58) a göre, aradaki fark az olmakla beraber, düşük bulunmuştur. Çalışmamızda, akciğer tüberkülozlu hastalardan kaviteli ve kavitesiz lezyonlu olanlarda elde ettiğimiz titreler arasındaki fark, H. Gerson (57) tarafından da tesbit edilmiştir.

Çalışmamızda, 12 menenjit tüberkülozlu çocuktan aldığımız serumların 7 (% 58.3) sinde olumlu sonuç tesbit etmiş bulunmaktayız. C. Choremis'in (64) bulgularına göre, bu pozitiflik yüzdesi bir hayli düşüktür. Bunda en büyük nedenin, bizim hasta sayımızın az ve teste tabi tuttuğumuz serumların 2 - 10 yaş arasındaki küçük çocuklara ait olmasına bağlı olduğu düşünülebilir. Çünkü bulgularımızdan çıkardığımız genel sonuca göre, antikor bulunma oranı, yaşla orantılı olarak artmaktadır. Kontrol grup serumları ile yaptığımız deneylerde, 100 şahsın 11'inde (% 11) olumlu sonuç aldık. Bu bölümdeki bulgularımız, R. Gernez (60) ve J.R. Thurston (62)'un bulgularından azıcık yüksek olmakla beraber, uygunluk göstermektedir.

Memleketimizde Boyden hemaglütinasyon metodu ile herhangi bir çalışmaya rastlıyamadık. D. Cole ve arkadaşları (65), Boyden testi ile 124 tüberkülozlu, 139 tüberküloz-harici hastalıklı şahısların serumlarını incelemişlerdir. 39 ileri derecede aktif pulmoner tüberkülozlu hastanın % 92'sinde, orta derecede aktif 65 tüberküloz hastasının % 85'inde, geriye kalan 20 hastanın ise % 71'inde 1/10 ve daha yüksek titrede olumlu; 139 tüberküloz-harici hastanın yalnız 4'ünde olumlu sonuç aldıklarını bildirmişlerdir. Biz, Boyden yöntemi ile yapmış olduğumuz çalışmamızda, 135 akciğer tüberkülozlu hastanın 123'ünde (% 90) olumlu; 21 diğer organ tüberkülozlula-

rın 12'sinde (% 57.1) olumlu bulduk. Kontrol grubu serumlarında ise % 96 oranında olumsuz sonuç elde ettik.

Yurdumuzda, tüberkülozda inkomplet antikorların araştırılması hakkında yapılmış olan herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. W.H. Hall ve arkadaşları (31) antiglobulin Coombs modifikasyonu ile bir çalışma yapmışlardır, fakat sonuçları kantitatif olarak değerlendirmemişlerdir.

Bütün bu bulgulardan, inkomplet antikorların tespitinin, tüberkülozun serolojik teşhisinde kullanılabilecek bir metod olabileceği düşüncesiyle, bu konuya daha fazla eğilinmesi gerektiği kanısındayız.

Summary

A COMPARISON OF COMPLETE AND INCOMPLETE ANTIBODIES BY MIDDLEBROOK - DUBOS, BOYDEN AND COOMBS HEMAGGLUTINATION TESTS IN MAN

Firdevs Mercangöz

(Received for publication : Oct., 1975)

The antibodies in the sera of 160 tuberculous persons an in a control group of 100 healthy persons were investigated by Middlebrook - Dubos (M - D), Boyden hemagglutination and modified M - D antiglobulin methods.

By the M - D method 88 % of the sera from 135 persons with lung tuberculosis, and 57.1 % sera from 21 persons with other organ tuberculosis gave positive results. In the control group of 100 persons 11 % were positive, while all of PPD negative persons remained negative.

By Boyden method 90 % of 135 lung tuberculosis, 57.1 % of 21 with other organ tuberculosis and 4 % of the control group gave positive results.

In 91.2 % of 80 persons with lung tuberculosis, tested with modified M - D antiglobulin method, found incomplete antibodies. The difference in control groups (11 %, 4 %), and in persons with active tuberculosis (88 %, 90 %) indicates that the serological tests are just as significant as other diagnostic methods.

KAYNAKLAR

1. Gürsel, A. : Tüberkülozda muhtelif laboratuvar teşhis usullerinin hassasiyeti üzerinde bir araştırma, Türk Hij. Tec. Biol. Dergisi **15** : 1,73-77, 1955.
2. Keleşoğlu, N. : Tüberkülozda kompleman fiksasyonu, Türk Hij. Tec. Biol. Derg. **17** : III, 256 - 265. 1956.
3. Gürsel, A. : Tüberkülozda bakteriyolojik teşhis, Türk Hij. Tec. Biol. Derg. **16** : II, 320, 1954.
4. Middlebrook, G. : The hemagglütination test in tuberculosis, Amer. Rev. Tuberc., **62** : 223. 1950.
5. Middlebrook, G. : A hemolitic modification of the hemagglutination test for antibodies against tubercle bacillus antigens, J. Clin. Invest. **29** : 1480, 1950.
6. Maltaner, F. : The compleman - fixation test for tuberculosis, Amer. J. Publ. Health, **16** : 945 - 947, 1926.
7. Takahasmi, Y. : Spesific serum agglutination of kaolin particles sensitized with tubercle phosphatide and its clinical evaluation as a serodiagnostik test for tuberculosis, Amer. Rev. Resp. Disp., **85** : 708, 1962.
8. Parlett, R.C., Youmans, G. : The detection of antibodies in the serum of tuberculous patients by agar double - diffusion precipitation technique, Amer. Rev. Tuberc. **77** : 462, 1958.
9. Maurice, J. : Serum gamma-globulins in pulmonary tuberculosis, Amer. Rev. Tuberc. **84** : 34, 1950.
10. Baldwin, R.A., İland, C.N. : Electrophoretic studies of the serum proteins in tubercolosis, Amer. Rev. Tuberc. **68** : 372, 1953.
11. Jones, W.D., Saito, H., Kubica, G.P. : Fluorescent antibody techniques with Mycobacteria, Amer. Rev. Res. Dis. **92** : 255, 1965.
12. Akkaynak, S., Yurtaslan, A. : Akciğer tüberkülozu aktivitesinde C-Reaktif proteinin değeri, Tüberküloz ve Toraks, **15** : 255, 1967.
13. Dubocyz, B.O., White, F.C. : Latex agglutination test for tuberculosis, Amer. Rev. Res. Dis. **94** : 914 - 922, 1966.
14. Wallace, R. Diena, B.B., Greenberg, L., Jessaimne, A.G. : A study of tuberculosis antibodies by bentonite flocculation, Canad. Med. Ass. I. **94** : 947 - 950, 1966.
15. Güvençer, M. : Tüberkülozda Soğuk Aglütinasyon, Tüberküloz ve Toraks, **2** : No. 1, 31 - 34. 1954.
16. Payzın, S., Özsan, K., Ekmen, H., Fişek, N., Akman, M. : Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji, Ankara Üniv. Basımevi, Cilt I, Sayfa : 418, 1965.
17. Boyd, C.W. : Fundamentals of Immunology, s. 35, 1966.

18. Chernyshova, M.İ. et al. : Incomplete antibodies in bruccellosis, Zh. Mikrobiol, 46 : 21, 1969.

19. Neter, E. : Detection of incomplete enterobacterial antibodies in cord blood by means of antiglobulin hemagglutination test, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 96 : 488, 1957.

20. Ekmen, H., Akçaboy, A. : Lepralı Hastaların Serumlarında Tüberkülinlere Karşı Antikorlar, II. ci Ulusal Dermatoloji Kongresi. Ayrı Baskı, Ongun Kardeşler Matbaası, 1969.

21. Hinson, K.F.W., Richardson, J.A. and Chamberlin, J.A. : The Middlebrook - Dubos Reaction to the clinical aspects of pulmonary tuberculosis, Brit. J. Tuberc., 46 : 50 - 55, 1952.

22. Öktem, Z. : Tıbbî Mikrobiyoloji, Cilt II, Sayfa 604, 1960.

23. Wansworth : Serologic test for evidence of Sphilis, Tuberculosis and Gonococcus Infection Standard Methods. Third. ed. page 361, 1947.

24. Wasserman, A., and Bruck, C. : Experimentelle Studien über die Wirkungvor tuberkelbacillen Paraparated auf den tuberculoseerkranten Organismus Deutsch. Med. Wschr., 32 : 449, 1906.

25. Herrmann, W. : Die Serodiagnose der Meningitis Tuberkulosa mit hilfe der Komplementbindununsreaktion, Zbl. Bakt. Abt. Orig. 165 : 445, 11956.

26. Herrmann, W. : Fortschritte der Serologie bakterieller Infektionen, Zbl. Bakt. I Abl. Orig., 170 : 33, 1957.

27. Schubert, J.H., Brascher, Ch. N. : An appraisal of serologic test tuberculosis using agar-gel and complement fixation procedures. Amer. Rev. Res. Dis., 96 : 745, 1967.

28. Middlebrook, G. and Dubos, R.J. : Spesific serum agglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli, J. Exp. Med. 88 : 521 - 528, 1948.

29. Boyden, S.V. : The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid; subsequent hemagglutination, by antiprotein sera, J. Exp. Med., 93 : 107 - 112, 1951.

30. Grabar, P. : Comparaison entre les methodes Immunologiques quantitatives et bilans der leurs applications. Atti VI Congr. Int. di microbiologia, 2. Sez. VI - VII : 169 - 1974, Roma, 1953.

31. Hall, H.W., and Manion, E.R. : Hemagglutinins and hemolysins for erythrocytes sensitized with tuberculin in pulmonar tuberculosis, J. Exp. Med. 30 : 1543 - 46, 1951.

32. Favez, G. : Anticorps circulants mis en evidence par hemagglutination passive indirecte al'aide de l'hapténe tuberculinique PPD dansla tuberculosis e'volutive chez l'homme Schweiz Med. Wschr., 94 : 155 - 158, 1964.

33. Zykov, M.P., Geser, A., Egsmose, T., Godovannyi, B., Bonets, I., Angavia, J., A.W., Patel, I., Blocher, C. Proti, S.J. : A serological test in tuberculosis, W.H.O. Bulletin **35** : 581 - 592, 1966.

34. Parlett, R.C. : A proposed revision of the gel double-diffusion for detection of mycobacterial antibody, Amer. Rev. Resp. Dis. **84** : 589, 1961.

35. Froman, S., Edington, T.S., Baum, G.L. : Gel-double diffusion testing for tuberculosis. Amer. J. Clin. Path, **42** : 340 - 48, 1969.

36. Charles, C., Shepart, B., and Kirs, D. : Flourescent antibody stainability and other consequences of the disruption of Mycobacteria., Proc. Soc. Exp. Bio. Med. **106** : 685 - 97, 1961.

37. Hagmighi, L., Dougst, J.Y. : C. Reactive Protein in pulmonary tuberculosis, Dis. Chest, **50** : 624 - 626, 1966.

38. Muhn, O.H., Elliot, G.B. : Serial serum immunoelectrophoretic changes and activity of Tuberculosis, Amer. Rev. Resp. Dis. 95, **5** : 727 - 31, 1966.

39. Nancy, B., Scoot, M.A. and David, T., Smith, M.D. : A simple modification of the Middlebrook and Dubos Hemagglutination test for serum antibodies to products of tubercle basilli, The Jour. of Lab. and Clin. Med. **35** : 303 - 307, 1950.

40. Frankel and Reitman. : Tannic acid hemagglutination test, Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, 831 - 837, 1963.

41. Csızmas, L. : Preparation of formalinized erythrocytes, Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) **103** : 157 - 160, 1960.

42. Stavitsky, A.M. : Micromethods for the study of proteins and antibodies. I-Procedure and general applications of hemagglutination and hemagglutination inhibition reactions with tannic acid and protein treated red blood cells, J. Immunol., **72** : 360 - 66, 1954.

43. Carpenter, L.P. : Hemagglutination techniques, Immunology and Serology, London, 168 - 177, 1968.

44. Cole, M.D., and Farrell, R.A. : A. method for coupling protein antijens to erythrocytes. I-Description of Method, J. Exp. Med. **102** : 631 - 645, 1955.

45. Richardson, A.J., Minson, K.F. : Observations on the serology of pulmonary tuberculosis, Amer. Rev. Tuberc., **68** : 739 - 45, 1953.

46. Milgrom, F., Luszynski and Dubiski. : Preparation of anti-globulin sera, Nature, London, **177** : 329 - 31, 1956.

47. Sarup, B.M., Jolly, G. and Aikat, B.K. : Evalution of the techniques for the production of anti-human globulin sera, Ind. Jour. Med. Res, **56** : 2, 171 - 179, 1968.

48. Meynell, G.G. : The antigenic structure of Mycobacterium tuberculosis, var. hominis, J. Path. and Bact, **67** : 137 - 141, 1954.

49. Vulliemoz, P., Favez, G. and Jequier, S. : Diagnostic serologique de la tuberculose evolutive. Med. et Hygiene, 947 - 51, 1966.

50. Takamashi, M.D., Fujita, M.D. and Sasaki, A. : The spesificty of the passive hemagglutination methods used in serology of tuberculosis, J. Exp. Med., **113** : 1141 - 1154, 1961.

51. Sorking E., and Boyden, S.V. : A study of antigens active in the Middlebrook - Dubos Hemagglutination Test in filtrates of culture of Mycobacterium tuberculosis, J. Immunol., **75** : 22 - 27, 1955.

52. Boyden, S.V. and Sorkin, E. : A sudy of antigens active in the tannic acid hemagglutination test present in filtrates of cultures of Mycobacterium tuberculosis, J. Immunol., **75** : 15 - 22, 1955.

53. Gerstel, B., Davis, WiE., Kirsh, D. JR., Hollander, A.G., Barbieri, M. and Weinstein, S.B. : Detection of apparently absent circulating antibodies in tuberculous sera, Amer. Rev. of Tuberc. **72** : 345 - 352, 1955.

54. Barutçu, J., Gürsel, A., Tezok, F. : Tüberkülozda hemaglütinasyon reaksiyonu, II nci Türk Tüberküloz Kongresi, 359 - 361.

55. Edgar, R., Milliard, M.D. : Further studies of a new serologic test in tuberculosis, Amer. Jour. of Pub. Health, **42** : 175 - 179, 1952.

56. Verstraeten, J.M. : Premiers resultats de la reaction D'hemagglutination de Middlebrook - Dubos, Acta Tuberc. Belg. **43** : 142 - 145, 1952.

57. Gerson, H.A., Frobisher, M. JR., and Kalish, K. : Clinical evaluation of the hemagglutination reaction, Amer. Rev. Tuberc, **67** : 497 - 502, 1953.

58. Rotbard, S., Dooneif, A.S., and Hite, K.E. : Practical application of a hemagglutination reaction in tuberculosis, Proc. Soc. Exp. Biol. Med, **74** : 72 - 76, 1950.

59. Smith, D.T., and Scoot, N.B. : Clinical interpratation of the Middlebrook - Dubos hemagglutination test, Amer. Rev. Tuberc, **62** : 121 - 126, 1950.

60. Gernez, R., and Taquet. : La re'action d'hemagglutination dans la tuberculose, Ann. Inst. Pasteur, Lille, **3** : 1 - 7, 1950.

61. William, M., Kirb, J., Burnell, M. and O'Leary, B. : Evaluation of the hemagglutination reaction in the diagnosis of active tuberculosis, Amer. Rev. Tuberc, **64** : 71 - 77.

62. Thurston, J.R., and Steenken, W.Jr. : Comparason of gel precipitin and sensitized erythrocyte techniques for the detection of antibody in the serum of tuberculous and non tuberculous patients, Amer. Rev. Res. Dis, 81 : 695 - 702.

63. Gaby, W.L., Black, J., and Bondi, A. JR. : A comparative evaluation on the hemagglutination test and the hemolytic modification in tuberculosis, Amer. Rev. Tuberc, **67** : 657 - 663.

64. Choremis, C.B. and Anastasea. : The application of the Middlebrook - Dubos hemagglutination test in tuberculosis, Amer. Rev. of Tuberc, **70** : 139 - 145, 1954.

65. Cole, M.D., and Farrel, R.V. : A method for coupling protein antigens to eryhrocytes. II-Use of the method in the Diagnosis of tuberculosis., J. Exp. Med, **102** : 647 - 653, 1955.