(Mikrobiyol Bült 1988; 22 : 25-29)

İNSAN SERUMLARINDA VE BAZI SÜT ÖRNEKLERİNDE BRUSELLA ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASIYLA İLGİLİ BİR ÇALIŞMA

A STUDY ON THE PRESENCE OF BRUCELLA ANTIBODY IN HUMAN SERA AND SOME MILK SAMPLES

Ufuk ABBASOĞLU*

Özet: Brusella şikayeti bulunmayan 150 insan serumunda ve 132 farklı süt numunesinde Ring Test yöntemiyle brusella antikorları araştırılmıştır. Seropozitif çıkan sadece bir süt örneği ile kobay testleri yapılmıştır. Kobaylarda antikor oluşumu tespit edilmiştir. Fakat dalak, karaciğer ve kan kültür ve subkültürlerinde brusella üretememiştir. Seropozitif çıkan 7 insan serumunun antikor seviyesi aglutinasyon testi ile araştırılmış ve titreler 1/10 değerinde, çok düşük bulunmuştur.

Summary: The brucella antibodies were investigated in 132 different milk samples and 150 human sera by the Ring Test. The guinea-pig tests were made to determine the antibody level and microorganism isolation using one seropositive milk sample. Increase of the antibody titre was observed. Brucella germs from blood, spleen and liver of guinea-pig didn't multiply.

G İ R İ Ş

Brusellozis süt ve süt ürünleriyle bulaşabilen; insan da dalgalı ateş, halsizlik, terleme, eklem ağrıları, dalak büyümesi ve abortus gibi çeşitli klinik semptomlarla seyreden bir zoonos'dur. Brusella geçiren insanlarda kısmi bir bağışıklık kaldığı halde hastalık tekrarlayabilir (1). Brusellozisin serolojik teşhisinde en çok aglutinasyon testi kullanılır (2). 1/80 - 1/100 antikor titresi hastalığın varlığını gösterir (2,3). İnsanlar arasında nadiren bulaşabilen bu hastalıktan korunmak için, süt veren hayvanlarda brusellozis taraması önemlidir. Bu amaçla yaygın olarak kullanılan, hassas, güvenilir, ucuz ve çabuk sonuç veren bir test Ring Test'dir (4).

Ayrıca, sütlerin pastörizasyonu, süt ürünlerinin kaynamış sütten yapılması vurgulanmalıdır. Et ve et ürünlerinden bulaşma, uygun pişirme yoluyla önlenebilir (5).

* Arş. Gör. Dr., Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Mikrobiyoloji Bilim.

Brusellozisin diğer bazı hastalıklarla benzer semptomlar göstermesi ve gizli seyredebilmesi nedeniyle, bazı sütlerde ve insan serumlarında brusella antikorlarının yaygınlığını araştırmayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

25 adet A firmasının pastörize şişe sütü
25 adet B firmasının pastörize şişe sütü
25 adet C firmasının pastörize poşet sütü
25 adet D firmasının pastörize şişe sütü

32 adet Ankara'nın farklı semtlerinde satılan çiğ süt olmak üzere 132 adet süt örneği, brusella antikorları yönünden Süt Ring Test ile araştırılmıştır (4).

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı'ndan temin edilen 150 insan serumunda Sero Ring Test ile brusella antikorları araştırılmıştır (4).

Ring Test Antijeni (ABRT), Pendik Bakteriyoloji Enstitüsünden temin edilmiştir. Bu antijen Brusella abortus S 19 suşunun ısıtılarak inaktivasyonu ve 2-3-5 trifeniltetrazolium klorid ile boyanmasıyla hazırlanmıştır. Antijen +4 °C'de saklanmış ve kullanmadan önce oda ısısında 15-20 dakika çalkalanmıştır. 132 süt örneğinde seropozitif çıkan bir numune ,400 g'lık iki kobaya I.P. yolla verilmiştir (6). Dördüncü ve altıncı haftalarda kobayların kan serumunda brusella antikoru aplutinasyon yöntemiyle araştırılmıştır. Altıncı hafta sonunda öldürülen kobayların kan, dalak ve karaciğerinden özel besiyerlerine sürme ile mikroorganizma izolasyonuna çalışılmıştır.

Besiyeri olarak, Nutrient Agar (pepton 10 g, agar 30 g, sodyum klorür 5 g, et ekstraktı 5 g, % 20 glikozlu at serumu, distile su 1 lt), Kanlı agar (DIFCO, toz besiyeri 40 g, distile su 1 lt, % 10 defibrine koyun kanı), Brucella Agar (DIFCO, toz besiyeri 43 g, distile su 1 lt) kullanılmıştır. Petriler, havası boşaltılmış desikatörde 37 °C'de inkube edilmiştir. Dört gün sonra oluşan koloniler, koloni mikroskobu ile incelenerek, şüphelilerden subkültür yapılmıştır. Yeni koloniler Gram yöntemiyle boyanarak mikroorganizmaların tanımına geçilmiştir.

Araştırılan 150 insan serumunun seropozitif çıkan 7'sinde brusella antikor seviyesi aglutinasyon yöntemiyle saptanmıştır (3). Brusella abortus Aglutinasyon Standart Dilüe antijeni, Pendik Bakteriyoloji Enstitüsünden temin edilmiştir.

BULGULAR

- Değişik firmalara ait pastörize şişe ve poşet sütlerinde brusella antikorlarına rastlanmamıştır.
- Ankara'nın değişik semtlerinde satılan 32 adet çiğ süt numunesinden sadece 1'inde brusella antikoruna rastlanmıştır.
- Brusella seropozitif sütten hazırlanan numune kobaylara I.P. yolla verilmiş, dördüncü hafta kalbinden alınan kanda antikorun varlığı gözlenmiştir. Altıncı hafta sonunda aplutinasyon testi ile 1/320 titrede brusella antikorları saptanmıştır.
- Kobayların kan, dalak ve karaciğerlerinden, Brusella Agar, Nutrient Agar ve Kanlı Agara ekimler yapılmış, besiyerinin hepsi havası alınmış desikatörde 37 °C'de dört gün inkube edilmiştir. Küçük, parlak, şeffaf kolonilerden subkültürler yapılmıştır. Dört gün sonra oluşan koloniler Gram yöntemiyle boyanmıştır. İmmersiyon objektifiyle incelendiğinde brusellanın üremediği saptanmıştır.
- 150 insan serumunun 7'si Sero Ring Test ile pozitif sonuç vermiştir. Aglutinasyonla antikor titresi 1/10 yani çok düşük bulunmuştur.

TARTIŞMA

Brusellozisin sistemik bir enfeksiyon olması, değişik organ ve dokuları tutması, Brusella tiplerinin değişik şiddette enfeksiyon oluşturması sonucu farklılık gösteren klinik tablolar ortaya çıkmaktadır ve brusella tanısında güçlük doğurmaktadır (7). Tanının karışabildiği, etkenin bakteriyolojik tanımlama zorluğu, hasta hayvanları ekonomik nedenlerle gizlenmesi, uygun olmayan antibiyolojiklerle ve kısa süreli tedavi gibi nedenler hastalığın yayılmasına yol açmaktadır (5). Son on sene içinde görülme sıklığı on kez azalmasına karşılık brusellozis önemini sürdürmektedir (8). 1985 yılında 220 süt örneğinde Süt Ring Test ile yapılmış bir çalışmada 29 örnek pozitif bulunmuştur. Yazın 48'de 5, ilkbaharda 72'de 10, sonbaharda 43'de 6 ve kışın 57'de 8 pozitif örnek saptanarak, bu sütlerde aylara ve mevsimlere göre antikor dağılımında bir fark olmadığı belirtilmiştir (5).

Brusella tiplerinin pastörizasyon ısısında 10-15 dakikada öldüğü bilinmektedir (2). Bu durumda araştırdığımız pastörize süt örneklerinde antikora rastlanmaması olağan bir sonuçtur. 32 çiğ sütten sadece bir tanesinde brusella antikoruna rastlanması da Ankara bölgesindeki ineklerin kontrolünün iyi yapıldığının bir göstergesidir.

Araştırmamızda 150 insan serumunun 7'sinde 1/10 titrede antikora rastlanmıştır. Ancak Brusella antikorunun 1/80 - 1/100 titrede bulunması, bir brusellozisi göstermektedir (2). Seropozitif çıkan bu 7 kişinin hasta olmadığı açıktır. Bu pozitiflik ya geçirilmiş bir enfeksiyonun ya da kros bir reaksiyonun sonucu olarak değerlendirilebilir.

Brusella etkeninin, sütün pastörizasyonuyla öldüğü, soğuk çiğ sütte 10 gün, taze tereyağında 4 ay, taze peynirde 3 ay, dondurmada 30 gün, enfekte salam ve sosiste 21 gün canlı kaldığı belirtilmiştir (5,9). Süt veren hayvanların kanında antikor olmasa bile, hayvan, meme brusellozuna yakalanmış ve sütüyle etkeni saçabileceği belirtilmektedir (10). Bu durumda süt ürünlerinden daha çok, süt veren hayvanların ve sütlerinin kontrolü önemlidir.

Yapılan bir araştırmada, asıl işi öğretmenlik olduğu halde hayvan besleyen birisi ve üç yakını ile asıl işi mühendislik olduğu halde mandıracılık yapan bir hastanın brusellozise yakalanması; hastaların çeşitli şikayetlerinin yanında, hayvanlarla teması olup olmadığının araştırılmasının önemi belirtilmiştir (7).

Tedavisi uzun süren, tekrarlayabilen, tanısı zor konan bu hastalıktan korunmak önemlidir. Ve de hastalıktan korunmanın, hastalığa yakalanmaktan daha da kolay olduğu görülmektedir.

T E Ş E K K Ü R

Çalışmalarım esnasındaki yardımlarından dolayı Sayın Dr. Salih YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

KAYNAKLAR

1. Bilgehan H: Özel Bakteriyoloji, Bilgehan Bas., İzmir, S. 186-200, 1986.
2. Arda M, Minbay A, Aydın N: Özel Mikrobiyoloji, A.Ü. Vet. Fak. Yay. 386, 225-255, 1982.
3. Çetin ET: Pratik Mikrobiyoloji, Menteş Mat., İstanbul, 1986.
4. Yılmaz S: İnsan ve hayvan kan serumlarının brucellosis bakımından muayenesinde "Ring-Test" metodu ile yapılan çalışmalar. Etlik Vet. Mikrobiol. Enst. Derg., 4 (11-12), 156-167, 1977.
5. Mutlu N: Eskişehir ve çevresinde tüketilen sütlerin Brucella antikorları açısından değişik yöntemlerle incelenmesi. Doktora tezi, Anadolu Ü., Sağ. Bil. Enst., Eskişehir, 1985.
6. Borman EK, West DE: "Brucellosis"in Bulaşıcı hastalıklarla mücadele ve laboratuvar teşhis usulleri, Fişek N, Yeni Desen Mat. Ankara, 210-230, 1956.
7. Çolak H: Brusellozis: 40 olguda klinik, laboratuvar ve tedavi sonuçları. Mikrobiol. Bült., 21, 110-116, 1987.
8. Ölez N, Güler Ç: Halk sağlığı sorunu olarak brusella, Türk Vet. Hek. Dern. Derg., 20-27, 1981.

9. Sarısayın F, Eroğlu M: Marmara ve Trakya Bölgelerinde üretilen tereyağı, krema ile bunlardan yapılan pasta ve dondurmanın insanlardaki brucella enfeksiyonu yönünden rolü, Pendik Vet. Bak. ve Ser. Enst. Derg., 10: 22, 1978.
10. Yılmaz S: Şahsi görüşme, Etlik Vet. Mikrobiol. Enst. Ankara, 1988.