



MONOKLONAL ANTİKORLAR KULLANARAK SERUMDA MİKOBAKTERİEL ANTİKORLARIN TESBİTİ



Sami AYYORGUN
Ankara Fen Lisesi

GİRİŞ : Mikobakterium tüberkülozis (Tbc) basili asid fast bir bakteridir. Bu özelliğinden dolayı Ziehl-Neelsen boyaması ile tesbit edilebilir. Tanının konmasında Tbc duyarlılığı ve basilin tesbiti önemlidir.

Bu esaslara dayanan metotların bazı olumsuzları vardır. Bunlar;

1- Tüberkülin Deri Testi (PPD) ne olan tepki sadece aktif veya inaktif hastalarda pozitif sonuç verir. Her iki grupta da cevap pozitif olduğu için hastalığın aktif veya inaktif olduğunu ayıramaz. Bunun yanında yaş ilerledikçe de PPD'ye olan tepki azalır.

2- Radyoloji tanısında elde edilen görüntüye mantar, viral, bakteriel, paraziter ve kimyasal reaksiyonlarda da rastlanır. Bunun için sadece radyografii ile tanı koymak yanlış olabilir.

3- Balgam kültürünün besi yerlerinde üretilmesi ve Ziehl-Neelsen boyama yöntemi ile basilin gösterilmesi, tanı için kesin bir delildir. Ancak kültürlerden sonuç alınabilmesi için 6-8 hafta beklenilmesi-

nin yanında, basilin boyama güçlüğü ve hepsinin boyanamaması, her hastadan da balgam alınmaması tanı koymayı güçleştirebilmektedir.

Bütün bu sebepler, günümüzde Tbc tanısı için daha pratik testlere gerek duyulduğunu göstermektedir.

AMAÇ : Son yıllarda Tbc antijenlerini spesifik olarak tanıyabilen monoklonal antikorlar üretilmiştir. Bu antikorlar Tbc antijenlerinin tek bir determinantı için özgüldür, özellikle antijenlerin bir tipini tanımaktadırlar. Homojen bir antikor topluluğu oluşturdukları için de özgül oldukları antijeni diğerlerinden ayırabilirler. Bu yüzden mikobakterium Tbc'un antijenik kısımlarına karşı oluşturulan MoAB'lar (TB23, TB68, TB71, TB72, TB78, ML30, ML34) teşhis konmasında yardımcı olabilecektir.

Tbc antijenleri, insan serumundaki Tbc'a özgül olan antikorlar tarafından tanınırlar. Tbc antijeni olan bir ortama serum ilave edilirse, serumdaki özgül Tbc antijenlerini bağlarlar. Meydana gelen ikili moleküllü MoAB tutar ve üçlü bir kompleks (sandviç gibi) oluşur. Elde edilen üçlü kompleksin multiscoin spektrofotometrede okunan değeri, Tbc antijeni ile serumdaki antikorun bağlanma oranını verir. Bu bağlanma oranı serumdaki Tbc antikorunun varlığının belirlenmesi, Tbc tanısı için yararlı olabilecektir.

Bu çalışma enzim immünassay ile Tbc basilinin antijenik kısımlarına karşı oluşturulan MoAB'ları kullanarak, hasta serumunda tüberküloz antijenine özgül antikorların tesbiti yolu ile tüberküloz tanısına yardımcı olabilecek bir test geliştirmek amacıyla planlanmıştır.

MATERYAL : 1- MoAB ile serumdaki antikorların bağlanabilecekleri antijenleri elde edebilmek için mikobakterium Tbc hominis basili üretilmiştir. Sonra bu basillerin patatesli savtan besi yerlerine pasaj yapılmıştır. 4 hafta sonra oluşan koloniden daha çok basil elde edebilmek için sıvı savtan besisine pasaj yapılmıştır. Daha sonra bakteriler 3000 rpm'de çöktürülmüş ve 10 gr bakteri elde edilmiştir.

Bakteriler 59 C ile öldürülerek, sonikatör aleti kullanarak parçalanmış ve 47.000 rpm'de ultrasonrifüj edilip antijenler -20°C'de saklanmıştır.

2- Balgam kültürü ile kesin Tbc tanısı konmuş hastaların verdikleri cevabı anlamak için, akciğer tüberkülozlu 19 bireylik hasta kontrol grubu sağlanmıştır. Ayrıca normal serumların testten de normal çıkıp çıkmadıklarını anlamak için 19 bireylik çeşitli akciğer hastalığı geçirmiş, normal kontrol grubu araştırmaya alınmıştır.

Hasta ve normal serumlar uygun şartlarda temin edilmiş ve -20°C'de saklanmıştır.



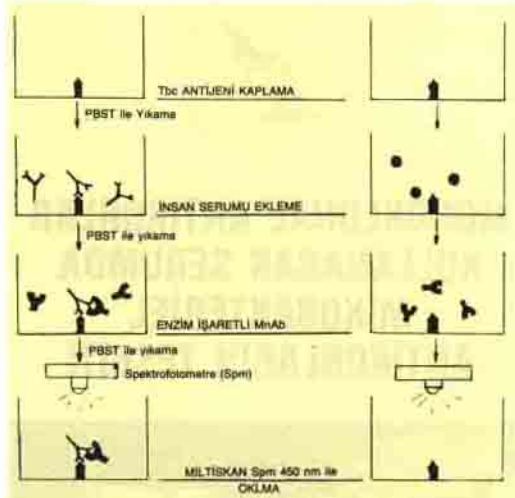
3- Antimouse Ig-horseradish peroxidase işaretli MoAB'lar Royal Rostgraduate Medical School Londra'dan Prof.İ.Ivanyi'den temin edilmiştir.

METOD : Deneyin Çalışma Prensipleri : Test yapılacak ve ölçümde kullanılacak kuyucuk Tbc antijeni ile kaplanır. Bunun üzerine hasta serumu eklenir. Hastada bulunan Tbc antikoru, H37Ru antijenine bağlanır. Eklenen enzim işaretli MoAB, ikili moleküle bağlanarak üçlü kompleksi oluşturur. Bu kompleks substratın mavi rengini sarıya dönüştürür. Bu renk değişimleri multiscan spektrofotometrede okunarak absorbansları bulunur. Eğer serumda Tbc antikoru yoksa kompleks oluşamayacağından renk değişimleri gözlenemez.

Spektrofotometrede okunan değerlerin değişebileceği alt ve üst limitleri belirlemek için de düşük ve yüksek kontrol kuyucukları oluşturulmuştur.

TARTIŞMA : Bu yöntemde gerek antijenik yapıların plastik plaklardaki kuyucuklara bağlanması, gerekse serumdaki antikorların dışardan eklenen MoAB'larla kompetisyonu ELISA yönteminin sonuçlarını etkileyen önemli faktörlerdir. Bu yüzden titrasyon çalışmalarımız halen devam etmektedir.

Ayrıca hastalarda iki tip antijenin tüberküloza sebep olduğu düşüncesinden yola çıkarak MoAB ekleme evresinde iki tip MoAB eklenmesi, her iki tip antijene özgül antikorların tesbitine olanak verebi-



Hastalıklı Bireyin Tbc - Antikoru Tespiti

Sağlıklı Bireyin Tespiti

li. Fakat hangi tipin daha baskın olduğunun saptanması için, MoAB'lar farklı kuyucuklara konularak testin tekrar uygulanması gerekir.

SONUÇ : Bu araştırma projesinde mikobakterium Tbc enfeksiyonunun erken dönemde ve doğru olarak tespit edilebilmesi için, mikobakteriyel antikorların tayininin MoAB ve ELISA testi yardımıyla mümkün olabileceği ve pratik bir yöntem olarak kullanılabileceği anlaşılmıştır.

ULUSLARARASI MATEMATİK VE FİZİK OLİMPİYATLARI TEMMUZ AYINDA YAPILACAK

Her yıl dünya ülkelerinin iştirakiyle düzenlenen olan Uluslararası Bilim Olimpiyatları ile ilgili faaliyetler, 1985 yılından bu yana ülkemiz adına TÜBİTAK-Bilim Adamı Yetiştirme Grubu tarafından yürütülmektedir.

Olimpiyatlara her ülke, 20 yaşını aşmamış ve lise düzeyinde öğrenim görmekte olan matematik dalında 6 ve fizik dalında da 5 öğrenci ile katılabilmektedir.

Bu yıl 21. Uluslararası Fizik Olimpiyatı 5-13 Temmuz 1990 tarihlerinde Hollanda'da ve 31. Uluslararası Matematik Olimpiyatı da 10-19 Temmuz 1990 tarihlerinde Çin'de düzenlenecektir. Olimpiyatlarda ülkemizi şu ekipler temsil edeceklerdir:

A) 21. ULUSLARARASI FİZİK OLİMPİYADI EKİBİ:

Ekip Lideri: Prof.Dr. Ordal Demokan (ODTÜ Fizik Bölümü)

Öğrenciler:

- | | |
|---------------------|-----------------------------|
| 1. Emre Özpınar | İstanbul Atatürk Fen Lisesi |
| 2. Ali Özer | İstanbul Atatürk Fen Lisesi |
| 3. Ersin Keçecioğlu | İstanbul Atatürk Fen Lisesi |
| 4. Mehmet Aktuna | Ankara Fen Lisesi |
| 5. İnanç Adagidelî | Ankara Fen Lisesi |

B) 31. ULUSLARARASI MATEMATİK OLİMPİYADI EKİBİ:

Ekip Lideri: Prof.Dr. A. Okay Çelebi (ODTÜ Matematik Bölümü)

Öğrenciler:

- | | |
|-----------------|------------------------------|
| 1. Tunay Tunca | İstanbul Atatürk Fen Lisesi |
| 2. Arafat Şahin | İstanbul Atatürk Fen Lisesi |
| 3. Nejat Cingi | Eskişehir Anadolu Lisesi |
| 4. Tolga Etgü | İzmir Özel Yamanlar Fen Lis. |
| 5. Latif Kalın | Kayseri Fen Lisesi |
| 6. Özcan Öztürk | Ankara Fen Lisesi |