

T. C.  
Sıhhat ve İctimai Muavenet Vekâleti  
Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha  
Enstitüsü

T Ü R K  
İ J İ Y E N ve T E C R Ü B İ  
B İ Y O L O J İ D E R G İ S İ

Cilt : XVII — Sayı : III  
(1957)

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

•

REVUE TURQUE D'HYGIENE ET DE BIOLOGIE EXPERIMENTALE

•

TÜRKSISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

(TURK. HYG. — EXP. BIOL)

Vol : XVII — No. : III

Ankara, 1957

ISSUED BY  
PUBLIÉ PAR  
HERAUSGEGEBEN VOM

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSIHHA ENSTİTÜSÜ (ANKARA)  
TARAFINDAN NEŞREDİLİR.

# I Ç İ N D E K İ L E R

Sahife

## 1 — Prof. Dr. Zühdi BERKE — Dr. Nafi TÜRKAY :

Kuduzda seroprofilaksi problemi .....	179
The problem of seroprophylaxy in Rabies .....	185
La prophylaxie dans la rage .....	188

## 2 — Dr. Nafi TÜRKAY :

Semple kuduz aşısının antijenik kudretini muhafaza müddeti üzerinde araştırma .....	192
Recherches sur la durée de conservation du pouvoir antigenique de vaccin antirabique préparé par la methode de Semple .....	195

## 3 — Dr. Daver ÖZLÜARDA :

Memleketimizin bazı bölgelerinde Brucellergen ve agglütinasyon testleri ile Brucellose araştırması ve bu testlerin epidemiyolojik değeri hakkında bir çalışma .....	196
An investigation on Brucellosis in some area of Turkey using Brucellergen and agglutination tests and epidemiological value of these tests .....	206

## 4 — Dr. Necmettin AKYAY — Dr. Aral GÜRSEL :

Bir Brucella salgını ve Türkiye'de Brucellose .....	208
A propos d'une epidemie de Brucellose et la Brucellose en Turquie .....	215

## 5 — Dr. Elhan ÖZLÜARDA :

Vaccinia virusunun tavuk embryonu korio-allantoik zarında üretilmesi ve hemagglütinasyon hususiyetleri hakkında bir çalışma .....	217
Studies on vaccinia virus. 1 — Propagation of vaccinia virus on the chorio-allantoic membrane of chick embrio and its haemagglutinations properties .....	222

- 6 — Dr. Şükrü KAYMAKÇALAN :
- Morfin ve Nalorfinin izole kurbağa kalbindeki tesirleri . . . . 224  
 The Effects of Morphine and Nalorphine on the isolated  
 frog's heart . . . . . 232
- 7 — Dr. Nafi TÜRKAY :
- Semple kuduz aşısına tâbi tutulmuş şahısların kanlarında  
 Rabisid kudret araştırmaları . . . . . 234  
 Recherches sur le pouvoir rabicide dans les serums des  
 sujets vaccinés par le vaccin Simple . . . . . 236
- 8 — Dr. Hasip KURTPINAR :
- Anadoluda Argas Reflexus Fabr. (Güvercin kenesi) nin in-  
 sanlarda tevlid ettiği sıhhi bozukluklar üzerinde araştırmalar 237  
 Argas Reflexus (Fabricius, 1794) as a human parasite  
 in Turkey . . . . . 243
- 9 — Necmettin ALKIŞ :
- Membran filtreler ile antibiotik hassasiyet deneyleri . . . . . 244  
 Antibiotic sensitivity test by using of membrane filter . . . . 249
- 10 — Dr. Muvaffak AKMAN :
- (Membran Filtre) ve (Kuvvetle muhtemel sayı) usulleriyle  
 sularda mukayeseli koliform bakteri sayımı . . . . . 251  
 Comparative Coliform counts in water by (membran filter)  
 and (most probable number) procedures . . . . . 257
- 11 — Dr. Nafi TÜRKAY :
- Kuduz sabit virusunun gliserin içinde dayanma müddeti üze-  
 rinde araştırma . . . . . 259  
 Une etude sur la durée de conservation du virus rabique  
 fixe dans glycerine . . . . . 261
- 12 — Dr. Mesude AKTAN :
- Kadınların genital organlarından izole edilen pleuropneumo-  
 nie benzeri mikroorganizmler(P.P.L.O.)ve serolojik vasıfları 262  
 Die von den weiblichen Genital Organen Isolierte P.P.L.O.  
 und ihre serologische Eigenschaften . . . . . 267

## KUDUZ'DA SEROPROFİLAKSİ PROBLEMİ [\*]

**Prof. Dr. Zühdi BERKE**

E. S. M. Hıfzısıhha Enstitüsü  
Aşı ve Serum Şubesi Müdürü  
ve Viroloji Şubesi Şefi

**Dr. Nafi TÜRKAY**

E. S. M. Hıfzısıhha Enstitüsü  
Kuduz Servisi Şefi

Antirabik serumun terapötik tesiri olmadığı hakkında bütün araştırmacılar müttetikler. Bugüne kadar yapılmış olan muhtelif tecrübe ve araştırmalar bu hakikati meydana koymuştur.

Antirabik serumun prevantif tesiri üzerindeki fikirler değişiktir. İlk zamanlarda yapılan tecrübeler neticesinde bir kısım müellifler serumun proteksiyon kudreti lehinde, bir kısmı ise aleyhinde bulunmuşlardır. Fakat daha sonra Proca, Koprowski ve Habel tarafından yapılan tecrübelerle, kuduz profilaksisinde serumun rolü daha iyi aydınlatılmıştır.

Türkiye'de ilk defa İstanbul kuduz enstitüsünde A. Marie tarafından vahim kurt ısırıklı vak'alarda, koyunlarda elde edilmiş antirabik serum kullanılmış, daha sonra Z. M. Tuncman tarafından serovaksinasyona devam edilmiştir.

1938 senesinde Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsünde merkezlerden serum istihsaline başlanarak, İstanbul ve Ankara'da tatbikata geçilmiştir. Bu zamanda kullanılan usul, Marie metodunun bir modifikasyonu olup ağır ısırık vak'alarında ilk iki gün 0,2 gram virus fiks 5 cc. serum, bunu takiben 2 gün 0,4 gram virus fiks 10 cc. serum, yine 2 gün 0,6 gram virus fiks 15 cc. serum, ve son olarak da 2 gün 0,8 gram virus fiks 20 cc. serum içinde emülsiyon edildikten sonra şırınga edilirdi. 8 günlük serovaksinasyondan sonra gittikçe artan miktarlarda yalnız Högyes aşısı verildi.

Bu usul uzun seneler İstanbul ve Ankara enstitülerinde tatbik edilmiştir.

1954 ve 1955 seneleri içinde antirabik serumun tatbik şekli üzerinde tecrübe ve araştırmalarda bulunduğ [\*\*]. Bu tecrübelerle ait bilgi özet halinde 1 sayılı cetvelde arzedilmiştir.

[\*] Bu yazı Milletlerarası Mikrobiyoloji Cemiyetleri Avrupa seksiyonu tarafından tertiplenmiş ve İstanbul'da 19-22 Eylül 1957 de yapılmış Symposiumunda tebliğ olunmuştur.

[\*\*] Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi Tom. XV, Sayı 3, Sahife 307-321, 1955.

Cetvel (Tablo) 1 — Kobaylara kuduz virusu zerkinden sonra tatbikedilmiş muhtelif tedavi usullerinden alınan neticeler.

Les resultats obtenus après l'inoculation du virus rabique aux cobayes par divers methodes de traitements.

Results obtained from different method of treatment, after inoculation of rabies virus.

Tecrübe şekilleri Modes d'expériences Ways of experiment	Tecrübe alınan Kobay sayısı Nombre de cobay employés Nombre et qualité	Kuduzlu ölümler Cobaylar ölümleri Deaths from rabies	Yaşayanlar Cobaylar canlı survivals	Korunma % Protection Protection
Yalnız serum Serum seul Only serum	15	9	6	40
Yalnız Högyes aşısı Vaccine Högyes seul Only Högyes vaccine	15	10	5	33,0
Yalnız Semple aşısı Vaccine Semple seul Only Semple vaccine	15	12	3	20
Önce serum, sonra Högyes aşısı Emploi du serum d'abord, puis vaccine Högyes First serum, then Högyes vaccine	20	0	20	100
Önce serum, sonra Semple aşısı Emploi du serum d'abord, puis vaccine Semple First serum, then Semple vaccine	20	0	20	100
Önce serum ve Högyes aşısı karnısı, sonra Högyes aşısı Emploi d'une mixture de serum et de vaccine vivant d'abord puis du vaccin Högyes First combined serum and alive vaccine, then Högyes vaccine	10	6	4	40
Önce serum ve Högyes aşısı ayrı ayrı nahiyelere, sonra Högyes aşısı Emploi du serum et du vaccine injectés dans différentes region du corps puis du vaccine Högyes First serum and alive vaccine injected to different areas, then Högyes vaccine	10	5	5	50
Kontrol, Controle, control	5	5	0	0

Cetvelin tetkikiyle, aynı şartlar altında yapılmış muhtelif tecrübelerden, önce serum, sonra aşı tatbik tarzının kuduz profilaksisinde en uygun şekli

olduğu anlaşılmıştır. Bu neticelere istinaden serovaksinasyon metodu terk edilerek, ağır ısırık vak'alarında, evvelâ serum, bunu takiben 24 saat sonra da aşı tatbik etme usulü kullanılmaya başlanmıştır.

Kuduz veya kuduz olması kuvvetle şüpheli olan kurt, çakal, tilki gibi vahşi hayvanlarla diğer hayvanlar tarafından ağır bir şekilde ısırılmış ve enkubasyon müddeti 30 günden kısa olması muhtemel vak'alarda evvelâ serum ve bunu takiben 24 saat sonra da 24 günlük kuduz aşısı şeması tatbik edilmektedir. Serumun dozajı kilo başına 0,5 cc. olarak hesap edilir.

Organizmaya giren virusun, sinir sistemine geçmeden önce, girdiği nahiyeye necsi arsında serbest olarak bulunduğu takdirde serum tarafından nötralize edildiği ve sinir sistemine geçen virusun serumun tesirinden masun kaldığı malûmdur. Vücuda giren virus, girdiği nahiyede serbest olarak uzun zaman kalmaz, derhal sinir sistemine geçmeye başlar. Enfeksiyonu takip eden 72 saat sonra ısırık nahiyesinde serbest virusa rastlanmaz. Bu sebeple serum ancak bu müddet içinde tatbik edilmelidir.

Serum deri altı veya adele içi olarak zerk edilir. Isırık nahiyesi lokal enjeksiyona müsait ise, ayrıca infiltrasyon şeklinde yara civarına zerk yapılır.

Serumun lokal olarak tatbiki üzerinde yaptığımız, aşağıda arz edilen, tecrübeden müsait netice aldık.

Tecrübe — 300 - 350 gram ağırlığında 30 kobaya, deri altı yolile patojen kudreti haiz Lépine suşundan 10 DL 50 virus şırınga edildi. Bunu müteakip, her beş kobay bir gurup teşkil etmek üzere guruplandırıldı. Birinci guruba, virus zerkinden bir saat sonra, virus zerk edilen nahiyeye etrafına infiltrasyon şeklinde 2 cc. antirabik serum şırınga edildi. İkinci guruba, 6 saat sonra; üçüncü guruba, 24 saat sonra; dördüncü guruba, 48 saat sonra; beşinci guruba 72 saat sonra aynı muamele tatbik edildi. Altıncı gurup serum tatbikine tâbi tutulmadan kontrol olarak bırakıldı. Kobaylar 30 gün müşahade altında tutuldu. Alınan netice aşağıdaki 2 sayılı cetvelde arzedilmiştir.

Cetvelin tetkikinde, serum tatbik edilmemiş kontrol kobaylarının 8 - 12 gün içinde kuduzdan ölmelerine mukabil, serum tatbikine tâbi tutulmuş kobayların hayatta kaldıkları görülmektedir.

Bu tecrübe bize, lokal tatbikatın ihmal edilmeyecek kadar kıymetli olduğu hakkında bir fikir vermiş oluyor. Bu kanaat, daha geniş ölçüde yapılan ikinci tecrübelerimizde teyit edilmiştir.

Cetvel (Tablo) 2 — Virus zerkinden muhtelif saatlar sonra serum tatbikinden alınan neticeler.

Les resultats du l'injection du serum appliques après differents temps du virus.

Results obtained after serum injection at different hours following rabies virus injection.

Virus ve serum zerkleri arasında geçen zaman Temps ecoulé entre l'injection du virus et celle de serum Time passed between virus and serum injection	Zerke edilen Kobay sayısı Nombre de cobayes soumis à l'injection Number of test guinea pigs	Netice Resultats Results
Virus zerkinden 1 saat sonra Une heure après l'injection du virus One hour after virus injection	5	Yaşadı Ont survécu alive
Virus zerkinden 6 saat sonra 6 heures après l'injection du virus 6 hours after virus injection	5	"
24 " " " "	5	"
48 " " " "	5	"
72 " " " "	5	"
Kontrol Controle Control	5	8 - 12 günde öldüler Morts entre 8-12 jours Died within 8 - 12 days

Tecrübe 2 — Bu tecrübe ile serum tatbikinde, hem zamanın ve hem de tatbik şeklinin rolünü mukayeseli olarak araştırdık.

Birinci tecrübemizde olduğu gibi kobaylar 10 DL 50 yerine 100 DL 50 virusla enfekte edildiler. Aşağıdaki cetvelde görüldüğü üzere virus inokülasyonundan 6, 24, 48, 72, 96, 120 saat sonra kobaylara serum tatbik edildi. Serumun tatbik şekli üç kısma ayrılmıştır :

1 — Virus inoküle edilen noktanın civarına deri altı olarak infiltrasyon şeklinde 2 cc.

2 — Zerk noktasından uzak bir nahiyeye deri altı 2 cc.

3 — 1 cc. serum, virus zerk edilen noktanın etrafına infiltrasyon şeklinde, 1 cc. de uzak nahiyeye zerke edildi.

Kobaylar 30 gün müşahade altında bulunduruldu. Netice aşağıdaki cetvelde görülmektedir.



Cebvel (Table) 3. - Serum totbikinde zaman ve zerk edilen yerin rolü.  
 Le rôle du delais et de lieu d'injection du serum.  
 The role of the injected area and time in serum application

serum zerkleri ndaki zaman	Lokal zerkler Injection locale Local injection				Başka nahiyeden zerk: Les injections dans d'outre regions Injection in other region				Yarırsı lokal, yarırsı başka nahiyeden Injection mi-local, mi-daigné du point d'injection du virus Application locally and in other region at the same time				Kontrol Contrôle Control			
	Kabay sayırsı Nombre des cobayes Number of guinea pigs	Kuduzdan ölenler Morts par rage Died from rabies		Yaşayanlar Survivants Survivals	Kabay sayırsı Nombre des cobayes Number of guinea pigs	Kuduzdan ölenler Morts par rage Died from rabies		Yaşayanlar Survivants Survivals	Kabay sayırsı Nombre des cobayes Number of guinea pigs	Kuduzdan ölenler Morts par rage Died from rabies		Yaşayanlar Survivants Survivals	Kabay sayırsı Nombre des cobayes Number of guinea pigs	Kuduzdan ölenler Morts par rage Died from rabies		Yaşayanlar Survivants Survivals
		Sayırsı Nombre Number	Günler Jours Days			Sayırsı Nombre Number	Günler Jours Days			Sayırsı Nombre Number	Günler Jours Days			Sayırsı Nombre Number	Günler Jours Days	
1	5	3	1-13	2	5	3	11-13	2	5	2	11-12	3				
"	5	0	-	5	5	3	11-14	2	5	2	7-12	3				
"	5	3	9-13	2	5	3	9-13	2	5	3	9-13	2				
"	5	5	9-13	0	5	5	9-14	0	5	5	9-17	0				
"	5	5	9-13	0	5	4	9-11	1	5	3	9-12	2				
"	5	5	9-12	0	5	5	9-11	0	5	5	9-12	0				
ontrol, Control,									5				5	5	8-12	0

Cetvel tetkik edildikte: Virus zerkinden 6 saat sonra serum zerkine tâbi tutulan kobaylardan :

Lokal tatbik edilen 5 kobaydan 3 ü ölmüş 2 si hayatta kalmıştır.

Başka nahiyeden tatbik edilen 5 kobaydan yine 3 ü ölmüş, 2 si hayatta kalmış, yarısı lokal yarısı başka nahiyeden serum şırınga edilen 5 kobaydan 2 si ölmüş, 3 ü hayatta kalmıştır. Ölümler 10 - 14 gün arasında vukua gelmiştir.

24, 48, 96, 120 saat sonra aynı şekilde serum zerkine tabi kobaylardan ölenler ve bunların kaç gün içinde öldükleri hizalarında yazılıdır. Buna nazaran virus zerkinden 48 saat sonrasına kadar tatbik edilen serumdan fayda sağlandığı, daha fazla zaman sonra tatbik edilen serumun müessir olmadığı görülmektedir.

Bu tecrübe, serumun lokal ve başka nahiyeden tatbik edilmesinden en iyi netice alınacağı kanaatini doğurmaktadır.

**NETİCE** — Antirabik serum, kuduz profilaksisinde önemli bir rol oynamaktadır. Ancak serumdan azami derecede istifade etmek için bazı hususların gözönünde bulundurulması icabeder :

1 — Kuduz serumu tatbik edilecek vak'alar iyice seçilmelidir. Her ısırık vak'asına serum tatbik etmekle, seruma karşı hassas şahıs sayısı artmış ve dolayısıyla anafilaksi şoku ihtimali fazlaşmış olur. Bu sebeple serum, enkubasyon müddeti 30 günden kısa olması muhtemel ağır ısırık vak'alarına tatbik edilmelidir.

2 — Serum tatbikine zamanında başlanmalıdır. Isırılmayı takip eden 24 saat içinde tatbik edilecek serumdan en iyi netice alınır. Bundan sonra serumun tesiri azalmaya başlar ve 72 saat sonra tatbik edilecek serumdan pek fayda beklenemez.

3 — Serumun dozu da kâfi miktarda olmalıdır. Müessesemizde merkeplerden yüksek titirde serum istihsal edilmekte olup bu serumun kilo başına 0,5 cc. miktarı uygun görülmektedir.

4 — Yapılan tecrübelerden alınan neticelere göre, evvelâ antirabik serum lokal ve başka nahiyeden olarak tatbik edilmeli, 24 saat sonra kuduz aşısı tatbikine başlanmalıdır.

## THE PROBLEM OF SEROPROPHYLACY IN RABIES [\*]

Prof. Dr. Zühdi BERKE

Dr. Nafi TÜRKAY

All the researchers agree upon the fact that antirabic serum has no therapeutic effect. Various experiments thus far made have revealed this as a fact.

There exist different ideas about the preventive effect of the antirabic serum. Following the results of the tests made in the early stages, some authors were in favour of the protective potency of the serum whereas some others were against it. Still, the real effect of the serum as a prophylactic measure against rabies was thoroughly enlightened with the experiments done later by Proca, Koprowski and Habel.

For the first time in Turkey at the Rabies Institute in Istanbul, antirabic serum produced from the sheep was applied by C. Maries to cases severely bitten by wolves; and the serovaccination was later carried on by Z. M. Tuncman.

In 1938, a serum from donkeys has been produced at the Refik Saydam Institute in Ankara; its application began both in Ankara and Istanbul. The method used in this period being a modification of that of C. Marie, it meant the injection of 0.2 gr. "fixed" virus emulsified in 5 cc. serum during the first two days for cases, severely bitten; 0.4 gr. "fixed" virus emulsified in 10 cc. serum was to be injected in the next two days, this being followed by 0.6 gr. "fixed" virus emulsified in 15 cc. serum for two more days. The last stage of the treatment included the injection of 0.8 gr. "fixed" virus emulsified in 20 cc. serum for the last two days. After an eight days of serovaccination, only Högyes vaccine was to be applied in gradually increased dosages.

This method was applied for many years in Istanbul and Ankara Institutes.

We have carried out special researches on the method of applying the antirabic serum in 1954 and 1955 [\*\*]. The information regarding these researches is summarized in the table 1.

By studying the above table, it was understood that through carrying out several experiments under same conditions the way of applying first

---

[\*] This communication was delivered at the Symposium organized by the European section of the International Association of Microbiology that was held in Istanbul in September 19-22, of 1957.

[\*\*] Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology Tom XV number 3, page 307-312, 1955.

serum and then introduction of vaccine proved to be the best method as a prophylactic measure against rabies. After these experiments, serovaccination method was abandoned, and first serum and then in the following 24 hours vaccination began to be applied for the heavily bitten cases.

First serum and then in the following 24 hours, a schedule of 24 days rabies vaccine are being applied to the cases, severely bitten by wild rabid animals or those suspected of having rabies, such as wolves, foxes and of which incubation period is most likely to be less than 30 days. The dose of the serum is being counted as 0,5 cc. per kilo.

It was already known that virus introduced into the organism before spreading to the nervous system, is neutralized by the serum in case that it is free inside the tissues of the bitten area; and once the virus attacks the nervous system, it can no longer be made inoffensive by the serum. The virus admitted to the body can not stay free in the region of bite for a long time, but it immediately begins to pass on the nervous system after 72 hours following the infection. One cannot find any free virus in the region of bite. Therefore serum should only be applied during this period.

The serum is applied subcutaneously or intramuscularly. If the region of bite is suitable for local injection, it will also be infiltrated around the wound.

We have obtained satisfactory results from the experiment mentioned below, by the local application of the serum :

**Experiment 1** — 10 DL 50 virus from Lépine strain having pathogenic potency was injected subcutaneously to 30 guinea pigs weighing 300-350 gr. Following this, 5 by 5 every animal was formed into separate groups. 2 cc. antirabic serum was infiltrated to the virus injected region to the first group after one hour. The same procedure was applied after 6 hours to the second group. To the third group after 24 hours; after 48 hours to the fourth group; after 72 hours to the fifth group, the sixth group was left untreated as controls. The guinea pigs were under observation for 30 days. The results obtained are given in the table 2.

When studied, it is found out that while the guinea pigs left untreated died within 8 - 12 days, the others treated were alive.

This experiment proves us that local application is valuable beyond neglect, it being confirmed in our second experiment.

**Experiment 2** — By this experiment, the effect of the time as well as the method in the serum application were comparatively investigated.

Guinea pigs were infected with 100 DL50 instead of 10DL50 as was the case in the first experiment. As it was seen in the above table, the serum was applied after virus inoculation of 6, 24, 48, 72, 96 and 120 hours. The application of the serum was divided into three :

1 — 2 cc. subcutaneously infiltrated around the virus inoculated area.

2 — 2cc. subcutaneously injected to a far away area from the injected region.

3 — 1 cc. infiltrated around the virus injected area, 1 cc. to a far away area.

The guinea pigs were under observation for 30 days. The results are shown in the Table 3.

When the table is studied, from guinea pigs to which serum was applied after 6 hours of virus injection,

3 were dead and 2 were alive out of 5 after local application,

3 were dead and 2 were alive out of 5 after application of the serum to a different area,

Out of 5 guinea pigs that had half the serum locally, and the other half at another side of the body, 2 were dead and 3 were alive. The deaths occurred within 10-14 days.

Those who died after 24, 48, 96, 120 hours of serum injection and within how many days they died were all recorded in the pertaining lines. According to this, the serum applied within 48 hours after virus injection proved to be useful whereas the serum applied after more than that time was ineffective.

This experiment proves that application of the serum locally and to a different area would give the best results.

**Result** — Antirabic serum plays an important part as a prophylactic measure against rabies. But some points should be taken into consideration in order to get the maximum benefit from the serum:

1 — Cases to which rabies serum would be applied shall be selected carefully. By applying serum to every case bitten by an animal, the number of persons allergic to the serum were increased and naturally the probability of an anaphilactic shock becomes greater. Therefore the serum should be applied to heavily bitten cases of which the incubation period might be less than 30 days.

2 — The application of the serum should be started on time. The best result is obtained when the serum is applied within the first 24 hours after biting. After 24 hours, the effect of the serum decreases, and if it is applied after 72 hours, it serves to no purpose.

3 — The dose of the serum should be sufficient. In our Institute, the serum of high titre produced from donkeys, and 0,5 cc. per kilo is considered adequate.

4 — According to the results obtained from experiments, the antirabic serum should be applied at first locally and to a different area, and then the rabies vaccine should be introduced.

## LA PROPHYLAXIE DE LA RAGE [\*]

Prof. Dr. Zühdi BERKE

Dr. Nafî TÜRKAY

Tous les savants sont unanimes à déclarer que le serum antirabique n'exerce pas une action thérapeutique. Les diverses expériences et recherches faites jusqu'à ce jour ont mis en lumière cette vérité.

Les opinions sur l'action préventive du serum antirabique sont diverses. A l'issue des expériences faites à l'origine, certains auteurs s'étaient prononcés pour et d'autres contre le pouvoir préventif du serum. Cependant, les expériences entreprises plus tard par Proca, Koprowski et Habel ont permis de tirer au clair, d'une manière plus satisfaisante, le rôle du serum dans la prophylaxie de la rage.

Le serum antirabique obtenu des brebis a été employé pour la première fois en Turquie, à l'Institut Antirabique d'Istanbul, par A. Marie qui l'a appliqué contre les morsures de loup; plus tard Z. M. Tuncman a continué à faire usage de la sero-vaccination.

L'Institut Central d'Hygiène "Refik Saydam" a commencé en 1938 à produire le serum d'âne appliqué à Ankara et à Istanbul. Le procédé employé à cette époque était une modification de la méthode Marie et consistait, pour les cas de morsures graves, à injecter à l'état d'émulsion, le premier et le deuxième jour, 0,2 grammes de virus fixe et 5 cc. de serum; le troisième et le quatrième jour 0,4 grammes de virus fixe et 10 cc. de serum; le cinquième et le sixième jour 0,6 grammes de virus fixe et 15 cc.

---

[\*] Ce communiqué a été délivré au symposium organisé par la section Européenne de l'association Internationale de Microbiologie réunie à Istanbul le 19-22 Septembre 1957.

de serum; et enfin le septième et le huitième jour 0,8 grammes de virus et 20 cc. de serum. Après une sero-vaccination de 8 jours l'on n'inoculait, par quantités croissantes, que le vaccin Högyes.

Cette méthode a été appliquée pendant de longues années dans les instituts d'Istanbul et d'Ankara.

Nous avons procédé en 1954 et 1955 à des expériences et des recherches sur les modes d'application du serum antirabique [\*]. Les résultats de ces expériences sont résumés dans le tableau 1.

Il apporxait de l'examen du tableau ci-dessus et des diverses expériences faites sous les mêmes conditions que le meilleur mode d'application du vaccin antirabique est celui qui consiste à injecter d'abord du serum puis du vaccin. Sur la base de ces résultats, la méthode de sero-vaccination a été abandonnée à l'Institut Central d'Hygiène "Refik Saydam" et le procédé qui consiste à injecter d'abord du serum puis, dans les 24 heures suivantes du vaccin, y a été mis en application pour le cas de morsures graves.

Dans les cas de morsures d'animaux sauvages tels que le loup, le chacal, le renard enragés ou que l'on soupçonne d'être enragés, ou bien dans les cas de morsures graves d'autres animaux, morsures dont la période d'incubation probable est inférieure à 30 jours, l'on applique le schéma de vaccination antirabique qui consiste à injecter d'abord du serum puis, dans les 24 heures suivantes et pendant 24 jours, le vaccin antirabique. Le dosage du serum s'évalue à raison de 0,5 cc. par kilogramme.

L'on sait que dans le cas où le virus qui pénètre dans l'organisme demeure libre dans le tissu de la région où il a été injecté, il est neutralisé par le serum avant qu'il ne passe dans le système nerveux, et que le virus qui pénètre dans le système nerveux n'est pas soumis à l'action du serum. Cependant, le virus qui pénètre dans l'organisme ne demeure pas longtemps libre dans la région où il a été injecté; il commence tout de suite à passer au système nerveux de sorte que 72 heures après l'infection, le virus à l'état libre ne se rencontre plus dans la région de la morsure. En raison de ce fait l'injection du serum doit se faire dans ce laps de temps.

Le serum est injecté soit par voie sous-cutanée, soit par voie intramusculaire. Si la région de la morsure se prête à l'injection locale, celle-ci est effectuée sous forme d'infiltration auprès de la morsure.

De bons résultats ont été obtenus de l'expérience ci-après concernant l'injection locale du serum.

[\*] Revue Turque d'Hygiène et de Biologie expérimentale Tom: XV, No. 3, pages 307 - 321, 1955.

**Expérience :** 10 DL 50 de virus de souche Lépine, douée de pouvoir pathogène, ont été injectées par voie sous-cutanée à 30 cobayes dont le poids varie entre 300 et 350 grammes. Les cobayes ont été ensuite groupés par nombre de cinq. Une heure après l'injection de virus on a inoculé au premier groupe de cobayes, sous forme d'infiltration autour de la région où le virus a été injecté, 2 cc. de serum antirabique. Le deuxième groupe après six heures, le troisième après 24 heures, le quatrième après 48 heures et le cinquième après 72 heures ont été soumis à la même expérience. Le sixième groupe n'a pas été assujéti à l'injection de serum; il a été conservé pour le contrôle. Les cobayes ont été tenus sous observation pendant trente jours. Les résultats obtenus de cette expérience figurent dans le tableau 2.

Il s'avère de l'examen de ce tableau que les cobayes de contrôle qui n'ont pas été soumis à l'expérience sont morts de la rage dans l'espace de 8 à 12 jours, tandis que les cobayes auxquels l'on a injecté du serum ont pu survivre.

Cette expérience nous donne une idée de l'importance que revêt l'injection locale, importance qui ne saurait être minimisée. La deuxième expérience, de plus grande portée, a pu confirmer notre opinion à ce sujet.

**Expérience No. : 2** — Dans cette expérience nous avons cherchés connaître, d'une manière comparative, le rôle joué par le temps aussi bien que par le mode d'application du serum.

Les cobayes n'ont pas été inoculés de 10DL50 comme dans la première expérience, mais de 100DL50 de virus. Ainsi qu'il ressort du tableau ci-après, l'on a injecté du serum aux cobayes 6, 24, 48, 72, 96, 120 heures après l'inoculation du virus. L'application du serum a eu lieu selon les trois manières suivantes :

1 — 2 cc. de serum inoculés au voisinage de l'injection du virus par voie sous-cutanée et sous forme d'infiltration.

2 — 2 cc. de serum injectés dans une région éloignée du point d'inoculation par voie sous-cutanée.

3 — 1 cc. de serum injecté auprès du point d'inoculation du virus, sous forme d'infiltration; puis, 1 cc. de serum inoculé dans une région éloignée de ce point.

Les cobayes ont été soumis pendant 30 jours à l'observation. Les résultats de l'expérience figurent dans le tableau 3.

Il s'avère du tableau ci-dessus que parmi les cobayes qui ont été soumis à l'injection de serum 6 heures après l'inoculation de virus.



3 sont morts et 2 ont survécu (groupe de 5 cobayes soumis à l'injection locale).

3 sont morts et 2 ont survécu également (groupe de 5 cobayes soumis à l'injection dans une région différente).

2 sont morts et 3 ont survécu (groupe de 5 cobayes dont l'injection de serum a été partiquée en partie localement et en partie dans une région différente). Les cobayes sont morts dans un espace detemps variant entre 10 et 14 jours.

Les cobayes qui sont morts après avoir été soumis au même procédé d'injection de serum dans un espace de temps variant entre 24, 48, 96, et 120 heures et le nombre de jours qu'ils ont mis à mourir figurent dans le tableau ci-haut dans leurs cas respectives. L'on s'aperçoit que le serum injecté 48 heures après l'inoculation du virus donne de bons résultats tandis que ce serum est inefficace quand il est injecté après ce laps de temps.

Cette expérience met en évidence le fait que le meilleur résultat est obtenu de l'injection pratiquée en premier lieu localement puis dans une région différente.

**Conclusion :** Le serum antirabique joue un rôle important dans la prophylaxie de la rage. Cependant, il est nécessaire de prendre en considération les points suivants si l'on veut tirer le meilleur avantage de ce serum.

1 — Les cas qui seront soumis au serum antirabique doivent être choisis avec soin. Si le serum est pratiqué à tous les cas de morsure sans distinction, le nombre de personnes sensibles à son action sera plus élevé et par conséquent les cas de probabilité de choc anaphylactique s'accroîtront. En raison de ce fait le serum ne doit être appliqué qu'aux cas de morsures graves dont la période d'incubation est probablement inférieure à 30 jours.

2 — L'application du serum doit se faire en dû temps. Les meilleurs résultats sont obtenus des serums injectés dans les 24 heures qui suivent la morsure. Après ce laps de temps l'action du serum est plus faible et le serum s'avère inefficace quand il est appliqué 72 heures plus tard.

3 — Le dose de serum doit également être suffisante. Notre institut assure la production de serum d'âne à titrage élevé et la quantité de 0,5 cc. de serum par kilogramme est jugée satisfaisante.

4 — D'après les résultats obtenus des expériences sus-mentionnées, il s'avère nécessaire de pratiquer le serum antirabique d'abord localement puis dans une région différente en procédant, 24 heures plus tard, à l'inoculation du vaccin.

# SEMPLE KUDUZ AŞISININ ANTİJENİK KUDRETİNİ MUHAFAZA MÜDDETİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMA [\*]

Dr. Nafi TÜRKAY

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Kuduz Servis Şefi

Kuduz aşısının antijenik aktivitesi, yani enjekte edildiği organizma humöründe husule getirdiği nötralizan antikorlar ile, proteksiyon kudret arasında sıkı bir münasebet bulunduğuna düşünülmektedir.

Antijenik aktivitenin azalmasında, hararet, ışık gibi fizik etimler yanında zaman faktörünün de rolü bulunduğu malûmdur.

Kuduz aşılarının titrajında, proteksiyon esasına dayanan Habel metodu, uygun bir metod olmakla beraber çok sayıda fareye ihtiyaç göstermesi ve tecrübeye kullanacak farelerin aynı cinsten (yani hepsinin erkek veya dişi) ve aynı ağırlıkta bulunması gibi şartlar her zaman için yapılmasını güçleştiren sebepleri teşkil eder. Bu düşüncenin ışığı altında hareket edilerek muhtelif tarihlerde hazırlanmış ve değişik şartlarda saklanmış Semple kuduz aşılarının tavşanlara deri altı yolile şırınga edilmekle husule getirdikleri nötralizan antikorları araştırdık. Bu suretle aşılardan antijenik aktivitelerini tesbit etmekle, immünizan kudretleri hakkında bir fikir edinmeye çalıştık. Bu hususta yapılan tecrübelerle alınan neticeler aşağıda arz edilmiştir.

Teknik ve materyal : Tecrübeye tabi tutulan aşılardan dimağiči sabit virus inkübasyonundan sonra altı günlük bir enkubasyon devrini müteakip kuduzun parolitik formunda tipik arazını gösteren ve ağoni halinde iken kesilerek kam hoşaltılmak suretile öldürülen koyun dimağlarının % 0,5 fenolü ihtiva eden serum fizyolojik içinde % 5 emülsiyon yapılarak hazırlanmıştır.

Bu şekilde hazırlanan aşı 4,6,7,8,9 ve 13 ay müddetle buzlukta ve laboratuvar derecesinde beklenmişlerdir. 4 ve 6 ay beklenmiş olanlar + 4 c. derecelik buzlukta muhafaza edilmişler, diğerleri ise altı ay buzlukta saklandıktan sonra kullatılma müddetlerini doldürdükleri için, kuduz aşısı istasyonlarında iade edilmiş ve mütebaki müddetlerini laboratuvar derecesinde geçirmişlerdir.

Tecrübeye kullanılan virus fiksi'nin orijini Pasteur. ün virus fiksi olup, enstitümüzde tavşandan tavşana pasaj yapılmak suretile hayatı idame ettirilmiştir. tecrübelerde 1047. ci pasaj kullanılmıştır.

[\*] Bu yazı, Mikteber arası mikrobiyoloji cemiyetleri Avrupa Selesyonu tarafından İstanbul'da tertip edilen Sempozyum'da, 19/12/1957 tarihinde, okunmuş ve kabul edilmiştir.

Teccrübe : 4, 6, 7, 8, 9, 13 ay bekleme aşılardan her biri için 2- 2.5 kilogram ağırlığında iki tavşan tahsis edilmiş ve her aşıdan bu tavşanlara 14 gün müddetle günde 0.5 cc. deri altı yolla şırınga edilmiştir. Son enjeksiyondan bir hafta sonra tavşanlardan kan alınarak serumları ayrılmış ve sabit virüsten tavşanlarda entraserebral yolla DL 50 si tayin edilerek her tavşana ait serumun 1/10 ve 1/20 dilüsyonlarından 0.5 cc. miktarı, uygun hacimde 50 DL 50 sabit virüs emülsiyonile karıştırıldıktan sonra bir saat 37 c. derecelik etüvde temusa terk edilmiş ve ikişer tavşana 0.2 cc. di- mağ içi olarak şırınga edilmiştir. Tavşanlar iki ay müşahade altında tutulmuştur. Ne- tice aşağıdaki cetvelde görülmektedir.

Aşıların bekleme müddetleri L'age du vaccins	Aşı zerk edilmiş tavşan No. ları Le nombre de lapins inoculé	Aşı zerkine tabi tavşanlardan 21. günü alınan kan serumlarının Les serums de lapin, 21 jours après l'inoculation de vaccin		
		Dilüsyon nispetleri Le taux de dilutions du serum	Serum+Virus zerk edilen tavşan sayısı Nombre de lapins inoculé avec Serum + Virus	Netice R e s u l t a t s
4 Ay Mois	34	1/10	2	Yaşadı - Survie
		1/20	2	" "
	36	1/10	2	" "
		1/20	2	" "
6 Ay Mois	26	1/10	2	" "
		1/20	2	" "
	93	1/10	2	" "
		1/20	2	Biri başka sebepten öldü 1 mort par autre cause
7 Ay Mois	82	1/10	2	Yaşadı - Survie
		1/20	2	" "
	30	1/10	2	Biri başka sebepten öldü 1 mort par autre cause
		1/20	2	Yaşadı - Survie
8 Ay Mois	19	1/10	2	" "
		1/20	2	" "
	23	1/10	2	" "
		1/20	2	" "
9 Ay Mois	18	1/10	2	Biri kuduzdan öldü 1 mort par rage
		1/20	2	İkisi kuduzdan öldü 2 mort par rage
	28	1/10	2	" "
		1/20	2	Biri kuduzdan öldü 1 mort par rage
13 Ay Mois	16	1/10	2	İkisi kuduzdan öldü 2 mort par rage
		1/20	2	" "
	21	1/10	2	Biri kuduzdan öldü 1 mort par rage
		1/20	2	İkisi kuduzdan öldü 2 mort par rage
Kontrol Controle		0,2 cc. virus	4	Dördü de kuduzdan öldü 4 mort par rage

Cetvelin tetkikinde, 6 ay buzlukta, iki ay da laboratuvarında beklemiş olan 8 aylık aşının, şırınga edildiği tavşan serumunda kâfi miktarda nötralizent antikorların teşekkül etmiş olduğu ve dolayısıyla aşının antijenik aktiviteye malik bulunduğu; 9 ve 13 aylık aşların şırınga edildikleri tavşan serumlarında ise, antikorun pek az veya hiç bulunmadığı ve bu aşların antijenik aktiviteden mahrum oldukları kanaati belirmektedir.

Ancak, serumda mevcut antikorlarla, kazanılmış immünite arasında sıkı bir münasebet mevcut olmakla beraber, bu hususta yapılanakta olan tecrübelerin neticesi ayrıca arz edilecektir.

Notice — Semple kuduz aşısında dayanma müddeti buzlukta + 10 c. derecenin altında 6 ay olarak kabul edilmiştir.

Aşı ne kadar taze olursa immünizan kudretinin o kadar yüksek olacağı tabiidir.

6 ay beklemeden sonra aşıda antijenik kudretini azatdığı ve nihayet 8 ay sonra da hemen hemen tamamen gaip olduğu anlaşılmaktadır.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 — Battazard — *Cronicle of the Who*, Vol. 9, No. 11, 1955
- 2 — Berke Zühdi ve Türkay Nafl — *Türk İjiyen ve tecrübeler biyoloji dergisi*, Tome XV, Nu 3, P. 307
- 3 — Requinon R. et Violat C. — *Annales de l'Institut Pasteur*, No. 3, 1953 P. 529
- 4 — Brygoo E. H. et Dodin A. — *Annales de l'Inst. Pasteur*, Tome 92, No. 2, 1957
- 5 — Cruveilhier et Violat C. — *Anna. de l'Inst. Pasteur*, T. 59, 1937, P. 207
- 6 — Habel K. — *Public Health Rapp.* Vol. 6, No. 20, 1945
- 7 — Irving H. Borts M. D. — *Iowa public Health Bull.*, Vol. LV, No. 3, 1941
- 8 — Kirsch P. et Bornie M. — *Bull. de ser. Patbo. exot.*, Tom., 49, No. 1, 1956
- 9 — Meyer K. F. — *Bull. Org. Mond. Santé*, 1954, 10
- 10 — Palavan Haydar — *Kuduz*, 1950
- 11 — Paul J. et Rampon R. — *Arch. de L'Instp Pasteur d'Algerie*, T. XXXVI, No 2, 1958
- 12 — Remlinger P. — *Revue d'Immunit.*, Tome XVI, No. 5—6,
- 13 — Tunçman Z. M. — *Ağır kuduz ısırıklarında kuduz serumunun koruyucu değeri ve mikayesell sonuçlar*, 1956
- 14 — Toucheva, P. M. — *Bull. de l'Inst. Pasteur Tome 54, No. 4*
- 15 — Scheindler R. — *Z. HYG. Infekt. Kr.*, T. 142, 1956
- 16 — Unat E. Kadri — *Kuduz bilgisinde yenilikler 1949*
- 17 — *Laboratory technic in rabies*, 1954

# RECHERCHE SUR LA DUREE DE CONSERVATION DU POUVOIR ANTIGENIQUE DE VACCIN ANTIRABIQUE PREPARE PAR LA METHODE DE SEMPLE [\*]

Dr. Nafi TÜRKAY

Chef de Service Antirabique de l'Institut Centrale d'Hygiene

"Refik Saydam" Ankara

On pense qu'il y a une étroite relation entre l'activité antigénique, et puissance protectrice du vaccin antirabique.

L'activité antigénique du vaccin est atténuée sous l'influence des agents physiques (lumière, chaleur, rayon ultraviolet). En plus parmi ces agents il faut tenir compte du facteur de temps agit sur l'activité du vaccin antigénique et le vieillissement du vaccin.

Les titrages des vaccins antirabique effectuées par la méthode antigénique de Habel, exigent des souris du même sexe et du même poids et dans un nombre très élevé; ce qui constitue l'inconvénient de la méthode. Car on ne peut pas réunir toujours les mêmes conditions qu'exige l'expérience.

Dans nos expériences nous avons pris des vaccins de divers lots qui étaient conservés dans des conditions différentes. Les anticorps neutralisants ont été cherchés dans les serums des lapins inoculés avec ces vaccins. Ces vaccins ont été gardés pendant 4 à 6 mois à la glacière à + 4 degré, passé ce délai ils ont été laissés à la température du laboratoire.

Tous ces vaccins qui avaient été gardés pendant 4, 6, 7, 8, 9 et 13 mois dans des conditions différentes, ont été inoculés aux lapins (2 lapins pour un vaccin à des doses de 0,5 cc. par voie sous-cutannée pendant 14 jours). Une semaine après la dernière injection, les serum des lapins ont été titrés. Pour le titrage nous avons employé les dilutions de 1/10, 1/20 qui ont été mélangés à des taux égaux avec 50DL50 du virus et puis incubé pendant une heure à 37 degré. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau du texte turc.

## Résultats :

De l'étude du tableau il ressort que les vaccins qui ont été gardés pendant 6 à 8 mois, n'ont pas perdu leurs activités antigéniques et sont capables de produire des anticorps neutralisants. Tandis que les vaccins âgés de 9 à 13 mois ont des activités antigéniques très basses ou nulles et sont incapables de produire des anticorps neutralisants.

[\*] Ce Communiqué a été délivré au Symposium organisé par la section Européenne de l'Association Internationale de Microbiologie réunie à Istanbul le 19/9/1957.

# MEMLEKETİMİZİN BAZI BÖLGELERİNDE BRUCELLERGEN VE AGLÜTİNASYON TESTLERİ İLE BRUCELOS ARAŞTIRMASI VE BU TESTLERİN EPİDEMİYOLOJİK DEĞERİ HAKKINDA BİR ÇALIŞMA

Dr. Daver ÖZLÜARDA

Befik Saydam Merkez Hıfzassıhha Enstitüsü

Hipokrat'ın brucellosu Taşoz adasında tarif ettiğini nazarı itibara alırsak, brucellosun beşiği sayılan Akdeniz memleketleri arasında Türkiye'nin çok eski zamanlardan beri bu enfeksiyonla karşılaşmakta olduğunu anlarız. Mühtelif müellifler tarafından yapılan araştırmalar bu enfeksiyonun memleketimizde yaygın olarak bulunduğunu göstermiştir. Biz de Türkiye'nin bazı bölgeleri hakkında brucellergen deri testi ve aglütinasyon yolu ile bir araştırma yaptık. Mahdut bir bölgeye inhisar etmekle beraber, memleketimizde bulunduğu brucellos durumu ve bu testlerin bizdeki epidemiyolojik değeri hakkında bir fikir vereceğini ümit ediyoruz.

Çalışmalarımızı izaha başlamadan evvel, brucellosda klinik ve diagnostik kriteriyumları tetkik edelim (9) :

**KLİNİK KRİTERİYUMLAR :** «Brucellosis» ile, insan veya hayvanların brucella'nm, meliteusis abortus veya -nis tipinden biri ile enfeksiyonu anlaşılır. İnsanda klinik tezahürat, enfeksiyonu yapan brucella tipine göre değişmekle beraber bu farklar her zaman bariz değildir. Vak'aların çoğunda enfeksiyon alınması ile klinik tezahüratın hisslü arasındaki fasıla dört haftayı geçmez, fakat, bazen bu klinik tezahürat enfeksiyondan bir çok aylar sonraya kadar gecikebilir. Hastalık bir çok şekillerde tezahür edebilir ki aşağıdakiler en mutad olanlarıdır :

- 1 — Aşkar şifa ile neticelenen, mahdut süreli akut bir fiyevr.
- 2 — Periyodik tezahüratlarla seyreden, uzun devam eden hastalık.
- 3 — Gizli bir başlangıç, uzun süreli bir hastalık.
- 4 — Geçmişte akut bir devre tespit edilemeyen, multipl ve değişen semptomlarını müşahede edildiği bir seyir.

Brucella enfeksiyonu, hiç bir klinik tezahüre sebep olmadan vücutta kalabilir.

Nonspesifik ve müphem semptomlar gösteren hastalarda brucellos teşhisi, aşağıda verilen kriteriyumlar olmaksızın yapılamaz :

## DIAGNOSTİK KRİTERYUMLAR :

- 1 -- Bakteriyolojik,
- 2 -- Serolojik,
- 3 -- Allerjik,
- 4-- Diğer laboratuvar testleri.

1 -- Kültür : Organizmanın kültürü en büyük kriteriyumdur ki brucella enfeksiyonunun mevcudiyetini mutlak bir katıyetle tayin eder. Uygun metadlar tatbik edildiği takdirde, brucella ekseriya muhtelif kaynaklardan izole edilebilir : Billhassa kan, kemik iliği, leuf nodülleri, idrar, balgam, anne sütü, apseler, plaseuta ve vajinal akıntı. Bütün vak'alarda mükerrer kültürler yapılmalıdır.

2 — a) Aglütinasyon: Sero—aglütinasyon testi, uygun bir antijen ve elverişli bir teknikle yapıldığı takdirde, aktif enfeksiyon mevcudiyetinde, hemen daima pozitif neticeler verir. Alçak titre veya negatif reaksiyon veren vak'alarda, brucellos teşhisinden uzaklaşmadan evvel müteaddit testler yapılmalıdır. Brucelladan şüphle edilen vak'alarda aglütinasyon titresi yüksek bulunur veya mükerrer araştırmada gittikçe yükselirse enfeksiyonun mevcudiyetini kanıt getirebilir. Yüksek titrelerin enfeksiyonun mühim bir delili olması, alçak veya gösterilemeyen titreler bulunan vak'alarda enfeksiyonun varit olamayacağı manasına gelmez. Şu da kayda değer ki brucellaya karşı pozitif aglütinasyon, kolera, tularemî veya bu hastalıklara karşı aşılama da hasıl olabilir. Brucellaya karşı kolera ve tularemî ile hasıl olan antikorlar aglütinin absorpsiyon testi ile tefrik edilebilir.

Ateşli vak'alarda antibiyotiklerin serbestçe kullanıldığı yerlerde hemokültür ile pozitif teşhis pek az mümkündür. Bunun için aglütinasyon testi neticeleri daha çok inimada şayandır.

b) Kompleman fiksasyon testi : Şimdilik pratik bir değeri haiz değildir.

c) Oponositofajik (bakteriyotropik) test : Rutin teşhiste kullanılmaya elverişli değildir.

3 — İntradermal test : Tatbik edilen antijen ve teknik ne olursa olsun intradermal bir testin neticeleri ferdin spesifik allerji durumunu tayin eder. İntradermal test şüphesiz ki sadece aktif bir hastalığın mevcudiyetini göstermez. Hasıl olan cilt reaksiyonu, şahsın brucella ile temasa geldiğini bildirir. Bu şaıusların brucellos geçirmiş olmaları şart değildir. İmmapparan enfeksiyon olacağı gibi, gripal şekilde hafif geçirilen enfeksiyonlar da cilt reaksiyonu yapabilirler. Meslek icabı enfeksiyonla karşılaşılardan başka, halk için den fertler de deri veya hazım yolu ile brucellaya maruz kalabilirler. Gıdada bulunan ölü organizmalar da canlı olanlar kadar allerjik reaksiyonlar hasıl ederler. İntradermal testi en büyük değeri, epidemiyolojik gayelerle kullanılmışındadır.

4 — Diğ er laboratuvar testleri : Ateşli bir hastada, nisbi bir lenfositoz olsun ve ya olmasın, normal bir lökosit sayısı veya lökopeni bulunduğ u takdirde brucellosu hatırlamalı ve diğ er diagnostik testler yapılmalıdır. Enfeksiyonun daha tatminkâr kriteriyumlara ihtiyaç göstermesi karş ısında ş u laboratuvar testleri yapılabilir : Cas-taneda testi, aglütininin bloke antikorlar, bakterisidiuler.

Brucellosisi aglütinasyon, allerjik ve opsonositofajik testlerle teş hisinde ş u cet-velden istifa edilebilir (8) :

Aglütinasyon testi	Allerjik test	Opsonositofajik test	Brucellaya karşı durum
—	—	Hücrelerin % 0-20 si (hafif)	Hassas
—	+	Hücrelerin % 0-40 ı (aş ikâr)	Enfekte ?
+	+	Hücrelerin % 0-40 ı (aş ikâr)	Enfekte
—	+	Hücrelerin % 60-100 ü (aş ikâr)	Muaf
+	+	Hücrelerin % 60-100 ü (aş ikâr)	Muaf

## MATERYEL VE METODLAR

Aglütinasyon : Kullandığınız emülsiyon, (Ş T) Stablefortlı 99 numaralı abortus suş udur. Steril tavş an serumundaki süspansiyonu dondurulmuş ve kurutulmuş olduğ u halde ampüllerde bulunur. Bu suş , kâzip aglütinasyonlar vermediğ i gibi termik ve ş imik nüessirler altında kendiliğ inden aglütine olmayan (smooth) tipinde bir suş tur. Kuru mikrobu havi ampüle bir kaç damla buyyon ilâvesi ile elde edilen süspansiyon-dan serumlu ve glikozlu yatık jeloz veya Roux buvatlarına ekilir. 37° C derecede 72 saat bırakılır. Elde edilen kültür % 08.5 tuzlu su ile sulandırılır. Bundan serumlu ve glikozlu Roux buvatlarına ikiş er cc. konarak satlına yayılır. 37° C derecede 72 saat jelozun sathı aş ağı gelmek üzere bırakılır. Bu müddetin sonunda kültür tuzlu su ile je-lozun sathından toplanır. 60° C de 1 saat bırakılarak öldürülür, sterilite kontrolü yapı-lır, tuzlu su ile 3 defa yıkanır. Dipteki tortu az miktar % 0.5 fenollü tuzlu su ile sulan-dırılır. Bu suretle kesif ana mahlül elde edilmiş olur. Aglütinasyonda kullanılmak için bu, bir evvel hazırlanmış olan emülsiyonla mukayese edilmek üzere titre edilir. Brown IV kesafetine ayarlanır (Brown'ın IV. tüpü. cc. sind e 6.500.000.000 brucella'yı iltiva eden bir süspansiyona veya % 1 BaCl den 0.4 cc. ve % 1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ten 9.6 cc. karış ma-sından hasıl olan kesafete tekabül eder.) Ana mahlül ş iş esinin üzerine, 10 cc. fenollü tuzlu suya, Brown IV kesafetini elde etmek için ne kadar ana mahlül konacağı yazılır. Hazırlanan bu emülsiyonla, elde mevcut titresi malum nüspet ve menfi serumlarla ag-lütinasyon ve aynı zamanda «Paupana» ve «Kaynatma» tecrübesi yapılır. Neticeler



kaydolunur. (Paupana tecrübesi : 1/500 Trypaflavin mahlülünden 0.5 cc. ye 0.5 cc. emülsiyon ilâve edilir. Aglütinasyon olmaması lâzımdır. R suşları aglütinasyon verir. Kaynatma tecrübesi : 1 cc. emülsiyon alınarak 2 saat benmaride kaynatılır. Aglütinasyon olmaması lâzımdır.) Yeni emülsiyon, aynen, bir evvel hazırlanan emülsiyonlar şeklinde işlemelidir.

Aglütinasyonda kullanılan tüpler 10 mm. kütüründe ve 12 cm. irtifaındadır. Pipetler laboratuvarlarda serolojik araştırmalarda kullanılan normal serolojik pipetlerdir.

Metod : Aglütinasyondaki sulandırılmış serum miktarı ile bakteri emülsiyonunun mecmu hacmi 1 cc. dir. Yani 0.5 cc. sulandırılmış seruma 0.5 cc. bakteri emülsiyonu konur ki mikrop emülsiyonunun kesafeti Brown II ye düşer. (Brown II, 0.3 cc. % 1 BaCl<sub>2</sub> mahlülü ile 9.7 cc. % 1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mahlülünün karışması ile hasıl olan BaSO<sub>4</sub> kesafetine tekabiil eder.) Serum dilüsyonlarına 1/10 dan başladık ve her defasında bir misli arttırmak sureti ile yükselttik. Dilüsyonları % 08.5 tuzlu su ile yaptık 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 ..... 1/640 dilüsyonlarına ilâveten, bakteri emülsiyonlarının aglütinabilitesinin sabit kaldığını kontrol maksadı ile, her çalışmada, malum bir brucella aglütinan serumu ile aglütinasyon yaptığımız gibi, emülsiyonun kendiliğinden aglütinabl olmadığını tespit için ve aynı zamanda menfi teamül miyarı olarak, beher seriyeye, yarı yarıya tuzlu su ile sulandırılmış bakteri emülsiyonunu havi bir tüp ilâve ettik. Aglütinasyonun derecelendirilmesinde mukayese ayarı olarak, 0.5 cc. emülsiyon ve 1.5 cc. tuzlu su iltiva eden ve % 50 (+ +) aglütinasyona tekabiil eden bir tüp kullandık. Bu suretle hazırlamış olan aglütinasyon serileri bir gece (20 saat) 37° C derecelik etüvide, 2 saat oda hararetinde bırakıldıktan sonra okunur.

Neticenin okunması : Aglütinasyonda, mikropların tamamıyla aglütine olmaları neticesini üstteki mayi berrak olunca (+ + + +) müspet diyoruz. (±) reaksiyonları menfi olarak kaydediyoruz.

Teşhis kriterimiz : 1/60 (+ +) ve daha yukarı titrelerde aglütinasyon veren serumları müspet kabul ediyoruz. 1/80 şüphelidir. Bu ve bundan aşağı titreler ancak mükerrer aglütinasyonlarda gittikçe yükselirlerse kıymet kazanırlar.

Brucellergen : Bizim araştırmalarımızda kullandığımız ve Refik Saydam Enstitüsünde Huddleson'un tekniğine nınlarak hazırlanan brucellergen şu suretle istihsal edilmiştir :

Br. melitensis, Br. abortus ve Br. suis'in S kaloni yapan suşları karaciğerli jelozda 37° C de 72 saat üretilir ve tuzlu su ile yıkanarak yapılan kesif süspansiyon 60° C de 1 saat ısıtılarak öldürülür. Sterilite kontrolü yapılır, tuzlu su ile santrifüje edilerek yıkanır, eterle nnamele sureti ile ekstrakte edilir, tortu vakumda kurutulur, havanda ve sonra 3 gün honcuklu bir şişede çalkalanarak ezilir. Elde edilen kuru mikroba murrayen miktarda tuzlu su ilâve edilerek çalkalanır. Bundan sonra 3 gün huzlukta bırakılarak yine sık sık çalkalanır. Santrifüje edilir, tortu atılır, mayi kısım Seitz'den sü-

zülür. Elde edilen esmer sarımtırak mayi içinde bulunan protein nükleat mütceaddit defalar asetik asitle tersip ve NaOH ile nötralize edilerek eritilir ve solüsyona fenol ilâve edilerek steril Seitz'den süzülür. Soğuk bir odada muhafaza edilir. 100 gr. kuru hücreden 13---15 gr. protein nükleat hasil olur.

Brucellergen'in standardizasyonu : Stok solüsyonun sulandırılması ile elde edilen brucellergen'in allerjik kudreti, evvelce brucellaya hassas kılınmış beyaz koboylara, bir tarafa tuzlu su, diğer tarafa muhtelif dilüsyonlardan enjekte etmek sureti ile tayin edilir. İnsanda teşhis gayesi ile kullanılan brucellergen dilüsyonu, sensitilize kobayda 5 mm. çapında bir deri reaksiyonu hasil eden ilk dilüsyondur.

Hazırlanan brucellergen aynı zamanda brucellose vak'alarında da kontrol edilir. Brucellergen'in diagnostik konsantrasyonunun tayininden sonra, ensolübl hale getirilen stok solüsyon, % 0.5 fenol ihtiva eden steril fizyolojik tuzlu su ile istenen dilüsyona getirilir, küçük şişelere konur, sterilite testi yapılarak soğuk bir odada saklanır.

Testin tekniği : Brucellergen kullanılmadığı zaman buzlukta tutulur. Likit alınmadan evvel şişe iyice çalkalanır. Kalan kısmın sterilitesinin idamesi için likit şişeden dikkatle, aseptik şartlarda alınır. Enjektör ve iğne kaynatılmak sureti ile sterilize edilir. Ön kolun dış yüzü eterle temizlendikten sonra şişenin lastik ağzı da antiseptikle silinir. Şırıngaya bir miktar hava çekilerek şişe içine sevkedilir ve yerine antijen çekilir. İğne değiştirilerek intrakütan zerklere mahsus kısa ve ince bir iğne ile deri içine girilir, 0.2 cc. zerkedilir. Tüberkulin şırıngası kullanılması tercih edilmelidir. Olmadığı takdirde 1 cc. lik şırıngalar da bu işi görür.

Testin okunması : Reaksiyon, enjeksiyondan 48—72 saat sonra okunur. 10 mm. ve daha fazla çapta reaksiyonlar müspet sayılır. Lokal reaksiyon, eritem, ödem ve endurasyonla karakterizedir. Bu 1 hafta devam edebilir. Reaksiyon noktasında dokunun nekrozu ve kabuklanması nadirdir. Enfekte olanlarda, lokal reaksiyonla beraber mevcut semptomlar daha bariz bir hal alabilirler ve sistemik reaksiyonlar görülebilir. Brucella ile sensitilize olmayanlar lokal ve sistemik reaksiyon göstermezler. Ekseriya bazı normal insanlarda ilk 24 saat müddetince enjeksiyon noktası etrafında ödem olmaksızın, takriben 1—2 cm. çapında bir eritem görülür. Bu nonspesifik reaksiyonun görülmüşüdür.

Brucellergen'in muhafazası : Soğukta ve karanlıkta saklanır. Sulandırılmış antijenin saklanması müddeti 6 aydır. (6)

## VAK'ALARIN TAKDİMİ

Araştırmalarımızı Ankara, Bursa, Konya ve Zonguldak vilâyet ve bilhassa köylerinde yaptık. Cem'an 1500 kişiye brucellergen deri testi tatbik edildi. Fertlerin büyük bir kısmını köylüler teşkil ediyordu. Bu bakımdan, test yapılan fertlerin hemen hepsi sığır ve koyunlarla teinasa maruzdu. 3-18 kişi, 10 mm. veya daha fazla çapta,

eritem, ödem ve eudurasyoula karakterize bir reaksiyon gösterdiler. Reaksiyon yüzdesi 22,3 tür.

*Tablo I. Dört vilâyetimizde yapılan brucellergen testlerinin müspet reaksiyon nispetleri*

Vilâyet	Test yapılanlar	Reaksiyon verenler	Reaksiyon yüzdesi
Ankara	751	203	27
Bursa	253	75	29,6
Konya	200	34	12,1
Zonguldak	276	36	13
Yekûn	1560	348	22,3

Brucellergen deri testine müspet reaksiyon veren şahısların 117'si (% 42) kadın, 201'i (% 58) erkekti.

*Tablo II. Müspet reaksiyonların cinsine göre dağılışı.*

Vilâyet	Müspet Reaksiyonlar	KADIN		ERKEK	
		Adet	%	Adet	%
Ankara	203	90	41,3	113	55,7
Bursa	75	38	50,6	37	49,4
Konya	34	4	11,8	30	88,2
Zonguldak	36	15	41,7	21	58,3
Yekûn	348	147	42	201	58



Aynı zamanda tüberkülin testi de tatbik edilmiş olan 693 ferdin. tüberküline karşı 228 i 10 mm. den fazla reaksiyon gösterdiği halde, brucellergene karşı yalnız 63 kişide çapı 10 mm. den fazla olan reaksiyonlar hasıl oldu.

*Tablo II. Tüberkülin ve brucellergen testlerine verilen cevaplar arasındaki münasebet.*

	Tüberkülide	Brucellergende
Çapı 10 mm.den fazla olan reaksiyon adedi	228	63
Çapı 10 mm. ve daha az olan reaksiyon adedi	119	284

Ankara ve Konya havalisinde yapılan brucellergen testlerine müspet reaksiyon veren 237 kişiden, testin okunduğu gün kan alınarak sero — aglütinasyon yapıldı. 23 ferdin serumu müspet aglütinasyon verdi (% 9.7).

*Tablo V. Brucellergene reaksiyon veren şahıslarda yapılan aglütinasyon testleri neticeleri.*

Vilâyet	Brucellergen testine reaksiyon verenler	Aglütinasyon müspet olanlar	Müşbet aglütinasyon yüzdesi
Ankara	203	20	9.8
Konya	34	3	8.8
Yekûn	237	23	9.7

Bunlardan başka klinikman brucellos teşhisi konularak laboratuvarımıza müracaat eden 48 kişinin 24 ünde (% 50) brucellergen testi ve 18 inde (% 37.5) aglütinasyon testi müspet bulundu.

*Tablo VI. Brucellos şüphesi ile laboratuvarımıza müracaat eden şahıslarda brucellergen ve aglütinasyon testleri neticeleri.*

Test yapılan hasta adedi	Deri testi müspet olanlar		Aglütinasyonu müspet olanlar	
	Adet	%	Adet	%
48	24	50	18	37.5

Brucellergene karşı müspet reaksiyon veren 237 kişinin reaksiyon çapları ve aglütinasyon titreleri mukayese edildi. Aşağıdaki cetvelden de görüleceği üzere aglütinasyon titreleri ile reaksiyon çapları paralel bir münasebet göstermemektedirler.

Tablo VII. Brucellergene müspet cevap veren fertlerde intradermal reaksiyon çapları ve serum aglütinasyonu dereceleri arasındaki münasebet.

Reaksiyon çapı mm.	Fert sayısı	Aglütinasyon titreleri											
		1/20		1/40		1/80		1/160		1/320		1/640	
		Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
10-20	52	9	17.3	9	17.3	5	9.6	4	7.7	2	3.8	1	1.9
20-30	124	17	13.7	21	16.9	17	13.7	7	5.6	3	2.4	2	1.6
30 mm.den fazla	61	16	26.2	15	24.5	6	9.8	2	3.3	1	1.6	1	1.6
Yekûn	237	42	17.7	45	19.2	28	11.8	13	5.4	6	2.5	4	1.7

### MÜNAKAŞA

1560 fert üzerinde yaptığımız brucellergen testleri neticesinde, ortalama olarak 100 kişide 22 sını brucella ile herhangi bir şekilde temas etmiş ve brucellaya karşı allerji kazanmış olduğum görüldü. Konya ve Zonguldak vilâyetlerinde bulunan reaksiyon yüzdesinin, Ankara ve Bursada bulunanlara nazaran yarı yarıya daha az olması üzerine, evvelce yapılan araştırmaların neticelerini tetkik ettik. 1948 senesine ait Sağlık Vekâletinin istatistiklerine nazaran Ankara ve Bursa vilâyetlerinde hem insan ve hem hayvan brusellozu tespit edilmiş olduğu halde, Konyada yalnız hayvan ve Zonguldakta yalnız insan brucellozu görülmüş ve ihbar edilmiştir. Zonguldak havzasında hayvancılıktan ziyade endüstri ile meşgul olunması bu neticeyi izah edebilir. Konyada alınan düşük allerji yüzdesi mevzu bahis istatistik için düşünülebileceği şekilde, vak'aların hastaneye müracaat etmemesi veya teşhis ve ihbar edilmesine atfedilemez.

Müspet reaksiyonların % 58 i erkeklerde, % 42 si kadınlarda tespit edildi. Köylerimizde kadınların da erkekler kadar sığır ve koyunlarla meşgul olduğunu nazarı itibara alırsak bu nispetlerin yakınlığını izah etmiş oluruz (Tablo II.). Mühtelif yaşlardaki müspet deri reaksiyonların tetkik ettiğimiz zaman % 50.6 sının 20--40 yaşları arasına düştüğünü gördük. Brucella ile temas ve allerji husulünün bu yaşlarda en yüksek nispete vardığı anlaşılıyor.

Müşahade edilen positif reaksiyonların, nonspesifik ve herhangi bir allerjene karşı gösterilebilen bir reaksiyon olmağını şu mukayeseden anhyahilimiz (Tablo IV) : Aynı zamanda brucellergen ve tüberkülin zerki yapılan 693 fertin 228 inde tüberkülin ve 63 ünde brucellergene karşı çapı 10 mm. den fazla reaksiyonlar müşahade edildi. 63 ve 228 rakamları arasındaki mütelariz fark, positif reaksiyonlar arasında bir münasebet olmadığını gösteriyor.

Brucellergene müspet cevap veren 237 kişiyi kan serumlarında yaptığımız ag-

aglütinasyon testleri neticesinde. Bu şahısların % 9,7 sinde 1/160 veya daha yukarı titrelerde aglütinünler tespit ettik. Geri kalan % 90,3 ünde ise deri testleri müspet olduğu halde bu seviyelerde titrelere tesadüf etmedik. Demek ki araştırmalarımızı yalnız aglütinasyonla yapmış olsaydık % 90,3 kişi epidemiyolojik tetkikimizin dışında kalacaktı. Klinikman brucellosisli şüpheli edilmiş şahıslarda (Tablo VI) müspet deri testi nispetini % 50 bulduk ki bu da bize brucellergenin epidemiyolojik kıymetinin aglütinasyondan daha fazla olduğunu bir kere daha gösterdi. Çünkü aynı şahıslarda müspet aglütinasyonu nispeti % 37,5 idi.

Kan serumlarında aglütinasyonu testi yaptığımız şahısların deri testi menfi olanların bazılarında 133 kişi 1/30 ve daha alçak titreler tespit ettik. Bu sebeple brucellergene müspet cevap veren fertlerde yaptığımız aglütinasyonlarda 1/160 hududunu haklı olarak kabul ettiğimizi zamediyoruz.

Muhtelif çaplarda deri reaksiyonları veren şahısların aglütinin titrelerini mukayese ettik ve intradermal reaksiyon ölçüleri ile spesifik aglütinünlerin mevcudiyetinin birbiri ile alakalı olmadığını gördük (Tablo VII). Aynı zamanda, müspet deri reaksiyonlarının büyük kısmının 20—30 mm. çaplarında olduğunu tespit ettik.

## NETİCE

### *Araştırmalarımızın neticesinde :*

1 — Halkımızın beşte birden fazla nispette brucellaya maruz kaldığını ve bu nispetin büyük kısmının 20—40 yaşlar arasına tesadüf ettiğini.

2 — Epidemiyolojik olarak brucellos araştırmasında, brucella ile temas nispetinin brucellergen ile daha hassas olarak tespit edilebileceğini ve brucellergenin spesifik olduğunu,

3 — Memleketimizde müspet aglütinasyon nispetinin haşlangıç hududu olarak 1/160 m kabul edilebileceğini,

4 — Aglütinin titreleri ile intradermal reaksiyon çapları arasında bir münasebet olmadığını tespit etmiş bulunuyoruz.

## LİTERATÜR

1. Dr. Saif Bital Göben : Brucellosun memleketimizdeki durumu. Türk İ. ve Tec. Biol. Der. 9:3:32 : 1949.
2. Dr. Saif Bital Göben : Türkiye'de brucellos mücadelesine esas teşkil edecek konular üzerinde araştırmalar. Türk İ. ve Tec. Biol. Der. 8 : 3 : 20 : 1948.
3. Dr. Saif Bital Göben : Memleketimizde insan ve evli hayvanlarda Brucella bakterisinden serolojik araştırma. Türk İ. ve Tec. Biol. Der. 3 : 105 : 1942.
4. Dr. Saif Bital Göben : Brucellos testisinde aglütinasyon reaksiyonunun standartlaştırılması hakkında. Türk İ. ve Tec. Biol. Der. 19 : 2 : 198 : 1950.

5. Aytar-Serimdir, Refik Saydam Merkez Hıfızatıha Enstitüsü, 1950.
6. Dr. Sahalattin Çayzın : Brucellas teslis ve tedavisi üzerine bir kaç uğüşede. Türk İj. ve Tec. Biol. Der. 7 : 1 : 85 1947.
7. Dr. Necdettin Akyaz : Normal serumlarda tife, X t9. brucella hakkında serolojik araştırmalar. Türk İj. ve Tec. Biol. Der. 7 : 2 : 53 1947.
8. I. Forest Haddleson : Brucellosis in men and animals. 1943.
9. Joint FAO/WHO Expert panel on Brucellosis. Report on the first Session.
10. Joint FAO/WHO Expert Camndtee on Brucellosis. Report of the Second Sessison. Florence 13—18 Oct. 1952.

## AN INVESTIGATION ON BRUCELLOSIS IN SOME AREA OF TURKEY USING BRUCELLERGEN AND AGGLUTINATION TESTS AND EPIDEMIOLOGICAL VALUE OF THESE TESTS

**Dr. Daver ÖZLÜARDA**

### Discussion and Summary :

At the end of brucellergen skin tests carried out on 1560 individuals, we found out that 22 % of them have contacted in some way with brucella and gained antibodies against it. After observing that the positive reactions rate obtained in Konya and Zonguldak was approximately half of that found in Ankara and Bursa, we investigated the results of studies previously carried out. Regarding to the statistics made by Ministry of Health in 1948, it had been observed and notified in Konya only animal brucellosis and in Zonguldak human brucellosis, although both of them had been found in Ankara and Bursa. This can be explained so that in Zonguldak area occupation of the residents is industrial more than of animal husbandry. Since our studies do not base on the results of statistics previously carried out but were done on both of ill and healthy persons by ourselves, the low allergic reaction's rate obtained in Konya cannot be attributed to the cases which whether have not applied to an hospital or have not been diagnosed and notified.

It was found that 58 % of positive results were given by men and 42 % by women. These results were reasonable, because in our villages the women are in contact with cows and sheeps as mush as men. (Tablo II). When we investigated positive skin reactions, we observed that 50.6 % of them belonged to the individuals aged between 20 and 40. It is seen that the contact with brucella and production of allergic is at highest rate in this age.

The positive reactions obtained were not nonspecific reactions. We could be sure of that doing this comparison (Table IV) : It was observed that 228 of 693 individuals who were subjected to brucellergen and tuberculin in the same time, showed lo-



cal reactions to tuberculin and 63 to brucellergen in a diameter of more than 20 mm. The apparent difference between these numbers (63 and 228) shows that there is no relation between these two positive reactions.

Results obtained from agglutination test carried out on the sera of 237 individuals who gave positive brucellergen skin test showed that in 9.7 % of these individuals have agglutinins at a rate of 1/60 or higher level in their sera. In 90.3 of them we did not find any agglutinin titer although they gave positive skin tests. It is obvious that if we had carried out our investigation using agglutination test only, 90.3 % of these individuals had been out of our studies. Since 50 % of patients, who were suspected from brucellosis clinically, gave positive skin tests, it seems that the epidemiological value of brucellergen skin tests more than that of agglutination test. In fact, the rate of positive agglutination tests in the sera of the same patients was 37.5 %.

In the sera of some people who gave negative skin tests, we found agglutinin titers at a rate of 1/80 or lower level. Therefore it was reasonable to accept the rate of 1/60 as the end — point in agglutination tests carried out in sera of individuals who gave positive skin tests.

We compared the agglutinin titer obtained in sera of individuals who showed skin reactions of different diameters and we observed that there was no relation between the size of local reaction and agglutinin titer (Table VII). We observed that most of the skin reactions were 20—30 mm. in diameter.

## BİR BRÜSELLA SALGINI VE TÜRKİYE'DE BRUCELLOSE

Dr. Necmettin AKYAY ve Dr. Aral GÜRSEL  
Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü — Ankara

Eskişehir çiftçiler harasında, Nisan 1957 de başlayıp 4 aydan fazla bir zaman devam eden, vakit vakit tifo, paratifo veya gripal enfeksiyon teşhisleriyle tedavi edilen, nihayet Ensfitümüze gönderilen serumların tetkiki sonucunda brucellose teşhisi konan asgari (25) vakalık bir salgını mahallinde tetkike imkân bulduk. Filiation, sirayet tarzı ve hastalığın seyri bakımlarından enteresan bulduğumuz bu salgını ve bu vesile ile son yıllarda memleketimizde brucella enfeksiyonlarının durumunu tetkik ve neşretmeyi faydalı bulduk.

Marton'un Akdeniz humması diye adlandırdığı bu hastalık ilk olarak Malta'da görülmüş ve bu hastalıktan ölen hastaların dalaklarından yapılan kültür sonucunda br. melitensis, 1887 de David Bruce tarafından izole edilmiştir. Bang tarafından br. abortus'un ve nihayet 1914 de Traum'ın br. suis'i tecrit etmesiyle bu mevzudaki çalışmalar sona ermiştir (1).

Hyppocrates zamanından beri bilinen bu hastalığın ilk esaslı tetkiki, Taylor, Lisbonne, Hazeman ve Vidal'in cenup Fransa'da 1927—1930 yıllarında giriştikleri araştırmalarla başlar.

Bu yazarlar, tesbit ettikleri 462 insan brucellose'unun 37 sinin çiğ süt içmekle, 190 nun hayvanlarla direkt temasla, geri kalanının ise sair yollarla bulaşmış olduğunu bildirmişlerdir. Keza müellifler hastalık bölgesindeki keçi, koyun ve domuzları enfekte bulmuşlardır. Bilhassa keçi ve koyun sütlerinden yapılan taze peynirleri intan menbaı olarak göstermektedirler. Çok iptidai şartlar altında yaşayan bu muntaka halkı için daha bir çok intan kaynaklarının bahis konusu olabileceğini de eklemektedirler (2).

Agius (1945) un neşrettiği bir raporda Malta'da (1934 — 1940) La Valetta şehrinde vaka sayısı 1934 de 146 iken 1940 da sifıra düşmüştür. Halbuki Malta adasının sair yerlerinde hastalık hemen de şiddetini muhafaza ederek sürüp gitmektedir.

Memleketimizde ilk brucellose vakasının tesbiti 1915 yılına tesadüf etmektedir ve Hüsamettin Kural tarafından bildirilmiştir. Blâhara münferit halde bir çok brüselloz vakaları neşir ve tebliğ edilmiştir.

Yerli ve yabancı literatürün tetkikinde toplu, aynı filiationa malik bulunan ve bir epidemî manzarası gösteren neşriyata raslamadık.

### Memleketimizde insanlarda brüsella enfeksiyonları :

Umumî Hıfzıssıhha kanununa göre ihbarı mecburi olan brucella intan-larının 9 yıllık (1948—1956) istatistiği Sıhhat ve İçtimaî Muavenet Vekâ-letinin kayıtlarından çıkarılarak aylara göre tasnif edilip 1 numaralı cetvel-de gösterilmiştir.

(Cetvel : 1)

Yıllar	A y l a r												Yekûn
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
1948	1	2	2	3	2	1	6	3	9	0	0	3	32
1949	1	0	1	4	0	4	2	5	7	2	1	4	31
1950	2	1	1	2	0	3	8	3	4	5	3	4	36
1951	0	0	1	0	3	4	2	6	1	2	1	1	21
1952	2	3	2	2	0	0	3	2	2	3	0	1	20
1953	3	0	1	3	0	5	2	0	4	0	0	0	18
1954	3	10	0	2	0	2	3	1	0	1	2	1	25
1955	2	0	1	0	0	8	0	5	3	3	1	0	22
1956	0	1	0	2	3	0	2	7	3	12	4	1	35
Yekûn	14	17	9	18	8	27	28	33	31	28	12	15	240

Yukarıdaki cetvelde de görüldüğü gibi 9 yıllık vaka sayısı 240 dır. Vasatı olarak senede (26) vaka görülüyor demektedir ki bu da nüfusa nisbet edilirse milyonda bir demektir.

S. B. Golem'in, yine resmî istatistiklere dayanarak neşrettiği 19 sene-lik brucellose yekûnu (209) dur ki, bu istatistiğe göre seneye 11 vaka isa-bet etmektedir. Bu takdirde morbidite milyonda birin de altında bulun-maktadır.

Bu rakamlar hakikati belirtmekten pek uzaktır. Golem (1943) ve Ak-yay (1947) in normal serumlarda brucella agglütinlerinin araştırılması için yaptıkları çalışmalar dikkate değer sonuçlar vermiştir. Golem, 1164 nor-mal serumun % 5.9 unda, Akyay ise 1250 normal serumun % 14.2 sinde muhtelif titrelerde müsbet brüsella agglütinasyonları tesbit etmiş bulunmak-tadırlar (3, 4).

Muhtelif memleketlerde normal serumlar üzerine yapılmış araştırmalar sonucu senelik vaka adediyle mukayeseli olarak aşağıda gösterilmiştir. Bu dikkate değer tabloya memleketimizde alınan sonuçlar da eklenmiş bulun-maktadır.

(Cetvel : 2)

Memleketler	İşlenen serum adedi	Müsbet serum adedi	Müsbet % desi	Senelik vaka A.	Milyonda nisbeti
İngiltere	3.175	101	3.18	440	11
Almanya	9.397	323	3.44	600	10
Avusturya	9.693	177	1.84	50	8
İsviçre	1.503	91	6.10	340	84
Hollanda	4.500	50	1.11	90	12
Danimarka	4.623	500	10.82	500	147
Türkiye	2.414	107	4.34	16	1

Yukarıda cetvele 1/80 ve daha fazla titrede agglütinasyon veren serumlar müsbet kabul edilerek ithal edilmiştir. Daha düşük titreler menfi kabul edilmiş bulunmaktadır.

Memleketimizde normal şahıslara ait serumların % 4.34 ünün 1/80 nin üzerinde bir agglütinin seviyesi göstermesi, brüsella antijeni ile, yani enfeksiyon etkeni ile temasımızın hayli fazla olduğunu gösterir. Bu nisbete karşı senede ancak (16) vakanın görülmesi, yurdumuzun brüsella bakımından âdeta steril olduğunu değil, bütün bulaşıcı hastalıklarda olduğu gibi, brüsella enfeksiyonlarında da teşhis vasıtalarımızın kifayetsizliğini, ihbar ve istihbar işlerinin de yolunda olmadığını göstermesi icabeder.

2 numaralı cetvelde, diğer memleketlere kıyasla bir netice çıkarmak icabederse memleketimizde senelik brüselloz vakasının 300—400 arasında bulunması icabeder.

İjyen şartlarının en mükemmel olduğu Danimarka, Hollanda, İsviçre ve İngiltere'de brüsella en sık görünen bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun sebebini Charles Nicolle'ün şu sözünde bulmak mümkündür:

"Ne kadar aranırsa o kadar bulunur".

Mesleklere göre muhtelif memleketlerde ve memleketimizde 1/40 ın üzerinde müsbet agglütinasyon verenlerin nisbeti şu şekilde bulunmuştur :

Çiftçi ve süt işleri ile meşgul olanlar :

(Cetvel : 3)

Memleketler	İşlenen serum adedi	Müsbet adedi	% de nisbeti
Almanya	220	31	14.1
Macaristan	63	10	15.9
Yeni Zelanda	104	17	16.4
Arjantin	136	16	11.8
Türkiye	1022	110	11.4

Mezbaha işçileri :

Memleketler	İşlenen serum adedi	Müsbet serum adedi	% de nisbeti
İngiltere	206	27	13.1
Macaristan	95	21	22.6
Amerika B. D.	452	62	13.7
Arjantin	1776	101	10.8
Türkiye	101	17	16.8
<b>Veterinerler :</b>			
İngiltere	63	13	20.6
Fransa	28	7	25.0
Danimarka	94	22	23.4
Amerika B. D.	710	92	12.9
Arjantin	110	29	26.4
Türkiye	8	2	25.0

Yukarıdaki cetvellerde görüldüğü gibi yabancı memleketlerle memleketimizdeki bulgular tamamen birbirine uygundur.

**Türkiye'de hayvan brüselozu :**

Malûm olduğu gibi brüseloz bir hayvan hastalığıdır. Bittabi rezervuar da hayvanlar olup, bunlarla direkt temasla ve tereyağı, süt, krema ve diğer mamullerle insanlara bulaşmaktadır.

İnsanlar için en mühim intan menbaı koyun, keçi, sığır ve domuzlardır. Bunların dışında at, katır gibi tek tırnaklı hayvanlarla, kedi, köpek ve hatta kümes hayvanları dahi brüsellada nakil olabilmektedirler.

Türkiye'de muhtelif Enstitülerin 1938—1949 yılları arasında sığırlarda yaptığı serolojik araştırmalar Golem tarafından yayınlanmıştır (1949).

Bu istatistiğe göre bu yıllar içinde muayeneye tâbi 8011 sığırdan 1448 i müsbet reaksiyon vermiş olup nisbet % 18 dir. Osman Şerafettin Çelik (1935) ineklerde bu nisbeti % 9.8 olarak tesbit etmektedir.

Mandalarda nisbet % 12.9 dur (Golem 1949) beygirlerde % 13, katırlarda % 25 ve eşeklerde ise % 10 bulunmuştur. (Golem) (5).

Koyun ve keçilerde de memleketimizde gerekli araştırmalar yapılmış, bunlarda da müsbetlik nisbetlerinin % 9.2 yi bulduğu anlaşılmıştır.

Hayvanlarda, brüsella enfeksiyonu nisbetinin yüksekliği de insanlarda bu hastalığın memleketimiz için önemini göstermeye kâfidir.

## Çifteler brüsella salgını :

Çifteler harasında, personel ve aileleri arasında, haradan yağ, taze peynir gibi maddeler satın almak suretiyle istihlâk eden eşhasta dalgalı ateş, mafsâl ağrıları, orchitis, terleme ve zayıflama gibi arazla seyreden bir hastalığın başgöstermesi, vakaların fazlalaşması dikkati çekmiş olduğundan bu hastalığın tetkiki için vazifelendirilmiş bulunuyorduk. İlk vaka Mayıs 1957 de harada vazifeli bir şahısta görülmüş, seriri araz dikkate alınarak paratifo teşhisi konmuş, agglütinasyonun da müsbet bulunması üzerine ihbar edilmiştir. Hasta, hastahane tedavî görmüş, salâh görülerek taburcu edilmiştir. Bunu takip eden birkaç vaka da grippal infection teşhisiyle tedavî edilmiştir. Bir vaka da siyatik teşhisiyle tedavî edilmiştir. Brucellose akla gelmediği için bu bakımdan serolojik araştırmalara tevessül edilmemiştir.

Vakaların fazlalaşması, symptomatik tedavilerden fayda görmemeleri bir enfeksiyon hastalığını düşündürmüş ve bu arada brüsella agglütinasyonu yapılmak üzere bir kısım hastalardan alınan serumlar Hıfzıssıhha Enstitüsüne gönderilmiştir. Enstitümüzde yapılan serolojik araştırmalar müsbet sonuç verdiği için brüselloz üzerinde durulmaya başlanmış ve gerekli tetkiklerin ve filiation araştırmalarının ikmalî için mahalline gidilmiştir.

Hastaların tesbitinden sonra hara personeli ve harayla teması olan (203) şahıstan kan alınarak agglütinasyon yapılmıştır. Bu serumlardan (47) si müsbet sonuç vermiştir ki nisbet % 23.1 dir.

Agglütinasyon titrelerine göre sonuçlar aşağıda gösterilmiştir :

(Cetvel : 4)

İşlenen serum adedi	M ü s b e t				M e n f i
	T i t r e l e r				
	1/40	1/80	1/160	1/320	156
203	3 (%16.8)	3 (% 6.1)	3 (% 6.3)	34 (%72.2)	(%76.9)

Yukarıda da görüldüğü üzere müsbet bulguların % 72.2 si 1/320 ve daha yüksek titrelerdir. Brüsella agglütinasyonunda, teşhis bakımından yüksek titrelerin değeri olduğu dikkate alınır ise klinik arazın da tutması şartıyla 1/160 ve daha yukarısını patolojik saymak icabetmektedir. Biz, bu durumda (25) vaka tesbit ettik. Bir hara muhitinde olsa dahi % 23.1 nisbetindeki bir müsbetlik o şahısların brüsella antijeniyle daimi temasta bulduklarına veya inapparant bir enfeksiyon geçirmiş veya geçirmekte olduklarına delâlet etmek icabeder (6).

Müsbet bulgularımızı meslek ve işyerlerine göre de sınıflandırmak dikkate değer sonuçlar vermiştir :

(Cetvel : 5)

Meslek	İşlenen serum adedi	Müsbet	Müsbet % desı
Memur	13	2	15.3
Çocuk	32	13	40.6
Veteriner	10	1	10.0
İşçi	38	7	18.4
Koyunculuk Şb.	17	7	41.1
Atıcılık Şb.	32	3	9.3
Sığırcılık Şb.	25	1	4.0
Ev kadını	34	13	38.0
Tabib	2	0	00.0
Yekûn	205	47	

Müsbet agglütinasyon veren şahısların büyük bir kısmını kadınlar ve çocuklar teşkil etmektedir. (% 56.5) Hastalığın taze peynir, krema ve tereyağla, koyun sütüyle bulaştığı dikkate alınırsa bu neticeyi normal bulmak iktiza eder. Evlerde gıda maddeleriyle meşgul olan ev kadınları ve en fazla istihlâk edenler de çocuklardır.

Personel arasında çalışanlara gelince : Koyunculuk şubesi işçileri (çobanlar ve hayvan bakıcıları) en yüksek müsbet agglütinasyon verenler olmuştur. Tetkik edilen 17 işçiden 7 si müsbet sonuç vermiştir.

Filhakika haradaki hayvanların brüseloz bakımından yapılan inceleme-sinde neticeleri şöyle özetlemek mümkündür.

(Cetvel : 6)

Cinsi	İşlenen serum adedi	Müsbet	Şüpheli	Hemolyse	Menfi	Müsbet % de nisbeti
Koyun	2438	281	31	181	1944	12.7
Keri	328	1	00	00	327	0.3

Yukarıdaki istatistikten anlaşılacağı üzere haradaki koyunların % 12,7 ye yakın bir nisbeti brüseloz bakımından enfekte bulunmuştur. Hara, gerek kendi personeline, gerekse kaza dahilinde belli başlı kimselere ücreti mukabil taze peynir, yağ, krema, süt ve diğer süt mamulleri satmaktadır. Hastalığın insanlara bilhassa taze peynir ve krema ile geçtiği anlaşılmaktadır. Memleketimizde brüselozun yaygınlık derecesi hakkında gerekli yerli istatistik ve müşahedeler bildirilmiştir.

Daver Özlüarda (7) tarafından B. C. G. kampanyası sahalarında yapılan paralel brüseloz ve agglütinasyon testleri de alaka çekici sonuçlar

vermiştir. Yazar dört vilâyette (Ankara, Konya, Bursa, Zonguldak) da yaptığı 1560 deri testinden 348 müsbet reaksiyon bulmuştur. Nisbet % 22,3 dir. Cinsiyet dikkate alınırca bunların % 58 erkek, % 42 si kındır.

Brüsellergen taamülü müsbet bulunan 237 şahıstan yapılan agglütinasyon sonuçları da enteresandır, bunlardan ancak 23 ü müsbet agglütinasyon vermiş bulunmaktadır ki nisbet % 9,7 dir.

Bu çalışmaya göre bir hüküm vermek icabederse deri testlerinin agglütinasyon taamüllerinden daha hassas olduğunu kabul etmek icabeder.

### Ö z e t :

1 — Çifteler harasında 4 ay devam eden bir brüseloz salgını tesbit olunmuş, bu husustaki serolojik ve epidemiyolojik araştırmalar ikmal edilmiştir.

2 — Bu münasebetle hara personeli ve harayla ilgisi olan 203 şahıstan agglütinasyon yapılmış, bunlardan 47 sinde müsbet agglütinasyon tesbit edilmiştir. Nisbet % 23,1 bulunmuştur.

3 — Bu hastalığa musab (23) şahıs tesbit edilmiştir. Bunlar yukarıdaki yekûna dahil bulunmaktadır.

4 — Meslek ve iş bölümüne göre müsbetlik nisbeti ev kadınları (% 38), koyunculuk şubesi personeli (% 41.1) ve çocuklarda (% 40.6) yüksek görülmüştür.

5 — Filiation bakımından yapılan incelemelerde hara koyunlarının (% 12.7) inin enfekte olduğu tesbit edilmiştir. Hayvanlardaki araştırma — Etlik ve Pendik Veteriner Enstitüleri tarafından yapılmıştır.

6 — Hastalık taze peynir, krema, süt ve mamulleri ile bulaşmış, teşhis imkânsızlıkları hastalığın 4 ay sürmesine ve yayılmasına sebep olmuştur.

7 — Resmî istatistiklerin tetkikinde Türkiye'de brüseloz adeta yok gibidir, Morbidite milyonda 1 veya onun altındadır. Buna mukabil gerek insan gerekse hayvanlarda yapılan araştırmalar, bu hastalığın memleketimizde önemli yer tutması, çok fazla bulunması sonucunu vermektedir.

8 — Laboratuvarlar ve laboratuvarcılar bu bakımdan teşhis ve tenvir edildikleri takdirde memleketimizde brüseloz, lâyük olduğu önemi kazanmış olacak ve yanlış teşhislerle bir çok hastaların sıhhatleri tehlikeye girmemiş olacaktır.

### LİTERATÜR

- 1 — HUDDLESON F. — Brucellosis in man and animals 1943.
- 2 — TOPLEY and WILSON — Principales immunology and bacteriology 1955.
- 3 — GOLEM S. B. — Türk İjyen ve Biol. Derg. Cilt 3, Sayı : 1. 1942.
- 4 — AKYAY N. — Türk İjyen ve Biol. Derg. Cilt: 7, Sayı : 2. 1947.
- 5 — GOLEM S. B. — Türk İjyen ve Biol. Derg. Cilt : 10, Sayı : 2. 1950.
- 6 — ONUL B. — Enfeksiyon hastalıkları 1956.
- 7 — ÖZLÜARDA D. — İhtisas tezi 1955.



# A PROPOS D'UNE EPIDEMIE DE BRUCELLOSE ET LA BRUCELLOSE EN TURQUIE

**Drs. Necmettin AKYAY et Aral GÜRSEL**  
Institut Central D'Hygiène "Refik Saydam" Ankara

Parmi le personnel du Hara "Çifteler" du Ministère de l'agriculture, il a commencé une maladie qui a duré pendant quatre mois étant diagnostiqué tantôt comme fièvre typhoïde ou paratyphoïde, tantôt comme une infection gripale.

Au mois d'Août 1957 la direction du Hara s'est adressé à l'Institut Central D'Hygiène, qui nous a chargé pour le diagnostic et de trouver la filiation de la maladie.

Les premières recherches sérologiques, entreprises sur lieux, nous ont montré l'existence dans le Hara d'une épidémie de Brucellose.

Sur lieux nous avons examinés cliniquement 203 personnes se trouvant dans et étant en étroite liaison avec le Hara. Parmi ceux-ci 47 sérologiquement et 25 malades cliniquement étaient positifs. Donc le taux des atteints de brucellose a été 23,1 p. 100.

L'infection de la brucellose en fonction de la profession exercée nous l'avons trouvé comme suit :

Femmes de ménages .....	38,0 p. 100
Les enfants du personnel .....	40,6 p. 100
Le personnel s'occupant dans la section des moutons .....	41,1 p. 100

Quant à la pourcentage du personnel des autres sections du hara le taux n'est pas si élevée.

Les recherches du point de vue de la filiation de la maladie nous ont guidé vers les troupeaux des moutons, car tous les malades se trouvaient parmi les consommateurs du beurre et fromage frais qui a été préparé avec du lait de mouton. Les premières recherches sérologiques nous ont montré l'existence de la brucellose à un taux de 13,2 p. 100 parmi les moutons du hara.

Les recherches et travaux sérologiques des animaux du Hara est suivie actuellement par les Instituts Vétérinaires d'Etlik et Pendik. Le vrai pourcentage des atteints sera donné par eux.

Comme nous l'avons dit et plus haut la source de l'épidémie a été le lait et les produits laitiers des moutons. L'insuffisance des moyens de diagnostic sur lieu s'est la cause de la durée si longue et le moyen de la propagation de la maladie.

L'étude des statistiques officielles nous montre que la brucellose est presque inexistante en Turquie. Car la morbidité est montrée moins que 1 pour million. Mais les recherches entreprises tant à l'Institut Central d'Hygiène, qu'aux Instituts Vétérinaires nous montre que la Brucellose doit occuper la place d'un des maladies assez étendues dans le pays.

# VACCİNİA VİRUSUNUN TAVUK EMBRİYONU KORİYO-ALLANTOİK ZARINDA ÜRETİLMESİ VE HEMAGLÜTİNASYON HUSUSİYETLERİ HAKKINDA BİR ÇALIŞMA

Dr. Elhan ÖZLÜARDA

R. S. M. Hıfzıssıhha Enstitüsü, Viroloji Şubesi Mütihazısı

Şef : Prof. Dr. Zühdî Berke

Vaccinia virusu, tavuk embriyonu koriyo - allantoik membranı (CÂM) üzerinde en kolay üreyen viruslardan biri olup kolayca tanılan spesifik lezyonlar hasıl eder. Bu ilk defa Woodruff, Goodpasture ve Buddingh tarafından bildirilmiştir. CÂM, ektoderm, allantoik damarları taşıyan mezoderm ve endodermden ibaret olup sinir elemanlarından tamamiyle arî oluşu dolayısıyla dermatrop virusların üremesine bilhassa elverişlidir. Embriyo zarları, vaccinia virusuna karşı ferdi hassasiyetleri ve dolayısıyla verdikleri mahsul bakımından farklıdır.

Vaccinia virusunun yaptığı hemaglütinasyonu ilk defa Nagler (1942) tarif etmiştir. Nagler, tavukların % 50 sinin eritrositlerinin, tavuk embriyonu koriyo-allantoik zarından hazırlanmış vaccinia virusu süspansiyonları tarafından aglütine edildiğini bulmuştur. Tavuk eritrositlerinin bu hemaglütinasyondaki aglütinabiliteleri hayvandan hayvana değişir.

Bir çok vaccinia virusu suşları, üremleri esnasında, tavuk embriyonunu öldürmezler. Enstitümüzün dana lenfi aşlarındaki vaccinia virusu ise gözle görülür bir üreme safhasına geldiği zaman embriyonu öldürmektedir. Bu vafsin yumurta pasajları ile kaybolup kaybolmayacağını tetkik gayesi ile koriyo-allantoik zar üzerinde pasajlara başladık ve devam etmekteyiz.

Diğer taraftan, tavukların cinsleri ile eritrositlerinin vaccinia virusu tarafından hemaglütinasyon kabiliyeti arasındaki münasebet bakımından, daha evvel başka müelliflerin de (8) tetkik etmiş oldukları hususları kendi imkânlarımız dahilinde araştırdık.

Bu yazıda bu çalışma hakkında kısaca malûmat verilecektir.

## I. Vaccinia virusunun hemaglütinasyonu :

Materyel ve metod :

Virus süspansiyonu : Vaccinia virusunun konfluan lezyonlar halinde ürettiği koriyo-allantoik membranlar boncuklu şişede ezildi, zar başına 2 cc. olmak üzere tamponlu tuzlu su ile sulandırıldı, santrifüj tüpüne konarak 3000 dd. ile 5 dakika çevrildi. Üstte kalan mayi alınarak antibiyotik ilâve edildi ve +4 C derecede muhafaza edildi.

Tavuk eritrositleri : Elimizde mevcut 8 adet beyaz Leghorn ve 7 adet sarımsı kırmızı renkli New Hampshire cinsi tavuk ve horozun kanat damarından, fizyolojik tuzlu suda yapılmış % 2 citrate de soude mahlülü üzerine alınan kanları santrifüje edildi ve eritrositler tuzlu su ile santrifugasyon suretiyle 3 — 4 defa yıkandıktan sonra bunlardan % 1 lik dilüsyonlar yapıldı.

Muhtelif pasaj seviyelerinden alınan CAM süspansiyonlarından 1/10 - 1/1280 nisbetinde dilüsyonlar hazırlanarak bunlara eşit hacimde tuzlu su ve % 1 lik tavuk eritrositleri ilâve edildi. Hafifçe çalkalandıktan sonra 45 dakika +4 C derecede bırakıldı ve bu müddet sonunda neticeler okundu (Tablo : I).

Neticeler : Beyaz Leghorn cinsi horoz ve tavukların hepsinin eritrositleri aglütine oldukları halde, renkli olan diğer cinsin yarısından azında aglütinabilite tesbit edilebilmiştir.

Göze çarpan diğer bir husus da aynı virus süspansiyonunun her eritrositi aynı nisbette aglütine etmemesidir.

Tablo : 1. Beyaz Leghorn ve renkli New Hampshire cinsi tavuk ve horozların eritrositlerinin muhtelif pasajlardan alınan vaccinia virusu süspansiyonları ile aglütinasyonu.

Agglutination of the red cells of White Leghorn and New Hampshire type fowls with the vaccinia virus suspensions prepared from infected chorio-allantoic membrane obtained from three passages on chick embryos.

Tavuk veya Horoz No. Cinsi		Hemagglütinasyon Titreleri Haemagglutination Titers		
Fowl's		I. pas. Cam süs. Virus suspen from I. pass.	II. pas. Cam süs. Virus suspen. from. II. pass.	III. pas. Cam süs. Virus suspension from. III. passage.
No:	Type			
1	New Hamp.	—	—	—
2	»	—	—	—
3	»	—	—	—
4	»	—	10	—
5	»	10	20	10
6	»	20	80	40
7	»	40	160	40
8	White Leg:	10	20	10
9	»	20	80	20
10	»	20	80	10
11	»	20	80	20
12	»	40	160	40
13	»	80	160	40
14	»	40	160	20
15	»	80	320	80

## II. Koriyo - allantoik mayilerde (rüşeym kese suları) yapılan hemagglütinasyon reaksiyonu neticeleri :

Koriyo-allantoik zarlarında iyi üreme olan embriyonlara ait 20 adet koriyo-allantoik mayi 1:1 — 1:128 nisbetlerinde sulandırılarak üzerlerine eşit hacimde tuzlu su ve % 1 lik beyaz Leghorn eritrositi ilâve edildi, hafifçe çalkalandı ve 45 dakika 4-4 C derecede bırakıldıktan sonra neticeler okundu. Mayilerin hiçbirinin hemagglütinasyon yapmadığı görüldü.

Bunun üzerine, koriyo-allantoik mayilerde virus mevcut olup olmadığını tetkik için bu mayilerden 11 günlük embriyonlu yumurtaların CAM larına ekim yapıldı. Bu yumurtalardan alınan zarlardan yapılan süspansiyonla karşılaştırılan beyaz Leghorn eritrositleri, kontrol olarak alınan ekim yapılmamış normal CAM süspansiyonları menfi reaksiyon verdikleri halde, aglütine oldular (Tablo : II).

Tablo : II. Koriyo-allantoik mayilerde kontrollar muvacehesinde yapılan hemagglütinasyon reaksiyonu neticeleri.

Results from haemagglutination test made with the chorio - allantoic fluids of inoculated eggs and controls.

Antijen Antigen	Adet Number	Titre Titers
Enfekte koriyo-allantoik zar süspansiyonu . . . . . Suspension of infected CAM . . . . .	20	40—160
Enfekte embriyoların kor-all. mayii. . . . . Chor-all. fluids from infected eggs. . . . .	20	--
Kor-all. mayi ekilmiş CAM süspansiyonu . . . . . Suspension of CAM inoculated with this chor- all. fluids. . . . .	20	10 - 80
Normal CAM süspansiyonu . . . . . Normal CAM suspension . . . . .		—

Neticeler : Ekim yapılmış ve zarlarında üreme olmuş embriyonlara ait koriyo-allantoik mayilerde, hemagglütinasyon reaksiyonu ile tesbit edilememekle beraber, virus mevcut olduğu anlaşılmaktadır.

## III. Vaccinia virusunun tavuk embriyonu koriyo - allantoik zarı üzerinde üretilmesi ve pasajları :

Materyel ve metod :

Enstitümüzde hazırlanmakta olan gliserinli dana lenfi aşısı tamponlu tuzlu su ile 1/10 nisbetinde sulandırılarak 3000 dd. de 5 dakika santrifüje edildi. Üstte kalan mayiden 1/1000 nisbetinde dilüsyon yapılarak antibiyotik ilâve edildi ve buzlukta bekletildi.

Sterilite testleri yapıldıktan sonra bu mayiden 1/10.000 — 1/60.000 nisbetlerinde sulandırılmalar hazırlanarak 11 günlük embriyonlu yumurtalara CAM yolu ile zerk yapıldı. Bunun için, yumurtalar teint. d'iode'la silindikten sonra, embriyon hizasında kabuktan küçük bir parça kaldırıldı ve kabuk zarı ile CAM de valvüler bir yırtık açıldı. Yumurtanın hava boşluğu tarafından açılan bir delikten hava emilerek boşluk embriyon hizasına nakledildi. Yatar vaziyette duran yumurtaların CAM larına muhtelif dilüsyonda hazırlanan virus süspansiyonlarından 0.3 cc. zerkedildi. Açılan delikler iyot mahlülü ile silindikten sonra eritilmiş parafinle kapatıldı ve yumurtalar etüve kondu.

Yumurtalar, iyotlanmış hava boşluğu tarafından açılarak koriyo-allantoik mayileri alındı ve muhteviyatı boşaltıldıktan sonra kabuğun iç yüzünde yapışık duran CAM lar pensle alındı, tuzlu suda yıkandıktan sonra boncuklu şişede ezildi, zar başına 2 cc. tamponlu tuzlu su ile sulandırıldı, alçak devirle santrifüje edildi. Üstte kalan mayi bir erlenmayere alınarak antibiyotik ilâve edildi ve buzluğa kondu.

Bundan sonraki 2. pasajda bu koriyo-allantoik zar süspansiyonu yine soğutulmuş tamponlu tuzlu su ile muhtelif dilüsyonlar halinde sulandırılarak 11 günlük embriyonlu yumurtalara 0.3 cc. zerkedildi.

Halen devam etmekte olduğumuz bu tecrübeye şimdiye kadar 6 pasaj yapmış bulunuyoruz. Her pasajda, yumurtaların ne kadarının kaçınıcı gün öldükleri, hangi gün ölenlerde ne derece üreme olduğu, her gün açılan muhtelif dilüsyonda ekim yapılmış canlı embriyonlu yumurtalarda virus üremesine ait poksların görülüp görülmediği, embriyon ölümü ile ekim dilüsyonu arasında münasebet olup olmadığı tetkik edildi.

Neticeler : İlk iki gün zarfında ölen embriyonların CAM larında gözle görülür bir üreme tesbit edilemedi. Bunlar muhtemelen travmatik bir sebeple ölmüşlerdi. İlk iki gün zarfında açılan canlı embriyonlu yumurtalarda da hiç bir pasajda üreme görülmedi.

Üçüncü gün ölen embriyo CAM larında üreme gözle görülür derecede başlamış olup bilhassa son pasajlara doğru üreme miktarı da artmıştır. Üçüncü gün canlı olup ta açılan yumurtalarda üreme hemen daima tek bir pokstan ibaretti.

Dördüncü gün ölenlerde iyi üreme, canlılarda da poks adedinde artma tesbit edildi.

Beşinci gün ise bu zamana kadar canlı kalmış embriyonların hemen hepsi ölüyordu.

İlk pasajlarda embriyonların ekserisi 4 ve 5 günde öldükleri halde,

son pasajlara doğru azamî ölüm 3 güne tesadüf ediyor ve bunlarda daha fazla üreme görülüyordu. Tablo : III de görülen 3 ve 4 - 5 gündeki ölüm nisbetleri aynı zamanda üreme olan yumurta nisbetleridir, zira bol bir üreme olan embriyonlar hemen daima ölüyordu.

Tablo : III Muhtelif pasaj seviyelerinde 3 ve 4 - 5 günde ölen embriyo nisbetleri.

The death embryo rates at the 3 and 4 - 5 days in each passages.

Pasaj No. Passage No.	3 günde ölenler (%) Percentage of embryos died in 3. day	4.-5. günde ölenler (%) Percentage of embryos died in 4. - 5. days.
I	32	58
II	36,5	41
III	33	66
IV	60	10
V	37	31,5
VI	57	0

İlk iki gün ve beşinci günden sonra ölenler bu cetvele kaydedilmemiştir.

Bu netice kısaca şöyle hülâsa edilebilir : Virusun iyi üremesi için geç zaman pasajlar ilerledikçe kısalmaktadır. İyi üreme olan yumurtadaki embriyon ekseriya ölmektedir. Buna göre, vaccinia virusumuzun, yumurta pasajları ile, embriyoları öldürme vasfı kuvvetleniyor gibi görünmektedir. Bu hususun tetkiki ilerideki çalışmalarımızda yapılacaktır.

#### IV. Ekim dilüsyonları ile embriyo ölümü ve üreme nisbeti arasındaki münasebet :

En iyi üremenin 1/10.000 ve 1/20.000 ekim dilüsyonları ile elde edildiği, 1/60.000 de dahi iyi üreme olduğu, 1/1000 nisbetindeki ekim dilüsyonunun bazen iyi netice vermediği görüldü.

Buna mukabil 1/1000 ve 1/60.000 arasındaki ekim dilüsyonlarının embriyo ölümü üzerine müessir olmadığı müşahede edildi.

#### Hülâsa :

1 — Beyaz Leghorn ve New Hampshire cinsi 15 adet tavuk ve horozun eritrositlerinin, tavuk embriyonu korio-allantoik zarında üretilmiş vaccinia virusu süspansiyonları tarafından aglütinasyon hususiyetleri tetkik edildi. Beyaz Leghornların hepsinin eritrositleri aglütinabl oldukları halde diğer cinsin ancak yarısında bu vasfın bulunduğu tesbit edildi.

2 — Koriyo-allantoik zarlarında konfluan lezyonlar halinde vaccinia virusu üretilmiş yumurtalara ait koriyo-allantoik mayiler beyaz Leghorn eritrositlerini aglütine etmedikleri ve kontrol olarak kullanılan normal koriyo-allantoik zar süspansiyonu menfi reaksiyon verdiği halde, bu mayilerden zerk yapılmış yumurtalara ait koriyo-allantoik zar süspansiyonları hemaglütinasyon verdiler.

3 — Enstitümüzün dana lenfi aşılarda mevcut vaccinia virusu soyunun tavuk embriyonu koriyo-allantoik zarlarında yapılan ve devam edilmekte olan pasajlarında, bol bir üreme neticesinde virusun embriyonu öldürdüğü ve bu öldürme müddetinin son pasajlara doğru gittikçe kısaldığı görüldü.

4 — 1/1000 — 1/60.000 nisbetlerindeki ekim dilüsyonları ile embriyo ölümü arasında bir münasebet tesbit edilemedi.

## STUDIES ON VACCINIA VIRUS

### I. PROPAGATION OF VACCINIA VIRUS ON THE CHORIO-ALLANTOIC MEMBRANE OF CHICK EMBRIO AND ITS HAEMAGGLUTINATION PROPERTIES

Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Virology Department of Refik Saydam Central Institute of Hygiene

Chief : Prof. Dr. Zühdü Berke

#### Summary :

1 — Haemagglutination of the red cells of 15 White Leghorn and New Hampshire type fowls by vaccinia virus suspensions prepared from chorio - allantoic membrane (CAM) of chick embryo was studied. It was observed that the red cells of the all White Leghorns were agglutinable while only 50 % of the other fowls had this property.

2 — Although chorio - allantoic fluids obtained from the infected eggs and normal CAM suspension used as a control did not agglutinate the red cells of White Leghorn, CAM suspensions obtained from the eggs which inoculated with these fluids gave positive results in haemagglutination tests.

3 — It was observed in the passages carried out that vaccinia virus strain which is present in the calf lymph vaccine of our Institute killed the embryos when it produced confluent lesions on CAM and that the period before embryos died become gradually shorter.



4 — There was not any relation between the dilutions of 1/1000 and 1/60.000 of the inoculum and the period when death occurs.

#### LITERATURE

- 1 — Briody, B. A. and Stannard, C. Studies on Vaccinia Virus. I. The Development of Haemagglutinating and Infective Particles in the Chorio-allantois of the Chick Embryo. The Journal of Immunology, Vol : 67, (403), 1951.
- 2 — Briody, B. A.; Lelinko, Nada and Stannard, C. Studies on Vaccinia Virus. II. Neutralization of Vaccinia Virus by Normal Guinea Pig Serum. Jour. of Immun. Vol : 67, (413), 1951.
- 3 — Chu, C. M. Studies on Vaccinia Haemagglutination. I. Some Physico-chemical Properties. Jour. of Hyg. Vol : 46, (42), 1948.
- 4 — Chu, C. M. Studies on Vaccinia Haemagglutinin. II. Some Immunological Properties. Jour. of Hyg. Vol : 46, (49), 1948.
- 5 — Hassan, Ibrahim Mohamed. Studies on a Dermal Strain of Vaccinia Virus Adapted to the Chorio - allantoic Membrane of the Chick Embryo. Jour. of Egyp. Med. Ass. Vol : 37, (10), 1954.
- 6 — Parker, Robert F. Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Diseases. Variola and Vaccinia (83), 1948.
- 7 — Rivers, Thomas M. Viral and Rickettsial Infections of Man. (436), 1952.
- 8 — Suzuki, Shoichiro; Fuwa, Aki; Fujii, Reiko; Kurimoto, Uzubiko. Individualities of Domestic Fowls in the Haemagglutination of Vaccinia Virus. Zentralblatt, Originale, Band : 163, Heft : 7/8, (405), 1955.

## MORPHİNE VE NALORPHİNE'İN İZOLE KURBAĞA KALBİNDEKİ TESİRLERİ

Doç. Dr. Şükretti KAYMAKÇALAN

Afyon alkaloidlerinin en önemlisini teşkil eden Morphine, tıp ve eczacılık ilimleri tarafından bir buçuk asırdanberi (Sertürner, 1805) tanındığı halde, bugün dahi aktüalitesini muhafaza eden ve üzerinde çeşitli yönlerden çok sayıda araştırmaların yapıldığı bir ilâç vasfını taşımaktadır. Farmakolojinin dev adımlarla ilerlediği son senelerde keşfedilmiş pek çok sayıdaki yeni ilâçlara rağmen, farmakodinamik tesirlerinin zenginliği bakımından Morphine kadar geniş bir tesir spektrumu arzeden başka bir ilâç zor gösterilebilir. Amerika Birleşik Devletleri Halk Sağlığı Servisinin teşvikiyle Michigan Üniversitesinin eski hocalarından Krueger, Eddy ve Sunwalt 9 yıl süren yorucu bir çalışmadan sonra, 1941 de, o zamana kadarki bütün dünya neşriyatını gözden geçirerek ve 9.000 den fazla literatür tetkik ederek «Afyon Alkaloidlerinin Farmakolojisi» adında iki ciltlik — Isbell ve Fraser'in tabiri ile — «abidevi bir eser» inşa etmişlerdir (7). Bu eserin birinci cildinin yalnız Morphine'e hasredilmesi, Morphine'in farmakolojik tesirlerinin hem ne kadar geniş olduğunu, hem de bu hususta ne kadar çok mesai sarfedildiğini gösterir.

Morphine'in kuvvetli analjesik tesiri bakımından çok iyi bir ilâç olmasına mukabil, iptila husule getirmesi en mühim mahzurunun teşkil eder. Bu iki tesirin birbirinden ayrılmasına şimdiye kadar muvaffak olunamamıştır. Analjesik tesirini muhafaza eden, fakat iptila husule getirici tesiri olmayan yarı—sentetik veya sentetik bir Morphine derivativesi elde etmek, bu konudaki çalışmaların pratik sahadaki gayesini teşkil etmektedir. Bu gayeye ulaşabilmek için de her şeyden önce Morphine'in tesir tarzının ve Morphine'e karşı alışma (tolerance) ve iptila (addiction) teessüsü mekanizmalarının iyice bilinmesi gerekir. Son yıllarda Morphine'in semisentetik bir derivativesi olan Nalorphine (N—allylnormorphine) in keşfi bu sahaya bazı ümit ışıkları serpmiştir. Filhakika Morphine molekülünde azota bağlı methyl gurubu yerine allyl gurubu gelmesiyle teşekkül eden Nalorphine, Morphine'in bir çok tesirlerini antagonize ettiği gibi, Morphine'e karşı iptila hali husule getirilmiş bir insan veya tecrübe hayvanında abstineus sendromu tevlit etmektedir (3, 4, 5, 6, 13). Nalorphine'in farmakolojisi hakkındaki bütün neşriyat 1956 yılında L. A. Woods tarafından gözden geçirilmiştir (14). Bu makalenin tetkikinden Morphine—Nalorphine münasebetlerinin şimdiye kadar yalnız memeli hayvanlarda araştırılmış olduğunu görülmektedir. Diğer taraftan Morphine'e karşı husule gelen tolerrance'ın yalnız yüksek tekamüllü memelilere inhisar etmeyip, bunun umumî bir celluler adaptasyon fenomeni olduğunu

düşündürecek bazı deliller de mevcuttur. Filhakika Japon müelliflerinin doku kültürlerinde yapmış oldukları araştırmalar çok alaka çekicidir. Bu müellifler, Morphine ihtiva eden bir vasatta üremeye alışan embriyoner hücrelerin Morphine ihtiva etmeyen vasata nakledildiklerinde üremelerinin durduğunu ve histolojik değişiklikler gösterdiklerini tespit etmişlerdir (7). Bu sebepten biz de Morphine — Nalorphine münasebetlerini şimdiye kadar tetkik edilmiş ve memelilere nezararı daha basit bir organizmada araştırmayı uygun gördük ve bu maksatla tecrübe materyeli olarak izole kurbağa kalbini intihap ettik.

## MATERYEL VE METOD

İzole kurbağa kalbi, bir çok fizyoloji ve farmakoloji araştırmalarına elverişli bir biyolojik tecrübe materyelidir. Kurbağanın soğuk kanlı bir hayvan oluşu ve kurbağa kalbinin anatomik hususiyetleri, izole kurbağa kalbinin izole memeli kalbine nazaran daha basit ve daha kolay bir şekilde yaşatılmasını sağlar. Filhakika iki atrium ve bir ventrikülden teşekkül eden kurbağa kalbinde, memelilerin aksine, koroner damar sistemi ve kapillerler mevcut değildir. Myokard için lüzumlu bütün maddeler, endokardtan diffüzyonla temin edilir. Kalbin vücut haricinde çalışması için Ringer mayii ile temasta olması kafidir ve sıcak kanlılarda olduğu gibi bu mayii ayrıca ısıtılmasına veya içinden devamlı bir şekilde oksijen geçirilmesine de lüzum yoktur. Klasik olarak izole kurbağa kalbinde şu şekilde çalışılır : Kurbağa dekapite edildikten ve medulla spinalisi tahrip edildikten sonra göğüs ve karın cidarı, kaide köşeleri klavikülaların ortasına gelen bir üçgen şeklinde kesilip, kalb meydana çıkarılır. Perikard açıldıktan sonra kalb, aortalarından birinden Straub kanülüne bağlanıp, vücut dışına alınır. Straub kanülü, ucunda kapiller bir kısım olan ve ayrıca kalbi tesbite yarayan küçük bir çıkıntısı bulunan camdan bir borudur. Kanülün içi Ringer solüsyonu ile doldurulur. Tecrübelerimizde 2 cc. hacminde bir Ringerle çalışılmıştır. Kurbağa kalbi çok daha yüksek bir su basıncına karşı çalışabilmek iktidarındadır. Kurbağa ortalama sistolik kan basıncı 30—43 mm. Hg. dir (1,9). Straub kanülüne alınan kalbin ucuna raptedilen serfin vasıtasıyla ve bir manivela yardımı ile kalb hareketleri kimograf üzerindeki isli kağıda yazdırılır.

Muhtelif müelliflerin kurbağa kalbi için kullandığı Ringer solüsyonlarının terkiibinde az, çok farklar mevcuttur. Tecrübelerimizde kullandığımız Ringer mayiinin terkiibi şöyledir : NaCl 6.5 g, KCl 0.14 g, CaCl<sub>2</sub> (anhydre) 0.12 g, NaHCO<sub>3</sub> 0.2 g, NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 0.01 g, Glucose 2.0 g, Su 1000 cc. e ilağ

Tecrübelerimizin hepsi erkek kurbağalarda ve yaz aylarında (Haziran ve Temmuz) yapılmıştır. Kurbağa kalbinin bazı ilaçlara olan hassasiyetinde mevsimlerin rolü olduğundan (8), bu hususu kaydetmek lüzumlu görülmüştür.

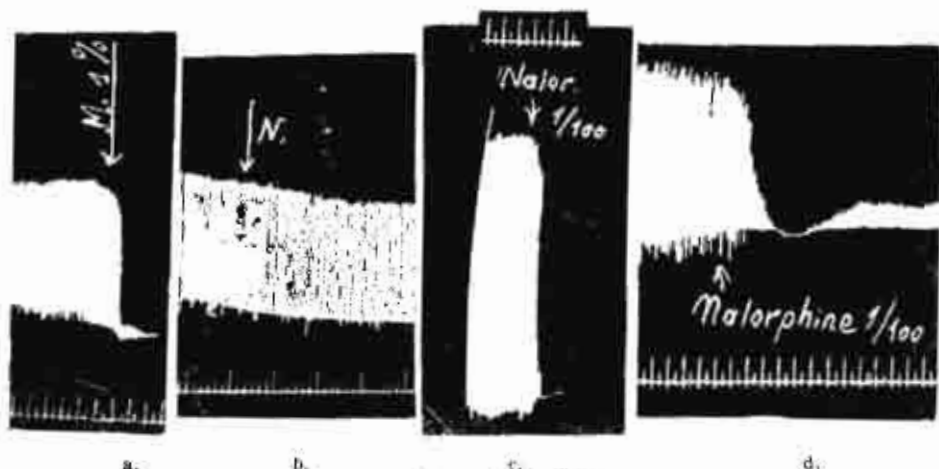
Gerek Morphine, gerekse Nalorphine (Nalline) Merkebin Chlorhydrate tuzları kullanılmış ve her iki ilaçta Ringer solüsyonunda eritilerek mahhulleri hazırlanmış.

tır. Ekseri tecrübeler her iki ilâcın da 1 % mahlulleriyle yapılmış, ayrıca bazı tecrübelerde 0.5 % ve 0.1 % konsantrasyonlar da kullanılmıştır.

## Tecrübe Sonuçları

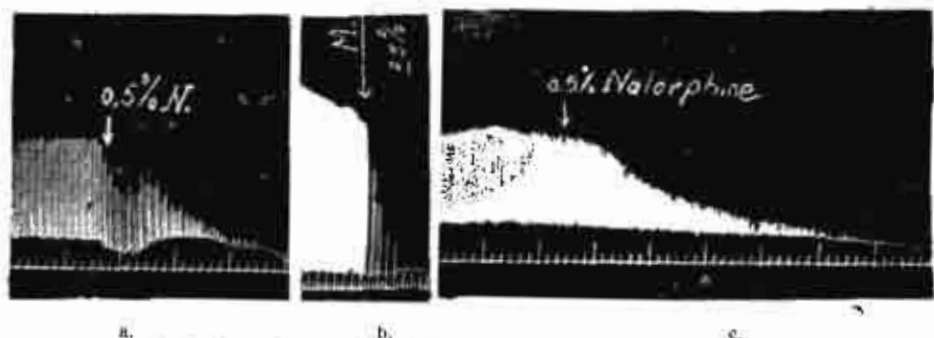
### 1. Morphine'in kurbağa kalbinin kontraktilesine tesiri.

Tecrübelerimizde 0.1 % — 1 % konsantrasyonlardaki Morphine'in kurbağa kalbinde kontraktileyi azaltıcı, yani menfi inotrop bir tesir icra ettiği tespit olunmuştur. 0.5 % — 1 % konsantrasyonlardaki Morphine, kalb kontraksiyonlarının amplitüdünü azaltarak, 2—4 dakikada kalbi durmuştur (Şekil 1—*a*, 2—*b*, 5—*b*, 6). Bir



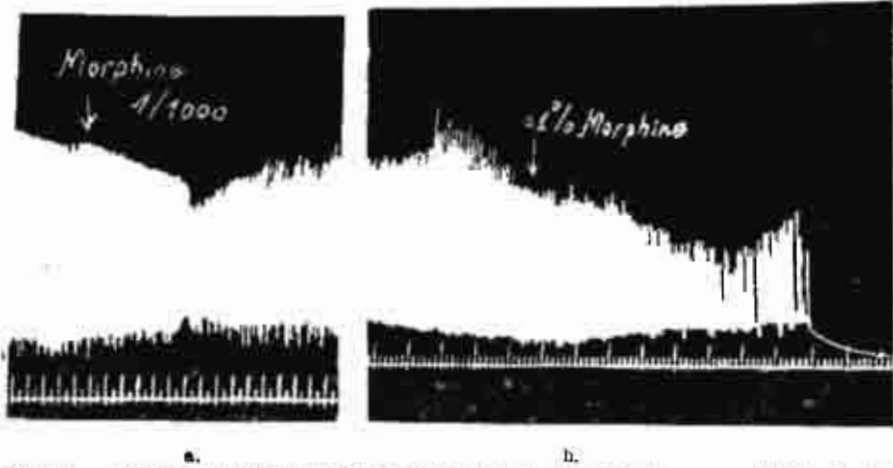
Şekil 1 — 1 % konsantrasyonda Morphine ve Nalorphine'in tesirleri. (a) Morphine'in kalbi durdurması; (b), (c) ve (d) Nalorphine'e karşı muhtelif cevap şekilleri.

tecrübeye ise (Şekil 7—1) kalb durmamış, fakat kontraksiyonların amplitüdünün azalması tedrici bir şekilde uzun bir müddet devam etmiştir. 0.1 % konsantrasyonda yapılan tecrübelerde kalbin nispeten daha uzun bir müddet, 4—9 dakika geçtikten sonra durduğunu ve kalb durmadan önce kontraksiyonların amplitüdünde bir azalma



Şekil 2 — 0.5 % konsantrasyonda Morphine ve Nalorphine'in tesirleri. (a) ve (c) Nalorphine, (b) Morphine. (c) de kalb tamamen durduktan 20 dakika sonra Ringierle yıkamayı müteakip tekrar çalışmıştır.

kaydedildiğini görüyoruz (Şekil 3—b, 4). Aynı konsantrasyonla yapılan bir tecrübeye ise kalb durmamış, ancak amplitüdünde geçici bir azalma husule gelmiştir (Şekil 3—a). Hemen, hemen bütün tecrübelerde Morphine'in kalbi durdurması reversible

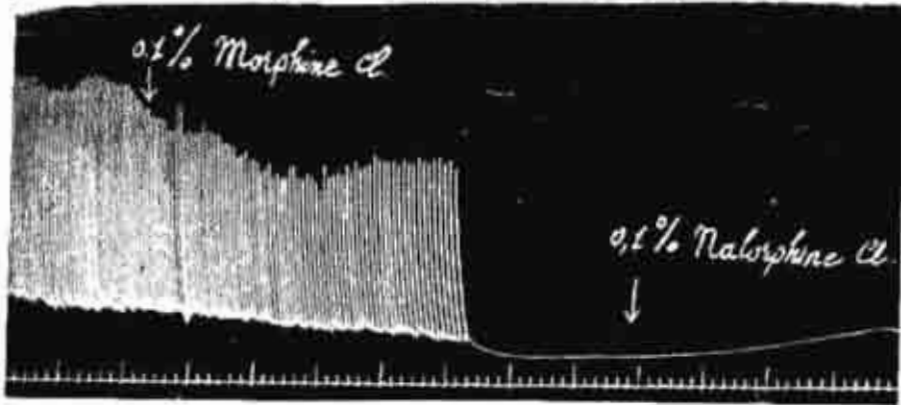


Şekil 3 — 0,7 % konsantrasyonda Morphine'in testi. Kontraksiyonun amplitüdünde (a) da muvakkat bir azalma; (b) de devamlı bir azalma ve durma husule gelmiştir.

bir hadise olup, hatta 10 dakikalık bir durmadan sonra bile, Ringerle yıkamayı müteakip, kalb tekrar çalışmıştır. Bu husus Şekil 5—c ve 6 da iyice görülmektedir.

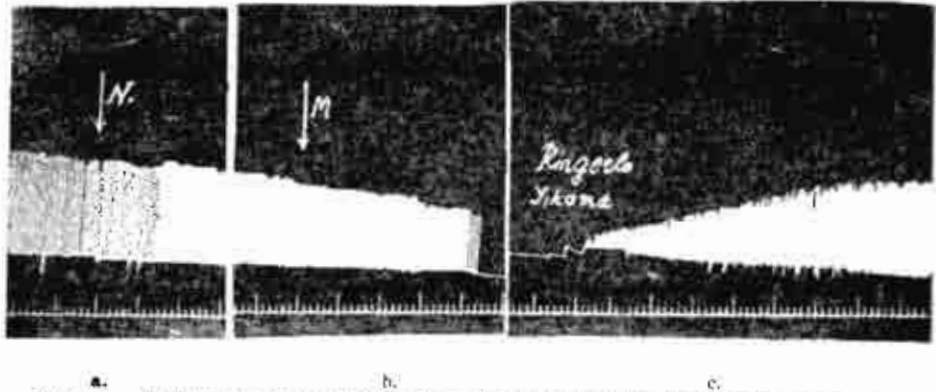
## 2. Morphine'in kurbağa kalbinde nakilyete tesiri.

Kullandığımız konsantrasyonlardaki Morphine, kurbağa kalbinde çok defa nakilyeti azaltmakta, menfi dromotrop tesir ıera etmekte ve atrio—ventriküler blok husulüne sebep olmaktadır. Meselâ Şekil 9 da bu şekilde 3 de 1 blok teşekkülü görülmektedir.



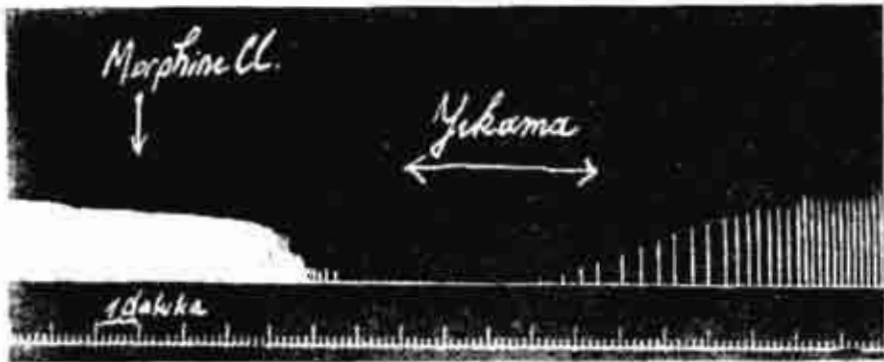
Şekil 4 — 0,1 % konsantrasyonda Morphine'in durduğu knbl aynı konsantrasyondaki Nalorphine çabırtırıyor. Bu tecrübeye Nalorphine tıbbiklades 5 dakika sonra Ringerle yıkamayı müteakip, kalb tekrar çalışmıştır.

Bazan blok teşekkülüne kalb durmasına tekaddüm eden zamanda, bazan da duran kalbin yeniden çalışmaya başladığı esnada tesadüf olunmaktadır. Çok defa da ventrikül tamamen durduktan sonra atriumlar bir müddet daha çalışmaya devam etmekte-



Şekil 5 — 1 % konsantrasyonda Nalorphine ve Morphin'in tesirleri. (a) Nalorphine kontraksiyon amplitüdünde önemli bir değişiklik husule getirmemiş. (b) Morphin'e kalbi durdurmuş. (c) Nalorphine'den 4 dakika sonra tekrar çalışmaya müteakip tekrar çalışmaya başlamıştır.

dir. Bu husus her nekadar en iyi olarak bizzat kalbin müşahadesi ile tespit olunursa da, bazı traselerde buna ait belirtileri görmekte mümkündür. Meselâ Şekil 1—a da son 1—2 dakikalık küçük tekallüsler tamamen atriumlara aittir. Bu esnada duran ventri-



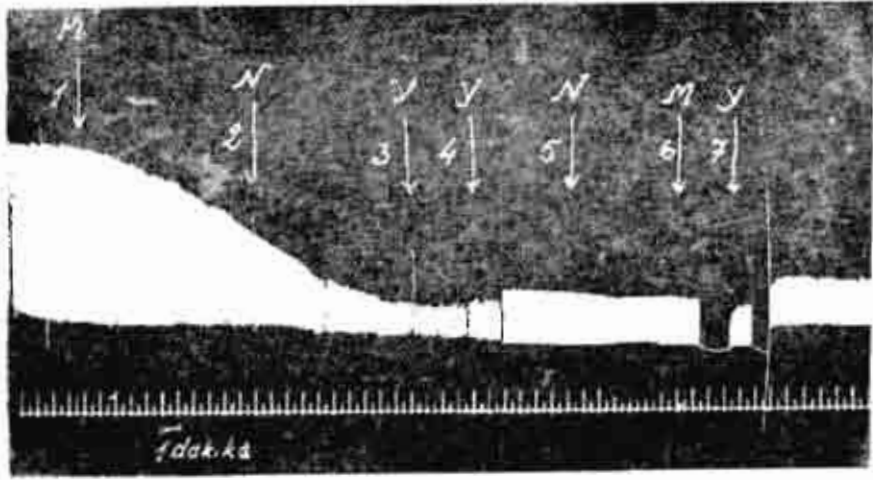
Şekil 6 — 1 % konsantrasyonda Morphin'e kalbi durdurmuş ve çalışmaya müteakip kalbi tekrar çalışması. Çalışmaya başlayan kalbe bir müddet atriumcağıklar GEX teşekkül ettüğünden, ventrikülün vurus sağında üstteki denizdeki bir amplitüdün büyüklüğüdür.

kül pasif bir dilatasyona uğradığından, atriumların tekallüsleri normal tekallüslerin seviyesinden daha aşağıda kaydedilmiştir. Şekil 6 da tekrar çalışmaya başlayan kalbe bir müddet blok teşekkülüne bağlı bradikardi tespit olunmuştur.

### 3. Morphin'in kurbağa kalbinde vuruş sayısına tesiri.

Morphine, kurbağa kalbinde menfi inotrop ve menfi dramotrop tesir göstermesine rağmen, menfi krouotrop bir tesir husule getirmemiştir. Her nekadar bazı tecrübe-

lerde ventrikülün vuruş sayısı azalmışsa da, bu atrioventriküler blok teşekkülüne bağlı olduğundan, kalbin vuruş sayısının azaldığını, yarı sinüsleri doğan tenbihlerin sayısında bir azalma olduğunu ifade etmez. Şekil 8 bu hususu çok güzel göstermektedir;

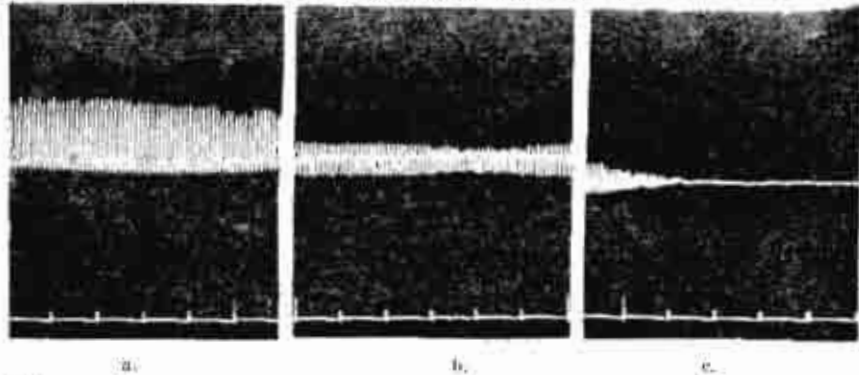


Şekil 7 — 1 % konsantrasyonda Morphine ve Nalorphine'in tesirleri. (1) de tatbik edilen Morphine kalbin vuruş amplitüdünü parabolik bir şekilde azaltmış ve (2) de tatbik edilen Nalorphine, Morphine'in tesirini derhasten ortadan ettirmiştir. Kalbin azalan vuruşları (3) ve (4) de yukarıdaki tıbbi akıp kesmen düzenliğine ve ağırlık bir şekile almıştır. (5) de Nalorphine tatbiki herhangi bir değişiklik husule getirmemiştir ve bundan sonra tatbik edilen Morphine (6), kalbi yine reversible bir şekilde durdurmuştur.

ventrikülün tamamen durmasına rağmen atriumlar aynı sayıda çalışmaya devam etmiştir.

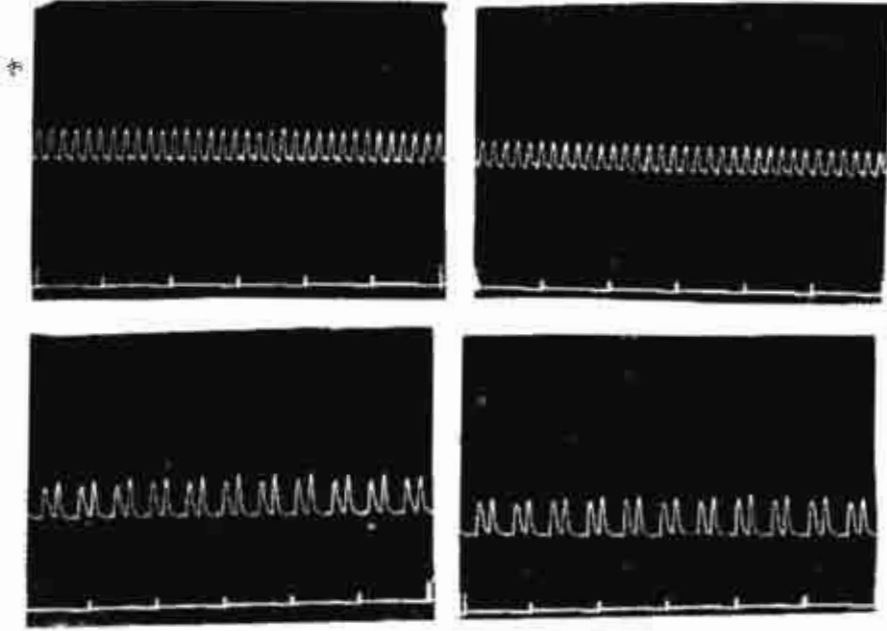
#### 4. Nalorphine'in karbağa kalbindeki tesirleri.

Tecribelerin bir kısmında Nalorphine, karbağa kalbini kontraktilesi üzerine kalitatif bakımlan Morphine'e müstakib bir tesiri etmiş ve kontraktilesiyi azaltmıştır. Şekil 1—c, 1—d, 2—a ve 2—b de yüzde 1 veya 0.5 konsantrasyonlardaki Nalorphine'in tesirleri gösterilmiştir.



Şekil 8 — Morphine 11 % konsantrasyonda (a) veya, (b) 1 dakikalık sonra, (c) 8 dakika sonra. Kalbin 1'er dakikalık tatbiki tesirleri. Khonegrat testi dinlendirilmiştir. Kontraktilesiyi amplitüdü azaltmışsa rağmen, vuruş sayısında önemli bir değişiklik husule getirmemiştir. Kalp sayısı (a) ve (b) arasında 45—60 arasında değişmektedir. (c) de ventrikülün tamamen durmasına rağmen, atriumlar aynı sayıda çalışmaya devam etmiştir.

hine'in menfi inotrop tesir göstererek kalbi bir müddet sonra durduğunu görüyoruz. Buna mukabil Şekil 1—b, 5—a ve 7 de Nalorphine'in önemli bir tesir icra etmeyişi, kalbin kontraktilesine olan menfi tesirinin her zaman görülmediğini ve Morphine'inki kadar kuvvetli bir tesir olmadığını gösterir. Şekil 2 de aynı konsantrasyondaki Morphine ve Nalorphine'in tesirlerinin mukayesesi, Nalorphine'in kalbi durdurucu tesirinin Morphine'den daha geç husule geldiğini göstermektedir. Tecrübelerimizde Nalorphine ile Morphine'de olduğu gibi blok teşekkülüne raslanılmamıştır. Bütün bu



Şekil 9 — Morphine (1 %) in kalbe atrio—ventriküler blok hüsule getirişi. Kalbi 1 er dakikalık çalışma traseleri. Kinograf çok sür'atli döndürölmüştür. Üst iki trase Morphine'den önce, alt iki trase Morphine'den sonra. Morphine'den sonra ventriküllerin vurus sayısı 2/3'e düşmüştür, fakat atriyumlar aynı zamanda çalışmaya devam etmiştir. Altıki traserle iki kontraksiyon dalgasından önceki küçük çentikler atriyumların kasılmasına aittir.

tecrübelerden Nalorphine'in, kalb için Morphine'e nazaran daha az toksik olduğu söylenebilir. Nalorphine'le durmuş bir kalbin 20 dakika sonra Ringerle yıkamayı müteakip tekrar çalışması (Şekil 2—c), Nalorphine'in myokardta önemli bir toksik tesir icra etmediğini gösterir.

##### 5. Morphine — Nalorphine antagonizması.

Klinikteki tatbikatı bakımından Morphine'in spesifik bir antagonisti olarak tanıyan Nalorphine, kurbağa kalbinde Morphine'e antagonist bir tesir göstermemiştir. Filhakika Şekil 4, 5 ve 7 nin tetkiki Nalorphine'in Morphine'le duran kalbi tekrar çalıştırmadığı veya sonradan tatbik edilen Morphine'ün tesirine mani olmadığını göstermektedir.



## MUNAKAŞA VE HÜKÜM

Kullandığımız konsantrasyonlardaki Morphine, kurbağa kalbinin kasılma gücünü ve iletimini azaltmış, buna mukabil sinusten doğan tenbih sayısını değiştirmemiştir. Literatürün tetkikinden kurbağa kalbinde Morphine'le yaptığımız tecrübeler benzer tecrübelerin daha önce Fröblich ve Pick tarafından yapıldığını öğrenmiş bulunuyoruz (2). Bu müellifler Staraub kanülüne 1 % Morphine chlorhydrate solüsyonundan 0.4 cc. ilâve etmişler ve kalbde aritmi husule geldiğini, kontraksiyonun amplitüdünde ve sayısında bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. 0.5 cc. ilâvesile ventrikül durmuştur. E. E. Nelson, sentetik fenantren derivelerinin izole kurbağa kalbinde orikül sayısını değiştirmeksizin, ventrikül sayısını değiştirdiklerini ve husule gelen atrio—venriküler blokun atropinle önlenemediğini bildirmiştir (12). Bir fenantren alkaloidi olan Morphine'le elde ettiğimiz sonuçlar, Nelson'un sentetik fenantren deriveleri hakkında bildirdiklerine tamamen uymaktadır.

Nalorphine'in kurbağa kalbi için Morphine'e nazaran daha az toksik oluşu da bu iki maddenin diğer organlardaki tesirlerine benzemektedir. Filhakika Woods, Nalorphine'in farmakolojik tesirlerinin umumiyetle kalitatif bakımdan Morphine'e müşabih, fakat kantitatif bakımdan Morphine'den daha zayıf olduğunu bildirmektedir (14).

Nalorphine'in kurbağa kalbinde Morphine'in tesirlerine antagonist tesir göstermeyişi enteresandır. Nalorphine'in Morphine'in santral sinir sistemindeki deprese edici tesirlerini antagonize ettiği, fakat stimüle edici tesirlerini antagonize etmediği malumdur. Seevers ve Woods tarafından son senelerde ortaya atılan teoriye göre (10, 11), sinir sisteminde (nöronda), Morphine için iki türlü reseptör mevcuttur. Reseptörlerden bir kısmı hücre dışında (aksonda) olup, Morphine bu ekstrasellüler reseptörlerle daha kolaylıkla temasa gelebilmekte ve bu reseptörlerin işgali, Morphine'in sinir sistemindeki inhibisyon yapıcı tesirlerini husule getirmektedir. Hücre içindeki (bizzat nöron hücresinde) reseptörlerin işgali ise daha geç ve zor olmakta ve bunun sonucu olarak Morphine'in eksitan tesirlerini husule gelmektedir. Morphine'e çok büyük bir strüktür benzerliği gösteren Nalorphine. Morphine'in ekstrasellüler reseptörlerdeki yerini kolayca alarak, Morphine'in inhibisyon yapıcı tesirlerini kaldırmakta, fakat molekül hacmi daha büyük olduğundan hücre içine zorlukla nüfuz etmekte (14) ve böylece Morphine'in eksitan tesirlerine mani olamamaktadır. Bu teori kronik Morphine zehirlenmesinde Nalorphine ile husule getirilen abstiniens sendromunu da izah edebilmektedir. Kronik Morphine zehirlenmesinde gerek intrasellüler, gerekse ekstrasellüler bütün reseptörler Morphine molekülleri ile satüre vaziyettedir. Nalorphine, Morphine'in ekstrasellüler reseptörlerdeki tesirini kaldırarak, maskelenmiş bir vaziyette duran eksitan tesirler meydana çıkmakta ve abstiniens sendromu husule gelmektedir. Daha ziyade sinir sistemi hücreleri için ortaya atılmış olan bu teoriyi myokard hücrelerine teşmil edecek olursak, Morphine'in kalbdeki tesirlerinin billassa intrasellüler reseptörlere bağlı olduğunu ve Nalorphine'in bu reseptörlerde Morphine'in tesirini antagonize etmediğini kabul etmek icap eder.

Morphine'e alışma ve iptila teşekkülü hakkındaki araştırmalar daha ziyade yüksek tekamüllü memelilerde yapılmaktadır. Morphine'e alışına mekanizması henüz tam olarak bilinmemekle beraber, bunun bir cellüler adaptasyon fenomeni olduğunu düşündürecek bazı deliller mevcuttur. Bu sebepten Morphine'in tesirlerinin memelilerden daha basit organizmalarda ve hücre sistemlerinde araştırılması uygun olur. Bu maksatla Morphine ve Nalorphine'in izole kurbağa kalbindeki tesirleri tetkik edildi. Morphine'in kullanılan kesafetlerde kalbe tekallüsün vüs'atini ve nakiliyeti azalttığı, kalbi reversible bir şekilde durdurduğunu tespit edildi. Nakilyet azalması çok defa atrio-ventriküler blok teşekkülüne sebep olmaktadır. Aynı kesafetlerdeki Nalorphine'in de bazı tecrübelerde kalbe kontraktiliteyi azaltıp, kalbi reversible bir şekilde durdurduğu, fakat Nalorphine'in kalb adalesine olan toksik tesirinin Morphine'e nazaran daha az olduğu tespit olunmuştur. Nalorphine, Morphine'in kalbedeki tesirlerini antagonez edememiştir. Bu son müşahadenin, Morphine ve Nalorphine'in tesir tarzları hakkında Seevers ve Woods tarafından ortaya atılan teorisin ışığı altında analizi yapılmış ve Morphine'in miyokard hücrelerinde daha ziyade intrasellüler reseptörlere tesir etmesi ihtimali üzerinde durulmuştur.

*Teşekkür* : Bu çalışmada kullanılan Morphine ve Nalorphine'in temini hususunda kıymetli yardımlarını esirgemeyen Enstitümüz Direktörü sayın Dr. Niyazi Erzin'e Sağlık İşleri Umum Md. de sayın Dr. Tefik Alan'a, Toprak Mahsulleri Ofisi Umum Md. e ve bir miktar Nalorphine (Nalline, Merck) göndermek lütfında bulunan Anırikada Merck Firması (Merck—Sharp and Dohme International, New York) Medical Director'ın Dr. A. T. Knoppers'e teşekkürlerimi arz ederim.

## THE EFFECTS OF MORPHINE AND NALORPHINE ON THE ISOLATED FROG'S HEART

Şükrü KAYMAKÇALAN, M. D., M. S.

Assistant Professor of Pharmacology, Refik Saydam Central Institute of Hygiene and Medical School, University of Ankara, Turkey

(Summary of the Turkish Text)

The contractility and the conductivity of the heart muscle was depressed by 0.1—1 per cent concentrations of Morphine hydrochloride in Ringer's solution. The cessation of the heart beatings was reversible; washing by the Ringer's solution usually restored the normal beatings. Depression in the conductivity produced auriculo-ventricular block, and in some experiments ventricle stopped while auricles were still in normal rhythm.

Nalorphine hydrochloride (Nalline, Merck) in the same concentrations also decreased the amplitude of contractions, but it was less toxic than Morphine for the heart muscle.

Nalorphine neither prevented, nor abolished the Morphine effects on the frog's heart. This finding has been discussed in the light of Seevers--Woods theory (11), and it was concluded that Morphine might act on the intracellular receptors in myocardium.

#### L I T E R A T Ü R

- 1.) Best and Taylor, *Physiological Basis of Medical Practice*, Fifth ed. Williams and Wilkins, 1950.
- 2.) Frühlich, A. and Pick, E. Untersuchungen über die Giftfestigkeit des Reizleitungs-systems und der Kammerautomatie. Nach Versuchen am isolierten Froschherzen. *Arch. f. Exper. Path. u. Pharmacol.* 84 : 250, 1919.
- 3.) Irwin, S. and Seevers, M. H. Comparative Study of regular and N-allylmorphine induced withdrawal in monkeys addicted to morphine. 6-methylhydromorphine, Dronoran, methadone and ketobupidone. *J. P. E. T.* 106 : 397, 1952.
- 4.) Kaymakçalan, S. Morfine ağırtılması köpeklerde Nalorphine zerkile busute getirilen morfin abstinens sendromu. *Bu tıccıma*. 16 : sayı 1, 54, 1956.
- 5.) Kaymakçalan, S. and Woods, L. A. Response of morphine-tolerant dogs and rats to methimazole and/or nalorphine. *Gen. Proc.* 13 : 3/3, 1954.
- 6.) Kaymakçalan, S. and Woods, L. A. Nalorphine--induced "Abstinence syndrome" in morphine--tolerant albino rats. *J. P. E. T.* 117 : 112, 1956.
- 7.) Krueger, H. Edry, N. B. and Sunwalt, M. The Pharmacology of the Opium Alkaloids. Part 1 and 2. Supplement no. : 165 to the Public Health Reports. United States Government Printing Office, Washington D. C., 1941.
- 8.) Nickerson, M. and Nunnaguel, G. M. Blockade of Epinephrine induced cardiovascular in the frog. *Am. J. Physiol.* 163 : 484, 1950.
- 9.) Prosser, C. L. *Comparative Animal Physiology*. Saunders Co. 1950.
- 10.) Seevers, M. H. Adaptation to Narcotics. *Gen. Proc.* 13 : 672, 1954.
- 11.) Seevers, M. H. and Woods, L. A. The Phenomena of Tolerance. *Am. J. Med.* 14 : 540, 1953.
- 12.) Soltauann, T. A. *Manual of Pharmacology*. W. B. Saunders Co., 1957.
- 13.) Wikler, A. Fraser, H. F. and Isbell, H. N-Allylmorphine : effects of single doses and precipitation of acute "abstinence syndromes" during addiction to morphine, methadone or heroin in man. *J. P. E. T.* 109 : 8, 1953.
- 14.) Woods, L. A. The Pharmacology of Nalorphine. *Pharmacol. Rev.* 8 : 175, 1956.

## SEMPLİ KUDUZ AŞISINA TABİ TUTULMUŞ ŞAHISLARIN KANLARINDA RABİSİD KUDRET ARAŞTIRILMASI [\*]

Dr. Nafî TÜRKAY

Refik Saydam Merkez Hıfızisehha Enstitüsü Kuduz Servis Şefi

Kuduz aşısı zerke edilmiş şahısların kan serumlarındaki rabisid kudretle, immünite arasında sıkı bir münasebet olduğu zannedilmektedir. Bir kısım müellifler bu hasta menfi bir kanaata sahip olmakla beraber, başta Baltazar olmak üzere birçok araştırmacılar da serumdaki nötralizan antikorların, şahsın immünitesile alâkalı olduğu kanaatindedirler. Biz de ufak mikyasta yaptığımız bir tecrübe ile bu kanaatı teyit etmekteyiz.

Tokat Vilâyetine bağlı Niksar kazasının baş çiftlik köyünde, sonradan kuduz olduğu anlaşılacak öldürülen bir kurt tarafından ısırılan şahıslardan 3 ü kuduzdan ölmüş ve 8 i Enstitümüze gönderilmişti.

Ölen şahıslardan biri çenesinden, ikincisi sol göz üstünden, üçüncüsü de burunundan ısırılmışlardır. Yaralarının vahim olduğu müşahede fişlelerinden anlaşılakta idi. Hadise vuku bulduğunun ertesi günü ölen üç kişi de dahil olmak üzere ısırılan on bir kişi Tokat Devlet Hastahanesince 20 günlük şemaya göre Semple kuduz aşısı tatbikine tâbi tutulmuşlar, fakat ikisi ısırıldıktan 21 gün sonra, biri de 22 gün sonra kuduzdan ölmüşlerdir. Geriye kalan 8 kişi derhal Enstitümüze gönderilmiştir. Enstitüye gelen 8 şahıstan ikisi burnundan, ikisi omuzundan, ikisi ellerinden, biri yanağından, biri de bacağından ısırılmışlardı. Hepsinin oldukça vahim şekilde ısırılmış oldukları, kapanmış olan yara izlerinden belli idi. 20 günlük şemaya göre aşuları Tokat Devlet Hastahanesince ikmal edilmiş olan bu şahıslara, serum zerki faydasız ve lüzumsuz olacağı cihetle, 24 günlük şemaya göre 10 gün daha, Enstitümüzde Semple kuduz aşısı tatbik edilmiştir. İlk enjeksiyonun 26 cı günü bu 8 şahıstan kan alındı ve serumları ayrılarak nötralizan antikorları ihtiva edip etmedikleri araştırıldı.

Her şahsa ait kan serumunun 0,5 cc. ü, 50DL50 yi ihtiva eden 0,5 cc. sabit virus emülsiyonile karıştırılmış ve 37 c. derecelik etüvde bir saat bekledikten sonra entraserebral yolla 0,1 cc. miktar dörder tavşana şırınga edil-

[\*] Bu yazı, Milletlerarası Mikrobiyoloji Cemiyetleri Avrupa Seksiyonu tarafından İstanbul'da tertip edilen Sympasium'da 19 Eylül 1957 tarihinde tebliğ edilmiştir.

miştir. Tavşanlar 30 gün müşahede altında bulundurulmuşlardır. Netice aşağıdaki tabloda arz edilmiştir.

Serum temin edilen şahısların adları Nom de personnes	Serum + virus inoküle edilen tavşan miktarı Nombre de lapins inoculés	30 günlük müşahede neticesi Résulta après l'observation durant 30 jours
Mahir Aybek	4	Yaşadı Survit
Mehmet Aybek	4	"
İbrahim Çiçek	4	"
Abdullah Açıkel	4	"
Mehmet Bayram	4	"
Süleyman Güler	4	"
Mustafa Cengiz	4	"
Mahir Kılıç	4	"
Kontrol (yalnız virus) (seulement virus)	4	Öldü Mort 6—7 günde (jours)

Cetvelin tetkikile, şahıslara ait serumların nötralizan antikorları ihtiva ettiği anlaşılmaktadır. Bu tecrübe 25/3/1957 tarihinde yapılmıştır. Üzerinden altı ay kadar bir zaman geçtiği halde bağlı buldukları sıhhi teşekküller tarafından bugüne kadar kuduzdan ölüm vak'ası ihbar edilmemiş olduğundan hayatta oldukları kabul edilmektedir.

Ölen şahısların serumları tetkik edilmediği için, antikor ihtiva edip etmedikleri hakkında her hangi bir hüküm verilemeyecektir.

Bu şahıslarda enkubasyon müddetinin pek kısa (18—17) gün) olması dolayısıyla, aşından mütevellit immünite maddelerinin yeteri kadar teşekkülü için lüzumlu zaman geçmemiştir.

Bu hadise, 30 günden kısa enkubasyonlu vak'alarda aşının yalnız olarak proteksiyon yapmadığını ve bu gibi vak'alarda enkubasyon müddetini uzatmak suretiyle aşından mütevellit immünite maddelerinin yeteri kadar teşekkülünü temin maksadiyle evvelâ antirabik serum, sonra aşı tatbiki lâzım geldiği kanaatini teyit etmiş oluyor. (Antirabik serum hakkında fazla izahat almak için, Türk Hijyen ve tecrübi biyoloji dergisi Cilt : VI, Sayı : 3, Sahife : 307 ye müracaat edilmelidir).

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 — Baltazard — Cronicle of the Who, Vol. 9 No. 11, 1955.
- 2 — Berke Zühdi ve Türkay Nafi — Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi Tome XV, No. 3, P. 307.
- 3 — Beignon et Violat — Annales de l'Institut Pasteur No. 3, 1953, P. 529.
- 4 — Cruveilhier et Violat — Annale de l'Institut Pasteur, Tome 59, 1937, P. 207.
- 5 — Habel K. — Public Health Rapports, Vol. 6, No. 20, 1945.
- 6 Irviug H. Borte M. D. — Iowa public Health Bulletin, Vol. LV, No. 3, 1941.

- 7 — Palavan Haydar — Kuzuz 1950.
- 8 — Meyer K. F. — Bull. Org. Mond. Santé. 1954, 10.
- 9 — Remlinger P. Bailly J. et Ahmed Hadji — Recueil de Med. Veter. Tome No. 1. 1955.
- 10 — Remlinger P. — Revue d'immun., Tome XVIII, No. 5—6. 1954.
- 11 — Tuncman Z. M. — Ağır kuduz teşriklarında kuduz serumunun koruyucu değeri ve mukayeseli sonuçlar 1956.
- 12 — Unat E. Kadir — Kuduz bilgelinde yenilikler, 1949.
- 13 — Rapport sur le fonctionnement technique en 1953 — Archive de l'Institut Pasteur au viet-nam 1954.
- 14 — Laboratory technic in rabies, 1954.

## RECHERCHES SUR LE POUVOIR RABICIDE DANS LES SÉRUMS DES SUJETS VACCINÉS PAR LE VACCIN SEMPLÉ [\*]

**Par. Dr. Nafi TÜRKAY**

Chef du Service Antirabique de l'Institut "Refik Saydam" Ankara

On sait qu'il y a une relation entre l'immunité et le pouvoir rabicide chez les individus traités par le vaccin antirabique.

Pour vérifier et justifier cette idée nous avons fait des essais sur 8 des 11 sujets mordus par un loup enragé dans le district de Tokat.

Toutes ces personnes ont été traitées à l'hôpital du district pendant 20 jours. Sur 2 personnes le 17<sup>ème</sup> jour et sur la troisième le 18<sup>ème</sup> jour, il avait été constaté par ledit hôpital des symptômes de rage. Après le décès de ces trois personnes, les autorités de Tokat ont envoyé les autres 8 personnes à Ankara, où nous avons continué à appliquer le vaccin encore pendant 10 jours. 26 jours après la première injection nous avons recherché des anticorps neutralisants dans leurs sérums sanguins. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau du texte turc.

Comme il ressort de l'étude du tableau, les sérums de toutes ces personnes contenaient des anticorps neutralisants et protecteurs.

Toutes ces personnes sont sous l'observation depuis 6 mois et ils se portent bien.

Nous ne pouvons rien préciser sur les anticorps neutralisants des personnes décédées. Car nous n'avons pas eu l'occasion de titrer leurs sérums. Mais nous croyons que ces personnes sont décédées avant la formation des matières immunisantes.

Cette observation nous amène à déduire que chez les personnes gravement mordues, le traitement doit être commencer par l'application du sérum antirabique.

[\*] Ce Communiqué a été délivré au Symposium Organisé par la section Européenne de l'Association International de Microbiologie réunie à Istanbul le 19/9/1957.

# ANADOLUDA, ARGAS REFLEXUS FABR. (GÜVERCİN KENESİ) NİN İNSANLARDA TEVLİT ETTİĞİ SİHHİ BOZUKLUKLAR UZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Doçent Dr. H. KURTPINAR

Argas reflexus'un tabii konakçıları güvercin ve diğer bazı kanatlılardır. Bununla beraber insanlara da saldırdıkları ve husule getirdikleri patolojik bozukluklara ait malûmata çok eskidenberi, bilhassa Avrupa neşriyatında raslanmaktadır. Fakat yaptığımız araştırmalarla yurdumuzda bu konuya ait hiç bir neşriyata rastlamadık. Ancak Vogel (1927), Ankarada kalnış olduğu otelin duvarında adı geçen keneyi bulunduğunu bildirmektedir.

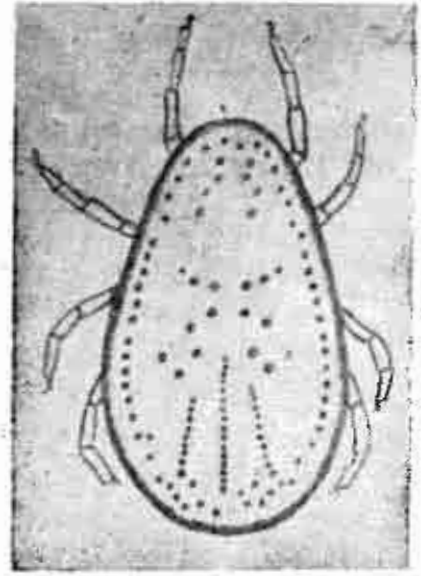
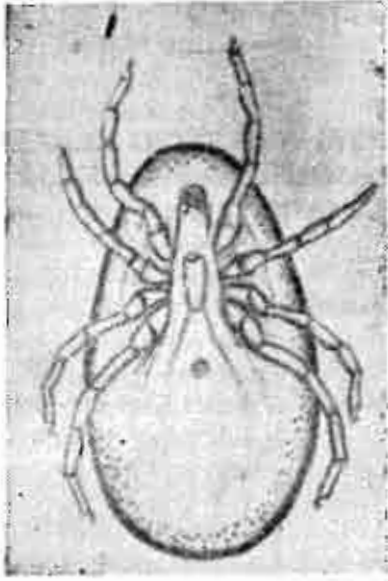
Sekiz yıldır memleketimiz keneleri üzerinde yapmakta olduğumuz araştırmalarda Argas reflexus'u yurdumuzun bir çok bölgelerinde daha ziyade kümes ve kafesler, keza çatısında güvercin ve serçeler barınan evlerde de rastladık. Kurtpinar (1954).

Argas reflexus'un memleketimizde insanları enfeste edişini ilk defa 1953 de Malatya, Sultansuyu Harası arabacı koğuşunda; ikincisini ise 1956 sonbaharında Horasan Eski Devlet Demiryolları İstasyon binalarında hususî surette tetkikine memur edildiğimiz vak'ada tespit ettik.

Bu gibi vak'alar dahi olsa meslekdaşlarımıza Argas reflexus'un genel özellikleriyle insanlarda husule getirdiği patolojik bozukluklara ait müşahadelerini, faydalı olur kanaatle neşretmeyi uygun bulduk.

## *Argas reflexus'un Morfoloji, biyoloji ve patojenitesi*

Argas reflexus, Argasidae familyasının Argas soyuna bağlı bir çok neviden bir tanesidir. Vücütleri çok yassı, ön nihayetleri dar arka nihayetleri daha geniş ve yuvarlak olup adeta bir yumurta şeklini andırırlar. Renkleri, bilhassa aç oldukları zaman kirli sarıdır. Ayaklarının rengi biraz daha açıktır. Erkeklerin boyları 4 ve genişlikleri 3 mm. dir. Dişiler ise kan emenmiş vaziyette iken 5x3 mm. ve kan emdikleri zaman 8x4 mm. kadar büyük olurlar (Şekil. 1).



*Argas reflexus*'un dorsal ve ventral görünüşü

Vücütlerinin kenarlarında gayri muntazam çizgiler bulunur. Kenarlar, bilhassa aç olanlarında hafifce yukarı doğru kıvrıktır. Dorsal yüzlerinde, disk denilen ve gayri muntazam dağılmış küçük, içleri çukur dairecikler bulunur. Ayakları oldukça kuvvetli ve hemen hepsi vücudun ön kısmından çıkarlar. Tarsusların ucundaki dorsal çıkıntılar iyi gelişmemiş olup büyüklükleri yekdiğerine eşittir.

Capitulum veya baş vücudun alt yüzünde ön nihayetine doğru bir çukurluğa yerleştiğinden üstten bakılınca görülmez. Palplerin eklemleri birbirlerinden ayrı büyüklükler gösterirler. Ağız vazifesini gören Hypostome'un tepesi yuvarlaktır. Üzerindeki dişcikler 2/2 olarak sıralanmışlardır. Bunlardan başka gene Hypostome'un üstünde ağız kısmının en önemli organı olup deriyi kesmeye yarayan iki adet Chelicere bulunur. Bu hayvanların gözleri yoktur.

*Argas reflexus*'un gelişmesine gelince; bunların olgunları tahta kuruları gibi gizlendikleri duvar, pencere ve direk çatlaklarında 60—70 kadar yumurta yumurtlarlar. İki veya üç hafta zarfında çıkan larvalar üç ayaklı ve oldukça faal olurlar. Bunlar memelilerden ziyade bilhassa kuşlardan kan emmeyi tercih ederler. Bir defa kan emmesi uzun zaman (bir kaç sene) gıda almadan yaşayabilmeleri için kâfi gelmektedir. Ancak 6—7 günde konakçıdan ayrılmamak şartile karınlarını doyurabilirler. Ve sonra konakçıyı terk ederler. İki hafta sonrada gömlek değiştirerek Nyctoph şekline girerler. Olgun şekillerine girmeleri için laboratuvar hava şartları altında ancak iki üç sene gibi uzun bir müddete ihtiyaç göstermektedirler. (Mayer ve Madel, 1941).



Bir çok araştırıcıların tespit ettiklerine göre akar'ın başlıca konakçısı güvercin, tavuk, kaz, serçe vesair kuşlardır. (N. Lemaire, 1938; Borchert, 1954). Güvercin ve diğer kanatlıları bulamadıkları zamanda insan ve maymun gibi memelilere salarlar. Asıl konakçılarını koku ve sıcaklık alma hassaları ile tayin ettikleri bildirilmektedir. (Kemper, 1941). Olgun Argas reflexus, konakçılarında yalnız gece kan emer. Gündüzleri ise duvar, direk vesaire yerlerin çatlak ve aralıklarına sokularak hiç hareket etmeden adeta l gibi dururlar. Olgunlarının kan emme müddetleri Alt'a (1879) göre 20 Metz'e (1911) göre 40—45 ve kendi deneylerimize göre 20—30 dakikadır. Dişiler ekseriya yumurtlamadan evvel kan emmeleri lâzımdır. Erkekler ise senede ancak bir defa kan emerler (Hoogstroot, 1956).

Müller'e (1939) göre güvercinlerden kan emmeyi müteakip ısırılan yerde evvelâ hafif bir kızartı ve sonra bir morarma ve bilaharede hafif iltihabi şişkinlik görülür. Bu hâl en fazla bir hafta sürer ve kaybolur.

Yapılan laboratuvar deneylerine göre kene, insanın kanını emdikten sonra ancak 9 gün yaşayabilir (Kemper, 1941).

İnsanları soktuğu zaman görülen reaksiyon ise şahsın bünyesine göre değişir. Bazı şahıslarda hiç bir tesir göstermezler. Fakat ekseriyetle, sokulan yer hemen yanmaya, kaşınmaya vecanak bir hal almaya başlar. Bir müddet sonra da hyperaemi ve şişme husule gelir (Weber, 1863). Arazın, bazı araştırıcılara göre daha şiddetli olarak tezahür ettiği tespit edilmiştir. Meselâ :

Boschulte (1860); bacağını Argas reflexus ısırımış iri cüsseli ve kuvvetli bir şahısta, derin, yuvarlak ve toplu iğne başı büyüklüğünde iltihabi bir yaranın teşekkül ettiğini ve bir müddet şonrada yaranın etrafının kızardığını ve daha şonrada bütün bacağının şişmesine sebep olduğunu müşahede etmiştir.

Taschenberg'in (1873) müşahedesini ise Argas reflexus istilasına uğramış bir evde bulunan çocukların bacak ve kollarının ısırılması ve sekiz gün müddetle şiddetli bir kaşıntı ve veca içinde kalmalarıdır.

Gibert (1896) ise yanakta husule gelmiş bir ısırımdan bahsetmekte ve ısırımış müteakip yaralanan yerin etrafının yaygın ve iltihabi bir durum alması ile bütün vctte ve yüzde kuvvetli bir yanma, kaşıntı ve ürtiker'le gözlerde iltihap, yüzde dem, dilde kuruma ve şişme yutma güçlüğü ve aynı zamanda nabzın ve teneffüsün sıkladığını grmştir. Isırılmadan yarım saat sonra ise umumî hal iyiliğe doğru yüz tutmuş, kaşıntı ve ürtiker ise üç günde kaybolmuştur. Fakat, yara yeri ise uzun müddet belli olmuştur. Bu alanda en son yapılan araştırmalara göre ise Kemper (1941) bazı şahıslarda ısırımış müteakip hiç bir reaksiyon görülmediği ve bazılarında tedavisi gç akıntılı yaraların husule geldiğini bildirmektedir.

Boettger (1955) ise ısırımış müteakip ısırılan nahiyenin tamamen şişmesi, ateşin 38° kadar çıkmaması, teneffüsün ve kalp atışlarının sratlenmesi, ve Lymphangitis gibi reaksiyonlar görüldüğünden hastanın en aşağı bir hafta istirahat etmesi gerektiğini bildirmektedir.

Argas reflexus'un çıkardığı toksinin neyine gelince; Erdmann bu hususta yapmış olduğu araştırmalarla zehirin bir alkoloid veya eter ve kloroform'da eriyen neviden olmadığıni meydana koymuştur. (Kemper, 1941). Bu toksinin nesic üzerinde olan tesiri henüz bilinmemektedir. Fakat Pawłowski ve Stein (1938) diğer kene nevileriyle yapmış oldukları deneylerle, insan derisinde husule getirdikleri histo—patolojik tegayyuratı tespit etmeğe muvaffak olmuşlardır. Meselâ Ornithodoros moubata'nın ısırmasıyla husule gelen histo—patolojik bozukluklarda : Lenf ve kan damarlarının genişlemesiyle derinin sathi ve orta tabakasında iltihabi enflitriasyonlar (polyblast ve Lymphocyt) görülmektedir.

### HUSUSİ ARAŞTIRMALARIMIZ

Bu hususta ilk araştırmamızı, 1950 yılında Malatya Sultansuyu Harasında yaptık. Haraya muvasalat ettiğim günü gecesi arabacı koğuşunda yatmakta olanlardan marangoz ustası ve çırağı biri kolundan diğeri göğsünden keneler tarafından ısırıldıkları telaşla bildirildi.

Hemen vak'a yerine gidilerek durumu tetkik edildiğinde ısırılan yerlerin bir toplu iğne başı büyüklüğünde kırmızı bir noktadan ibaret olduğu, aynı yer ve civarında dehşetli bir kaşıntı ve yanma başladığı ve hastaların her ikisinde de mide bulantısı, salivasyon baş dönmesi titreme, kalp atışında ve teneffüste hızlanma görülmüş fakat ateş kayıt edilmemiştir.

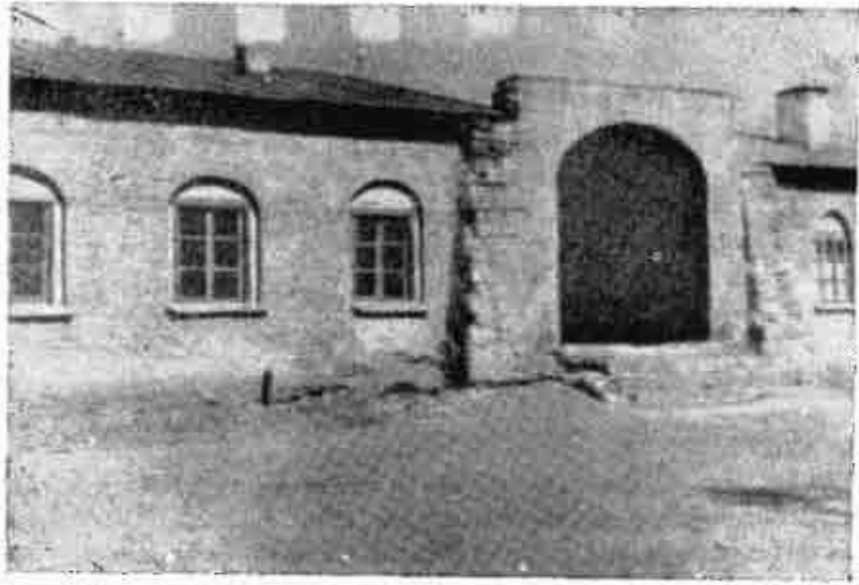
Gece hadiseyi müteakip vak'a mahallinde keneler arandığında ancak göğsünden ısırtılanın, çannının acısıyla ezerek yakaladığı keneden başkası bulunamamıştır. Gündüz yaptığımız araştırmalarda ise, binanın çok eski olduğu ve vaktile çatısında güvercinlerin barındığı bildirilmiştir. Koğuşun çatlak duvarını sıvasını biraz yıktığımızda ise 25 adet olgun Argas reflexus kolonisine rastladık. Bunlardan 20 adedi dişi ve geri kalanı erkekti. Hemen hepsi kaçtı.

Hastaların durumuna gelince, bütün göğsünü kaplamış vaziyette bir ödem, kaşıntı ve dermansızlık devam etmekte ve buna ilâveten de iştahsızlık baş göstermişti.

Kalbin atışı ve teneffüs adedi bir müddet sonra normal şekline girmiştir. Diğer arazlar her iki hastada da dört gün aynen devam etti. Bu müddetten sonra ödem yavaş yavaş kaybolmağa başladı ve görülen diğer arazdan yalnız kaşıntı on gün daha devam etmiştir.

İkinci araştırmamızı 1956 da hususi surette gitmiş olduğumuz Horasan'da yaptık. Vak'anın olduğu yer halen D.D.Y. personeli için koğuş olarak verilen eski Darhat İstasyon binası idi. (Şekil 2). Binalar uzun zaman kullanılmadığından çatı katları güvercin barınakları haline gelmiş, nihayet koğuş olarak kullanıldığı için bir kaç yılda güvercinler binayı tamamen terk etmişlerdir. Personel koğuşunda temizliğe azami değere riayet edildiği halde çatıda yıllardanberi aç kalmış olan Argas reflexus'lar ge-

geleri tavan çatlaklarından yataklara inmekte ve adeta istilâi bir şekil almakta idiler. Netekim koğuş duvarlarında arama yaptığımız zaman 100 adet kene topladık. Bunların muayeneleri sonucu 76 tanesi dişi ve mütebakisinin erkek olduğu tespit edildi. Diğer önemli hususiyetleride, ilk vak'ada olduğu gibi hepsinin aç olmalarıdır. Bu durumda gösteriyorki bu gibi yerlerde parazitler uzun zaman aç kaldıklarından, gelişme gösterememektedirler.



*Klişe 3 — Eski dar hat İstasyon binası*

Koğuşta yatan 20 kişiyle yaptığımız konuşmalarda hemen hepsinin muhtelif zamanlarda bilhassa kol, bacak, banyon ve iki kişininde penis ve testis'leri üzerinden ısırdıkları bildirildi. Bunlardan on kişi müteaddit defalar ısırılmışlar ve her defasında yalnız bir iki gün içinde kaybolan küçük ve kaşıntılı ekimozlardan başka bir şey görülmediği halde diğerlerinde birinci vak'amızda sıraladığımız araz'ın hemen hepsinin görüldüğü bildirilmektedir. Hatta bazılarında üdem ve kaşıntıların henüz mevcut olduğu tespit edildi. Dikkati çeken bir hususta bu şahısların çok yorgun oldukları halde gece kene korkusundan uyuyamamalarıdır.

Horasan'a mavaşlatımızda yeni vak'a olarak istasyon şefinin sol baldırından ısırıldığını gördük. Fakat araz olarak sadece hafif üdem ve kaşıntıdan başka bir hâl müşahade etmedik.

Dexlet Demiryolları, Erzurum bölgesi sağlık teşkilâtih bu hususta yapmış olduğumuz görüşmelerde, kene ısırma vak'alarının adı geçen istasyondan başka, Erzurum

bölgesi istasyon binalarında da üç vak'a zuhur ettiğini ve şiddetli araz ile birlikte hastalarda 38° ateşte tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu gibi olaylarda tıbbi müdahalenin, ancak arazi tedaviden ibaret kaldığını, bazı vak'alarda antibiotikler tatbik edilmiş ise de iyi netice alamadıklarını beyan etmişlerdir.

Almanya'da Boettiger (1955), musaplara Anti—Allergicums Sovental tatbikinden iyi netice aldıklarını bildirmektedir.

Parazit ile mücadele de Boettiger (1955) DDT den istifade ettiklerini ve ilâçladıkları yerlerde üç hafta müddetle kene görünmediğini bildirmektedir.

Martini (1952) ise Gamexan'ı tavsiye etmektedir. Bizde, iki vakamızda binaları bilhassa tavan aralarından başlayıp bütün odaların tavan ve duvarlarını hiç kuru yer bırakmamaksızın, Benzenhexachloride'in % 2 sulu suspansiyonun tazyikli püskürtme makinesile ilâçlamadan iyi sonuçlar aldık.

Adı geçen vak'a mahallerindeki binalarda yeni bir enfestasyon olmadığından, bir defa ensektisit tatbiki radikal bir temizleme vazifesini görmüştür.

### HÜLÂSA VE NETİCE

Yapılan araştırmalarla, Argas reflexus'un orta ve doğu Anadolu gibi kurak mıntikalarda bulunduğu kayıt edilmiştir (Kurtpınar, 1954). Fakat kanatlılardan başka insanlara saldırışlarını ancak Malatya ve Erzurum (Horasan) da tespit etmiş bulunuyoruz.

Parazit, hakiki konakçısı olan güvercinlerin ve bilhassa yavrularının kanını emmekle telefata sebebiyet verdiği gibi diğer kanatlılarında Spirochaeta gallinarum'un ve muhtemelen gene kanatlıların Piroplasmosis (Aegyptianella pullorum) ı da taşıdığı bildirilmektedir (Hoogstrall, 1956).

Bu güne kadar yapılan araştırmalarla ise, insanlara ait hiç bir hastalık amilini taşımadığı anlaşılmıştır.

Argas reflexus, insanlara saldırdığı takdirde ise, ısırılan şahsın hassasiyetine göre çeşitli reaksiyonlar doğurur. Araştırmalarımızda kayıt ettiğimiz 22 vak'adan on ikisinde kuvvetli reaksiyon, yani yaygın bir ödem, kuvvetli kaşıntı, derinansızlık, mide bulantısı, kalp atışı ve teneffüs'te sıklaşma ve bir kaç vak'ada 38° ateş görülmüştür.

Toplanan kenelerin hemcün hepsi gelişmesini tanımlanmışlardır. Argas reflexus ile mücadelede % 2 Benzenhexachloride suspansiyonundan iyi netice aldık.

Yurdumuzda oldukça yaygın bir durumu gösteren kanatlıların ve insanların sıhhati üzerinde önemli bozukluklar hüsule getiren bu kene ile mücadele de hijiyen kaidelerine de büyük önem vermek gerekmektedir.

SUMMARY

1 — In the two Northern provinces of Turkey (Erzurum and Malatya) we observed severe infestations of dormitories with the pigeon tick *Argas reflexus*. The parasites invaded the sleeping rooms from the attic of the buildings which were for many years resting places of pigeons.

All the specimens which were collected from the walls of the dormitories were in adult stages.

2 — From our 22 cases of tick bite, 12 persons showed severe reaction, such as pain and oedematous swelling in the place where they had been bitten, shortness of breath, palpitation, dulness, raising of temperature to 38 C and profuse perspiration, and itching.

In majority of the cases the bites occurred chiefly on the hands and feet. In one case the bite was on penis and in the other one on chest.

3 — The control of *Argas reflexus* was very successful with the heavy spray of 2 per cent Gammexane (BHC).

L I T E R A T U R

- Alt, K. (1893) Die Taubenzecke als Parasit des Menschen. Zbl. Bakter. Abt. Orig. 14, 468. (K. H. Müller, Diss. 1939).
- Boettiger, R. C. (1935) Gesundheitsstörungen des Menschen durch den Befall mit Taubenzecken. Z. Angew. Zool. 1, 15—21.
- Borchert, A. (1954) Lehrbuch der Parasitologie für Tierärzte. Leipzig.
- Beschulte, (1860) *Argas reflexus* als Parasit des Menschen. Arch. Path. Anat. Phys. Klin. Mediz. 18, 554—556. (H. K. Müller, Diss. 1939).
- Gilbert, J. M. (1896) L'Argas reflexus et son Parasitisme chez l'homme. Thèse. Bordeaux.
- Hougstraal, H. (1936) African Ixodidae Vol. I. Ticks of Sudan. Dept. of the Navy.
- Keuper, H. v. Reichmuth, W. (1941) Die Taubenzecke als Parasit des Menschen. Z. Angew. Ent. 28, 507—518.
- Kurtjinar, H. (1954) Türkiye keneleci, Ankara.
- Martini, E. (1952) Lehrbuch der Medizinischen Entomologie. Jena.
- Mayer, A. v. Madel, W. (1970) Beobachtungen über das Auftreten und Bekämpfung von Taubenzecken (*Argas reflexus*). Angew. B. 41, 28—32.
- Meitz, K. (1911) *Argas reflexus*, die Taubenzecke. Monat. Prax. Tierheilk. 481—510.
- Müller, K. H. (1939) Zur Biologie der Taubenzecke, *Argas schulzei*. Diss. Berlin.
- N. Lemaire, M. (1938) Traité d'Entomologie Médicale et Vétérinaire. Paris.
- Pawlowski, E. S. v. Stein, A. K. (1927) Über die Wirkung des Stiches von *Ouidiodoros papillipes* Br. auf den Menschen. Festschrift für B. Nocht, Hamburg, 401—408.
- Stehauspode, F. (1927) La spirrochetose des poules en Grèce. Zbl. Bakter. 87 Referate.
- Vogel, R. (1927) Einige Beobachtungen über Zecken Klammsens. Zbl. Bakter. 103, 119—123.
- Weber, (1933) *Argas reflexus*. Ber. Münchener Vereins Naturk. 29, 28—30. C. R. Boettger (1935), ZEITSCHR. angew. Zool. 1, 15—21.

## MEMBRAN FİLTRELER İLE ANTİBİYOTİK HASSASİYET DENEYLERİ

Bakteriyoloğ  
**Necmettin ALKIŞ**

Refik Saydan Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü — Ankara

Bu mesaimizde [\*] Membran Filtreler üzerinde çeşitli mikropların antibiotiklere karşı hassasiyetini kontrol ederek, diğer sulu ve katı vasatlarla bir seri mukayesesini yapmış bulunuyoruz. Mevzua girmeden önce Membran filtreler hakkında muhtasar malûmat vermeği faydalı bulmaktayız.

(Moleküler Filter) ve (Millipore Filter) isimleri ile de anılan Membran Filtreler ile önce Almanlar ve Ruslar tarafından su bakteriyolojisine sokulmuştur, daha sonraları Amerikalılar tarafından tekâmül ettirilmiştir. Su muayeneleri için kullanılan Membran Filtreler 45—50 mm. kutrunda, 150 mikron kalınlığında beyaz zar gibi disklerdir. Muhtelif maksatlar için eb'ad, kalınlık ve mesamat büyüklüğü itibariyle sayılamıyacak kadar çok çeşitleri vardır. Bir fabrikasyon sırrı olan imâl hususiyetleri Membran Filtrelerin süzülen mayideki organizmlerin hemen hepsinin üst sathlarında (15 mikrondan daha derine geçmelerine imkân vermeyerek) tutulmalarına ve besleyici vasatın Membran Filtreler tarafından kolayca emilmesine imkân verecek surette konik kanalcıklar ihtiva etmesini temin eder. Bu konik yollar filtre derinliğinde ve sathında arzanî bir ceryana tamamen mâni olur. Dolayısıyla de bakteri yayılmasını önler.

### Materyel ve metod :

- 1 — 5 cm. lik Petri kutuları
- 2 — Havagazı beki
- 3 — Süzme hunilerini havi erlenmayerler
- 4 — Penset
- 5 — Alkol
- 6 — Membran filtreler
- 7 — Steril filtre yastıkları

[\*] Beni bu mevzu üzerinde çalışmağa teşvik eden Şefim Dr. Tahsin Berkın ve Dr. Mu-  
vaffak Akınat'a teşekkürler ederim.

8 — Zimba ile delinmiş 7 mm. kutruna küçük filtre diskleri

**Petri kutular :** 5—6 cm. çapında Pyrex veya adi camdan veyahut ta 300-500 cc. lik şişelerin diplerinin kestirilmesi ile hazırlanan Petri kutuları kullanılabilir.

**Filtreler :** 47 - 50 mm. lik filtreler kullanılır.

**Filtre yastıkları :** Filtre büyüklüğünde, takriben 1 mm. kalınlığında filtre kâğıdından kesilmiş diskler kullanılır.

**Erlenmayerler :** Yanlarında bir emme tüpü bulunan 500 cc. lik erlenmayerler uygundur. Bu emme tüpü lâstik boru ile bir emme tulumasına veya trompa takılır.

**Süzme hunisi :** Muhtelif şekilleri vardır. Bir huni kısmı ile kaideden ibarettir. Huni iki parça halinde kâğıda sarılarak sterilize edilir.

**Penset :** Ucu tırnaksız ve tırtıksız plâklar halinde olmalıdır.

Yukarıda anlatılan ve kuru hararetle sterilize edilen Petri kutularının içerisine 3 mm. derinlik husule gelecek miktarda (6-8 cm<sup>3</sup>) kadar eritilmiş parafin dökülür.

Dökülen parafin mutlak şekilde iyice donmadan 8 mm. çapında bir tüp vasıtası ile yuvarlak çukurlar açılır, veyahutta muntazam dairevî, aynı çapta bir lâstik boru ile parafin dökülmemiş Petri kutusuna 3 mm. yükseklikte kabartılar konulur. (denenmesi arzu edilen antibiotik adedi kadar) Yalnız bu usulle kabartı yapmak, tercihe şayan değildir. Lâstik boru hararet tesiri ile şeklini çabuk kaybedebilir ve parafinin çabuk donması ile kaybedilecek zaman karşısında parafinin fazla sarfiyatı israf sayılmaz. Parafin mesnet üzerinde açılan çukurlara yerleştirilecek olan 7 mm. çapındaki adi filtre diskleri, silindirik şeklinde ve bir ucu keskinleştirilmiş bir madeni boru vasıtası ile adi filtre kâğıtlarını 4-8 e katlayarak kolayca kesilebilir.

**Denenen vasatlar ve indikatörler :**

I — Adi buyyon

II — Zenginleştirme vasatı :

Membran filtre üzerindeki mikroplara üremenin başlamasını temin için düşünülmüştür.

Yeast Extract	6 gram.
Proteose pepton	40 „
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	3 „
NaCl	5 „
Distile su	1000 cc.

Eriyinceye kadar ısıtılır pH sterilizasyondan sonra 7.0 olacak şekilde ayarlanıp süzöldükten sonra balonlara taksim edilerek sterilize edilir.

### Andrade İndikatörü :

Asid füksin 200 Mgr. tartılıp 100 cc. damıtık suda eritilir. Renk kırmızı olur. N/1 NaOH damlatılır. Her damladan sonra 5 dakika beklenilir acele edilirse endikatör iyi olmaz. Renk kalevi ilâve edildikçe kırmızıdan penbeye, esmer sarıya nihayet sarı renge döner ve bu anda kalevi ilâvesine son verilir. Mutad olarak rengi sarıya tahvil için 17 cc. N/1 NaOH yeter.

Vasat III — Zenginleştirme vasatı	10 cc.
Andrade endikatörü	1 cc.
Glycose	250 Mgr.

Steril bir tüpe 10 cc. zenginleştirme vasatından konur. İçerisine 1 cc. Andrade endikatörü ve 250 mgr. Glycose koyarak tüp iki avuç içerisinde dairevi hareketlerle döndürülerek glycose eritilir. Bu halde vasatın rengi et suyu rengini alır.

### Hassasiyet deneyine tâbi tutulan bazı antibiyotiklerin nihai konsantrasyonları :

Penicillin	1 Ü/cc. de olmak üzere serum phys. ile sulandırılır.
Streptomycine	10 gama/cc. de „ „ (Eau Dist. ile sulandırılır)
Tetracycline	30 gama/cc. de „ „ „ „ „ „
Chloramphenicol	30 gama/cc. de „ „ „ „ „ „
Eritromycine	2 Ü/cc. de „ „ „ „ „ „

Olmak üzere taze mahlüller halinde hazırlanır. Tecrübeye kadar buz dolabında veyahutta birkaç hafta zarfında kullanmak şartıyla dondurulmuş olarak dipfirizde muhafaza edilir.

### Tecrübenin yapılışı :

18 veya 24 saatlik buyyon kültürü hazırlanarak tecrübelerle girişilir. İki seri Petri kutusu ile çalışılır. Birinci seri Petri kutusuna (eğer hassasiyet deneyi yapılacak kültür bir tane ise her seride ki Petri adedi birer tanedir); içerilerindeki filtre yastıklarının tamamen ıslatacak ve arttırmayacak miktarda (takriben 2—2,5 cc) kadar) zenginleştirme vasatı konur. Filtre yastıklarının emmediği, Petri kutusunda artan vasatın fazlası 1 cc. lik Pipetle alınır.

Steril filtre hunisinin kaide parçası kavuçok mantar yardımı ile erlenmayere sıkıca takıldıktan sonra, yeniden alkole batırılıp alevden geçirilen



pensetle tutulan steril bir membran filtre bu kaide üzerindeki mesamatlı disk üzerine konup, huni parçası bunun üzerine yerleştirildikten sonra vidalı bilezikle sıkıştırılır.

Membran filtrenin mesamatlı disk üzerine ve tam ortasına oturmasına ve vidalanırken kenara kaçmamasına ve membran filtrenin zedelenmemesine dikkat edilmelidir.

18 veya 24 saatlik buyyon kültürünü havi şişe dikkatlice iyice çalkalandıktan sonra 25 cc. lik bir pipetle huninin içerisine döküldükten sonra vakuum pompası işletilip irtibat musluğu açılır. Kültürün tamamen süzülmesi beklenilir. İrtibat musluğu kapatılır ve huni vidalı bilezik gevşetilmek kaldırılır.

Alevden geçirilen pensetle kenarından tutularak kaldırılan Membran filtrenin üst kısmının gene üste gelmesine dikkat edilerek Petri kutusundaki vasat emdirilmiş filtre yastıkları katının üzerine yerleştirilir. Bu yerleştirme işinde dikkatli olmak icabetmektedir. Çünkü eğer Membran filtre ile yastık arasında hava habbecikleri kalacak olursa bu kısımlara isabet etmiş olan jermeler gıda alamıyacıklarından üreyemezler. Bu fena ihtimali önleyebilmek için pensetle kenarından tutulan membran filtre Petri kutusunun kenarına temas ettirilerek 60 derecelik bir zaviye ile kaydırılır. (yastık üzerine)

Filtre kâğıtlarındaki vasat derhal membran filtreye nüfuz eder. Hava habbelerinin bulunduğu yerler kuru ve beyaz kalmaları ile anlaşılır. Bu takdirde membran filtre bir kenarından tutularak hava habbelerinin kaçması temin edilir. Membran filtrenin Petriye yerleştirilmesi bittikten sonra Petri kutusu alınarak 37 derecelik etüve veyahut ta 37 derecelik kapalı bir su banyosu üzerine yerleştirilir.

Sterilite ve materyel kısmında da anlatılan parafin yastık üzerinde açılmış olan çukurlara 10—14 kadar 7 mm. çapında ufak filtre diskleri birbirlerinin üzerine koyarak yerleştirilir. Bu disklerin yüksekliği parafin kısmını 3 mm. kadar tecavüz etmelidir.

Çukurlardan birisi kontrol olmak üzere denemeye sokulacak antibiotiklerin (10 cc. zenginleştirme vasatı 1 cc. Andrade + 250 Mgr. Glycose olan vasatta) nihai dilisyonları yapılarak her çukura 0,5 cc. ve kontrol çukuru na da yalnız vasattan 0,5 cc. konur. Vasatı diskler üzerine koyarken pipeti yukarıdan ve filtre yastıklarının tam ortalarına koymağa dikkat etmelidir. Aksi takdirde silindir şeklindeki diskler devrilebilir.

Membran filtrelerin enkübasyonda 60—75 dakika bekletilmesi kâfidir. (Daha uzun müddet bekletildiği takdirde membran filtrenin kısmında yaygın bir üreme husule geleceğinden deney sonucunu yanıtlanabilir).

Bu müddet sonunda Petri ler etüvden alınarak vasat ve antibiotik leri havi asıl Petri kutularının bir kenarından kaydırarak dikkatlice diskler üzerine yerleştirilir. Bu Petri kutusu gerekli rutubeti temin etmek ve disklerdeki vasatın kurumamasını temin etmek gayesiyle nemli bir havlu içeri sine konarak 37 derecelik etüvde 12 saat enkübe edilir.

Enkübasyon hitamında vasattaki endikatör ve glycoseden ötürü kontrolda ve jermin hassas olmadığı antibiotiğ havi çukur sathın isabet ettiği membran filtre üzerinde, daire şeklinde portakal kırmızısı renginde uygun bir üreme olacaktır. Jermin hassas olduğu satıhta ise hiç bir üreme olmayacaktır.

### Münakaşa ve netice :

Bu metotta :

- I — Enkübasyon süresinin kısalığı,
- II — Kullanılan vasatların ehemmiyetsiz denecek kadar az oluşu,
- III — Petri kutularına konan parafinin tecrübeler neticesinde toplanarak eritilip tekrar kullanılabilmesi,
- IV — Deney sonunda membran filtrenin kurutularak saklanabilmesi,
- V — Kullanılan antibiotik solüsyonlarının miktarlarının az oluşu,
- VI — Sterilitenin pek mühim olmayışı,
- VII — Mukayeseli tetkikte, tüp ve plâk metodlarından farklı bir netice vermeyişi ile kullanılabilceği kanaati, bizde hasıl olmuştur.

En büyük mahzur olarak çukurlara konan filtre disklerinin birbirleri üzerine yerleştirildikten sonra vasatı korken çukurdan taşması ile çukurlardaki mayilerin birbirlerine karışmasıyla yanlış neticelerin alınabileceği zikredilebilir.

### Membran Filtreler ile Antibiyotik Rezistans deneyi

#### Özet :

Bu mesaimizde Membran filtre üzerinde çeşitli mikropların antibiyotiklere karşı hassasiyetini kontrol ederek, diğer sulu ve katı vasatlarla bir seri mukayeselerini yapmış bulunuyoruz.

Bu muayeneler için 4,5 cm. çapındaki steril petri kutularının içeri sine 3 mm. derinlik husule getirecek miktarda (6 - 8 cm<sup>3</sup>) eritilmiş par-

finden dökülür. Dökülen parafin iyice donmadan 8 mm. çapındaki bir tüp vasıtasıyla hassasiyet testinde denenmesi arzu edilen Antibiyotik adedinden 1 fazla yuvarlak çukurlar açılır. Bu oyuklara 7 mm. çapında, adi süzgeç kâğıdından kesilmiş 10—14 kadar disk birbiri üzerine konarak yerleştirilir. (Bu disklerin yüksekliği parafin mesneti yüzünü 3 mm. geçmelidir.)

II — 18 veya 24 saatlik boillon kültürü avuç içerisinde iyice çalkalandıktan sonra M. F. üzerinden süzülür ve Membran filtre yardımcı bir petri kutusu içerisinde bulunan 1,5 - 2 cm<sup>3</sup> zenginleştirme vasatı emdirilmiş süzgeç kâğıtları üzerine yerleştirilerek 37 derecelik etüvde 60-75 dakika enkübe edilir. Bu müddet sonunda petri kutularından çıkarılır. Ve esas petri kutusundaki süzgeç kâğıdı disklerinin üzerlerine denemeye sokulacak antibiyotiklerin nihai dilisyonları yapılarak (10 cc. zenginleştirme vasatı 1 cc. andrade + 250 mgr. glikoz mahlülü içerisinde) her antibiyotik mahlülünden 0,5 cc. ve kontrol çukuruna da vasattan (Zenginleştirme vasatı, andrade ve glikozlu) 0,5 cc. konur.

III — M. F. diskler üzerine yerleştirilerek nemli bir havlu içerisinde 37 derecelik etüvde 12 saat enkübe edilir.

Enküasyon hitamında vasattaki endikatör ve glikozdan ötürü mikrobu hassas olmadığı antibiyotik'i havi oyuğun isabet ettiği membran filtrenin yanında portakal kırmızısı renginde dairevi uygun bir üreme olacaktır.

Hassas satıhta ise hiç bir üreme husule gelmez.

## ANTIBIOTIC SENSITIVITY TEST BY USING OF MEMBRANE FILTER

Bakteriolog

Necmettin ALKİŞ

Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara - Turkey

We used membrane filter for testing sensitivity or resistance of different organisms to antibiotics.

Following is a brief description of the method as used in our experiments.

1 — Melted paraffin was poured (6—8 cc.) into a sterile Petri plate (4—5 cm. in diameter) enough to form a pool about 3 mm. deep. Before paraffin is almost completely frozen, holes were made by using of a sterile glass tubing or a test tube (about 8 mm. in diameter) enough to cover the number of antibiotic dilutions. An additional hole was included in the

series for control purposes containing diluent only. Paper disks were prepared 7 mm. in diameter from ordinary white filter paper and 10 or 14 disks were placed in each paraffin hole. (Disks level was maintained at about 3 mm. high the surface of paraffin)

2 — The content of an 18 or 24 hour broth culture tube was mixed by rotation between the palms of hands then filtered through a membrane filter. This membrane filter was then placed on a filter paper which was placed in a second Petri dish and saturated with approximately 1.5 - 2 cc. of the enrichment medium. The Petri dish was incubated 60—75 minutes at 37 C. The final dilutions of antibiotics were made (10 cc. enrichment medium, 1 cc. Andrade, s indicator in 250 mg. glucose solution.) and each dilutions was pipeted in 0.5 cc. amounts onto the paper disks which were placed in paraffin holes. The diluent was also pipetted in 0.5 cc. amounts onto the control disks.

3 — The preparation was covered with the membrane filter and wrapped in a moist towel to prevent drying. It was then incubated for 12 hours at 37 C. At the end of the incubation period the surface of membrane filter was examined for the presence or absence of growth. With resistant organisms growth occurred over the surface of the membrane filter producing an orange - red circular area.

#### LITERATURE

- 1 — Akınan Müvaffak : Neşredilmekte olan (Su, Sitt, ve Gıda maddeleri) adlı kitabından. 1957.
- 2 — Akyaz N., Payzin S. : Yiyecek ve içeceklerin Bakteriyolojik kontrolleri 1949.
- 3 — Fişek H. Nusret : Bulaşıcı hastalıklarla mücadele ve laboratuvar teşhis usulleri. (Amerikan Halk Sağlığı Birliği tarafından hazırlanan "Diagnostic procedures and Reagents" adlı kitabın 3 üncü baskısının tercümesi 1956.
- 4 — Gören Sadık : Türk İliyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi Cilt : XVI. S. 3.
- 5 — Horst Habs : Bacteriologisches Taschenbuch, 1955.
- 6 — : Principles and Practice of Antibiotic Therapy, Wele 1957.
- 7 — APHA 2/c : Standard Methods for the Examination of Water, Sewage and Industrial Wastes 1955.
- 8 — Marial. Gruzladze — Celorai : Membran filtre verfahren zur Isolierung von sporenbildenden Anaerobiern aus Wasser, Zentralblatt, Band 168 Heft 5/6 1957.
- 9 — Symor Levine : Staling in Membrane Filter Cultures Journal of Bacteriology Vol. 66 No. 5. 1955.
- 10 — Harold P. Clark, Edwin E. Geldreich, Harold L. Jeter and Paul W. Kabler : The Membrane Filter in Sanitary Bacteriology Report No. 3101 Public Health Reports Vol. No. 30. 1954.

# (MEMBRAN FİLTRE) VE (KUVVETLE MUHTEMEL SAYI) USULLERİYLE SULARDA MUKAYESELİ KOLİFORM BAKTERİ SAYIMI

**Dr. Muvaffak AKMAN**  
Befik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

(Molecular Filter) veya (Millipore Filter) sinonimleriyle anılan ve Türkçe dilinde (Zar Süzgeç) diye isimlendirilebileceğimiz (Membran Filtre) ler, sellüloz esterlerinden mamûl, takriben 150 mikron kalınlık ve 5 cm. kütüründe zarınası disklerden ibarettirler. Bunların imâl hususiyetleri, arzu edilen mesamat büyükyüğüne tabî olmak üzere, bakterilerin (veya umumî olarak partiküllerin) sathlarından 15 mikrondan daha içeriye nüfuz etmeksizin tamamen tutulmalarına, sathlarında veya derinliklerinde arzanî cereyanların önlenmesine ve üzerine yerleştirildikleri sathtan mayî veya yarı mayî haldeki besleyici vasatın konik kanallar yolu ile sathında tutulmuş olan bakterilere kadar ulaştırılmasına imkân vermektedir. Kâfi miktarda gıda alabilen bakteriler bu filtrelerin sathlarında üreyerek gözle görülebilen koloniler teşkil ederler.

Membran Filtreler (Bundan böyle metinde MF olarak zikredilecektir), önce Almanlar ve Ruslar tarafından su bakteriyolojisine sokulmuş ve bilhassa ikinci Cihan Harbinden sonra Amerikada ıslah edilerek hemen hemen bütün bakteriyolojik, Şimik ve Biyolojik tecrübelerle adapte edilmişlerdir. (1) (2) Bu filtrelerin, sularda Koliformı aranmasından başka, Total Jerm sayımı (3) (4) (5), Enterokok sayımı (6), Salmonella izolasyonu (3) (4) (7), Shigella tespiti (8) Sütlerde kolimetri (9), Liquorda Tb basilleri aranması (10), Fungus ve Plankton sayımları ile bazı Biyolojik ve Şimik muayenelerde üstünlük sağlayabilecekleri bildirilmiştir. (8). MF'ler her gün yeni yeni kullanılış sahaları bulmaktadırlar. Bu kabilden olarak Bakteriyoloji Şubemiz Mütahassıslarından arkadaşımız Necmettin ALKİŞ, MF'lerin Antibiyotiklere rezistans tecrübelerinde muaffakiyetle kullanılabileceğini göstermiştir. (11)

MF'ler hakkında daha geniş bilgi edinilmesi için yukarıda verilen referanslara müracaat edilebilir. MF kullanılarak sularda Koliformı Bakteri arama tekniği ise bilhassa (1) (4) (7) (13) (14) ve (15) sayılı referanslarda teferruatlı olarak bulunabilir. Bu yazımızda bizi bilhassa ilgilendiren cihet, bu yeni tekniğin, halen bir çok menleketlerde ve bu arada Enstitümüz Bakteriyoloji Laboratuvarında da suların Koliform bakteriler bakımından muayenelerinde kullanılmakta olan (Kuvvetle muhtemel sayı usulü = Laktozlu Fermentasyon Tiplerine ekimi) ile ne derece yakınlık gösterdiği meselesidir. Bu bakımdan yazımızla (MF ile Koliformı arama tekniği) üzerinde fazla durulmayacaktır.

Son yıllarda, MF tekniğinin diğer Koliform testlerinin yerine ikame edilmesi imkânlarını araştırmak gayesiyle müteaddit tetkikat yapılmıştır. Bu tekniğin carî usullerden üstün veya hiç olmazsa onlar kadar hassas olduğu ispat edilebildiği takdirde, suların sıhhi kalitelerinin tespiti daha kısa bir zamanda ve daha az emek ve materyel sarfı ile yapılabilecektir. Zira, suların sıhhi kalitelerinin tespiti gayesile yapılan rutin bakteriyolojik muayenelerde henüz son söz söylenmiş değildir ve muhtelif araştırmacılar arasında bir fikir birliği teessüs edememiştir. (14).

Amerikada MF tekniğinin önderlerinden olan Dr. Paul Kabler, 1954 te Amerika kadaki 9 muhtelif laboratuvarında cem'an 1706 su nümunesinin MF ve kuvvetle muhtemel sayı usulleriyle yapılan mukayeseli Koliform sayımlarının neticelerini yayınlamıştır. (12) Bu tecrübelerde her su nümunesinden kuvvetle muhtemel sayıyı hesaplanması için Laktozlu Fermantasyon Tüplerine 5 porsiyon 10 cc, 5 porsiyon 1 ve 5 porsiyon halinde 0.1 cc. lik miktarlarla ekilmiş, ve nümunenin tahmini kirlilik derecesine uyularak bir tek porsiyon halinde 0.001 — 100 cc. lik miktarları MF'lerden süzülerek tecrübeye sokulmuştur. Neticede, Nümunelerden % 73.8 inin her iki usulde verdikleri Koliform sayıları arasında istatistik yönünden ehemmiyetli bir fark bulunmadığı (yani tecrübelerin % 73.8 inde iki usulün birbirini tuttuğu), ve muhtemelle MF'lerin daha düşük Koliform sayıları verdiği görülmüştür. Fransada yapılan diğer bir tetkik de, her iki usulün, nümunelerin % 96 sında mukayese edilebilir neticeler verdiğini göstermiştir. (13). Müellifler MF tekniğinin, halihazır metodların yerini tamamen alabilmesi için vaktin henüz erken olduğunu, hem vasat ve usullerde bazı gelişmelerin icap ettiğini ve hem de daha geniş mikyasta yapılacak mukayeseli kontrollerin neticelerine intizar etmek zarureti bulunduğunu bildirmektedirler.

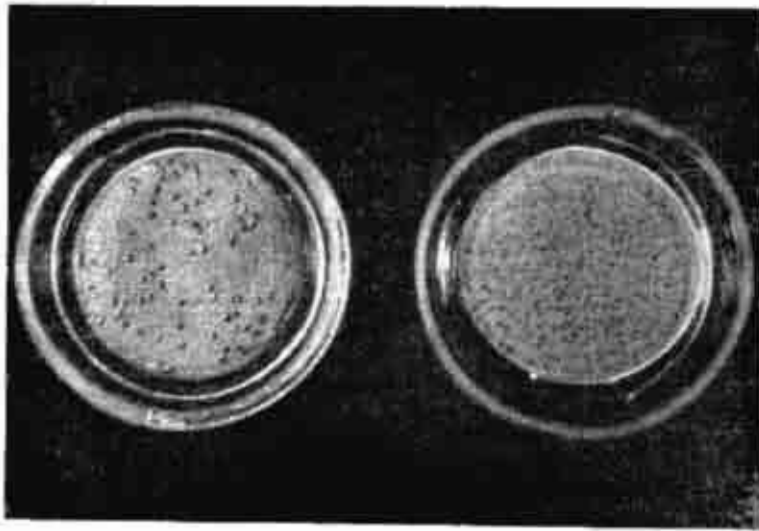
Biz de, MF tekniği ile Laktozlu Fermantasyon Tüplerine ekim (kuvvetle muhtemel sayı) usullerini mukayeseli olarak kullanarak, daha basit şekilde, 140 su nümunesini Koliformlar bakımından tetkik ettik ve bu iki tekniğin uygunluk derecelerini inceledik. Bu yazımızda, tecrübe neticelerimizi verecek ve neticelerin münakaşasını kısaca arzedeceğiz.

### *Materyel ve Metod :*

Tecrübelerde, Carl Schleicher ve Schuell kumpanyasının (Coli—5) MF'leri kullanılmıştır ve bunlar kullanılmadan önce distile su ile 3 defa kaynatılarak muhtemel toksik tesirleri izale edilmiştir.

— MF tekniği, (1) ve (14) sayılı referanslarda verilenin aynıdır. Özel lümi ve vacuum pompası kullanılarak her nümüne için arzu edilen miktarda su MF'den süzülmüş, filtreler önce (Zenginleştirme vasatı) (1) (14) ile ısıtılmış filtre yastıkları üzerine yerleştirilerek, ıslak bir havlu ile sarılmış durumda 37 derecede 2 saat enkübe edilmiştir. Bu müddetin bitiminde (Mayı Endo Vasatı — EHC Modifikasyonu) (Environmental Health Center, Cincinnati, Amerika) (1) (14) emdirilmiş yeni filtre yastıkları üzerine nakledilerek aynı şartlarda 13—20 saat daha enkübe edilmişlerdir.

MF'ler üzerinde teşekkül eden koyu kırmızı renkte, tipik madeni refle veren Koliform kolonileri (Resim : 1/a) sayılarak süzülen miktar ve koloni sayısından nümunenin 100 cc. sine isabet eden Koliform Bakteri Sayısı hesaplanmıştır. (Resim : 1)



Resim : 1

*Enküstasyon sonunda MF üzerinde teşekkül eden koloniler.*

a) Madeni refle veren, koyu kırmızı renkte, tipik Koliform kolonileri,

b) Koliform'dan gayri bakterilere ait olan adi, pembe koloniler. (Fotoğraf: Dr. A. A. )

Aynı nümuneden muhtelif porsiyonlar için müteaddit MF kullandığı zaman ise Tecrübe : 2 de) beher MF için ayrı ayrı hesaplanan sayıyı vasatisi, nümunenin 100 cc. sineki sayıyı vermiştir.

— (Kuvvetle Muhtemel Sayı) ların tayini için. Ref. (1) (14) ve (15) te geniş olarak verilmiş olan Standard Laktözlu Buyyonlara ekim tekniği kullanılmış, aynı nümunelerden aynı anda arzu edilen miktarlar Laktözlu fermentasyon tüplerine ekilmiş, 37 derecede 24 ve 48 saatlik enküstasyon müddetlerinin hitamında Gaz ihtiva den tüpler, öze ile (Brilliant green—Safta—Laktöz) vasatı ihtiva eden fermentasyon üplerine transfer edilerek Koliform mevcudiyeti teyit edilmiştir. Bu son tüplerde gaz eşekkülü halinde Koliform mevcudiyeti kabul edilerek, tüplerdeki gaz durumundan, kılınmış olan su miktarlarının ve özel (Kuvvetle Muhtemel Sayı) Cevelleri) nden ifade edilerek nümunenin 100 cc. sineki Koliform bakteri sayısı hesaplanmıştır.

*Yaptığımız tecrübeler :*

Farklı olmaları sebebiyle iki tecrübeyi ayrı ayrı arz etmek uygun olacaktır :

Bu tecrübeye her cinsten 100-su nümunesi kullanıldı. Şişeler iyice çalkalandıktan sonra, her nümuneden—aynı anda olmak üzere—bir tek MF'den 50 cc. süzül-  
dü ve tecrübeye sokuldu; Kuvvetle Muhtemel Sayı'nın tayini için de, Laktozlu  
fermantasyon tüplerine birer porsiyon 10, 1 ve 0.1 cc. ekildi. Her iki usul, her  
nümune için sadece 1'er Koliform sayısı verdiklerinden neticelerin istatistik metodları  
ile değerlendirilmesi mevzuu bahis değildir. Esasen gaye tecrübelerde elde edilen Ko-  
liform sayılarının tetabük derecesini ölçmekten ziyade, her iki tekniğin nünunelerini  
kaçında müşabih neticeler verdiklerini bulmaktır.

*Neticeler : (1) :* Her iki tekniğin verdiği Koliform sayıları arasında büyük bir  
fark müşahade edilmiştir. Sadece iki nümune için her iki teknik aynı Koliform sayı-  
larını vermişlerdir.

2) Koliform sayıları arasındaki fark nazarı itibare alınmaksızın neticeler müta-  
lea edilirse, nünunelerin 27 tanesinde her iki teknik Koliform mevcudiyetini göster-  
miştir. (% 27) Aynı şekilde, nünunelerin 51 tanesinde her iki usulle Koliform tespit  
edilememiştir. (% 51) (Şunu hatırlatmak lâzımdır ki, bu miktarlarla yapılan bir ça-  
lışmada MF tekniği nünunenin 50 cc. sinde Koliform bulunmadığını gösterebilir, Kuv-  
vetle Muhtemel Sayı Cetvelleri de bu miktarlarla menfi netice alınması haliinde nünu-  
nenin 100 cc. sinde Koliform sayısının «9 dan az» olduğunu bildirir. Biz pratik mak-  
satlar için bu 51 nünunede her iki usulün verdiği neticelerin hiç olmazsa benzer ne-  
ticeler olduğunu kabul ettik; netice alınmıyaya kadar geçen zaman zarfında, muayene  
edilmiş olan nünunenin vasfı değişmiş olacağından, daha doğru bir KMS bulmak  
için tecrübenin daha küçük porsiyonlarla ekim yaparak tekrarı mümkün olamazdı).

Bu suretle cem'an 78 nümune için (Yani tecrübelerin % 78 inde) her iki usulün  
benzer neticeler verdiği kabul edilebilir. Bu neticenin, daha geniş çapta yapılmış ve  
neticeleri istatistik metodları ile değerlendirilmiş olan tecrübelerle dair Dr. Paul Kab-  
ler tarafından verilmiş olan uygunluk nispetleri (üç tecrübeye ayrı ayrı, % 68, % 75  
ve % 79 olup vasatı % 73.8 idi) ile benzerlik göstermesi dikkate değer. (12)

3) Nünunelerin geri kalanı 22 tanesinde (% 22) her iki usulün verdiği neticeler  
hiç bir benzerlik göstermemiştir. Bunların 10 tanesinde (% 45.4) tüp metodu nünu-  
nenin 100 cc. si için «9 dan az Koliform» cevabı vermiş, MF tekniği ile 10—48 Koli-  
form sayılmıştır. 12 tanesinde (% 54.5), MF, 100 cc. için (0) Koliform, halbuki tüp  
metodu 23—240 Koliform cevabı vermiştir.

Bu 12 nünunede, tüp metodu ile Koliform tespit edilebildiği halde MF tekniği  
ile menfi netice alınmasının, MF ler üzerine düşmüş olan Koliform fertlerinin tipik  
refle husule getireniyen tipler olmasından ileri geldiği ilk akla gelecek düşüncedir.  
Fihakika bu husus tetkik edilmiştir. Bunun için, bu 12 pozitif Brilliant—Green—Saf-  
ra buyyonundan pasajla elde edilen suşlar tiplendirilmişlerdir. Neticede :

- 2 tanesinin Koliform grubuna mensup bulunmadıkları. (Tüp metodunun hatası),
- 5 tanesinin Ara—tipler olduğu,



1 tanesinin A. Aerogenes olduğu ve sadece,

4 tanesinin tipik E. Coli oldukları bulunmuştur.

Şu halde, MF tekniğinin bu nümuneler için (—) netice vermesinin sebebi bizzat usulün istinad ettiği esaslıdır. MF üzerinde bütün Koliform fertlerinin tipik refle husule getiremedikleri biliniyor. Bizim tecrübelerimizde de aykırı neticelerin 8 inde bu hususun rol oynamış olması muhtemeldir. (4) (7) (13) Bazı hallerde ise, filtre üzerinde hol ve yaygın üreme sebebiyle tipik koloni ve tipik refle teşekkül etmemiş olabilir.

### İKİNCİ TECRÜBE :

Bu tecrübeye 40 su nümunesi kullanılmıştır. Her iki tekniğin daha yakın adetler vermelerini temin gayesiyle, her iki teknik için de aynı miktarlarda su kullanılmış, yani hem fermentasyon tüplerine 10, 1 ve 0.1 cc. ekilmiş ve hem de her nümune için 3 ayrı MF kullanılarak bunlardan 10, 1 ve 0.1 cc. su süzümüştür. Neticede 3 MF üzerinde teşekkül eden tipik koloni sayılarından vasatı alınarak nümunenin 100 cc. sine isabet eden Koliform adetleri hesaplanmıştır. (Tecrübeye 10 cc. lik porsiyonlar doğrudan doğruya, 1 ve 0.1 cc. lik olanlar ise nümunenin tamponlu, steril dilüzyon mayı, inde hazırlanan 1/10 ve 1/100 dilüzyonlarından 10 ar cc. süzülme suretiyle tecrübeye sokulmuşlardır.)

### NETİCELER :

1) Her iki teknik, iki nümune için aynı sayıyı vermiştir.

2) 10 nümunedeki (% 25) her iki usul Koliform (+) cevabı vermiştir. 18 nümune için her iki teknik (100 cc. de 9 dan az) şeklinde netice vermişlerdir. (Hakkatte MF : 0, KMS : 9 dan az şeklindedir. Fakat yukarıda arzettiğimiz sebepler dolayısıyla biz bu neticeleri müşabih telâki ettik.) Bu suretle cüm'an 28 nümunedeki her iki usulün hiç olmazsa benzer neticeler verdiği kabul edilebilir. (% 70). Bu da Kabler'in verdiği uygunluk nispetlerine benzemektedir. (Uygunluk nispeti ilk tecrübemizde % 78 bulunmuştu.)

3) Geriye kalan 12 nümunedeki her iki usulün verdiği neticeler arasında hiç bir benzerlik yoktur. Bunlardan 10 tanesinde tüp metodunun (9 dan az) cevabına mukabil MF tekniği, 4.000 e kadar yükselebilen sayılar vermiştir. Bu durumun, filtrasyon hâlisinin bir önceki porsiyon (veya nümune) den arta kalan Koliformlarla koaptasyonunun neticesinde husule geldiği düşünülebilir. Hün, her süzmeden sonra yeniden sterilize edilmemektedir; usul vazı da buna lüzum görmemiştir. Eğer sterilizasyon mümkün olsa idi, neticelerin bu kadar farklı olmaması umulurdu. Zira, bazen aynı sudan 10 cc. süzülme olan MF üzerinde hiç bir tipik koloni tespit edilememiş buna mukabil 1 veya 0.1 cc. süzülen MF üzerinde bir iki koloni sayılabılmıştır. Bu da vasatı Koliform sayısının çok yüksek olmasına sebebiyet vermiştir.

Bu 12 nümunenin sadece 2 tanesinde, MF tekniği ile (0) netice alınmasına mukabil, tüp tekniği (100 cc. de 23) sayılarını vermiştir ki tiplendirme yapıldığında bu

tüplerden izole edilen iki suştan birisinin Ara—tip, diğerinin tipik E. Coli olduğu görülmüştür. (Bu husus birinci tecrübenin sonunda münâkaşa edilmişti.)

**Hülâsa :** Tecrübelerde her iki tekniğin verdiği Koliform sayıları bir birini tutmamıştır. Tecrübelerin 23 tanesinde Tüp usulü, 10 tanesinde ise MF tekniği daha yüksek Koliform sayıları vermişlerdir. Sadece (Koliform +) ve (Koliform —) şeklinde mütalea edilirse, her iki teknik, birinci tecrübeye vak'aların % 78 inde, ikinci tecrübeye ise % 70 inde benzer neticeler vermişlerdir. Buna göre, bizim küçük çaptaki tecrübelerimiz de, MF tekniğinin henüz ideal olmadığını iddia eden müellifleri haklı göstermektedir. Tecrübelerimize istinaden son sözü söylemek mümkün olmamakla beraber, tecrübelerimizde kullandığımız miktarların süzülmesi suretiyle MF tekniğinin halen kullanmakta olduğumuz (Kuvvetle Muhtemel Sayı) usulü yerine ikame edilemeyeceği iddia edilebilir. Vasat, süzme tekniği, enkübasyon gibi hususlardaki gelişmelerin MF tekniğini eski usullere tercih edilecek bir hassasiyete ulaştıracağına inanıyoruz.

### TEŞEKKÜR :

Tarafımızdan bu tecrübelerin yapılabilmesi için lüzumlu miktarda MF'yi vermek lütfunda bulunan, Cincinnati, Robert Taft Sanitary Engineering Center Bakterioloji Şubesi Şefi Dr. Paul Kahler ile Muavini E. Geldreich'e şükranlarımı tekrarlarım.

### R E F E R A N S :

- 1) APHA, AWWA, FSIWA — Standard Methods for the Examination of Water, Sewage and Industrial Wastes (Tenth edition) — 1955
- 2) H. Beger — Leitfaden der Bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung — 1948
- 3) H. F. Clark, E. E. Geldreich, H. L. Jeter ve P. W. Kahler — Membrane Filter in Sanitary Bacteriology — Public Health Reports, Vol. 66 No : 30 — 1951
- 4) H. F. Clark ve P. W. Kahler — The Membrane Filter in Water Quality Test — American Journal of Public Health — Vol. 42 No : 4 — 1952
- 5) A. Goetz ve N. Taunelski — Application of Molecular Filter Membranes to the Bacteriological Analyses of Water — Journal American Water Works Association, Vol. 53 No : 12 — 1951
- 6) L. W. Slanetz, D. F. Bent ve C. H. Bartley — Use of the Membrane Filter Technique to Enumerate Enterococci in Water — Public Health Reports — Vol. 70 No : 1 — 1955
- 7) P. W. Kahler ve H. F. Clark — The Use of Differential Media with the Membrane Filter — American Journal of Public Health, Vol. 42 No : 4 — 1952
- 8) Millipore Filter Corporation'un Özel Büteni (Watertown, Mass.) — 1955
- 9) J. Wüstenberg ve P. Menke — Über das Membranfilterverfahren und Seine Anwendung als Ergänzende Hygienische Untersuchungsmethode zur Bestimmung des Coll — Titers in der Milch — Milchwissenschaft, No : 8 — 1953
- 10) C. J. Tietz ve F. Heepe — Bakteriologischer Tuberkelbazillennachweis auf Membranfilter aus dem Liquor bei Tuberkulose Meningitis — Medizinische Klinik Wochenschrift für Klinik und Praxis No : 4 — 1950
- 11) N. Akış — Membran Filtreleri ile Antibiyotik Rezistans Deneyi — İhtisas tezi ve bu mecmudaki özeti — —1957
- 12) P. Kahler — Water Examinations by Membrane Filter and Most Probable Number Procedures — American Journal of Public Health, Vol. 44 No : 3 — 1954
- 13) L. W. Slanetz ve C. H. Bartley — Evaluation of Membrane Filters for the Determination of Numbers of Coliform Bacteria in Water — Applied Microbiology, Vol. 3 No : 1 — 1955
- 14) M. Akman — Su, Sulu İçkiler, Süt ve Süt Mamullerinin Rutin Bakteriolojik Muayeneleri (Kıtap, basılacaktır.)
- 15) M. Akman — Sularda Koll Basılı Arama Usulleri Üzerinde Mukayeseli Bir Etüd — Türk İhtiyat ve Tecrübe Biyoloji Dergisi, Cilt. XIII, Sayı : 1 — 1953

# COMPARATIVE COLIFORM COUNTS IN WATER BY (MEMBRAN FILTER) AND (MOST PROBABLE NUMBER) PROCEDURES

Muvaffak A. AKMAN, M. D., M. P. H.

Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara — Turkey

In the Turkish text presented the results of the two small experiments have been given. In our experiments a total of 140 water samples of all kinds have been tested by these two methods. Technique we used for MF is as the same as it is used in EHC, Cincinnati as specified in the Standart Methods For the Examination of Water, Sewage and Industrial Wastes Tenth edition — 1955. Technique for MPN is similar to American methods which we use in this Institute as a routine method.

In these experiments, our main purpose was to find out, how could the results be compared if only single inoculations of three portions of water samples for MPN and only one portion for MF procedure (Experiment : 1), or, the same portions which we inoculate for MPN procedure, (Experiment : 2) are tested.

	Number of samples tested	The amount of water used for each procedure	
		MF	MPN
Experiment. 1	100	50 ml.	10 1 0.1 ml.
Experiment. 2	40	10 1 0.1 ml.	10 1 0.1 ml.

We diluted the portion to be filtered using steril Buffered Dilution Water when it was smaller than 10 ml. We used (Coli — 5) filters and boiled them three times in distilled water and sterilized properly prior to use.

## RESULTS :

Just because of the reason that we worked only with single inoculations on MPN procedures, it could not be possible to determine % 95 or any other confidence limits regarding to the figures obtained as it was done by some other authors as summarized in a report published by Dr. Paul Kabler. (see reference) But, the aim of our experiments was to find out the rate of agreement between these two techniques as far as the (Positives) and (Negatives) are concerned; rather than to figure out a numerical relation between them. In other words, what would be the rate of agreement if we simply suppose that negatives and positives by each of these tests were in agreement?

a) In the first experiment, 78 of the results were in agreement; (% 78). out of these 27 Coliform (+) and 51 Coliform (—). In the second experiment 28 were in

agreement, (% 70), out of these 10 Coliform (+) and 18 Coliform (—). (Using this amount of inoculum for MPN it is possible only to get a result of «less than 9/100 ml» and for MF technique 0/50 ml obviously as a Coliform (—) result)

It was very interesting to observe that inspite of the simple technique applied, these two rates were very similar tethose reported by Kabler after a comprehensive study and statistical compilation and interpretation of the test results.

b) In the first experiment, MF technique gave higher coliform counts than those obtained by MPN procedure; but in the second experiment MPN figures were usually higher. (It may be possible to explain these contrary results by the contamination of the filtration funnel with coliforms from the portions of water passed before. So, only a few colonies on membranes used for the smaller portions could cause the higher coliform figures as an average for the water tested.)

c) In the first experiment 12, and in the second 2 of the samples gave the result of (0) Coliforms by MF technique but MPN figures for the same samples were 23 to more than 240 per 100 ml. For these samples, the strains isolated from the positive RGB fermentation tubes have been typed by IMVIC tests. The reason was that these strains could be only the types of Coliforms which could not produce typical colonies and metallic shine on membranes. The results were as follows:

- 2 were not Coliforms,
- 6 were Intermediates,
- 1 was A. Aerogenes, and,
- 5 were Typical E. Coli strains.

#### *Conclusion:*

If we use only these amounts of water samples for MF technique, it is not advisable to depend on MF technique instead of the current Standard Tube Dilution Method (MPN procedure) of our Institute. Certainly, it could not be a final word. Additional investigations in a wider scale are necessary to judge the reliability of MF technique. A final conclusion without such an investigation is not possible.

#### *Acknowledgement:*

The author is deeply grateful to Dr. Paul Kabler and E. Geldreich, (Both from Robert Taft Sanitary Engineering Center, Cincinnati, Ohio, U.S.A., Chief of Bacteriology and Bacteriologist, respectively) for their kindness in giving him these membranes which were, at the time of experiments, extremely necessary to manage his experiments.

## KUDUZ SABİT VİRÜSÜNÜN GLİSERİN İÇİNDE DAYANMA MÜDDETİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMA [\*]

**Dr. Nafî TÜRKAY**

Refik Saydam Merkez Hıfızsızıhha Enstitüsü

Mütemadi pasajlarla kuduz sabit virüsünün karakterinde bazı değişiklikler husule geldiği hakkındaki iddialar az değildir.

Pasteur'dan sonra Roux ve Calmette tarafından yapılan tecrübelerde sabit virusun gliserin içindeki dayanma müddetinin bir ay civarında olduğu bildirilmişti. Daha sonra bu müddetin uzamış olduğu hakkında neşriyata rastlanılmıştır. Biz de Enstitümüzde bu hususu araştırdık.

Tecrübelerimizde, orijini Pasteur enstitüsü olan ve Enstitümüzde kuduz aşısı ihzarında kullanılan sabit virusun 1057 nci pasajını kullandık. Dimaağ içi yolla virus fiks inokule edilmiş ve 6 günlük enkübasyonu müteakip kuduzun tamamen paralitik formunu göstererek agoni halinde iken öldürülmüş tavşan medüla - Spinalis'i, birer santimetre uzunluğunda parçalar halinde kesildikten sonra 33 bome derecelik steril gliserini havi şişe içinde ve +4 derecelik buzlukta muhafaza edilmiştir. Her hafta bir parçası alınarak serum fizyolojik içinde 1/10 emülsiyon yapıldıktan sonra iki tavşana 0,1 cc. ve iki tavşana da 0,2 cc. dimaağ içi yolla şırınga edilmiştir. İki - ikibuçuk kiloğram ağırlığında olan bu tavşanlar iki ay müddetle müşahade altında bulundurulmuştur.

Alınan netice aşığadaki cetvelde görölmektedir.

---

[\*] Bu yazı Milletlerarası Mikebiyoloji Cemiyetleri Avrupa Seksiyonu tarafından İstanbul'da tertip edilen Symposium'dan 19 Eylül 1957 tarihinde tebliğ edilmiştir.

+4 derecede gliserin içinde bekleme müddeti durée de conservation	Inokule edilen virus miktarı 1/10 Taux de virus au 1/10 Inoculé	Tavşan adedi Nombre de lapin Inoculé	Paraliz Paralysie	Ölüm mort	
15 Gün (Jours)	0,1 cc.	2	5 Gün Jours	6 Gün Jours	
	0,2 cc.	2	7 "	8 "	
21 "	0,1 cc.	2	4 "	5 "	
	0,2 cc.	2	6 "	7 "	
29 "	0,1 cc.	2	8 "	9 "	
	0,2 cc.	2	5 "	6 "	
36 "	0,1 cc.	2	7 "	8 "	
	0,2 cc.	2	6 "	8 "	
43 "	0,1 cc.	2	6 "	7 "	
	0,2 cc.	2	6 "	7 "	
50 "	0,1 cc.	2	6 "	7 "	
	0,2 cc.	2	6 "	7 "	
57 "	0,1 cc.	2	7 "	9 "	Biri yaşadı un survie
	0,2 cc.	2	5 "	7 "	
64 "	0,1 cc.	2	6 "	7 "	
	0,2 cc.	2	7 "	10 "	Biri yaşadı un survie
71 "	0,1 cc.	2	-	-	Yaşadı - Survie
	0,2 cc.	2	7 "	8 "	Biri yaşadı un survie
78 "	0,1 cc.	2	-	-	Yaşadı - Survie
	0,2 cc.	2	-	-	" "
85 "	0,1 cc.	2	-	-	" "
	0,2 cc.	2	-	-	" "

*Cetvelin tetkikinden, 1057 nci pasaj virusu fiksin gliserin içinde +4 derecede 64 gün vitalite ve virulansını muhafaza ettiği anlaşılmaktadır.*

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 -- Lepine P. -- Rage, 1952.
- 2 -- Lepine P. -- Zoonose, 1954.
- 3 -- Palavan Haydar -- Kuduz, 1950.
- 4 -- Kemlinçer P. -- Guide pratique, indication du traitement antirabique, 1939.
- 5 -- Enat E. Kadri -- Kuduz bilgisinde yenilikler, 1949.
- 6 -- Tomman Z. M. -- Kuduz, 1935.
- 7 -- Rapport sur le fonctionnement technique en 1953. Institut Pasteur de Saigon -- Archive de l'Institut Pasteur au Viet-nam 1954, P. 74.
- 8 -- Laboratory technique in rabies 1954.

# UNE ETUDE SUR LA DURÉE DE CONSERVATION DU VIRUS RABIQUE FIXE DANS GLICERINE [\*]

Dr. Nafî TÜRKAY

Institut Centrale d'Hygiene (Refik Saydam) Ankara

On sait qu'il y a beaucoup de chercheurs qui disent que le virus rabique fixe, change, par passages successif, ses caractères.

Après les expériences de Pasteur, Roux et Calmette ont communiqué que, la durée de vitalité du virus fixe, mis en glicerine est d'environ un mois. Plus tard on trouve des literatures que ce durée est plus prolongé. Ce qui nous amené à faire une telle étude.

Dans nos expériences nous avons employé le virus fixe de l'Institut Pasteur, qui est employé chez nous pour la préparation de vaccin antirabique. Dans nos conditions d'expérience nous avons employé le 1057<sup>ème</sup> passage de souche. Pour ce but nous avons pris des moelles essées des lapins sacrifiés après avoir été inoculé par virus rabique fixe, qui ont été coupé en morceaux d'un centimètre de longueur et gardé dans glicerine à +4 degrés à la glacière. Chaque semaine on a pris un de ces morceaux qui a été émulsionné au 1/10<sup>ème</sup> et inoculé par voie cérébrale à deux lapins à des doses de 0,1 et 0,2 cc.

Comme on voit d'après le tableau du texte turc, le virus rabique fixe garde sa vitalité et sa virulence pendant 64 jours.

---

\*1 Ce Communiqué a été délivré au Symposium organisé par la section Européenne de l'Association Internationale de Microbiologie tenue à Istanbul le 19/9/1957.

## KADINLARIN GENİTAL ORGANLARINDAN İZOLE EDİLEN PLEUROPNEUMONİE BENZERİ MİKROORGANİZMLER (PPLO) VE SEROLOJİK VASIFLARI

Dr. Mesude AKTAN

Rafik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü

Son 17 sene zarfında sıhhatli ve hasta insanların bir çok organlarından Pleuropneumonie'ye benzeyen mikroorganizmler (PPLO) izole edilmiştir (7). Smith ve Morton (15) 11 şahsın bugazlarından steril ekuyonlarla aldıkları nümunelerin hepsinden, 103 tıp talebesinin yine bugazlarından aldıkları materyallerin 32 sinden bu âmili ayırmışlardır. Reiner Müller (11) aylarca hasta yatan bir çocuğun, ölümünü müteakip pleurasında rastlanan iltihabi bir ödemden, Slingerland ve Morgan (14) doğumdan 24 saat sonra ateşi yükselen bir hastanın kanından PPLO suşu ayırmışlardır.

PPLO ların muayyen hastalıkların âmili olduklarına ve etiyolojik bir değer taşıdıklarına dair henüz kat'i deliller mevcut değildir, bu mikroorganizmlerin insan sağlığı için ne dereceye kadar ehemmiyetli oldukları halen bilinmemektedir. Bununla beraber bütün müellifler Urétrite non genococque vakalarında PPLO ların etiyolojik rollerine işaret etmektedirler (10, 12, 13).

1942 senesinde Smith, spesifik olmayan bir urétrite vakasında, ilk defa PPLO ları izole etti, sonra Dienes, Klienberger, Nasemann Roekkel ve diğer bir çok araştırmacılar tarafından kronik prostat, aspesifik Urétrite vakalarından ve uterus sekresyonundan çeşitli PPLO suşları izole edildi. Ayrılan bu suşlar birbirlerinden morfolojikman farklı olmamakla beraber (12) antijenik bünyelerinin farklı olup olmadığı hususunda değişik fikirler ortaya atıldı. Bazı müellifler insan ve hayvanlardan izole ettikleri suşlar arasında serolojikman farklı tipler bulduklarını, bir kısım müellifler ise izole ettikleri suşların serolojik ve biyoşimik bakımdan tamamen aynı oldukları fikrini ileri sürdüler (5, 6, 7, 8, 9).

Bu grup mikroorganizmler memleketimizde ilk defa, keçilerin salgın akciğer ağrısı vakalarından (3), bilâhare avortman yapan koyunların fôtuslarından ve kuzuların akciğerlerinden izole edildi (1, 2, 4).

1956 senesinde, Ankara — Cbeci Doğumevi kliniğine gelen hastalardan temin ettiğimiz materyallardan de bu mikroorganizmi ayırmaya muvaffak



olduk, insanların genital organlarından ayrılan bu suşlar ile, hayvanlardan izole ettiğimiz suşlar arasında serolojik bir yakınlık bulunup bulunmadığını tetkik gayesiyle kruvaze aglutination deneyleri yaptık.

**Materyal ve Metod :** 1956 senesinde muhtelif tarihlerde Ankara — Cebeci Doğumevi kliniğine muayeneye gelen 50 kadının (gebeler dahil) servix uteri sekresyonu steril ekuyonlarla alındı.

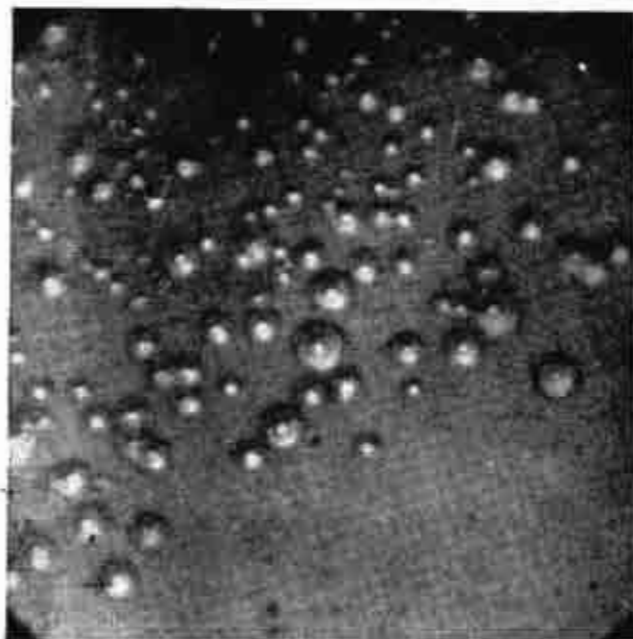
Çoğaltma vasatı olarak, % 10 normal beygir serumunu havi dana kalbi Marten buyyonu karışımı kullanıldı. Diğer bakterilerin üremelerine mani olmak maksadiyle de vasatın santimetre küpüne 500 Ü. İ. kristal penicillin ilâve edildi. Genel olarak kültürler 5—8 gün 37 derecelik etüvde bırakıldı. Müsbet vakalarda vasatta gayet hafif bir opalesans hasıl olmakta idi. Bu kültürlerin ikinci pasajları daima penicillinsiz buyyonda yapıldı. Kolonilerin görülerek kat'i teşhisin sağlanması için de, ikinci pasajdan Triptozlu agar platlarına inokulasyon yapılarak % 10 CO<sub>2</sub> konsentrasyonunda 37 derecede 48—72 saat terkedildi.

Bu şekilde ekilen 50 materyalden 8 PPLO suşu izole ettik. Yalnız çok hassas olan bu suşların idamesi çok güç olduğundan, bu 8 suştan ancak üçünü müteakip pasajlarda üretmeye muvaffak olabildik, diğerleri ikinci veya üçüncü inokulasyondan sonra üremediler.

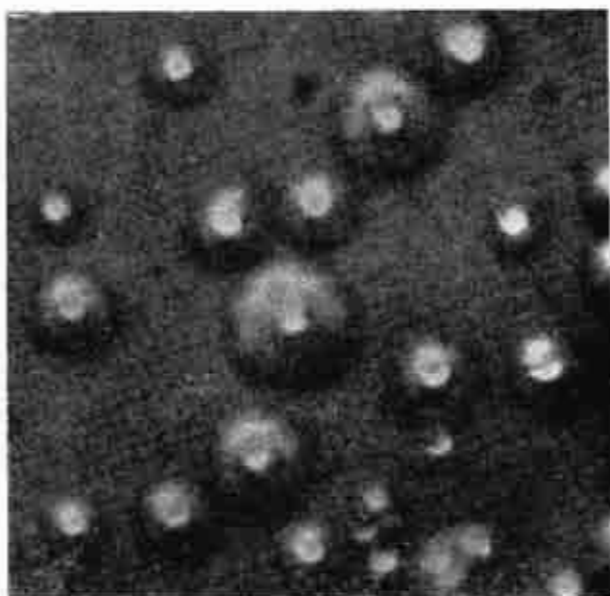
Yine aynı tarihlerde Gülhane Askerî Tıp Akedemisinden (Dr. Fethi Tezok) gönderilen 8 Urétrite ve Dr. Ethem Utku tarafından muayeneleri talep edilen 3 Urétrite non gonococcique vakasının hiç birinden suş izole edilemedi.

Ayrıca, Enstitümüz Tüberküloz şubesine (Dr. Aral Gürsel) gelen 103 materyalden (kraşe, mide suyu, pleura mayii) bir tek materyal hariç, hiç birinden PPLO suşu ayıramadık. Bu tek vakada da atipik koloniler görüldü.

**İzole edilen suşların karakteri :** İnsanlardan izole edilen bu suşlar morfolojikman hayvanlardan izole ettiğimiz suşların tamamen aynı idi. Koloniler sahaya yaygın ve tepelerine çivi çakılmış gibi ortaları kabarık, vasata sım sıkı yapışık ve ancak lupla veya mikroskopla görülebilen gayet ufak kolonilerdi (Resim I ve II).



Resim I ( X 50 )



Resim II ( X 100 )

Kadınların genital organlarından izole edilen tipik PPLO kolonileri (Aus den weiblichen genital Organen isolierte typische PPLO Kolonien).

Bu suşların buyyondaki vasıfları da hayvanlardan izole edilenlerin evsafına tamamen uymakta idi.

Patogenite tecrübelerinde de, yine hayvanlardan ayrılanlar da olduğu gibi beyaz fareler için tamamen apatogen oldukları tesbit edildi.

Yumurta inokulasyonlarında, buyyon kültürünün 6 günlük yumurtanın vitellus kesesine inokulasyonunda üç suştan yalnız 5 No. lu suş dört yurnurtadan bir tanesini üç gün sonra öldürdü, diğer üç yumurta sağlam kaldı. Bu ölen yumurtanın sarısından yapılan müteakip yumurta pasajlarında embriyonlar 2—5 gün arasında muntazaman ölüyorlardı. Ölen yumurtaların embriyonlarında da, hayvanlardan izole edilen suşların yumurtaya adapte edilebilenlerinde de eyvelce tesbit etmiş olduğumuz gibi (2) subkutan bir emoraji görülüyordu. Vitellus kesesinden serumlu - Triptozlu agar platolarına yapılan inokulasyonlarda da tipik PPLO kolonileri üredi.

5 No. lu suş bu şekilde kolaylıkla yumurtaya adapte edildiği halde, idanesine muvaffak olabildiğimiz diğer 15 ve 26 No. lu suşlar muhtelif zerkizata rağmen hiç bir embriyonu öldürmedi ve yumurtaya adapte edilemedi.

**Serolojik muayeneler :** İnsanlardan ve hayvanlardan elde edilmiş yedi suşla tavşanları hiperimmunise ettik.

İmmünizasyonda kullanılan suşlar :

- 1 — R. D.168 — Keçilerin salgın Akciğer ağrısı amili (Etlik Bakt. E.)
- 2 — Laboratuvar - Çiçek aşısı avortmanlarından izole ( „ „ „ )
- 3 — Agalaxi - Ege bölgesi Agalaxi vakalarından izole ( „ „ „ )
- 4 — Laidlaw - Kirli sulardan izole edilen (Kopenhag - Liyofilize suş)
- 5 — Doğ. Ev. 5 - İnsan genital organinden izole edilen (Cebeci Doğ. Ev.)
- 6 — Doğ. Ev. 25 „ „ „ „ „ ( „ „ „ )
- 7 — Doğ. Ev. 26 „ „ „ „ „ ( „ „ „ )

İmmünizasyon için 48—72 saatlik buyyon kültürleri kullanıldı. Tavşanlara verid içi haftada iki enjeksiyon yapılarak 8 inci zerkten sonra tavşanlardan kan alındı. Elde edilen immun serumlarla kruvaze aglutinasyon deneyleri yapıldı, neticeler aşağıdaki cetvelde hülâsa edilmiştir (Cetvel : I).



Aglutinasyonlarda aynı suşların buyyon kültürleri 5.000 devirli santrifüjde bir saat santrifüje edildikten sonra dipteki depo 1/10 nisbetinde fizyolojik tuzlu su ile sulandırılarak antijen olarak kullanılmıştır.

**Netice ve münakaşa :** 1 No. lu cetvel tetkik edildiğinde, kadınların genital organlarından izole edilen suşlarla hayvanlardan izole edilen suşların antijenik bünyelerinde bir yakınlık bulunduğu göze çarpmaktadır. Her serum kendi antijeni ile yüksek bir titrasyon göstermekle beraber, kendisinden ayrı nevi ve ayrı organlardan izole edilen suşlarla da asgari 1/40 müsnet reaksiyon vermiştir.

Bir kısım müellifler, insanlarda ağızdan izole edilen suşlarla, genital organlardan izole edilenlerin birbirinden farklı olduklarını (5), Morton ve arkadaşları (7) 189 klinik vakasından 10 ayrı cins PPLO suşu ürettiklerini öylüyorlarsa da, diğer bir kısım müellifler, meselâ Normann ve arkadaşları (9) insanlardaki Urétrite vakalarından izole edilen beş suşla hiperimmünize edilen tavşan serumlarıyla yaptıkları kruvaze aglutinasyon deneylerinde bu suşların birbirlerine tamamen antijenik yakınlıkları bulunduğunu tesbit ettiklerini bildirmektedirler. Yine Nicole ve arkadaşları da (8) prostatlı ve ağlam şahıslardan izole ettikleri 90 suşun serolojik ve biyoşimik bakımdan tamamen müsterek vasıflarda olduklarını bildirmektedirler.

Biz-de, Nicol ve arkadaşları gibi, gerek insan genital organlarından ve gerekse hayvanların akciğer, süt, masfsal mayii ve genital organlarında elde ettiğimiz suşlarla yaptığımız kruvaze aglutinasyon deneylerinde aynı neticeyi almış bulunmaktayız.

Bugünkü kanaatimiz hayvan ve insanların muhtelif organlarından izole edilen PPLO suşlarının morfolojikman olduğu gibi antijenik bünyeleri bakımından da benzerlik gösterdikleri merkezindedir.

## **DIE VON DEN WEIBLICHEN GENITAL ORGANEN ISOLIERTE PPLO UND IHRE SEROLOGISCHE EIGENSCHAFTEN**

Von

**Dr. Mesude AKTAN**

Im Jahre 1956 wurde aus der uterus Sekretion von 50 Frauen, die der Frauenklinik in Cebeci/Ankara zur Untersuchung gekommen waren (einschliesslich die Traechtige), 8 staemme von PPLO isoliert. Aus diesen solierten 8 Staemmen haben wir nur drei Staemmen in den folgenden Passagen weiter züchten können.

Morphologisch waren diese 3 Staemme aehnlich mit den Staemmen, die wir vor einigen Jahren aus den verschiedenen Organen der Schafe, Zigen und Laemmer isoliert hatten (Abbildung I, II).

Ob eine serologische Verwandtschaft zwischen die aus verschiedenen Organen von Menschen und Tieren isolierten PPLO Staemme vorhanden ist, wurde durch die Kreuzagglutinationen, die mit diesen Staemmen immunisierten Kaninchen erhaltenen Seren durchgefuehrt wurden, geprueft (Tabelle I).

Wie aus der Übersicht I geht hervor, dass jede Serum mit seinem Antigen eine hohe Titration zeigt, waehrend es mit anderen Antigenen auch mindestens 1/40 positive Reaktion erwies.

Mit diesem Ergebnisse haben wir ueberzeugt, dass die aus verschiedenen Organen von Menschen und Tieren isolierten PPLO Staemme wie Morphologisch serologisch auch miteinander nahe Wervandt sind.

#### LITERATUR

- 1 — Aktan, M., Güley, M., Doguer, M. : Türk Veteriner Hekimler Dergisi Sayı : 108—109, Sayı : 2463, 1965.
- 2 — Aktan, M. : Türk İjlyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi Cilt : XVI, Sayı : 170, 1956.
- 3 — Durusan, B., Doguer, M., Atilla, C. : Türk Veteriner Hekimler Dergisi Sayı : 64, 1962.
- 4 — Durusan, B., Doguer, M. : Türk Veteriner Hekimler Dergisi Sayı : 104—105, Sayı : 2217, 1955.
- 6 — Dienes, L., Derg, R. L. : Organisation Mondiale de la Santé WHO/VDT/121 15. Juillet 1964.
- 6 — Edward, D. G., Fitzgerald : Jour. gen. Microb. 5 (3), 566—576, 1961.
- 7 — Morton, H. E., Smith, P. F., Keller, E. : Biol. Abstr. 25 (12) 1962, Ame. jour. publ. Health. 1962.
- 8 — Nicol, C. S., Edward, D. G. : Biol. Abstr. 28 (6) 1964, Brit. jour. vener. Dis. 29 (3), 141—150, 1953.
- 9 — Norman, M. C., Szalaw, S., Kuhn, L. R. : Biol. Abstr. 25 (6) 1951, Proc. Soc. exaptl. Biol. and Med. 75 (3), 718—720, 1950.
- 10 — Postschke, G. : Klinische Wochenschrift. Heft. 11/12 S. 241. 1954.
- 11 — Reiner, M. : Medizinische Mikrobiologie 1950, S. 3119.
- 12 — Röckl, H., Naemann, T. : Zentral blatt orig. Band. 115 Heft: 6/7 S. 313, 1956.
- 13 — Rutter, M. : Organisation Mond. de la Santé WHO/VDT/127, orig. 1954.
- 14 — Silingerland, D. W., Morgan, H. R. : Biol. Abstr. 27 (4) 1953, Jour. Amer. med. Assoc. 150 (B) : 1303—1311, 1962.
- \*5 — Smith, P. F., Morton, H. E. : Science Vol. 113, S. 623, 1952.