

T. C.

Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı
Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha
Enstitüsü

TÜRK
HIJİYEN ve TECRÜBÎ
BİYOLOJİ DERGİSİ

Cilt : XXV — Sayı : 2-3
(1965)

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

●
REVUE TURQUE D'HYGIÈNE ET DE BIOLOGIE EXPÉRIMENTALE

●
TÜRKISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

TÜRK. HIJ. TEC. BIYOL. DERG.

Vol : XXV — No. 2-3

GÜRSOY Basımevi - Ankara

ISSUED BY
PUBLIÈ PAR
HERAUSGEGEBEN VOM

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSIHHA ENSTİTÜSÜ (ANKARA)

Senede üç defa çıkar.

The Bulletin is issued three times a year.

Revue paraissent trois fois par an.

Die Zeitschrift erscheint dreimal Jaerlich.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1 — Dr. Tahsin Ş. BERKİN

- Refik Saydam Merkez Hıfzassıhha Enstitüsü 1965 Yılı
Çalışmaları 113
- Summary of the Yearly Activities of the Refik Saydam
Central Institute of Hygiene in 1965 121

2 — Dr. Elhan ÖZLÜARDA

- Memleketimizde Kuru Çiçek Aşısı İstihali ve Yaş Aşı
ile Mukayeseli Olarak Yapılan Uygulamadan Alınan
Sonuçlar 129
- Dried Smallpox Vaccine Production in Turkey and
Results Obtained from the Laboratory and Vaccination
Studies with Dried and Glycerinated Smallpox Vaccines 145

3 — Dr. Azmi ARI

- Türkiye'de Son Beş Yıllık (1960 - 1964) Semple Usulü
Kuduz Aşı Tatbikatı Neticeleri 153
- Results of Rabies Vaccination by Semple Method in
Turkey During Last Five Years (1960 - 1964) 164

4 — Dr. Yavuz ERKOÇAK

- Dijital Glikozitlerinin İnotrop Tesiri Hakkında 167
- Über Die İntrope Wirkung Der Digitalisglykoside 176

5 — Dr. Muhlis ÖZSAN

- Kolorimetrik Metotla Antistafilolizin (ASTA) Titrasyonu
..... 195
- A New Colorimetric Method For The Titration of Antistaphylococcal
..... 204

6 — Turgut TULGA

- Dünya Sağlık Teşkilâtının Kolera Bakteriyolojisi Konusunda
Düzenlemiş Olduğu Kurstan İzlenimler ve Kolera Aşıları
Üzerindeki Son Görüşler (2 - 11 Ekim, 1965 - Tahran)
..... 206

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSİHHA ENSTİTÜSÜ

1965 YILI ÇALIŞMALARI

Dr. Tahsin Ş. BEKİN

Enstitü Müdürü

Enstitümüzün çalışmaları bakımından 1965 yılı da hayli başarılı ve yüklü olmuştur. Enstitümüzün gerek araç ve gereksiz malzeme ihtiyacı, birçok formalite ve sıkıntılara rağmen 3-4 sene yetecek miktarda yurd dışından temin edilmiştir. Bu arada, dünya standartlarına uyarak, serumların konsantrasyon ve purifikasyonları için İngiltere'den getirilen tesisat yerleştirilmiş ve faaliyete geçilmiştir. Ayrıca, Kuru Çiçek aşısı istisnâli de ele alınarak muvaffakiyetle neticelendirilmiştir.

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü, başlıca vazifesi olan, yurdun büyük bir ihtiyacını karşılayacak miktarda her çeşit üretim, tetkik ve analiz işleri ile birlikte, bu yıl da, birçok bilimsel araştırma ve çalışmalar yapmış ve dergimizde yayınlanmıştır. Onbeş günde bir olmak üzere ilmi toplantılar yapılmış, birçok kuduz kursu ve kolera kursu ile laborant yetiştirme kursu tertip edilmiştir.

Enstitümüzün 1965 yılı içinde yapmış olduğu araştırmalar, hazırladığı ve yurdun her tarafına göndermiş olduğu aşı, serum ve diğer biyolojik maddelerle, kimya, bakteriyoloji, viroloji, farmakoloji ve ilaç kontrolleri aşağıda sırasıyla gösterilmiştir :

I — Bilimsel çalışma ve araştırmalar :

A — Bakteriyoloji Şubesinin 1965 yılındaki çalışmaları :

- 1) Antakya'da Salmonella Paratifo B epidemisi.
- 2) Mart 1965 te Burdur il merkezinde zuhur eden Shigellosis epidemisi.

- 3) Haymana Tifo epidemisi.
- 4) Kolerada bakteriyolojik teşhis usulleri.
- 5) Nelson - Meyer testi (T.P.I) ile diğer reajin testlerinin karşılıklı mukayesesi.
- 6) Suların bakteriyolojik kontrollerinde mukayeseli bir çalışma.
- 7) Türkiye'de Giardiose problemi, Métronidazole ile tedavi deneylerimiz.
- 8) Türkiye'de Bilharziose bölgesinde yaptığımız araştırmalar ve hastalığın bugünkü durumu.
- 9) Ankara'da Amerikalı bir ailede Ornithonyssus bacoti enfeksiyonu.
- 10) Visceral Larva Migrans'ın tedavisi üzerinde deneysel araştırmalar.
- 11) Bakteri - Parazit münasebetleri.
- 12) İnsanda visceral Larva Migrans yapan bağırsak helmentleri bakımından köpeklerde Kopro - helmentolojik bir araştırma.

B — 1965 yılında Viroloji ve Virus Aşları Şubesi'nde yapılan ilmi çalışmalar :

1) Son beş yıllık kuduz aşısı tatbikat neticelerinin analizi ve elde edilen bulguların münakaşası.

2) 1964 - 1965 mevsiminde dünyada ve Türkiye'de Influenza ve diğer akut solunum sistemi virütik enfeksiyonları durumu ve bu konudaki laboratuvar bulguları.

3) 1963 - 64 yıllarında Canlı Attenüe Polio aşısı yapılan 3 - 4 yaş gurubu çocuklarda Polio antikör durumunun incelenmesi, rape zamanı ve kullanılacak aşısı tertibinin seçilmesi.

4) Kuru çiçek aşısı istihsalinde kendi laboratuvar şartlarımıza göre en uygun metodun araştırılması ve istihsale başlanması.

5) Memleketimizde «AREOR VIRUS» enfeksiyonlarının mevcudiyeti ve virus izolasyonu üzerindeki çalışmaya devam.

6) Kuru çiçek aşısının yaş aşı ile mukayeseli olarak uygulanması konusunda saha çalışması.

7) Klinik Polio vak'alarının laboratuvar teşhisi ile teyidi çalışmalarının rutin hale getirilmesi.

8) Muhtelif cins koyunlardan alınmış çiçek aşısı kenflerinin virüs muhtevası bakımından mukayeseli titrasyonları konusundaki çalışmaya devam.

C — 1965 yılında İlâç Kontrol Şubesi'nde yapılan yeni organizasyon, gelişme ve bilimsel çalışmalar :

Laboratuvar No. 2 (Mikrobiyoloji)

1) Antibiyotiklerin mikrobiyolojik kontrolleri için 1.1.1965 tarihinde ayrı bir laboratuvar kurulmuştur.

2) Bu laboratuvarda antibiyotiklerin aktivitelerini en hassas usullerle tâyin ve % deki değerini sayı ile ifadelendirme hususu sağlanmıştır.

3) Türk milli antibiyotik standardlarını hazırlamak için, Şubemiz ile, İstanbul'daki üç büyük ilâç fabrikası arasında işbirliği yapılması, 16.22.1965 günü İstanbulda yapılan ilk toplantıda kararlaştırıldı ve hazırlık çalışmalarına başlandı.

Laboratuvar No. 3 Vit. (Mikrobiyolojik) :

1) Vitaminlerin mikrobiyolojik yolla miktar tayinleri için 1965 Ağustosunda ayrı bir laboratuvar kurulmuştur.

2) Bu laboratuvar da folik asid ve pantotenik asid, Türbidimetrik yolla,

3) Vitamin B₁₂ plak metodu ile tayin edilmektedir.

Laboratuvar No. 6 :

a) Araştırmalar :

1) İyodofomlu gazın stabilitesi üzerinde araştırmalar

2) Lobelin HCl İnj. çözeltilerinin stabilitesi

b) Kitap :

1) Farmasötik preparatlarda alkaloidlerin identifikasyon ve miktar tayinleri.

c) Yapılmakta olan araştırmalar :

1) Atropin sulfat çözeltilerinin stabilitesi.

2) Rutine + Aminophylline komprimelerinde Rutine'in stabilitesi.

II — 1964 yılında Enstitü'de hazırlanan, sevkedilen aşı, anatoksin, antijen, allerjen ve serumlar :

1 — Bakteri aşıları :

Cinsi	Üretim (litre)	Sevk (litre)
Tifo	9 065	7 011
Veba	—	—
Kolera	1 402	1.361
Boğmaca	25	30
B.C.G. (derinçi)	630	587
B.C.G. (ağız yolu)	8	6
Nezle	—	0,810
Brucella	—	0,180
Stafilokok	—	1,640
Toplam	11 589	8 996,630

2 — Virus ve Riketsiya aşıları :

Cinsi	Üretim (litre)	Sevk (litre)
Kuduz	2 186	2 052
Çiçek (gliserinli yaşı)	180,260 (9 013 450 doz)	180,140 (9 007 300 doz)
Çiçek (kuru aşı)	1,963 (163 600 doz)	—
Tifüs	348	144
İnfluenza	1,650	1,040
Toplam	2 717,873	2 377,180

3 — Anatoksin aşları :

Cinsi	Üretim (litre)	Sevk (litre)
Difteri	220	333
Tetanoz	35	76
Toplam	255	409

4 — Karma aşlar :

Cinsi	Üretim (litre)	Sevk (litre)
Tifo + Tetanoz	943	625
Difteri + Tetanoz	1 140	1 177
Tifo + Tifüs	60	65
Tifo + Difteri	1 120	571
Boğmaca + Difteri	871	907
Tifo + Difteri + Tetanoz	3 054	3 371
Difteri + Tetanoz + Boğmaca	1 223	1 159
Toplam	8 411	7 875

5 — Antijen ve allerjenler :

Cinsi	Üretim (litre)	Sevk (litre)
Wassermann antijeni	5,000	9,740
Kahn antijeni	12,000	14,340
Mantoux (PPD)	800,415	827,200
Aglütinasyon için ölü antijen	111,400	111,400
Maynike antijeni	—	0,180
Ham tüberkülin	—	0,400
Antijen metilik (saf)	—	0,160
Antijen metilik (sulu)	—	0,360
Toplam	928,815	963,780

6 — Serumlar :

Cinsi	Üretim (litre)	Sevk (litre)
Tetanoz	1 614	1 675
Difteri	1 131	882
Şarbon	385	400
Akrep	76	22
Gazlı gangren (polivalan)	453	176
Normal	13	6
Difteri (konsantre)	123	115
Tetanoz (konsantre)	21	27
Hemolitik	11	11
Kuduz	27	32
Toplam	3 854	3 346

7 — Enstitü üretiminde kullanılan başlıca maddeler :

Cinsi	Üretim (litre)
İmmünizasyonda kullanılanlar	579
Ecğmaca vasatı	4 009
Tetanoz vasatı	6 100
Difteri vasatı	5 230
Pittman vasatı	736
Tüberküloz üretim vasatları	2 037
Jeloz	3 440
Sıvı üretim yerleri (etsuyu - buyyon)	4 192
Fizyolojik tuzlu su	6 320
Damıtık su	70 266
Toplam	102 909

III — 1965 yılında Enstitü'de yapılan tahlil ve kontrol işleri :

1 — Bakteriyolojik tahlil ve kontroller :

Cinsi	Adet
Muhtelif kültürler	2 636
Muhtelif aglütinasyonlar	2 216
Wassermann teamülü	19 717
Kahn teamülü	19 717
Diğer frengi serolojik muayeneleri	579
Yiyecek ve içeceklerin kontrolü	747
Klinik kan muayeneleri	1 664
Sularda koli aranması	6 405
Antibiyotik hassasiyet testleri	310
Gaitada parazit aranması	549
Autovaccine	19
Spermogram	278
Weinberg teamülü	77
Casoni reaksiyonu	9
Tüberküloz tetkikleri	24 269
T.P.I.	587
Toplam	79 779

2 — Kimya tahlil ve kontrolleri :

Cinsi	Adet
İçme suyu	813
Maden suyu	46
Yiyecek maddeler	1 724
İçilecek maddeler	453
İlaç ve zehir	99
Hayatî tahliller	1 929
Sabun	32
Mütalâa	145
İdrar tahlili	2 335
Boya	9
Deterjan	49
Şekerli portakal özü	11
Alkollü içkiler	6
Toplam	7 651

3 — Virolojik incelemeler	5 822
4 — Farmakolojik muayene ve araştırmalar	6 590
5 — İlaç kontrolleri :	

Cinsi	Adet
Mütalâalar	235
Yazıřmalar	299
Antibiyotikler	378
Vitamin ve tonik müstahzarlar	181
Hormon müstahzarları	110
Narkotik, uyku ilâçları, lokal anestezipler	412
Eiyolojik zararsızlık aranması	52
Kalp, damar, ctenom sistem ve kan pıhtılaşması ilâçları	252
Sülfamidler ve tüberküloz ilâçları	87
Diğer antisepitikler	272
Ensektisitler	10
Diğer müstahzarlar	164
Müstahzar olmayan kodeks muayenesi	242
Aşı ve serumlarda titraj ve teşhis	171
Aşı ve serumlarda zararsızlık	704
Diğer müstahzarlarda zararsızlık	1 675
Aşı ve serumlarda sterilite	533
Diğer müstahzarlarda sterilite	353
Toplam	6 173

GENEL TOPLAM

Cinsi	Üretim (litre)	Tutarı (T.L.)
Her nevi aşular	22 971	6 711 870
Serunlar	3 854	1 348 900
Antijen ve allerjenler	929	437 468
Enstitü üretiminde kullanılan maddeler	102 909	249 324
Her türlü tabliller (Bakteriyolojik, virolojik, farmakolojik, ilaç kontrol, kimyasal)	106 015 (adet)	1 949 878
Toplam		10 697 440

(15/11/65)

**SUMMARY OF THE YEARLY ACTIVITIES OF THE
REFİK SAYDAM CENTRAL INSTITUTE OF HYGIENE IN 1965**

Dr. Tahsin Ş. BERKİN
Director of the Institute

The activities of the Refik Saydam Central Institute of Hygiene during the year of 1965 are as follows :

I — Investigations and studies :

The followings are the headlines of the subjects of studies in different departments and their laboratories :

A — Studies in the Department of Bacteriology in 1965 :

- 1) Salmonella Paratyphi B in Antakya.
- 2) Shigella epidemic in Burdur.
- 3) Salmonella Typhi epidemic in Haymana.
- 4) Procedures used in the bacteriological diagnosis of Cholera.
- 5) Comparison of the Nelson - Mayer (T.P.I.) test with the other reagent tests.
- 6) A comparative study on the bacteriological examination of water.
- 7) The problem of Giardiasis in Turkey and the experiments on its treatment with Métronidazole.
- 8) Investigations made in the region of Bilharziosis in Turkey and the today - situation of the diseases.

9) *Cornithonyssus bacoti* infection in an American family in Ankara.

10) Experimental investigations on the treatment of the visceral Larva Migrans.

11) Relations between bacteri and parasite.

12) A copro - helminthological investigation in dogs, as a source of the visceral Larva Migrans of man caused by intestinal helminths.

B — The studies performed or being carried out in the Virology and Virus Vaccines Department in 1965 :

1) Analyzing and the discussion of the results of Rabies vaccination schedule by Semple method during the last five years period.

2) Influenza and other ARD prevalence all over the world and in Turkey during 1964 - 1965 season and results of the laboratory studies.

3) Studies on the presence of polio antibodies in children (3 - 4 years age group) who were vaccinated in 1963 - 1964 by Triple vaccine and conclusion the time of booster and type of vaccine should be given.

4) Experiments on the dried smallpox vaccine production in establishing the method to be used in our own laboratory conditions, and starting of the production.

5) Continuing, the study on the prevalence of ARBOR VIRUS infection in Turkey and virus isolation.

6) Comparative field studies on the application and results of dried and liquid smallpox vaccines.

7) The experiment on the laboratory diagnosis of the cases who were diagnosed as polio by clinicians, and set the method for routine use.

8) Comparative study on the virus yield of vaccine lymphs harvested from different kind of sheep (continued).

C — New organization, development and scientific researches made in the Drug Control Department during the year 1965 :

Laboratory No. 2 :

1) A separate laboratory was established on Jan, 1st, 1965 for the microbiological assay of antibiotics.

2) In this laboratory quantitative determination of activity of antibiotics with the sensitive methods, and expression of results as percent values has been achieved.

3) To prepare the National Turkish Antibiotic Standards, collaboration between that department and 3 big drug factories in Istanbul, has been agreed in the first meeting held in Istanbul, Dec. 16 th, 1965 and preliminary works have been started.

Laboratory No. 3 :

1) For the microbiological assay of vitamins a separate laboratory has been established in August 1965.

2) In this laboratory, Folic and Panthothenic acids are being determined by Turbidimetry.

3) Vitamin B₁₂ with Plate method.

Laboratory No. 6 :

Investigations :

1) Investigations on the stability of Iodoform Gauze.

2) Stability of injectable solution of Lobeline HCl.

Book :

1) Identification and assay of alkaloids in Pharmaceuticals

Investigations not yet finished :

1) Stability of Atropine sulfate solutions

2) Stability of Rutine in Routine + Aminophylline tablets.

II — Production activities :

The vaccines, anatoxines, antigens, allergens and sera produced, delivered and used in the Institute during 1965 are showed in the following tables :

1 — Bacterial vaccines :

Kind of product	Produced (liters)	Delivered (liters)
Typhoid (TAB) vaccine	9 065	7 011
Plague »	—	—
Cholera »	1 402	1 361
Pertussis »	25	30
B.C.G. (intracutaneous) vaccine	630	587
B.C.G. (oral) »	8	6
Anticatarrhal »	—	0.810
Bruceella »	—	0.180
Staphylococcus »	—	1.640
Total	11 589	8 996.630

2 — Virus and Rickettsial vaccines :

Kind of product	Produced (liters)	Delivered (liters)
Rabies vaccine	2 186	2 052
Smallpox » (glycerinated lymph)	180.260 (9 013 450 dose)	180.140 (9 007 300 dose)
Smallpox vaccine (dried)	1.963 (163 600 dose)	—
Typhus »	348	144
Influenza »	1.650	1.040
Total	2 717.873	2 377 180

3 — Anatoxin vaccines :

Kind of product	Produced (liters)	Delivered (liters)
Diphtheria vaccine	220	333
Tetanus »	35	76
Total	255	409

4 — Combined vaccines :

Kind of product	Produced (liters)	Delivered (liters)
Typhoid + Tetanus	943	625
Diphtheria + Tetanus	1 140	1 177
Typhoid + Typhus	60	65
Typhoid + Diphtheria	1 120	571
Pertussis + Diphtheria	871	907
Typhoid + Diphtheria + Tetanus	3 054	3 371
Diphtheria + Tetanus + Pertussis	1 223	1 159
Total	8 411	7 875

5 — Antigens and allergens :

Kind of product	Produced (liters)	Delivered (liters)
Wassermann antigen	5.000	9.740
Kahn »	12.000	14.340
Mantoux (PPD)	800.415	827.200
Killed antigen for agglutination test	111.400	111.400
Meinicke antigen	—	0.180
Old tuberculine	—	0.400
Antigène methylique (pure)	—	0.160
» » (diluted)	—	0.360
Total	928.815	963.780

6 — Sera :

Kind of product	Produced (liters)	Delivered (liters)
Tetanus antiserum	1 614	1 675
Diphtheria »	1 131	882
Anthrax »	385	400
Scorpion »	76	22
Gangren » (polivalent)	453	176
Normal serum	13	6
Concentrated Diphtheria antiserum	123	115
» Tetanus »	21	27
Hemolytic serum	11	11
Rabies antiserum	27	32
Total	3 854	3 346

7 — Materials mainly used in production :

Kind of product	Produced (liters)
Materials used in the immunization	579
Media for Pertussis	4 009
Media for Tetanus toxin	6 100
Media for Diphtheria toxin	5 230
Pittman medium	736
Media for Tbc. cultures	2 037
Ordinary gelose	3 440
Liquid media (nutrient broth)	4 192
Physiological saline	6 320
Distilled water	70 266
Total	102 909

III — Analysing and control activities of the Institute in 1965:

1) Bacteriological examinations and analysis :

Kind of examination	Number
Various cultures	2 636
Agglutination tests	2 216
Wassermann tests	19 717
Kahn test	19 717
Other serological examinations for Syphilis	579
Controls of eating and drinking substances	747
Various blood examinations	1 664
Water examinations for E. coli	6 405
Antibiotic sensitivity tests	310
Feces examinations for parasites	549
Autovaccines	19
Spermatozoa count	278
Wienberg tests	77
Casoni tests	9
Examinations for tuberculosis	24 269
T.P.I. tests	587
Total	79 779

2 — Chemical analysis and controls :

Kind of examination	Number
Drinking water	813
Mineral water	46
Eating substances	1 724
Drinking substances	453
Drug and poison	99
Biochemical analysis	1 929
Soap	32
Remarks and opinions	145
Urine	2 335
Dye	9
Detergents	49
Sugared orange extract	11
Alcoholic drinks	6
Total	7 651

3 — Virological examinations	5 822
4 — Pharmacological examinations	6 590
5 — Drug controls :	

Kind of examination	Number
Remarks and opinions	235
Correspondance	299
Antibiotics	378
Vitamins and tonics	181
Hormon preparations	110
Narcotics, local anesthetics, sleeping drugs	412
Biological safety tests	52
Drugs for heart, circulatory and autonomic systems and blood - clotting	252
Sulfonamids and antituberculous drugs	87
Antiseptics	272
Insecticides	10
Other preparations	164
Codex examinations	242
Vaccine and serum titrations	171
Vaccine and serum safety tests	704
Safety tests in other preparations	1 678
Sterility tests in vaccines and sera	533
Sterility tests in other preparations	393
Total	6 173

The production and control activities of the Institute in 1965 are valued according to the price list fixed by the Government and given below :

Kind of activity or production. Produced or performed. Value in TL.

All sort of vaccines	22 571 (liters)	6 711 870
Sera	3 854 *	1 348 900
Antigens and allergens	929 *	437 468
Materials prepared for the production of the Institute	102 909 *	249 324
All sort of analysis (bacteriological, virological, pharmacological, chemical and drug control)	106 015 (number)	1 949 878
Total		10 697 440

M. K. 2071

MEMLEKETİMİZDE KURU ÇİÇEK AŞISI İSTİHSALI VE YAŞ AŞI İLE MUKAYESELİ OLARAK YAPILAN UYGULAMADAN ALINAN SONUÇLAR

Dr. Elhan ÖZLUARDA

Reflık Saydanı Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü, Virus Aşları Şubesi Mütahassısı

Memleketimizde 1965 yılı içinde kuru çiçek aşısı istihsaline başlanmıştır. Hazırladığımız kuru çiçek aşısı ile yaptığımız pilot uygulamadan aldığımız sonuçları anlatmadan evvel, Memleketimizde yeni bir konu olması dolayısı ile, kuru çiçek aşısının hazırlanması ve özelliklerinden kısaca bahsetmeyi uygun bulduk.

Aşı lenflerinin elde edilmesinde geliştirdiğimiz metodlar evvelki yazılarımızda izah edilmiş bulunduğundan (1,2) burada tekrar edilmeyecektir. Dana veya koyundan elde edilmiş bir aşı lenfinin, kurutulacak virus süspansiyonu haline gelmesi için aşağıda anlatılan safhalardan geçmesi icabeder :

% 10 ekstrakt hazırlanması :

İşlenecek aşı lenfi saklandığı - 15° — - 20°C deki deep freeze' den çıkarılarak çözülmesi için bir gece buzlukta bekletilir. Ertesi gün steril bir makasla kırıldıktan sonra, ağırlığının 9 misli (1 gr. için 9 cc), % 0,4 oranında fenol ihtiva eden McIlvaine pH 7.2 tampon solüsyonu ve ağırlığı kadar (cc) «Arcton 113» karışımı ile elektrikli ezme aletinde, buz kabı içinde tutulan kavanozda 10 dakika müddetle homojenize edilir. Bu süre sonunda kavancz, hasil olan köpüğün giderilmesi için bir saat kadar buzlukta bekletilir ve sonra bu emülsiyon 5 dakika 500 G (1500 dd) ile santrifüje edilir. Üstte kalan kısımlar steril bir şişede toplanarak 18 saat müddetle 22°C lik etüvde bekletilir. Bu süre esnasında fenol kontaminasyon bakterilerini aşgariye indirir. Sulandırma solüsyonuna konulan «Arcton

113», aşı süspansiyonundaki proteinlerin büyük bir kısmını bağla-
mış ve santrifugasyon yardımı ile herikisi bertaraf edilmişlerdir. Bu
suretle, proteinler tarafından tutulmamış ve dolayısı ile serbest bu-
lunan fenol aşındaki bakterilerin büyük bir kısmını elimine etmek-
tedir. «Arcton», daha az fenol konsantrasyonu ile daha kısa zaman-
da bu eliminasyonu temin etmektedir.

18 saatlik enkübasyon sonunda bu «%10 ekstrakt» ta bakteriyolojik kontrol (Pitman, dik jeloz, kanlı jeloz vasatlarına ekilir), jerm sayımı ve virus titraji (tavuk embriyonu koriyo - allantoik zarında pok sayımı metodu ile (3. 4, 5, 6) yapılır. Kültürlerdeki şüpheli üremelerden kobaylara zerkedilerek patojenite aranır. Bakteriyolojik ve zararsızlık kontrolleri sonuçları tatminkâr (cc. de 1000 den az jerm; patojen bakteri yok) ise ve titresi 8×10^6 PFU/ml (cc. de pok hasil eden ünite adedi) den yüksekse «% 10 ekstrakt» kurutulmaya hazırdır.

E. B. S. (Elementer cisimcik süspansiyonu) hazırlanması :

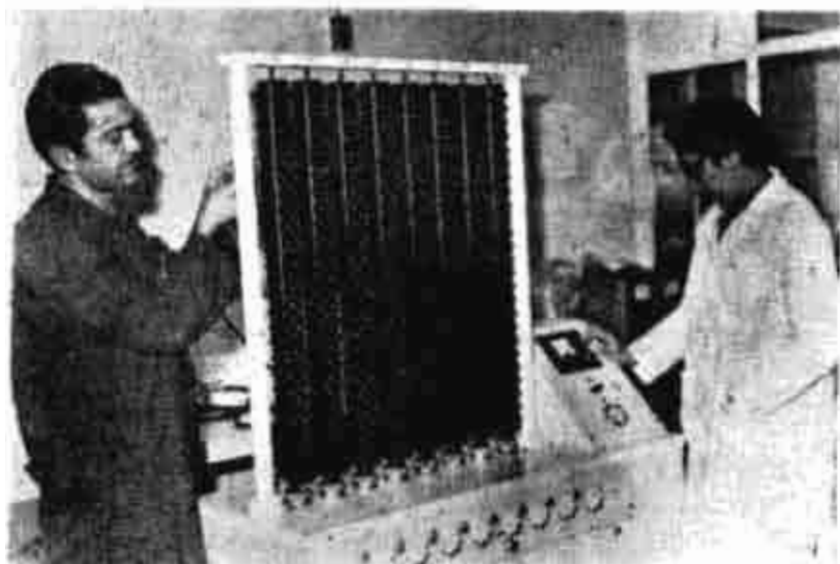
% 10 ekstraktın titresi düşük bulunursa virusun konsantrasyonu cihetine gidilir. Bunun için % 10 ekstrakt, 10000 G (8000 dd) ile 30 dakika santrifüje edilir (bu iş için kullanılmakta olan yüksek devirli santrifüj, çevrilme esnasında aşı süspansiyonunun ısısını 1 - 2 dereceden fazla arttırmamaktadır.) Dipte paket haline gelen virus kütlesi, % 10 ekstraktın titresine göre, orijinal hacmin 5 - 10 da biri kadar McIlvaine tampon solüsyonu ile, elektrikli karıştırıcıda 10 - 15 dakika (soğuk madeni kavanozda ve buz içinde) homojenize edilir. Bu suretle elde edilen E. B. S. (elementary body suspension) de bütün bakteriyolojik kontroller ve titraj tekrar edilir. Titre $8 - 10 \times 10^6$ PFU/ml bulunduğu takdirde ve bakteriyolojik kontroller olumlu sonuç vermiş ise E. B. S. kurutulmaya hazırdır.

Kurutma işlemi :

a) Primer kurutma : Kurutulacak virus süspansiyonu eşit hacimde % 10 pepton solüsyonu ile karıştırılarak, primer kurutma makinesinin herbiri 380 ampül alan özel tepsilerindeki ampüllere 0.3 cc miktarında tevzi edilir. Sterilite örtüleri tesbit edildikten sonra bu tepsiler primer makineye yerleştirilir ve ilk kurutmaya başlanır. Aşı, başlangıçta çalıştırılan santrifüj sebebi ile ampülde eğik bir



Şekil 1 - Primer kurutma makinesi



Şekil 2 - Sekonder kurutma makinesi

durum alır ve vakum başlayınca bu halde donar. İlk kurutma vakum altında 18 saat devam eder. Aşıdan çıkan su buharı refrijeratör tarafından tutulur. Aşıda, ilk kurutma sonunda % 1 kadar rutubet kalır.

b) Sekonder kurutma : Primer makineden çıkarılan ampüller steril pamukla pamuklanarak sekonder makinenin manifoldlarına takılır. İkinci kurutma yine vakum altında 18 - 22 saat devam eder ve bu esnada aşıdan çıkan su buharı, sekonder makinedeki fosfor-pentoksit (P₂O₅) tarafından tutulur. İkinci kurutma sonunda aşındaki nem takriben % 0,5 a inmektedir.

İkinci kurutma sonunda sekonder makineye saf azot gazı (oksijen ve su buharından arı) sevkedilir ve ampüller atmosferik basınctaki azot gazı ile dolduktan sonra, sekonder makine üzerinde özel çapraz alevli hamlaçla kapatılır.

Kapatma hatası olup olmadığını anlamak üzere ampüller tel sepet içine konularak, havası motorla boşaltılabilen ve su dolu bir desikatöre daldırılır. Havası çekilip tekrar verilen desikatörden çıkarılan ampüllerden içi su dolmuş olanlar atılır. Sağlam ampüllerden gerekli kontroller için bir miktar ayrılır, diğerleri -15°C deep freeze'e konur.

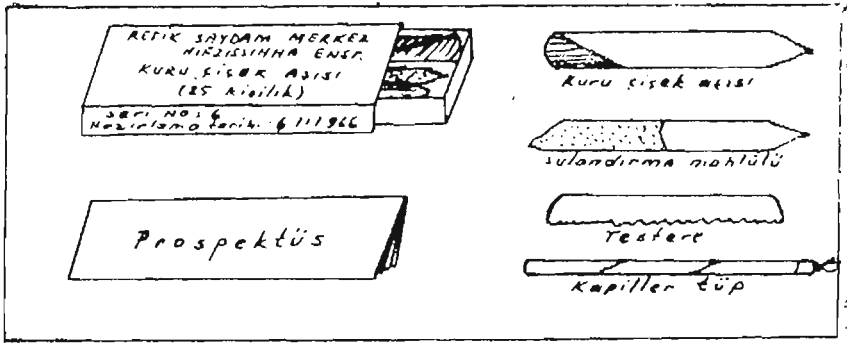
Kuru aşıda yapılan kontroller :

Kuru aşıda bütün bakteriyolojik, zararsızlık kontrolleri ve titraj tekrarlanır. Ayrıca, kuru aşı bir saat kaynama derecesinde tutularak bu titrasyona dahil edilir. Kuru aşıdan bir miktar ampül 37°, 22° ve 4°C ye bırakılarak muhtelif fasılalarla titreleri kontrol edilir.

Bütün bu kontroller tamamlandıktan sonra, aşıdan yeter miktarda bir nümune Enstitü Kontrol Şubesi'ne gönderilir. Kontrol Şubesinin raporu alındıktan sonra aşı sevke hazır hale gelmektedir.

Kuru aşının sulandırılmasında kullanılacak eriyik :

Kuru çiçek aşısının sulandırılmasında kullanılan eriyik, % 40 oranında geliserin ihtiva eden Mellvaine tampon solüsyonudur. 0,3 cc miktarında, iki ucu çekilmiş ampüllere konulmuş halde aşı ampüli ile beraber verilmektedir.



Şekil 3 - Kuru çiçek aşısı

Kuru çiçek aşısının özellikleri :

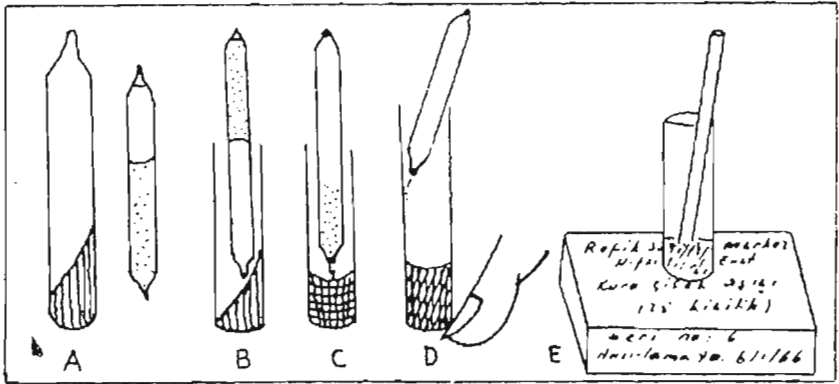
Kuru çiçek aşısının başlıca üstünlüğü ısıya dayanıklı olmasıdır. Gliserinli yağ aşının, bütün canlı virus ihtiva eden aşılar gibi, kudretini oda derecesinde (22°C) dahi süratle kaybetmesine mukabil, kuru aşı tropik iklimlerde dahi ($37^{\circ} - 45^{\circ}\text{C}$) haftalarca dayanmaktadır (7, 8). Bilhassa sıcak iklimli ülkeler ile soğukta muhafaza ve taşıma imkânları olmayan yerlerde emin bir şekilde kullanılabilir-mektedir.

Her kuru çiçek aşısı ampülü asgari 25 kişiyi aşılamaya yetecek kadar çiçek aşısı ihtiva eder.

Aşının saklanma şekli : Mümkün olduğu hallerde buzlukta saklanmalıdır. Bununla beraber kuru aşı kudretini, buzlukta saklanmadığı halde dahi mütedil iklimlerde en az 6 ay, tropik ısıda en az 1 ay muhafaza eder. Ampül açıldığı ve sulandırıldığı zaman derhal kullanılmalıdır; artan kısım 10°C altındaki bir buzlukta saklandığı takdirde (bu esnada ampülün ağzı steril bir pamuk veya gazlı bezle kapatılmalıdır) bir hafta müddetle kullanılabilir. Sulandırılmış aşı buzlukta saklanmadığı takdirde atılmalıdır.

Aşının kullanma şekli :

Verilen testere ile kuru aşı ampülü, üzerinde işaret edilmiş çizgi seviyesinde kesilir. Steril bir pamuk veya gazlı bezle sarılarak kırılır. Ampül, kutu kapağında açılan bir deliğe sokularak sabit halde tutulabilir (Şekil 4 - E).



Şekil 4 - Kuru çiçek aşısının sulandırılması

Sulandırma mahlülü ampülünün iki ucu testere ile çizilir; içindeki sıvı bir ucuna doğru silkelenir (Şekil 4 - A); diğer ucu eter veya asetonla (alkolle değil) ıslatılmış bir pamukla silinir ve bu uç kırılır. Ampülün açılmış ucu kuru aşı ampülünün içine sokulur ve iç cidarına temas ettirilir. Sulandırma mahlülü ampülünün dışarıda kalan diğer ucu kırılır. Bu anda, bütün sulandırma mahlülü kuru aşı üzerine akar ve hafif bir fiskeleme ile kuru aşı bu mayi içinde resüspanse olur (Şekil 4 - B - C - D).

Ampüllerin açılması ve sulandırma esnasında kuru aşı maddesinin veya sulandırma mahlülünün ziyan olmamasına, dökülmemesine dikkat edilmelidir. Aksi takdirde aşı, gerekenden az veya fazla sulandırılmış olacağından, alınacak sonuç ta normalden fazla bir reaksiyon veya aşının tutmaması şeklinde tezahür edebilir.

Aşılama esnasında ampül içindeki sulandırılmış çiçek aşısını iyice homojen bir halde olmasına dikkat etmeli, değilse bir iki fiske ile karışmasını temin etmelidir.

Aşının uygulanmasında aynen yaş aşıda mevzu bahis hususlara riayet edilir. Primovaksinasyonlarda 5 mm. boyunda bir, revaksinasyonlarda 5 mm aralıklı iki çizgiden fazla skarifikasyon yapılmamalıdır.

Aşı yerinin muhafazası, aşı reaksiyonları, revaksinasyonlar hususları yaş aşıda olduğu gibidir ve aşılama prospektüslerinde etraflı olarak yazılmıştır.

KURU ÇİÇEK AŞISI PİLOT UYGULAMASI

Hazırladığımız kuru çiçek aşısını tatbikata arzmeden evvel pilot bir çalışma ile, gerek ısıya karşı dayanıklılığını, gerekse gliserinli aşıya nazaran efikasitesini ve bu arada, uygulamada karşılaşılabilecek hususları tesbit etmeyi faydalı bulduk. Aynı zamanda böyle bir çalışma, aşuların lâboratuvarda bulunan titresi ile bu aşularla primovaksinasyonda «başarılı aşı» oranını kıyaslama imkânını verecekti.

MATERYEL VE METOD

Uygulamada kullanılan aşular :

Bu çalışmada iki seri kuru ve bir seri gliserinli yaş aşı kullanıldı. Her üç aşının, 37°C de muhtelif süreler bekletilmiş bir miktarı ile, deep freeze'de saklanan (-15°C) kısmından birer nümuneye «A» dan «F» ye kadar kod ismi verildi. Şöyle ki :

«A» = 37°C de 66 gün bekletilmiş Seri No. 7 kuru çiçek aşısı

«B» = Deep freeze'de muhafaza edilen Seri No. 7 kuru çiçek aşısı

«C» = 37°C de 73 gün bekletilmiş Seri No. 6 kuru çiçek aşısı

«D» = Deep freeze'de muhafaza edilen Seri No. 6 kuru çiçek aşısı

«E» = 37°C de 11 gün bekletilmiş Seri No. 35 gliserinli yaş çiçek aşısı

«F» = Deep freeze'de muhafaza edilen Seri No. 35 gliserinli yaş çiçek aşısı

Bu aşular uygulamaya verilmeden evvel tavuk embriyonu korıyo - allantoik zarında pok sayımı metodu ile titre edildiler; uygulamaya sahasına frigo içinde nakledildiler.

Aşuların uygulanması :

Bu uygulama büyük ölçüde BCG Kampanyası personelinin yardımı ile sağlanmıştır. Köy içinde hoparlörlü ciple dolaşarak yapılan propaganda sayesinde, mevsim kış olmasına rağmen, gerek aşı-

lamada gerekse kontrol günlerinde şahısların köy okullarına gelmeleri temin edilmiştir.

ECG Kampanyası: Re - test ekibinden 4 Sağlık Memuru ile, II. Grup Başkanlığının temin ettiği 4 yardımcı Sağlık Memurundan, ikişer kişilik 4 aşılama ekibi tertip edildi. Bu ekipler, uygulamadan evvel iki gün bir kursa tabi tutularak, özel bir manipülasyonu gerektiren kuru çiçek aşısının sulandırılması hususunda ve genel olarak çiçek aşısı istihzali ve uygulamasında dikkat edilecek noktalar hakkında yetiştirildiler. Aşılama ve kayıt usullerinde, her dört ekip arasında bir birlik olması sonuçların değerlendirilmesi bakımından önemli idi. Re - test personeli aşıları yapmak ve okumak, yardımcı Sağlık Memurları kayıtları yapmakla vazifelendirildiler. Kayıt defterlerine, sıra No., aşılananın adı, yaşı, cinsiyeti, evvelce aşılanmış olup olmadığı, kullanılan aşının kod ismi, 3. ve 8. gün kontrollerinde aşı yerinin durumunun kaydedilmesi için haneler ayrılmıştı.

Ekip personeli aşıları yalnız «A» - «F» kod isimleri ile tanıyor, yalnız kuru ve yaş aşığı görünüşlerindeki fark dolayısı ile ayırd edebiliyor, fakat vasıflarını ve aralarındaki farkı bilmiyorlardı.

Uygulama Nevşehir'e bağlı Karapınar, Ağıllı, Kurugöl, Doğala, Boğazköy, İçik, Kızılın ve Toruç köylerinde 2552 kişi üzerinde yapıldı. Aşılamaya genel olarak 12 yaştan küçük çocuklar alınmakla beraber muhtelif vasıftaki aşıların uygulanmasında yaşlara göre bir seçim yapılmadı.

37°C de bekletilmiş aşılarla daha az aşılama yapılmış olması için, aşılarla «A», «C» ve «E» isimli aşılardan daha az miktarda verildi. Fakat bütün aşılar arasında, primo veya revaksinasyon yapılması hususunda bir seçim yapılmadı. Bu suretle, sonuçların hakikate uyması için, azami bir «rastgeleleştirme» temin edildi.

Primo ve revaksinasyonların yaş ve cinslere göre dağılımı Tablo I de muhtelif vasıftaki aşılarla yapılan primo ve revaksinasyonların adetleri Tablo II de verilmiştir.

Aşılananların kontrolleri aşılamadan sonraki üçüncü ve sekizinci günlerde yapıldı. 2469 kişinin aşı kontrolleri ve sonucunu kaydı mümkün oldu (% 97). Aşı yerinin durumu, eritem, papül, vezikül, püstül ve kabuk terimleri ile kaydedildi. 8. gün kontrolünde aşı reaksiyonu göstermeyen primovaksinasyonlar, 3. ve 8. gün kon-

Tablo 1 — Kuru ve yaş çiçek aşısı ile aşılanan şahısların cins ve yaş gruplarına göre dağılışı.

Table 1 — Age and sex distribution among the vaccinated persons.

AŞI Type of vaccine	Saklama şartı Storage condition	Aşılanma Vaccin- ation	Yaş gruplarına göre aşılanan şahıs adedi Number vaccinated in age groups												Ge- neral total			
			1 y. dan küçük under 1 y.			1 - 6 y.			7 - 12 y.			12 y. dan bü- yük over 12 y.				Totals		
			K	E	T	K	E	T	K	E	T	K	E	T		K	E	T
Kuru AŞI DRIED VACCINE	- 15°C	P	23	28	51	201	209	410	73	65	138	6	5	11	303	307	610	1.317
		R	0	1	1	104	94	198	164	225	389	47	72	119	315	392	707	
Gliserinli yaş aşısı GLYCERIN- ATED VACCINE	9-10 weeks at 37°C de 9-10 hafta	P	7	13	20	74	83	157	22	19	41	1	0	1	104	115	219	416
		R	1	6	7	23	33	56	31	84	115	8	11	19	63	134	197	
TOPLAM	- 15°C	P	8	11	19	91	86	177	32	72	104	0	1	1	131	170	301	594
		R	0	0	0	48	39	87	72	90	162	24	20	44	144	149	293	
TOPLAM	11 days at 37°C de 11 gün	P	3	5	8	29	29	58	21	15	36	0	0	0	53	52	105	225
		R	0	0	0	6	11	17	23	65	88	1	14	15	30	90	120	
TOPLAM			42	64	106	576	584	1160	488	688	1076	87	123	210	1148	1409	2.552	

K = Kadın - female; E = Erkek - male; P = Primovaccination; R = Revac-
cination; Y = Yaş - year; T = Toplam - Total

Tablo II — Uygulamada kullanılan muhtelif çiçek aşları ile aşılanan şahıs sayısı.

Table II — Number of persons vaccinated with smallpox vaccines used in the vaccination study.

Ekip Team No.	Uygulama ya- pılan köy Name of villages	Aşılama Vacci- nation	Kullanılan aşıların kod isimleri Designations of vaccines of different batch and quality						Top- lam Total
			A	B	C	D	E	F	
I	Doğala, Topaç	Prim.	37	108	41	98	54	80	418
		Revac.	13	53	9	67	20	41	203
II	Kurugöl, İçik	Prim.	5	52	19	52	29	59	216
		Revac.	50	94	37	151	20	87	439
III	Ağlı, Kızılçın	Prim.	33	72	10	28	10	73	226
		Revac.	17	78	41	128	42	114	420
IV	Karapınar, Boğazköy	Prim.	48	144	28	55	12	89	376
		Revac.	3	5	19	108	38	51	224
Toplam		Total	206	606	204	687	225	504	2.552

trolunda clumsy sonuç veren revaksiyonlar, şahısların aşısız kal-mamaları için, potent bir aşı ile tekrar edildi.

Aşılamada kullanılan metod :

Useüne göre sulandırılmış kuru aşı ve yaş aşı içine, steril ka-piller aşı tübü batırılarak sağ kol deltoid adelesi üzerine tübün ucu temas ettirilmek suretiyle konulan küçük aşı damlası içinden, steril toplu iğne ile, 5 mm. boyunda 5 mm. aralıklı iki skarifikasyon çizgi-si yapıldı. Deri iki parmakla gerilerek iğnenin yan ile aşı bu çizgile-rin içine yedirildi. Aşı yerinin 10 dakika kadar örtülmemesi tenbih edildi. Aşının bu metolla tatbiki halinde 25 dozluk bir kuru aşı ampülü ile 30-35 kişinin rahatça aşılanabileceği görüldü.

Lâboratuvar testleri :

Uygulamada kullanılan aşılar ekiplere verilmeden evvel, lâbora-tuvarda, tavuk embriyonu koriyo - allantoik zarında çok sayımı metodu ile titre edildiler. Bulunan titreler Tablo III de verilmiştir.

Tablo III — Kuru ve yağ çiçek aşısı ile yapılan aşılama ve titrasyon sonuçları

Table III --- Vaccination and titration results of dried and glycerinated smallpox vaccine.

Aşı Vaccine	Saklama şartı Storage condition	Titre (pock count) PFU, ml	Primovaksinas- yonda tutma yüzdesi Vaccination success rate (%)
Kuru aşı Seri No. 6 Dried vaccine Batch No. 6	— 15°C	1.2 x 10 ⁷ veya or 1.6 x 10 ⁷	98.7
	73 days at 37°C de 73 gün	6.5 x 10 ⁶ veya or 1.5 x 10 ⁷	93.9
Kuru aşı Seri No. 7 Dried vaccine Batch No. 7	— 15°C	1.3 x 10 ⁷ veya or 1.1 x 10 ⁷	95.3
	66 days at 37°C de 66 gün	8.6 x 10 ⁶ veya or 7 x 10 ⁷	89.9
Yağ aşı Seri No. 35 Glycerinated vaccine Batch No. 35	— 15°C	1.5 x 10 ⁷ veya or 1.2 x 10 ⁷	94.7
	11 days at 37°C de 11 gün	10 ⁶ den az less than 10 ⁶ veya (or) 2x10 ⁶	26.1

SONUÇLAR

Aşılama sonuçları :

Primovaksinasyon yapılan 1235 ve revaksinasyon yapılan 1317 şahsın yaşlara göre dağılımı Tablo IV te verilmiştir.

Primovaksinasyonlardan alınan sonuçlar Tablo V te etraflı olarak gösterilmiştir. Kuru aşılarla alınan olumlu sonuç ortalaması % 97, yağ aşı ile alınan % 95 tir. Buna karşı, 2 - 2,5 ay 37°C de bekletilmiş kuru aşılarla % 92 oranında olumlu sonuç alınmasına

Tablo IV — Primo ve revaksinasyon yapılan şahısların muhtelif yaş guruplarına düşen adetleri ve yüzde oranları.

Table IV — Age distribution and percentage of persons in primary and re - vaccination.

Aşılama Vaccination	Yaş gurupları - Age groups								Toplam Total	
	1 yaşından küçük under 1 year		1 - 6		7 - 12		12 yaşından büyük over 12 year			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Primary	98	7.9	802	64.9	322	26.1	13	1.1	1235	100.0
Revac.	8	0.6	358	27.2	754	57.3	197	14.9	1317	100.0
Toplam Total	106	4.3	1160	46.0	1076	41.7	210	8.0	2552	100.0

rağmen, yalnız 11 gün 37°C de kalmış yaş aşısı ile ancak % 26 oranında reaksiyon elde edilmiştir. Bu oranın I, II ve IV. ekiplerde çok daha düşük olduğu, fakat III. ekibin aldığı sonucun bu rakamı yükselttiği Tablo V te görülmektedir.

Revaksinasyonlardan alınan sonuçlar Tablo VI da etraflı olarak verilmiştir. Kuru aşılarla yapılan revaksinasyonlarda olumlu sonuç oranı ortalaması % 94, yaş aşısında bu oran % 89 dur. Buna karşı, 2 - 2,5 ay 37°C de bekletilmiş kuru aşılarla % 79, 11 gün 37°C de kalmış yaş aşısı ile % 68 oranında olumlu sonuç elde edilmiştir. 37°C de bekletilmiş ve dolayısı ile kudretini çok kaybetmiş bu yaş aşısı ile revaksinasyonlarda, primovaksinasyonlardan daha yük-oranda reaksiyon elde edilmesi şaşırtıcıdır ve bu her dört ekibin aldığı sonuçlarda görülmektedir.

2552 kişi üzerinde yapılan bu uygulamada komplikasyona hemen hemen hiç rastlanmamıştır. Yalnız, bir kız çocuğu eli ile aşığı burnuna nakletmiş olacağından burun deliklerinde birer püstül meydana gelmişti. Derisi kirli olduğu için ovularak silinen 4 çocukta da aşısı püstülü etrafında sekonder küçük püstüller hasıl olmuştu.

Table V — Kuru ve yaş çiçek aşuları ile yapılan primovaksinasyonlarda alınan sonuçlar.

Table V — Vaccination results with dried and glycerinated smallpox vaccines in primary vaccinations.

Ekip No. Team No.	Kuru aşı — Dried vaccine						Yaş aşı — Glycerinated vaccine					
	Seri No. 6 saklandığı şartlar Batch No. 6 stored at			Seri No. 7 saklandığı şartlar Batch No. 7 stored at			Seri No. 35 saklandığı şartlar Batch No. 35 stored at					
	37°C de 73 gün (days)			37°C de 66 gün (days)			37°C de 11 gün (days)			37°C de 11 gün (days)		
	Aşılama Number	Tutma % Takes	Aşılama Number	Tutma % Takes	Aşılama Number	Tutma % Takes	Aşılama Number	Tutma % Takes	Aşılama Number	Tutma % Takes	Aşılama Number	Tutma % Takes
I	41	97.6	98	100.0	36	91.7	107	99.1	48	4.2	79	96.2
II	18	77.8	50	100.0	4	75.0	49	87.8	27	3.7	55	89.1
III	10	100.0	28	96.4	33	97.0	70	95.7	10	80.0	73	84.5
IV	28	100.0	55	98.2	48	95.8	144	98.6	12	16.7	87	98.9
Toplam Total	97	98.9	281	98.7	121	89.9	370	95.3	97	26.1	284	94.7

Table VI — Kuru ve yaş aşı ile yapılan revaksinasyonlardan alınan sonuçlar.

Table VI — Vaccination results with dried and glycerinated smallpox vaccines in revaccinations.

I	8	87.5	66	100.0	13	48.2	50	100.0	19	47.4	39	84.6
II	36	69.4	150	96.7	46	37.0	93	82.8	19	73.7	84	82.9
III	41	100.0	127	99.2	17	94.1	75	94.7	42	95.2	114	95.6
IV	19	100.0	108	100.0	3	100.0	5	80.0	35	57.1	50	84.0
Toplam Total	104	89.2	451	98.0	79	69.3	223	89.4	115	68.4	287	89.3

Lâboratuvar titrasyonları :

Tablo III te görüleceği üzere, aşuların titreleri ile uygulamada elde edilen aşı reaksiyonları yüzdeleri arasında bir paralelizm mevcuttur.

Titresi 5×10^7 PFU·ml den yüksek olan aşularla yapılan primovaksinasyonda % 100 tutma beklenmekle beraber, bazı ekiplerin bu sonucu alamayışı şu sebeplere atfedilebilir : a) uygulama kış mevsiminde yapıldığı için aşı yerini bazı şahıslar yeteri kadar açık tutamamışlar ve aşı giysileri ile silinmiştir; b) iyi bir oruşturma ve eski aşı yerinin aranmasına rağmen evvelce aşılanmış olduğu halde ilk aşı hanesine işaret edilmişler olabilir.

Varılan sonuçlardan edinilen bilgiler :

Bu uygulama sonucunda edindiğimiz bilgileri şu şekilde özetleyebiliriz :

1) Hazırladığımız kuru çiçek aşısının ısıya dayanıklılığı gliserinli yaş aşıya nazaran çok üstündür. 37°C de 9 - 10 hafta kalmış bir kuru aşı ile alınan sonuç (% 92 tutma), -15°C de saklanan gliserinli aşı ile alınan sonuca (% 95) çok yakındır. Buna karşı, 37°C de sadece 11 gün kalmış gliserinli yaş aşı ile bu oran % 26 veya daha aşağıya düşmektedir.

2) Bir kuru çiçek aşısı ampülü ile (0,3 cc) 35 - 40 kişi rahatça aşılanabilmektedir. Bu bakımdan, aşılanmada, 0,01 cc (1 doz) den fazla aşı kullanmak lüzumsuzdur ve hattâ sakıncası vardır.

3) Primovaksinasyonda 5 mm. boyunda tek bir skarifikasyon çizgisi kâfidir. Revaksinasyonda böyle iki çizgi çizilebilir.

4) Uygulamada, prospektüslerde yazılı hususlara riayet edildiği takdirde aşı komplikasyonları hemen hiç görülmebilir.

5) Kuru çiçek aşısını ilk defa uygulayacak şahısların, aşının özel sulandırma usulünü önceden öğrenmeleri gerekir.

6) Gliserinli yaş çiçek aşısı uygulama yerine kadar frigo içinde götürülür ve 0°C altında saklanırsa aşının tutmama şansı asgariye iner.

7) Aşı yerinin ovularak temizlenmesi, virusa fazla giriş kapısı açılmış olacağından, sekonder püstüller husulüne sebep olabilir. Aşı yerini temizlemek icabediyorsa fazla tahriş yapmamaya çalışmalıdır.

8) Aşılana şahıslara aşı yerinin bakımı hususunda tam bilgi verilmeli, gerekli tenbihat yapılmalıdır.

9) Revaksinasyonlarda yüksek tutma oranı bulunması, revaksinasyon yapılan şahısların çoğunluğunun 7 - 12 yaşları arasındakiler olması dolayısı ile, ilk yaşta yapıldan sonra hiç aşılammış olmalarına veya daha sonra yapılan uygulamalarda potent aşı kullanılmamış olmasına bağlanabilir.

10) Aşıların titreleri ile, bunlarla yapılan aşılammaların tutma oranı arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur.

11) Primovaksinasyonlarda % 100 olumlu sonuç elde etmek için çiçek aşılarımızın titresini 10⁷ PFU/ml üzerinde hazırlamak zorundayız. Bu kudrette bir aşı ile de ikiden fazla skarifikasyon çizgisi yapmak ve 0,01 cc den fazla aşı kullanmak sakıncalıdır.

12) Aşılana şahısların bağışık hale getirildiklerine emin olmak için aşılammadan sonra 3. ve 8. gün kontrollerinin yapılması ve aşısı tutmayanların tekrar aşılammaları gerekmektedir.

13) Çiçek aşısının mecburi olduğu Memleketimizde dahi, 12 veya daha büyük yaştakiler arasında hiç aşılammamışlar mevcuttur.

14) Sonuç olarak, hazırladığımız kuru çiçek aşısını yaz aylarında ve Memleketimizin sıcak bölgelerinde rahatça ve emin olarak uygulanabileceğini ve frigoya ihtiyaç hissetmeksizin taşınabileceğini söyleyebiliriz.

Ö Z E T

1965 yılı içinde Enstitümüzde istihsaline başlanan çiçek aşısının ilk uygulaması, gliserinli yaş aşı ile paralel olarak, Nevşehir'e bağlı 8 köyde ve 2552 kişi üzerinde yapıldı. Kuru aşı ile yapılan primovaksinasyonlarda % 97, yaş aşı ile % 95 oranında olumlu sonuç alındı. 37°C de 2 - 2,5 ay bekletilmiş kuru aşı ile % 92 oranında tutma elde edildiği halde, 37°C de sadece 11 gün kalmış yaş aşı ile bu oran % 26 ya düştü.

Bu çalışma ile, hazırlamakta olduğumuz kuru çiçek aşısının Memleketimizin sıcak bölgelerinde ve yaz aylarında başarı ile kullanılabilceği, aşılama da 2 den fazla skarifikasyon çizgisi yapılması ve bir kişi için 0,01 cc den fazla aşı kullanılmaması gerektiği bir kere daha teyid edildi.

TEŞEKKÜR

Bize bu uygulamanın gerçekleştirilmesi imkânını sağlayan, Vem Savaşı Genel Müdürü ve BCG Kampanyası Başkanı Dr. Hamdi Açıan başta olmak üzere, BCG Kampanyası Başkan Muavini Dr. Nevzat Sarp, BCG Kampanyası Müşaviri Dr. Daver Özlüarda, BCG Kampanyası II. Grup Başkanı Ulvi Subaşı, büyük bir titizlikle uygulamayı yapan Re - test Ekibi Sağlık Memurları Saim Kirişçi, Orhan Özkaya, Bahattin Erdeğer ve Ahmet Bulduk ile II. Grup Sağlık Memurları Şerif Özer, Mülkü Uysal, Suavi Alan ve İbrahim Civan'a en derin şükran hislerimizi arz etmeyi ödev sayarız.

Not : Bu yazının basılmakta olduğu sırada, Dünya Sağlık Teşkilâtı (WHO) nun tavsiyesi ve aracılığı ile, Hollanda'da Rijks Instituut voor de Volksgezondheid müessesesine kontrol edilmek üzere gönderilmiş kuru aşı (Seri No. 6) numunesine alt test sonuçları alınmış bulunmaktadır. Bu rapora (WHO, 21 Şubat 1966 tarih ve S2/446.2 sayılı yazıya ekli) göre, aşının titresi, 4°C de 4 hafta saklandıktan sonra $2,4 \times 10^7$ PFU/ml; 37°C de 4 hafta saklandıktan sonra $8,9 \times 10^7$ PFU/ml; cc. de bakteri sayısı (0); patojen organizm yoktur.

Bu bulgular kuru aşımızın lehinde olup, bu suretle uluslararası standartlara (Requirements for smallpox vaccine, WHO Technical Report Series 1959 No. 150) uygunluğunu tasdik edilmiş bulunmaktadır.

100 250 400 500

**DRIED SMALLPOX VACCINE PRODUCTION IN TURKEY
AND
RESULTS OBTAINED FROM THE LABORATORY AND
VACCINATION STUDIES WITH DRIED AND GLYCERINATED
SMALLPOX VACCINES**

Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Refik Saydam Central Institute of
Hygiene, Virus Vaccines Department

SUMMARY :

The dried smallpox vaccine production in Turkey has been started in 1965.

Before the dried batches have been dispatched for routine use in the field, a pilot vaccination study would be useful a) to measure the effect of storage at 37°C by the laboratory method of pock counting on the chorio - allantois of chick - embryos and by vaccination success rates in children previously vaccinated or not vaccinated, b) to compare the results of the laboratory tests with the vaccination success rates, and c) to find out the circumstances to be encountered in the field with this new vaccine with which the vaccinators in our country are not familiar.

MATERIALS AND METHODS

Vaccines used in the study :

In this study two dried and one glycerinated vaccines were used. A portion of each vaccine were incubated at 37°C. After sto-

rage of different periods of time, samples were removed from the incubator and stored at -15°C until used (five days) for vaccination and the laboratory tests.

The vaccines under tests were designated in the following manner :

«A» = Batch Nr. 7 dried vaccine stored at 37°C for 66 days,

«B» = Batch Nr. 7 dried vaccine stored at -15°C ,

«C» = Batch Nr. 8 dried vaccine stored at 37°C for 73 days,

«D» = Batch Nr. 8 dried vaccine stored at -15°C ,

«E» = Batch Nr. 35 glycerinated vaccine stored at 37°C for 11 days,

«F» = Batch Nr. 35 glycerinated vaccine stored at -15°C .

The laboratory tests were made in our laboratory and vaccinations were carried out by the sanitarians of the B.C.G. Vaccination Campaign on the population in the 8 villages of the province of Nevşehir. The samples were taken by the vaccinators to the field in an insulated box containing ice cans.

Vaccination studies :

Thanks to the co-operation of the B.C.G. Campaign personnel, this study could be realized. Propaganda talks through the loud-speakers of the teams have been useful to make the people come to the village school to be vaccinated and to be controlled.

4 teams consisted of two sanitarians were formed and, before the vaccination study, these sanitarians were subjected to a training course of two days on the reconstitution of the dried vaccine, production and application of smallpox vaccines. This course was necessary to make them use uniform methods in vaccinations and recording, as the evaluation of the study would be based upon the results they were going to have.

There were columns in recording books for the name, sex and age of the vaccinated, whether primary or revaccination, the designation of vaccine used, and for the third and eighth day control.

The vaccinators were issued with samples of vaccine identified with code name, the exact meaning of which was known only by our laboratory. The vaccinators therefore were unable to tell which samples had been stored at 37°C and which at -15°C. They could distinguish the dried vaccines from the glycerinated ones owing to their different appearance.

The studies were carried out on 2552 persons mostly under 12 years of age in the villages of Karapınar, Ağaçlı, Kurugöl, Doğala, Boğazköy, Içık, Kızılcın and Topaç of the province of Nevşehir. For randomization of the study no selection was made between age and sex groups nor primary and revaccinations regarding to the vaccine to be used. Only the amount of vaccines stored at 37°C was less than stored at -15°C in order to avoid too many unsuccessful vaccinations among the population.

Age and sex distribution of the primary and revaccinations are shown in Table I, and the numbers vaccinated with different vaccines are given in Table II.

Arms were inspected on the third and eighth day after vaccination. 2469 of the vaccinated (97%) could be controlled and results were recorded as «erythema», «papule», «vesicule», «pustule», or «scab». In the absence of vesiculation children were revaccinated with a routine batch of glycerinated vaccine lymph.

The method used in vaccination :

The dried vaccines were packed in 25 dose ampoules. Some of the vaccinators, however, vaccinated more than 25 persons with one ampoule of dried vaccine and any vaccine remaining in the ampoule was discarded.

All vaccinations were made by two linear and parallel scratches 5 mm. long, on the skin of the lower part of the posterior border of the deltoid muscle of the right arm through the vaccine dropped by a sterile capillary tube immersed into the reconstituted dried vaccine or the glycerinated vaccine lymph. The vaccine was rubbed into the scratches with the side of the needle which is used in making scratches. A separate sterile needle was used for each vaccination. The vaccinated or their parents were told to keep the site of vaccination open at least ten minutes to allow the vaccine to dry and not to be wiped off by dressings.

Laboratory tests :

Before the trials began and again at the end of the whole study, the potency of two dried and one glycerinated vaccines were tested by the pock counting technique.

R E S U L T S

Vaccination results :

The age distribution and percentage of persons in primary and revaccinations are given in Table IV.

The results obtained from primary vaccinations are given in Table V. The average of the vaccination success rate with dried vaccines was 97%, and with glycerinated lymph vaccine 95 %. On the other hand, dried vaccines, with which a total of 819 persons were vaccinated (and controlled), were giving 92 % success rate after storage 9 - 10 weeks at 37° C, while the glycerinated lymph vaccine was much less satisfactory - only 26 % of the 97 primary vaccinations with sample kept at 37°C for 11 days gave a reaction to the vaccine. As shown in the Table V, the latter rate was much less in results obtained by the Teams I, II and IV, but the average was increased by the results of the Team III.

The results obtained from revaccinations are given in Table VI. The average of the vaccination success rate with dried vaccines was 94 %, while it was 89 % with the glycerinated lymph.

On the other hand, dried vaccines were giving 79 % success rate after storage 9 - 10 weeks at 37° C., while that rate with glycerinated lymph vaccine stored at 37°C for 11 days was 68 %. It was very surprising that the success rate with glycerinated lymph stored at 37° C for 11 days in revaccinations was higher than that in primary vaccinations and this was seen in the results of each Team.

No severe complications have been encountered in this study which was made on 2469 (controlled) persons. In one case vesiculation occurred in nostrils of a girl due to the transmission of vaccine by hand and in four other cases secondary pustules came out around the main pustule due to the rubbing of the vaccination site with a piece of cotton soaked into acetone to clean the skin.

Laboratory titrations :

The results of laboratory titrations are set out in Table III.

The results of the experiment demonstrate a relationship between pock counts of preparations of smallpox vaccine and the percentage of successful vaccinations which they will produce, with an exception of the dried vaccine Batch Nr. 7 stored at 37° C for 68 days.

Although it is expected from a vaccine which contains over 5×10^7 PFU/ml, to give a 100 % vaccination success rate in primary vaccinations, some of the teams did not obtain this result probably because of the following reasons; a) As the vaccinations were carried out in cold season, the vaccination site could not have been kept open enough time and the drop of vaccine might have been wiped off by clothes of some of the vaccinated persons; b) There may be some few mistakes in recording the vaccinations as primary or revaccination, though the arms were inspected for scars and the vaccinators tried to take a history of previous vaccination.

Information and experiences gained from the trial :

The results and the information obtained in this trial can be summed up as follows :

1) The dried vaccine prepared in our laboratory has been proved to be more resistant to heat than glycerinated lymph. The average vaccination success rate obtained by the dried vaccines stored at 37° C for 9 - 10 weeks (92 %) is almost equal to the result with the glycerinated lymph (95 %); while that is much lower with the glycerinated vaccine stored at 37° C for only 11 days (26 % on average).

2) With an ampoule of dried vaccine (0.3 ml) 35 - 40 persons can be easily vaccinated; 0.01 ml of reconstituted vaccine is enough for one person and to use more can be a cause of complication.

3) A single linear scratch 5 mm long is satisfactory in primary vaccination. For revaccination, two of these scratches can be made.

4) If the vaccinations are made in proper way, the probability of complication can be minimized.

5) Before starting to carry out vaccinations with dried vaccine, its way of reconstitution should be accustomed.

6) To minimize unsuccessful vaccinations with glycerinated vaccine, it should be taken to the place of vaccination in refrigerated containers.

7) The application of acetone soaked cotton to the skin and rubbing to clean the vaccination site facilitates the penetration of vaccinia virus into the skin and secondary pustules occur around the scarification line. No irritation should be made on the skin during vaccination.

8) The vaccinated persons or their parents should be told about the care of the vaccination site.

9) In revaccinations rather high percentage of «takes» have been obtained. This can be attributed to a) the time lapsed since the primary vaccination, or b) the vaccine of poor potency they had been vaccinated with before.

10) There is a relationship between the pock counts of preparations of smallpox vaccine and the percentage of successful vaccinations which they will produce.

11) To obtain 100% «takes» in primary vaccination, we have to prepare vaccines with pock counts greater than 10⁶ and in vaccination with this vaccine, the number of scratches should not be more than two; with an ampoule of dried vaccine, at least 25 persons should be vaccinated (not to use excess amount of vaccine).

12) To be sure about the result of the primary or revaccination, arms should be inspected on the third and eighth day after vaccination, and in the absence of vesiculation, they should be revaccinated with a potent vaccine.

13) Although smallpox vaccination is compulsory in this country, there are still unvaccinated ones among the persons of 12 or more years old.

14) As a conclusion, the dried vaccine we produce can be safely used during the summer months in the hot regions of our country where the smallpox is not endemic, and it can be distributed without any refrigeration.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to Dr. Hamdi Aan, General Director of the Tuberculosis Fighting Department of the Ministry of Health and Social Assistance and Chief of the B.C.G. Campaign; Dr. Nevzat Sarp, Deputy Director of the B.C.G. Campaign; Dr. Daver zliarda, Consultant of the B.C.G. Campaign, for their co - operation and permission to undertake the field studies by the help of the Campaign personnel and to the sanitarians of the Re - test Team and Group II. of the Campaign for their valuable work in the field.

Note : While publication of this article, favourable results of the control tests made by the Rijks Instituut voor de Volksgezondheid, Netherlands, through WHO, on our dried smallpox vaccine (Batch Nr. 6) have been received. According to these tests, the titre of the vaccine after 4 weeks at 4°C is 2.4×10^7 PFU/ml, and after 4 weeks at 37°C is 8.9×10^7 . Bacterial count /ml. is (0) and no pathogen organism has been found. These findings confirm that our dried smallpox vaccine satisfies the minimum requirements for dried smallpox vaccine.

LITERATURE

- 1 — zliarda, Elhan. 1962 : lek aşı istihsalinde kullanılan yeni metod ve aşı tatbikatında dikkat edilmesi gereken hususlar. Türk Hij. Tec. Biol. Der. XXII, 2 - 3

The latest method of smallpox vaccine production in Turkey. Turk. Bull. Hyg. Exp. Biol. Vol. XXII, No. 2 - 3

- 2 — zliarda, Elhan. 1964 : lek aşı istihsalinde rol oynayan faktörlerin aralarındaki ilgililerin araştırılması ve varılan sonuçlar. Türk Hij. Tec. Biol. Der. XXIV, 1

Relations between the factors effecting on the production of the smallpox vaccine. Turk. Bull. Hyg. Exp. Biol. Vol. XXIV, No. 1

- 3 — Cockburn, W.C., Cross, R.M., Downle, A.W., Dumbell, K.R., Kaplan, C., McClean, D., 1957 : Laboratory and vaccination studies with dried smallpox vaccines Bull. Wid Hlth Org., 16, 63 - 77

- 4 — Kaplan, C., Belyavin, G., 1957 : The titration of vaccinia virus by the pock counting technique. The Journal of Hygiene, Vol. 155, No. 4

- 5 — Cross, R.M., Kaplan, C., McClean, D., 1958 : Studies with dried and glycerinated smallpox vaccines of full and diminished potencies. Bull. Wld Hlth Org. 19, 123 - 128
- 6 — Özlüarda, Elhan., 1959 : Çiçek aşısının tavuk embriyonu koriyo - allantoik zarında pok sayımı metodu ile titraji. Türk Hij. Tec. Biol. Der., XIX
Studies on vaccinia virus II. The titration of smallpox vaccine by the pock counting technique. Turk. Bull. Hyg. Exp. Biol. Vol. XIX
- 7 — Özlüarda, Elhan., 1962 : Dünya Sağlık Teşkilâtı Enter-rejilyonal Kuru Çiçek Aşısı Kursu, 6 - 18 Kasım 1961 Bangkok, Tayland. Türk Hij. Tec. Biol. Der. XXII, 1
- 8 — Cross, R.M., Kaplan, C., McClean, D., 1957 : The heat resistance of dried smallpox vaccine. The Lancet, March 2, 466 - 468

- 10/10/1964

**TÜRKİYEDE SON BEŞ YILLIK
(1960 - 1964) SEMPLE USULÜ KUDUZ AŞI
TATBİKATI NETİCELERİ**

Dr. Azmi ARI MPH

Refik Saydam M. H. Enstitüsü Viroloji ve
Virus Aşuları Şb. Müd. ve Kuduz Lab. Şefi

GİRİŞ :

Bundan evvelki yazımızda (1) 1949 - 1959 yıllarına ait Semple usulü kuduz aşısı tatbikati neticeleri tablolar halinde verilmiş, bunların üzerinde münakaşa edilmiş; ayrıca, Semple kuduz aşısı tatbikat talimatında (1960) yapılan değişiklikler mucip sebepleri ile özetlenmeye çalışılmış ve nihayet aşının müessiriyetinde kullanılanmaya başlanan Habel testi izah edilmiştir.

Aradan bir beş yıl daha geçmiş bulunuyor. Bu esnada, yaptığımız ve neşrettiğimiz çalışmalarla (2, 3) Semple usulü kuduz aşısı tatbikat şemalarında, Dünya Sağlık Teşkilatı (DST) neşriyatını (4) teyit eden bulgularımızı pratik tatbikata sokmak imkânı hasıl oldu. Kuduz aşısı talimatı yeniden hazırlanarak (1964) tatbikata arz edildi.

Bu yeni talimatla beraber, kuduz şüpheli ısırıklı insanın, Semple usulü kuduz aşısı ile tedavisinde aşağıdaki hususlar pratiğe getirilmiş bulunuyor :

1. Aşının şemasının,
 - a. Hafif ve orta şiddetteki ısırıklar ile yaralı derinin enfekte salyaya teması vak'alarında 14 gün, günde 4 cc (3),
 - b. Ağır ısırık vak'alarında, serum + 20 gün, günde 4 cc aşısı şemasının tatbiki ile beraber, son aşısı zerkinden itibaren 10 ve 20 ci günlerde birer rapel yapılması (4) :

2. Evvelce bir seri kuduz aşısı tatbik edilenlerin tekrardan bu enfeksiyona maruz kalmaları halinde (2) :
 - a. Hafif ve orta şiddetteki ısırıklıklar ile yaralı derinin enfekte salyaya teması vak'alarında bir hafta ara ile 4 cc lik iki zerk,
 - b. Ağır ısırık vak'alarında, bu mevzuda yeter nitelikte malûmat toplanıncaya kadar klâsik tedavinin tatbiki;
3. Kuduz aşısı tedavisinin dayandığı fikir.
4. Fare ısırıklarında takip edilecek yol.
5. Isıran hayvan müşahadesinin sebebi ve süresi.
6. Hayvanın ısırmasına sebebiyet veren bir tahrik varsa, bu gibi hallerde hayvanın tercihan sahibi nezdinde müşahadesinin devamı.

gibi pratik değeri çok olan hususlara, yeni talimatta yer verilmiş bulunmaktadır.

Aşının, çok ağır ve müteaddit yerlerinden kuduz şüpheli ısırığa maruz kalanlar hariç, diğer ısırıklara tek şema halinde tatbiki (3) nin sağladığı, pratik fayda üzerinde tartışmak bile fazladır.

Ağır ısırıklı vak'alarda derhal serum tatbikinin lüzumu aşikâr olarak anlaşıldıktan sonra, hiperimmün kuduz serumunun, kuduz aşısı istasyonu bulunan bütün sağlık merkezlerine kadar götürülmesi sağlanmış bulunmaktadır. Sağlık Bakanlığının kuduz aşısı tatbikati hakkındaki görüşü, bu imkânın hekim ve buzdolabı bulunan her sağlık ünitesine, diğer bir ifade ile yurdun her köşesine götürülmesi şeklindedir. Bu düşüncenin uygulanması elbette hepimizin arzu ettiği bir husustur. Ancak, tatbikatın selâmeti, kuduz aşısı istasyonlarında vazife alacak hekimlerin bir kurstan geçmesini icap ettirdiği senelerin tecrübeleri ile sabit bulunmaktadır. Bu hususta gerekli tedbirler alınmıştır.

Kuduz aşısı kursları, 1965 yılından itibaren Refik Saydam M. H. Enstitüsüne ilâveten uygun görülen diğer müsait müesseselerde tertiplenerek kurs görme işi ve imkânı artırılmış bulunmaktadır.

Küçük olarak kuduz hastalığı semptomları gösteren insan, bu hastalığın insanlar arasında yayılmasında mühim bir rol oynamaz. Hastalığın ölüme yakın devirlerine kadar şuurun açık bulunması,

bunun başlıca sebebidir. Diğer bir ifade ile, kuduz bir insan üzerine varılmadıkça, kötü muamele edilmedikçe etrafındakileri ısırılmaz ve hastalığı bulaştırmaz. Buna mukabil, çocuklar ve tipi itibarıyla esasen fevri olan şahıslarla, sosyal şartları dolayısıyla inkışaf etmemiş çevrelerin insanları, hastalığın uyarma devrelerinde etrafındakilerle boğuşabilir, yaralayabilir ve yüzlerine, gözlerine tükürebilir.

Halk arasında olduğu kadar birçok hekimlerimizin, sebepsiz bir kuduz fobisi içerisinde, klinik kuduz arazi gösteren hastayı derhal başka bir hastaneye gönderme ve bu hastayla uzak yakın her türlü teması olanları, aşı tedavisine tâbi tutmak gibi bir davranış içerisinde oldukları maalesef bir hakikattir.

Klinik olarak, en küçük bir ihtinialle kuduz hastalığı düşünülen şahıs için yapılacak şey, hastayı muayene edildiği yerde tecrit etmek, sakinleştirici tıbbi yardımlarda bulunmak ve 1-2 gün içerisinde esasen ölümü beklenen hastaya son insanî ve hekimlik vazifelerimizi ifa etmek olacaktır. Aşı tedavisine tâbi tutulacak şüpheli temasların seçiminde, iyi bir soruşturma ile beraber ellerin muayenesi ve taze yara bere olup olmadığının tesbiti icabeder. Umumiyetle kuduz aşı tedavisinde, müracaat eden her şüpheli ısırık ve temaslıyı aşı tedavisine tabi tutma davranışı yerine vak'anın incelenmesi ve hakikaten aşı endikasyonu olanların seçilmesi lâzımdır. Bunun böyle yapılmasının çeşitli psişik, sosyal, ilmi sebepleri arasında aşuya bağlı ensefalit ihtilati başta gelir.

Kuduz aşı tedavisi yapılanlar arasında memleketimizde bu ihtilal 7700'de bir görünmekle beraber, biz bu çeşit bazı vak'aların mevcudiyetinden, bunların Ankara nöroloji kliniklerine intikallerinden sonra haberdar oluyoruz.

İnsanın kuduz enfeksiyonunu önlemek, takdir edileceği gibi bu mevzuda birinci derecede rolü olan sokak köpeğini ortadan kaldırmak, aşısız köpek ve kedi bırakmamak ve nihayet kuduz epidemiolojisinde ehemmiyeti nazarı itibara alınarak mücadelelerimizi hastalığın tabiatındaki mihraklarına yöneltmekle mümkün olacaktır. Takdir edileceği gibi şüpheli kuduz ısırıklı insanın aşıyla tedavisi, insan kuduz vak'alarının azaltmasını sağlamakta beraber radikal bir tedbir değildir. İskandinav memleketleri sokak köpeği mevzuunu halletmekle birbuçuk asra yakın bir zamandanberi bu hastalığı memleketlerinde eradike etmişlerdir (5). Mücadelelerimizi, başlangıçta zor gibi görünen ve fakat müsbet netice alma imkânı sağlayan hakiki sebeplere yöneltme zamanı gelmiştir.

MATERYEL VE METOD :

Aşağıdaki tablolarda, her yıl hazırlanan ve Bakanlığa arz edilen yıllık istatistik rakamları 5 yıl için bir araya toplanarak gözden geçirilme imkânı hazırlanmış bulunmaktadır.

Beşer yıllık olarak tevhid edilen rakamlarımızın, geçen 11 yıllık bulgularla karşılaştırılmaları yanında bunların DST'ndan son gelen World Survey of Rabies V 1962 - 1963 yıllarına ait global rakamlarla (6) mukayeseleri, bizi tatbikata ait bazı mühim hususlarda aydınlatacaktır.

NETİCELER :

Geçen 11 yılda 193, 296 insana mukabil son beş yıl içerisinde 155, 939 şahıs kuduz aşısı tedavisine alınmıştır. Yıl ortalaması 31.188 dir. İstanbul Kuduz Müessesesinin rakamları da buna eklenince, yıl ortalamamız 35.000 i bulmaktadır; bu rakam Dünya ortalamasının % 7.3 yani, takriben 1/14'i olup, 30 milyon nüfuslu Türkiye'ye isabet etmektedir. Bu nisbet yüksekliği, her müracaat eden ısırıklının tetkik edilmeden aşısı alınması ve bazı hallerde klinikçe kuduz teşhisi konan bir insan vak'ası veya köylerde sık rastlandığı gibi kuduzdan öldüğü sonradan tesbit edilen bir sığır etini yeme sebepleri ile 50 - 100 kadar insanın kuduz aşısı tedavisine sevk edilmesi yanlış tutumunun aşikâr bir tezahürüdür. Enstitümüzde istihsal edilen Semple tipi kuduz aşısı miktarının yüksekliği de, Dünyada, Hindistan, Meksika, Brezilya ve Filipinlerden sonra 5 ci sırayı işgal ediyor.

Son beş yılda, şüpheli ağır kuduz ısırıkları dolayısı ile 1022 şahsa hyperimmün kuduz serumu verilmiştir. Bu rakam, yılda ortalama 200 ağır ısırıklı olduğunu göstermekle beraber aşısı rağmen kuduran 43 ağır ısırıklının büyük bir kısmına muhtelif sebeplerle serumu verilememiştir. Ayrıca, 5 yıl içerisinde kuduz aşısı tedavisine gelmemiş ve klinik kuduz teşhisi ile ölmüş 136 vak'a vardır. Böylece geçen beş yıl içerisinde 179 şahıs klinik kuduz teşhisi ile ölmüşlerdir. Aşısı rağmen ölenlerin nisbeti, %0.035 olup hemen hemen bir evvelki 11 yıl ortalamasının (% 0.036) aynıdır. Dünya ortalaması % 0.044 dür (Tablo : 1).

Hiperimmün kuduz serumu zamanında verildiği halde kudurarak ölen 12 şahısta, ısırık hepsinde çok ağır ve baş - boyunda ol-

T A B L O — 1 —

Kuduz veya kuduz şüpheli (A, B, C) ve müşahade sonunda kuduz olmadığı anlaşılan (D) isimlerinde aşılanmalar, aşıya rağmen ölemler ve komplikasyonlar.

(Results of Simple Type Rabies vaccinated and Deaths and Complications Among Vaccinated)

Seneler (Years)	İsyan hayvanın baştalık haline göre tedaviye alınmalar, ölemler ve komplikasyonlar (Number of patients treated according status of biting animal)				Kuduz veya kuduz şüpheli (A, B, C) (Rabies or unknown)			Müşahade sonunda sağlam (D) (Healty at the end of observation)	
	Aşılanan sayısı Vaccinated	Antirabik se- rum verilenler Serum given	Kudurarak ölen sayısı Rabies	Komplikasyon sayısı Complication	Aşılanan sayısı Vaccinated	Komplikasyon sayısı Complication	Asılanan sayısı Vaccinated	Komplikasyon sayısı Complication	
1960	27.503	100	9	5	6.428	—	—	—	
1961	26.975	197	12	6	6.961	1	1	1	
1962	26.309	241	12	2	6.493	3	3	3	
1963	19.335	241	5	2	6.753	—	—	—	
1964	21.692	243	5	1	6.468	—	—	—	
Toplam	121.814	1.022	43 (% 0.035)	16 (% 0.013)	38.108	4 (% 0.012)	4 (% 0.012)	4 (% 0.012)	

— Serum tathik edilemler arasında kuduzdan ölemler (12) adettir.

— Aşılanmayan ve klinik kuduz arıza ile ölemlerin sayısı 5 yılda (136) dir.

duktan başka bu vak'alarda hastalığın kuluçka süresi 20 günün altında bulunmuştur.

Aşıya bağlı ensefalomyelit ve benzeri ihtilatlar % 0.013 olarak tesbit edilmiş olmakla beraber, bunların daha fazla olduğu şeklindeki müşahedemiz devam etmektedir. Dünya ortalaması % 0.007 civarında olup bizden de düşük görülmektedir. Diğer taraftan daha evvel bu nisbet, bizde de % 0.0076 olarak tesbit edilmiştir (7).

Tablo - 2 tetkik edildiği zaman, insanın şüpheli kuduz ısırığında köpeğin rolü (% 60) her zaman ve her yerde olduğu gibi yine kendini göstermektedir. İnsan (% 6.5), çift tırnaklı (%8), tek tırnaklı (% 6) ve farelerin ısırma ve temasları neticesi toplam olarak (% 28.5) oranında insana aşı tedavisi yapılmıştır. Bunun, dünya rakamları ile mukayese edildiği zaman, çok yüksek olduğu görülür; hatta bu hayvan ısırık ve temaslarından bahis bile edilmez. Kedi ısırık ve tirmalamaları memleketimizde (% 8) le hemen hemen kuduz şüpheli insan tedavisinde büyük bir rakam göstermekle beraber, insan kuduzuna sebebiyet verme bakımından 2 ci mühim hayvan kurttur; 5 yıl içerisinde 525 ağır ısırıkıda, tedaviye rağmen 7 klinik kuduz vak'asına sebebiyet vermiştir.

Tablo - 3'de baş - boyundan ısırıklılarda, tedaviye rağmen kuduzla yabalanma nisbatının en yüksek olduğu bunu, sırayla el ve kol, sonra bacak ısırıklarının takip ettiği görülmektedir.

Tablo - 4'de, yaranın derinliği ile aşı tedavisine rağmen kudurma arasındaki doğru oran, aşıkâr bir durum gösteriyor.

Tablo - 5'de, çıplak ciltten ısırılmanın rolünü görüyoruz. Aşıya rağmen ölenlerin 43'ünden yalnız 3'ünde, elbise üzerinden ısırılmalarda tedaviye rağmen kudurma olmuştur.

Tablo - 6'da kuduz şüpheli ısırığa maruz kalanların, umumiyetle zamanında aşı tedavisine müracaat etmekte olduklarını göstermekle beraber, maalesef kuduranların da çoğunlukla bunlar arasında oluşu, kötü bir olgudur.

Tablo - 7 de bize, yurdumuzda ısırık hayvana laboratuvar (A) ve klinik (B) teşhis konma imkânının az olduğunu ve bilhassa başboş köpek konusunun önemini göstermesi itibariyle dikkati çekmektedir. Nitekim biz 118,614 şahsı takip edemediğimiz şüpheli (C) ısırık ve temasa maruz kalmalarıyla kuduz aşı tedavisine al-

T A B L O — 2 —

İsiran hayvan nevi ve aşıya rağmen kudurlarının dağılımı
(Types of Animals and Human Rabies in Treated Persons)

Seneler Years	Köpek (Dog)	Kedi (Cat)	Kurt (Wolf)	Çakal (Jackal)	Ayı (Bear)	Domuz (Wild Pig)	Fare (Mouse)	Tek tir- (Horse and donkey)	Çift tir- (Sheep and cow)	İnsan (Human)	Kuşlar (Birds)	Diğer (Others)
1960	17048 9	1812 —	37 —	94 —	11 —	3 —	2132 —	1391 —	2972 —	1965 —	64 —	74 —
1961	16042 11	2096 1	45 1	60 —	15 —	4 —	2028 —	1624 —	2306 —	2917 —	10 —	25 —
1962	17959 5	1865 —	204 5	119 —	65 —	4 —	1668 —	1171 —	2143 —	1242 —	15 —	95 1
1963	11115 5	2209 —	24 —	250 —	331 —	201 —	2219 —	1145 —	1170 —	807 —	4 —	101 —
1964	10180 3	2609 —	208 1	402 —	561 —	54 —	2729 —	2153 —	1606 —	949 —	325 —	204 1
Toplam	72344 38	10591 1	518 7	925 —	938 —	266 —	10770 —	7484 —	10197 —	7880 —	418 —	499 2

T A B L O — 3 —

Yaranın Vücuttaki Yeri ve Aşıya Rağmen Kuduranların Dağılımı.

(Place of Wound and Human Rabies in Treated Persons)

Seneler (Years)	Y A R A (W o u n d)									
	Baş (Head)		Kol (Arm)		Gövde (Body)		Bacak (Leg)		Temas (Contact)	
1960	923	6	6.191	3	434	—	7.751	—	12.301	—
1961	1.269	8	5.711	2	227	—	6.631	2	13.334	—
1962	1.300	10	4.917	2	398	—	8.562	—	11.373	—
1963	706	2	4.808	3	590	—	5.232	—	8.240	—
1964	1.506	5	5.527	—	671	—	5.187	—	9.044	—
Toplam	5.704	31	27.154	10	2.320	—	33.363	2	54.295	—

T A B L O — 4 —

Yaranın Karakterine Göre Tasnif ve Aşıya Rağmen Kuduranların Dağılımı.

(Status of Wound and Human Rabies in Treated Persons.)

Seneler (Years)	Yaranın Vasfı (Status of Wound)					
	Derin (Sever)		Sathi (Slight)		Temas (Contact)	
1960	1.982	7	13.317	2	12.304	—
1961	2.513	10	11.325	2	13.334	—
1962	1.984	8	13.193	4	11.373	—
1963	1.992	3	9.344	2	8.240	—
1964	3.875	5	9.016	—	9.044	—
Toplam	12.346	33	56.193	10	54.295	—

T A B L O — 5 —

Çıplak Ciltten veya Elbise Üzerinden Isırıldığına Göre Tasnif ve Aşıya Rağmen Kuduranların Dağılımı

(Wound from Bare Skin or Through Clotes und Human Rabies in Treated Persons.)

Seneler (Years)	Y A R A (Wound)					
	Çıplak ciltten (Bare Skin)		Elbise üzerinden (Trough clothes)		Temas (Yara yok) (Contact)	
1960	8.118	9	7.181	—	12.304	—
1961	7.711	10	6.127	— 2	13.334	—
1962	6.027	12	9.150	—	11.373	—
1963	5.820	4	5.516	1	8.240	—
1964	6.900	5	5.991	—	9.044	—
Toplam	34.576	40	33.965	3	54.295	—

T A B L O — 6 —

Isırılan Gün ile Aşı Tatbiki Arasında Geçen Zaman ve Kuduranların Dağılımı.

(Time Between Bites and Beginning of Treatment and Human Rabies in Treated Persons.)

Yıllar Years	G Ü N L E R (Interval days)									
	0 - 4		5 - 7		8 - 14		15 - 21		20 ∠	
1960	18.436	9	5.273	—	2.426	—	1.019	—	449	—
1961	17.137	12	6.716	—	1.773	—	535	—	1.011	—
1962	19.830	11	3.074	1	1.971	—	824	—	851	—
1963	17.455	4	1.075	1	668	—	289	—	89	—
1964	17.533	4	3.021	1	1.008	—	370	—	3	—
Toplam	90.391	40	19.189	3	7.846	—	3.037	—	2.403	—

T A B L O — 7 —

**Vak'aya Sebep Olan Hayvanların Kuduz Olma İhtimallerine
Göre Tasnif**

(Possibility of Rabies by Lab. Klinically, Unknown)

Yıllar (Years)	Katagoriler (Catagories)		
	A	B	C
1960	105	1.078	26.420
1961	318	1.107	25.747
1962	406	434	25.710
1963	290	156	19.120
1964	220	103	21.607
Toplam	1.339	2.883	118.614

A. Laboratuvarca teşhîs konmuş (Rabies by Lab. finding)

B. Klinik kuduz (Rabies by clinical finding)

C. Bilinmeyen (Suspicious)

maktayız. Müşahadeye alma imkânı bulduğumuz temas ve ısırıklı sayısı 33,103 olup, bir evvelki rakamın 1/4 i kadardır.

KARAR VE ÖZET :

Memleketimizde, İstanbul kuduz müessesesi hariç, Semple usulü kuduz aşısı tedavisi tatbik edilenlere ait istatistikî bulgular her 5 - 10 yılda bir, bir araya toplanarak yayınlanmak suretiyle bu işte uğraşanlara toplu malûmat verilmesi sağlanabilmektedir. Yazımızın giriş kısmında bu bilgilerden istifade imkânları sıralanmaya çalışılmıştır. Daha sonra, kuduz şüpheli ısırıkların kuduz aşısı ile tedavilerindeki yeni görüşler deneysel birer tatbikattan geçirildikten sonra yurdumuzda uygulanmak üzere 1964 yılında tekrar yayınladık.

nan yeni «Semple Usulü ile Kuduz Aşı Talimatı»nda gösterilmişlerdir. Bu yeni talimattan bütün sağlık ve veteriner teşkilâtına dağıtılmış bulunmaktadır. Aşı tatbikatının disiplinini sağlamak, aşı tatbik edilecek vak'aların iyi seçilmesi, aşı istasyonlarının sayısını artırarak vatandaşa tedavi imkânını bir külfet olmaktan kurtarma gibi yollarla ve mutlaka kurs görmüş hekim eliyle bu işin yürütülmesi ile mümkün olacaktır.

Diğer taraftan, yurdumuzda insan kuduzu vak'alarına birinci derecede sebebiyet vermesi itibariyle, başıboş sokak köpeği mevzuunun ciddiyetle ele alınması, sahipli köpek ve kedinin aşılama imkânlarının sağlanması icabetmektedir. Bunlar yapılmadıkça, kuduz aşı tedavisine alınacakların sayısı artmakta devam edeceği gibi, memleketimizde artık hesap edilmeğe başlanan insangücü kaybı, kudurarak ölenlerin sayısında artma devam edecektir.

Tablolarda, insan kuduzu bakımından ikinci derecede ehemmiyetli hayvan nev'i kurt, tilki, çakal gibi hayvan ısırıkları yer aldığına ve köpekleri de çoğunlukla bunların enfekte ettiği düşünülürse, kuduz enfeksiyonunu yurdumuzda eradike etmek için bu enfeksiyonun tabiattaki mihraklarına mücadelemizi yöneltmek icap edeceği hakikati ortaya çıkar. Bütün bunların tahakkuku, bir taraftan halk çoğunluğunun halk sağlığı bilgileriyle eğitilmesi ile beraber, bir taraftan da meseleleri bu cepheleri ile ele alacak idarecilerin ve teknik tabib ve veteriner personelin yetişmesi ile mümkün olacaktır.

116203

RESULTS OF RABIES VACCINATION BY SEMPLE METHOD IN TURKEY DURING LAST FIVE YEARS (1960 - 1964)

Dr. Azmi ARI MPH

SUMMARY :

A revue of the results of rabies vaccination has been given for every 5 to 10 years, for the information of the people who are involved in this field in this country and elsewhere. Among these informations it is also given all sort of changes in vaccination of the persons when they slightly reexposed the bites of rabid suspected animals if they have already had a full course of rabies vaccine treatment and similar other changes.

However, from 1964 onward the rabies vaccination schedules have been changed and the following scheme accepted under the light of recent publication and as a results of our experiments (2, 3).

In fact :

- a. a 14 days 4 cc. day vaccination schedule applied to all persons who are slightly exposed to rabies or rabies suspected animals.
- b. Antirabic hyperimmun serum plus 20 days, 4 cc/day vaccination schedule together with 2 additional shots on ten days interval, applied to the persons who are severely bitten from neck and faces or from several parts of their bodies.
- c. Two doses of 4 ml each rabies vaccine with ten days interval are given to the persons who are slightly reexposed to the bites of rabies suspected animals if they have already had a full course of rabies vaccine treatment.
- d. The whole course of vaccination schedule is repeated for the persons who are severely reexposed rabied animals.

The tables in Turkish title represent the different aspects of the rabies vaccine treatment during the last 5 years throughout the country except Istanbul area where there is a rabies institute responsible from that part of the country. Their method of vaccine production and treatment schedule used to be and have been different from the whole country.

From the (Table 1.), it is observed that the total number of human being who received rabies vaccine treatment adds up 155.939 within the last five years whereas it used to be only 193.296 within the previous eleven years. This increase in number is rather due to increasing facilities which are extended throughout the country. The average number of human being who received vaccine treatment/year is about 31.188. This figure together with Istanbul's are approximately 1/14 of the whole world; which were about 496.915 in 1962 and 468.016 in 1963 respectively (6).

Antirabic hyperimmune serum is given to 1.022 individuals who have severely been bitten by rabies or highly suspected animals within the last five years. The average annual figure is about 200 persons. The paralytic accidents attributable to vaccine treatment developed in 20 individuals (2.012). The number of deaths in untreated individuals were 136. During or after treatment 43 individuals died from rabies. 12 out of 43 persons have had serum plus vaccine treatment; but in all of these twelve cases, incubation periods have unfortunately been observed shorter than 20 days. They were all severely bitten by wolves, from necks and faces.

From the tables, it is obviously understood that stray dogs are the main domestic animals which are responsible from human rabies. However, 33 individuals died from rabies as a results of bites of dogs. The second important animal, with this respect was found wolf in Turkey. In fact, 7 individuals died because of bites of wolves. Cats and other domestic and wild animals have rather very little effect on human rabies.

Under these circumstances, our effort should be and of course must be concentrated on, primarily to control and destroy stray dogs followed by vaccination of all owned dogs and cats, then comes to fight the natural foci of rabies infection in nature.

L I T E R A T Ü R E

1. A. ARI, 1960, Türkiye'de Son 11 Senelik (1949 - 1959) Semple Usulü Kuduz Aşı Tatbikatı Neticeleri, Türk Hij. Tec. Biol. Dergisi, XX/2, 280
2. A. ARI, 1964, Ordek Embryo Orijinli İnaktif Kuduz Aşısı, Bustır Tesiri Bakımından Semple Aşısı ile Mukayeseli Bir Çalışma Türk Hij. Tec. Biol. Dergisi, XXIV/1, 19
3. A. ARI, 1964, Kuduzda Aşıyla Tedavi Şemaları ve bu Hususta Bir Çalışma Türk Hij. Tec. Biol. Dergisi, XXIV 2, 136
4. WHO, 1960, Expert Committee on Rabies Technical Report Series No. 201
5. RIVERS ve HORSFALL, Viral and Rickettsial Infection of Man, 1935, 4 üç. edition.
6. WHO, 1965, World Survey of Rabies V. by the Veterinary Public Health Unit.
7. G. ERONAT, A. ARI, S. OKKAN, 1960, Kuduz Aşısı Neticesi Teessüs Eden Bir Nöritik Vak'ası, Türk Hij. Tecr. Biol. Dergisi, XX/2, 276

DİJİTAL GLİKOZİTLERİNİN İNOTROP TESİRİ HAKKINDA

Dr. Yavuz ERKOÇAK

Ankara Nümune Hastanesi Erkek

Dahiliye Kliniği

I. Giriş, materyel ve metod :

1952 yılında Hajdu ve Szent - Gyorgyi, Dijital glikozitlerinin izole kurbağa kalbindeki Bowditch fenomenini bertaraf ettiğini gösterdiler. Bir yıl sonra Hajdu, dijital glikozitlerinin tesir mekanizması hakkında yeni bir görüş ileri sürdü. İntra ve ekstra sellüler iyonlarla Dijital glikozitleri arasında o zamana kadar az dikkat edilmiş olan münasebet, tıbbi araştırmalarda gittikçe ilgiyi çekmeye başladı.

Bu çalışmanın amacı, 1) ekstrasellüler vasattaki elektrolit konsantrasyon değişikliğinin takallüs vüsatında fark tevhit edip etmiyeceği, ve Dijital ilâvesi ile ayrıca ne gibi değişiklikler olacağını araştırma, ve 2) kalp adalesi kültürlerinde de müşahade edilen Bowditch ve Luciani perodlarına Dijital glikozitlerinin ne şekilde tesir ettiğini incelemekten ibarettir.

Pulsasyonların kaydı için Bucher'in (1957) geliştirdiği fotoelektrik cihazdan faydalandı. Perfüzyon tekniği, kalp adalesi eksplantatlarının kontraksiyonu üzerine muhtelif Dijital glikozitlerinin tesirini in vitro tetkik etmek için yaptığımız çalışmada kullandığımız tekniğin aynıdır (Erkoçak 1960).

Aşağıdaki tecrübelerde kalp adalesi eksplantatlar evvelâ saf Tyrode mahlülül (pH 7,8) ile perfüze edildi. Bilâhare iki ağızlık bir musluk vasıtası ile ya Tyrode + Digitalis eriyiğine veya K Cl veya Na Cl muhtevası modifiye edilmiş Tyrode mahlülüne bağlanarak perfüzyon yapıldı.

Mahlüllerdeki izotoniyi muhafaza edebilmek için KCl veya Na Cl noksesenliği veya fazlalığı Jouma noktası aılçalmasına göre hesaplanan miktarda glikozla değıştirildi veya tamandandı. Bittabi modifiye, 10 g. NaCl ihtiva eden Tyrede mahlülüünde izotoniyi muhafaza mümkün değildi. Fakat bu biraz hipertonic mahlülle yaptığımız tecrübenin şartlarında eriyiğin hipertonic olusu, kontraksiyonu büyültücü bir faktör olarak esasen rol oynamamaktadır.

Bütün tecrübe sıralarında muayyen zaman aralıkları ile kayıtlar yapıldı. Her tecrübe serisi için asgari 5 muhtelif kalp adalesi eksplantatı kullandık ve takriben 200 registrasyon yaptık. Bittabi Bowditch ve Luciani per'od'arı gösteren explantatlarla mahdut tecrübeler yapabildik. Çünkü in vitro kalp adalesi kültürlerinde bu fenomeni artifisyel olarak husule getirmek elimizde değildir.

Araştırmada zikredilen tecrübelerde ekseriya Digitaline Nativele ile çalışıldı. Perfüzyon için uygun konsantrasyon; 1/1 000 000 — 1/2 000 000 olarak tesbit edildi. Bir kaç kültür Cedilanid «Sandoz» ile muamele edildi. Cedilanid için uygun konsantrasyon 1/250 000 — 1/500 000 arasında bulunmaktadır.

II. Neticeler :

Birinci seri tecrübelerde normal tirodla ve dijital ilâve edilmiş tirod mahlülü ile perfüzyon yapılmış ve traseeler alınmıştır. Normal tirod'a devamlı perfüzyon, amplitüdün gittikçe küçülmesine sebep olmaktadır. Şekil 1 de normal tirod mahlülü ile perfüzyondan sonra çekilen trase ile normal tiroda 1/500 000 konsantrasyonunda ilâve edilen Cedilanid ile çekilen trase görülmektedir. Dijital ilavesi kontraksiyon vüsatinde değışikliğe sebep olmamış, kontraksiyonlar, normal tirodla olduğu gibi küçülmesine devam etmiştir.

İkinci grup tecrübelerin birinci safhasında K dan ari tirodun ve iki misli K ihtiva eden tirodun perfüzyonu ile kontraksiyon vüsatinde husule gelen değışiklikler görülmektedir (Şekil 2 b ve 3 b).

K dan ari tirod altında kontraksiyon vüsati normal tiroda göre büyümekte (Normal tiroda dönünce yeniden küçülüyor), iki misli K ihtiva eden tirodla perfüzyonda normal tiroda nisbetle kontraksiyon vüsati küçülmektedir. (Normal tiroda dönünce yeniden büyüyor). Hem K dan ari tirod ve hem de iki misli K ihtiva eden tirod mahlülüne dijital ilâvesi, ne birincinin vüsatinin daha büyümesine

sebebi olmakta ne de ikinci halde küçülen konsantrasyonların yeniden büyümesini temin etmektedir (Şekil 2 c ve 3 c).

Üçüncü grup tecrübelerinde bu defa aynı hususlar Na la kontrol edilmiştir.

Şg. pro L. yerine 10g. pro L. Na Cl ihtiva eden tirodla yapılan perfüzyon, her ne kadar amplitüdü artırmamakta ise de, normal tirodla perfüzyonun sebebi olduğu amplitüd küçülmesine mani olmakta ve kültürdeki palsasyonlar hemen hemen aynı kalmaktadır. (Şekil 4b.)

8 gram yerine 6g. pro L. Na Cl ihtiva eden tirodla yapılan perfüzyonla takallüs vüsatı daha kısa zamanda daha büyük ölçüde ufalmaktadır. (Şekil 5b).

Ne 10g. Na Cl li tirodla yapılan perfüzyona ve ne de 6g. Na Cl li tirodla yapılan perfüzyona dijital eklemek, pozitif inotrop bir tesire sebebi olmaktadır. (Şekil 4c ve 5c.) Dördüncü grup tecrübelerinde Luciani fenomeninin Normal tirod Dijital perfüzyonu ile ortadan kalktığı gösterilmiştir. (Şekil 6a ve 6b).

Beşinci grupta ise embryonal myokard eksplantatlarında da Bowditch'in merdiven fenomeninin husule geldiği ve normal tirod + Dijital perfüzyonu ile fenomenin bertaraf edildiği görülmektedir. (Şekil 7a ve 7b).

Netice olarak :

a) Ekstra sellüler vasatta Na ve K iyonlarının azlık veya çokluğunun embryonal myokard eksplantatlarının takallüs vüsatinde sebebi olduğu değişikliklerin Dijitalle ayrıca değişmediği.

b) Luciani ve Bowditch fenomenlerinin normal tirod + Dijital perfüzyonu ile bertaraf edildiği gösterilmiştir.

III — MÜNAKAŞA

Glikozitlerin hücre içi ve dışı su ve elektrolitleri ile ilgisini araştıran çalışmaların tarihi oldukça eskidir. Schott (1928) glikozit tabakından sonra hücre içindeki miktarının arttığını ve glikozitlerin Ca'a nişabih bir tesir yarandığını söylemişti. Fischer de (1928) digitoksin ile Ca arasında bir enerjizme buldu. Hücre içi ve hücre

dışı sıvılarda muhtelif iyon miktarlarının direkt ve indirekt tâyinine imkân veren metotların gelişmesi ve Dijital ile hücre içi ve dışı elektrolitlerin münasebeti üzerine alâkanın artması ile bu çalışmalar yeniden hız kazanmıştır. Cl'yonunun takallüslerde bir rolü olmadığı, takallüs vüsatının bu iyondan müstakil olarak değişebilmesi ile sabittir.

Katyonların normal kontraksiyonlar esnasında hücre içine girip çıktığı bilinmektedir. Tenbih esnasında kasdan dışarıya K un çıktığı ve Na un - aynı yerden - girdiği malumdur. İstirahat esnasında bu faaliyetin aksi cereyan eder : Kas içine K çekilir ve Na dışarı atılır. Önceleri takallüsün basit bir refakat tezahürü olduğu zannedilen bu iyon hareketinin tenbih ve takallüste esas rolü oynadığı gösterildikten sonra, yetmezlikte ve dijital tatbikinden sonra hücre içi ve dışı elektrolitlerde görülen değişiklikler araştırılmaya başlandı. Kühns (1959) letal dozda strofantin tesiri ile güvercin kalbinde hücre içi K unun massiv kaybına sebep olduğunu ve ekstra sellüler vasatta K un arttığını, Cattel (1937 Zit Wilbrandt) dijital tesiri ile adaların K kaybettiğini, Vick ve Kahn (1957), Langendorf preparatında aynı şeyin husule geldiğini gösterdiler. Trautwein'da (1959) elektrofizyolojik yollardan hücreden K itrahi ile strofantin arasında münasebetler bulunduğuna dikkati çekti. Lenzi (1956) radyoaktif K ve Na ile yaptığı denemelere dayanarak Na iyonuna yetmezlik patojenezinde ve strofantin tedavisinde öncelik tanıyan bir tavır takındı. Gossweiler Kiplfer ve Wilbrand (1953, 1959) ise Ca'un istirahat ve takallüste Na iyonları ile aynı istikamette seyahat ettiği ve Ca un K un hücre içine girmesine mani olucu tesirini tesbit etmekle Ca iyonunu adale takallüsü, yetmezlik ve strofantin tesirinde rol oynayan üçüncü bir katyon olarak ortaya attılar.

Her ne kadar bu iyonlardan bir veya bir kaçının yetmezlik ve kardiyotonik tesirinde, normal takallüslerde olandan farklı bir durumu arzettikleri anlaşılıyor idi ise de takallüs fonksiyonunda, yetmezlik ve strofantin tesirinde bu iyonların esas rolünün ne olduğu karaulık kalıyordu. Hajdu (1952), Bowditch'in (1871) izole kurbağa kalbinde tesbit etmiş olduğu, o zamandanberi izahsız ve kalp kasının hep veya hiç kanuna aykırı bir durum olarak bilinen merdiven fenomeni ortadan kaldırdığını gösterdi. Hajdu, ayrıca, K dan ari Ringer mahlülünün de aynı tesiri haiz olduğunu, yani Trep-pen - Phenomen'i bertaraf ettiğini, de ortaya koydu.

Tecrübe tüpünde Actomyosin çubuğunu ATP ve uygun elektrolitler ilâvesi ile ilk defa takallüs ettirebilen Szent Gyorgyi (1956) Hajdu'nun bu bulgularına dayanarak Bowditch fenomeninin ve Strofantin tesirini şöyle izah etti (1956): Her aktomyosin molekülüne muayyen miktarda K iyonu isabet etmektedir. Şayet her hangi bir sebeble - Infeksiyon vs. - K için membran permeabilitesi artarak hücre içinde aktomyosin molekülü başına isabet eden K iyon miktarı artacak olursa kas, bunu hücre dışına atmaya çalışır ve her takallüsde bir miktar K dışarı çıkar. Hücre içindeki K miktarı azaldıkça takallüslerin vüsati büyür. İstirahat esnasında ise K tekrardan içeri girer. Kas için frekansı yükselterek istirahat zamanını kısaltmaktan başka çare yoktur. Ancak bu suretle K un yeniden hücreye dönmesi önlenemez. Bu da toparlanma devresinin kısalmasına, dolayısı ile membran permeabilitesinin yeniden artmasına ve K un hücre içine girmesine sebep olur. Dijitalin Bowditch fenomenini bertaraf etmesi, istirahat esnasında K un geri dönmesine mani olmasından, yani hücre içi istikametine olan K hicretine karşı membran permeabilitesini azaltmasındandır.

Adale nescine bir nevi şuur izafe eden Gyorgyi'nin bu noktai nazarına karşı şunlar söylenebilir.

1°) Kalp yetmezliklerinde hücre içi K artması tesbit edilmemiştir. (Flear, Caroley, Quinton 1958).

2°) Hücre içi K unun azalması Bowditch fenomenini ortadan kaldırmaz Nitekim Koland, Dunn ve Greig (1951) radyoaktif katyonlarla yaptıkları araştırmalarda tirod perfüzyonlarının intra sellüler K da muazzam kayıplara sebep olduğunu gösteriler. Bizim tecrübelerimizde (Şekil 4) tyrodla yapılan perfüzyonlara rağmen merdiven belirtisinin devam ettiği görülmektedir.

3°) Gyorgyi'nin izahı, Bowditch fenomeninde neden her defasında daha fazla K'un hücreden dışarı atıldığını kafi derecede aydınlatmamaktadır.

4°) K un hücre içine girmesi (Na - K pompasının işlemesi) pasif değil, aktif ve enerji sarfını icab ettiren bir olaydır.

Fleckenstein (1942, 1948, 1949) adale takallüsü ile intra ve ekstra sellüler Na ve K ve bunların hicreti arasında ki münasebetleri vuzuha kavuşturarak yetmezlik ve dijitalin tesir mekanizması hakkında daha dinamik bir anlayışa gitmemize imkân verdi. Bura-

da Eluthowen'den (1921) başlayıp, Schaefer (1940) ile devam eden ve Szent Gyorgyi (1956) tarafından da benimsenip, bu hususu tetkik için artan teknik imkânlarla muvazi olarak revaç bulacağını ifade eden Frey'e (1924) hak verdiren, tenbih ve takallüsün mihanikiyetinin aynı oluşu görüşüne iştirakimizi işaret ederek, mevzuumuzla sıkı irtibatı dolayısı ile Fleckenstein'in takallüs hakkındaki noktai nazarını kısaca hulâsa etmek isteriz : Ona göre kasılma'da Osmodinamik mekanizmalar rol oynar. Hücre içi ve dışı elektrolitlerinin bir membranı iki tarafında farklı konsantrasyon'da mevcut olmaları ile «Muvazene» diye tavsif edilebilecek bir durum mevcuttur. Membran, bu muvazeneyi bozacak şekilde strüktürünü değiştirecek olursa konsantrasyon diferansından iş kazanılabilir. Bu enerji, konsantrasyon farkı ne kadar büyük ise o kadar büyük olup bu hususta şu formül caridir :

$$A : RT X \left(\ln \frac{Na_e}{Na_i} + \ln \frac{K_i}{K_e} \right)$$

A :	İş	Na :	Ekstrasellüler Na konsantrasyonu
		e	
R :	Gaz sabitesi	Na :	Intrasellüler » »
		i	
T :	Hararet	K :	» K »
		i	
X :	Her takallüsde	K :	Ekstrasellüler K »
		e	
		ln :	logaritma

Nitekim, bir kasın yaptığı iş intra ve ekstra sellüler Na ve K iyonlarının konsantrasyonu ve takallüs esnasında çıkan K miktarı ölçülüp formüldeki yerlerine konmak sureti ile hesap edilebilir. İstirahatte bunun aksi cereyan eder, takallüs esnasında dışarıya çıkmış olan K, yeniden hücre içine çekilir. K un hücreye çekilmesi enerji sarfını gerektiren bir olaydır. Karbonhidrat metabolizması, takallüs esnasında değişen intra ve ekstra sellüler iyon mihiyösünü yeniden tefise yarayan bir metabolizmadır. Kısaca kas, bir akümülatör

gibi çalışır; boşalan aküyü, karbonhidrat metabolizması yeniden sarj eder.

İmdi bu noktai nazara göre ekstra sellüler vasatta K un azalması, (Her takallüsde çıkan K miktarı sabit kaldığı takdirde) ışın (Amplitüdün) çoğalmasına, tersine gine ekstra sellüler vasatta K un çoğalması ışın azalmasına sebep olmalıdır. Nitekim, bizim tecrübelerimizde de K dan ari tirodla perfüzyon amplitüdün büyümesine, 2 KCl li tirodla perfüzyon takallüsün küçülmesine sebep olmaktadır. (Şekil).

Na la yapılan tecrübeler daha az vazih olmuştur. Buna rağmen Ekstra sellüler vasatta Na Cl mahlülünün 8/L gram yerine 10/L grama çıkarılması, tirodla görülen amplitüd küçülmesini bertaraf etmiş ve Na Cl miktarının 6/L grama indirilmesi amplitütleri daha süratle küçültmüştür.

Bowditch fenomenine gelince : Intra ve ekstra sellüler vasattaki iyonların sabit kalmasına rağmen, her takallüsde bir evvelkine nisbetle daha fazla K çıkması, Bowditch fenomeninin sebebi olmalı, takallüsün bulunmadığı safhalarda ise hücreden dışarıya hiç K çıkmamalıdır. (Formülde x in değişmesi veya sıfır olması). Merdiven fenomeninde her takallüsde bir evvelkine nisbetle ekstra sellüler vasata daha fazla K ihraç edildiğini Hajdu'nun bizzat kendisi bulmuştur. Takallüsün husule gelmediği period meselesine biraz ilerde temas edeceğiz.

Dijitalin merdiven fenomenini bertaraf etmesi artık daha vazih olarak anlaşılabilir : Bize göre Dijital her takallüsde yapılan ışın eşit olmasına, yani her takallüsde intra ve ekstra sellüler iyonlar sabit kaldığı halde dışarı çıkan K miktarının (X'ini) eşit olmasına sebep olmaktadır.

Luciani Fenomeninin dijital glikozitleri ile bertaraf edildiğini göstermiştik. Fleckenstein'in teorisine göre Luciani fenomenini şöyle izah ediyoruz : Intra ve ekstra sellüler iyonların sabit kalmasına rağmen takallüslerin olmaması, yani ışın mevcut olmaması, ancak formüldeki x in sıfır olması halinde mümkün olabilir. Bu da hücreden K un çıkmaması demektir. Dijitalin Luciani fenomenini bertaraf etmesi demek x in bir değer kazanması, yani hücre içinden yeniden K çıkmaya başlaması demek olmalıdır.

«Normal» takallüslerin mevcut olduğu kültürlerde ekstra sellüler vasattaki suni iyon değışikliklerine ilâveten verilen dijitalin, takallüs amplitüdünde (Is) o iyonun sebebiyet verdiği amplitüd değışikliğinden maada bir değışikliğe sebep olmaması ise **intra ve ekstra sellüler iyonlara tesir etmedikten başka**, her «normal» takallüsde çıkan K miktarına da (yani normal şekilde strüktürü değışen membrana da) tesir etmediğini ortaya koymaktadır.

Dijital glikozitlerinin Bowditch ve Luciani fenomenlerini bertaraf etmesi, buna mukabil intra ve ekstra sellüler iyon konsantrasyonlarına ve «normal» takallüslerde çıkan K miktarına tesir etmemesi, tesir yerini hücre membranında aramanızı gerektirir. Luciani fenomeninde hücre membranı takallüslerin olmadığı periodlarda K için impermeabl, başka kelimelerle kutupları lambaya bağlanmamış bir akümülatör gibidir. Merdiven tezahüründe ise membran o şekilde değışmektedir ki kas, her takallüsünde tedricen K mı ihraçı için daha fazla permeabl olmakta sonra gine bir impermeabl safha bunu takip etmektedir. Glikozitler, membranı hücre içinden ekstra sellüler vasat istifaketine K permeabilitesi bakımından farklılaşan bu durumaşın eski haline irca ederler.

Şadılık «Dijitalin tesir ettiği grup» diye tavsif edebileceğiniz kalp yetmezliği şekillerinde kalp adelesinin durumunu şı şekilde tasavvur edebilirsiniz : Hücre içi ve dışı elektrolitleri hattâ optimum düzeyinde olmalarına mukabil, membrandaki değışiklik, her takallüsde hücreden ekstra sellüler vasata hicret eden K miktarının azalmasına sebep olmaktadır. Yani :

$$A : RT X \left(\ln \frac{K_i}{K_o} + \ln \frac{Na_o}{Na_i} \right)$$

formülünde X küçülmüştür, veya ihtiyaca göre değışenmektedir. Bu durum tedricen, (Kronik konjestif kalp yetmezliğinde olduğu gibi) veya bir anda (Astma kardialede olduğu gibi) tsessüs edebilir. Dijitalin tesiri membrandaki bu değışikliği eski haline irca ederek kafi miktarda K un her takallüsde hicretini temin etmekten ibaretir.

Regent, Christensen, Wada'nın (1959) Asetil strofantin tatbikinden sonra konjestif kalp yetmezliğinde koroner sinusundan alınan

kandan K miktarının artmasını tesbit etmelerini de izahımızı destekler mahiyette görüyoruz.

Dijitalin bu tesirini biri, K iyonlarının geçmesine müsaade edecek genişlikte porları olan, diğeri ise deliklerinin bir kısmı daha ufak çapta bulunan iki elekle mukayese edebiliriz. Normal kasdaki membran, birinci elekteki gibidir. Yetmezlikde, K iyonları, ikinci eleğe konumuşa benzer. Dijital ikinci eleğin bütün deliklerini birinciye benzeyecek şekilde değiştirir.

IV — Ö Z E T

1) Kalp adalesi kültürlerinin normal tirod ve katyonları değişik konsantrasyonda tirodla perfüzyonunun takallüs vüsatinde sebep olduğu değişikliklerin perfüzyon mayilerine dijital ilavesi ile ayrıca fark göstermediği.

2) Kültürlerde de mevcudiyeti müşahade edilen Luciani ve Bowditch fenomenlerinin dijitalle ortadan kalktığı gösterilmiştir.

3) Normal takallüsler, Luciani ve Bowditch fenomenlerini izah için Fleckenstein'in takallüs teorisinden faydalanılmıştır.

4) Dijitalin intrasellüler vasattan ekstra sellüler vasat istikametine her takallüsde hicret eden K miktarını normale avdet ettirdiği (Yetmezlikde azalmıştır) sonucuna varılmıştır.

5) Glikozitlerin bu tesirinin membrandaki değişikliği normal haline irca etmek sureti ile olduğu kanaati izhar edilmiştir.

ÜBER DIE INOTROPE WIRKUNG DER DIGITALISGLYKOSIDE

Von YAVUZ ERKOÇAK

I. Einleitung, Untersuchungsmaterial und Methode

Im Jahre 1952 hatten **Hajdu** und **Szent-Györgyi** erstmals gezeigt, dass Digitalisglykoside bei dem isolierten Froscherz des **Bowdichsche** Phänomen beseitigen. Ein Jahr später hatte **Hajdu** eine neue Auffassung für die Erklärung des Wirkungsmechanismus der Digitalisglykoside erörtert. Der bis zu jener Zeit wenig beachtete Zusammenhang von Digitalisglykosiden und intra- und extrazellulären Ionen fand dann eine zunehmende Interesse in der ärztlichen Forschung.

Die Experimente dieser Arbeit sollten feststellen, 1) ob eine Änderung der Elektrolytkonzentration in der extrazellulären Flüssigkeit die Kontraktionsamplitude beeinflusst und zwar mit und ohne Zugabe von Digitalis und 2) in welcher Weise Digitalisglykoside auf die Bowdichschen und Lucianischen Perioden der Herzmuskelkulturen einwirkt.

Für die Registrierung der Pulsationen wurde das von **Bucher** (1957) entwickelte photoelektrische Verfahren benützt. Die Perfusionstechnik entsprach den Experimenten, mit denen ich bereits den Einfluss verschiedener Digitalisglykoside auf die Kontraktionstätigkeit von Herzmuskelexplantaten in vitro prüfte (**Erkoçak** 1960).

Bei den folgenden Versuchen wurden die Herzmuskelexplantate zunächst mit reiner Tyrode - Lösung (pH 7, 8) behandelt; dann wurde mittels eines Zweiweghahnes entweder auf Tyrode + Digitalis - Lösung oder auf die in ihrem KCl oder NaCl modifizierte Tyrode - Lösung (siehe unten) umgeschaltet.

Um eine Isotonie der Lösungen zu erhalten, wurde der Mangel bzw. Überschuss des KCl und NaCl mit den je

nach der Gefrierpunktserniedrigung errechneten Menge Glykose ersetzt oder umgetauscht. Selbstverständlich ist es nicht möglich auch noch bei der modifizierten, 10 g NaCl enthaltenden Tyrode - Lösung Isotonie zu erhalten. Bei den Versuchsbedingungen, die wir mit diesen etwas hypertonisch gewordenen Lösung durchgeführt haben, konnte aber die Hypertonie der Lösung keine Kontraktionsvergrößerende Wirkung haben.

Bei allen drei Versuchsanordnungen wurden in bestimmten Zeitabschnitten Registrierungen durchgeführt.

Wir haben für jede Versuchs - Serie mindestens 5 verschiedene Herzmuskel - Explantate gebraucht und ungefähr 200 Registrierungen vorgenommen. Mit Explantaten, die **Bowdichsche** oder **Lucianische** Perioden aufwiesen, konnten wir selbstverständlich nur wenige Versuche durchführen, da die Bedingungen für das Zustandekommen dieser Phänomene bei Herzmuskelkulturen in vitro nicht in unserer Hand lagen.

Bei den Versuchen, über welche in dieser Arbeit berichtet werden soll, wurde meistens mit Digitaline Nativelle experimentiert. Als günstige Konzentration in der Durchströmung - Flüssigkeit erwiesen sich $1/1.000.000$ bis $1/2.000.000$. Einige Kulturen wurden mit Cedillanid «Sandoz» behandelt; die günstige Konzentration dafür lag zwischen $1/250.000$ und $1/500.000$.

II. Versuchsergebnisse

Die **fünf Versuchsserien** ergaben folgende Resultate :

Bei fortgesetzter Durchströmung mit Tyrodelösung verkleinert sich nach und nach die Kontraktionsamplitude. Der Cedilanid - Zusatz von der Konzentration $1 : 500.000$ ändert hieran nichts (Abb. Ia, Ib und Ic).

In Kalium - freier Tyrodelösung Kontrahieren sich die Herzmuskelfasern der Explantate allmählich stärker (Abb. 2b) - eine Wirkung, die sich bei nachfolgender Durchströmung mit der Kalium - haltigen Tyrodelösung wieder verliert. Dagegen nehmen die Kontraktionsamplituden bei Verwendung der $0,40$ g statt $0,20$ K Cl enthaltenden Tyrodelösung deutlich ab. Auch hier stellen sich nach

Auswechsellu der an Kalium doppelt konzentrierten Tyrodelösung gegen die Tyrode mit üblichem Kaliumgehalt die früheren Amplitudengrössen wieder ein (Abb. 3b).

Von einem Digitalis - Zusatz wird weder der Kontraktions - vergrössernde Effekt den Kalium - Mangels noch der verringernde Effekt des Kalium - Ueberschusses beeinflusst (Abb. 2c und 3c).

In einer dritten Versuchsserie werden dieselben Fragen für Natrium untersucht.

Die Durchströmung mit Tyrodelösung von erhöhtem NaCl - Gehalt, 10 % statt 5 %, vergrössert zwar nicht, wie den Kalium - Mangel, die Kontraktionsamplitude, lässt aber die Verkleinerungen der Kontraktionen nicht aufkommen, die bei Durchströmung mit Tyrodelösung von üblichem NaCl - Gehalt nach unseren Beobachtungen regelmässig auftreten (Abb. 4a und 4b). In Tyrodelösung von 6 g NaCl je Liter verkleinern sich die Kontraktionen sehr stark (Abb. 5a und 5b).

Die sowohl zur 10 g als auch zur nur 6 g NaCl enthaltenden modifizierten Tyrodelösung zugegebenen Glykoside zeigen keine positive inotrope Wirkung im Sinne einer Kontraktionsvergrösserung der Herzmuskellulturen (Abb. 4c und 5c).

In der vierten Versuchsserie wurde gezeigt, dass die Perfundierung reiner Tyrode + Digitalis - Lösung die sogenannte Lucianische Perioden beseitigt (Abb. 6a und b).

In der fünften und letzten Versuchsserie konnten wir zeigen, dass das Bowdichsche Phänomen auch bei den embryonalen Herzmuskelexplantaten beobachten werden kann und dass die Perfusion mit Tyrode + Digitalis - Lösung die Treppen Phänomen aufheben kann (Abb. 7a und b).

Zusammenfassend möchten wir festhalten :

a) Die durch einen Überschuss oder einen Mangel von Na und K - Ionen in der extrazellulären flüssigkeit verursachten Kontraktionsänderungen der Myokardexplantate bleiben unbeeinflusst, wenn man der Durchströmungsflüssigkeit Digitalisglykoside beifügt.

b) Die Lucianischen und Bowdichschen Perioden der Herzmuskelexplantate kann man beseitigen, wenn der Durchströmungsflüssigkeit Digitalisglykoside zugesetzt werden.

III. Besprechung der Versuchsergebnisse

Schon seit mehr als 30 Jahren werden die Beziehungen zwischen der Glykosidwirkungen und den Elektrolyten in der intra- und extrazellulären Flüssigkeit diskutiert. So hat schon **Schott** (1926) die Meinung vertreten, dass der intrazelluläre Wassergehalt nach Verabreichung von Glykosiden vermehrt worden sei und dass die Glykoside eine Calcium - Ionen ähnliche Wirkung hätten. Auch **Fischer** (1928) hatte einen Synergismus zwischen Digitoxin und Calcium gefunden.

Nachdem neue Methoden entwickelt worden waren, mit denen die in intra- und extrazellulären Flüssigkeiten vorhandenen Elektrolyte bestimmt werden können, nahm das Interesse an der geschilderten Fragestellung weiter zu.

Es ist leicht vorstellbar, dass die Cl - Ionen keine Wirkung auf die Kontraktionsgrösse des Muskels haben, da diese sich unabhängig von diesen Ionen verändert. Dagegen gehen bei der Kontraktion des Muskels Kationen durch die Membran der Zelle hindurch: Kalium tritt in diesem Moment aus der Zelle in den extrazellulären Raum aus und Natrium aus der extrazellulären Flüssigkeit in die Zelle ein. Diese gegenseitige Bewegungen der Ionen finden an derselben Stelle der Membran statt. In der Ruhepause des Muskels verlaufen diese Ionen in umgekehrter Richtung. Nachdem nun gezeigt worden war, dass diess vorher als eine einfache Begleiterscheinung der Muskeltätigkeit angenommenen Ionen - Transporte einen Hauptfaktor des Kontraktionsgeschehens darstellen, wurde begonnen die Veränderungen der intra- und extrazelluläre Ionenverhältnisse bei Herzinsuffizienz und unter Digitaliswirkung zu untersuchen.

Dass die Strophantingabe in letaler Dosis beim Taubenherz eine massive Kalium - Verlust der Zelle und dafür eine Vermehrung der extrazellulären K - Ionen verursacht, wurde von **Kühns** (1959) gezeigt. **Cattell** (1959) hatte beobachtet, dass auch unter Digitaliswirkung die K - Menge in den Muskelzellen abnimmt. Beim Langendorff - Präparat haben **Vick** und **Kahn** (1957) analoge Ergebnisse gefunden. Mittels elektrophysiologischer Verfahren wie

Trautwein (1959) darauf hin, dass es zwischen K - Ausscheidung der Zelle und Strophantin - Wirkung gewisse Beziehungen gibt. Basierend auf Untersuchungen mit radioaktivem Kalium und Natrium vertrat **Lenzi** (1956) die Ansicht, dass bei der Pathogenese der Herzinsuffizienz und der Strophantin - Therapie die Na - Ionen besonders wichtig sind.

Wilbrandt (1953, 1959) hat festgestellt, dass in Ruhe und Kontraktionsphase die Calcium - Ionen in derselben Richtung gehen wie die Na - Ionen und dass jene die K - Ionenwanderung in die Zelle erschweren. Nach diesen Untersuchungen spielen somit auch die Calcium - Ionen eine Rolle bei der Muskelkontraktion und Glykosid - Therapie.

Hajdu und **Szent Györgyi** (1952) hatten gezeigt, dass Digitalisglykoside das sogenannte Treppen - Phenomen beseitigen, welches erstmal **Bowdich** im Jahre 1871 bei dem isolierten Froschherz beobachtet hatte.

Szent Györgyi (1956) hat das Bowdichsche Phenomen und Strophantin - Wirkung folgenderweise erklärt :

Auf jedes Aktomyosin - Molekül trifft eine bestimmte Menge von K - Ionen. Wenn wegen irgendwelcher Ursache - Infekt u. s. w. - die Membran - Permeabilität für K - Ionen vermehrt ist und im Zellinneren die auf ein - Aktomyosin - Molekül treffende Menge von K - Ionen erhöht ist, dann bemüht sich die Zelle, diese hinaus zu treiben. Bei jeder Kontraktion geht eine Menge K - Ionen hinaus. Je weniger Kalium - Ionen in der Zelle sind desto grösser werden die Kontraktionen. Bei dem Ruhezustand des Muskels kehrt aber Kalium wieder in die Zell zurück. Um die Zurückkehrung des Kaliums zu verhindern, blieb dem Muskel nicht anderes übrig, als die Frequenz zu erhöhen, d. h. den Ruhezustand zu verkürzen. Aber diese Verkürzung des Ruhezustandes führt wieder die Permeabilitätsvermehrung und die Kalium - Einwanderung in die Zelle hervor. Das Spiel beginnt wieder... Herzglykoside verhindern die Kalium - Einwanderung in die Zelle in Ruhezustand und beseitigen das Treppen - Phenomen. Strophantin vermindert die Permeabilität der Zellmembran für den Durchtritt von Kalium - Ionen in des Zellinnere..

Gegen **Szent Györgyi's** Vorstellungen kann man folgende Einwürfe einwenden :

1) Es wurde bei den insuffizienten Herzmuskelzellen keine Kalium - Vermehrung festgestellt (**Flear, Caroley, Quinton** (1958).

2) Die Verminderung der intrazellulären Kalium - Menge beseitigt die Treppen - Phenomen nicht. **Holland, Dunn und Greig** (1951) haben bei ihren mit radioaktiven Kationen durchgeführten Versuchen gezeigt, dass Tyrode - Perfusion einen riesigen Verlust von Kalium der intrazellulären Flüssigkeit verursacht. Bei unseren Versuchen, an denen wir als Durchströmungsflüssigkeit Tyrode - Lösung brauchten, dauern die **Bowdichsche** Phenomen an.

3) **Szent Györgyi's** Vorstellung erklärt nicht einwandfrei, warum bei jeder Kontraktion des ein Treppen - Phenomen aufweisenden Muskels eine vermehrte Kalium - Ausschüttung zustande kommt.

4) Kalium - Einwanderung in die Zelle (Na - K - Pumpe) ist nicht eine passive, sondern aktive, Energiegebende Tätigkeit.

Über die Beziehungen zwischen Muskel - Kontraktion und intra - bzw. extrazellulären Na und K und deren Wanderung ergaben die Untersuchungen von **Fleckenstein** und Mitarbeitern (1942, 1948) wertvolle Befunde.

Wegen der enger Beziehung zu unserer Arbeit möchten wir kurz über die **Fleckensteinsche** Auffassung von der Kontraktions-tätigkeit des Muskels berichten. Nach diesem Autor herrschen bei der Kontraktion osmodynamische Mechanismen vor. Die unterschiedliche Konzentration der intra - bzw. extrazellulären Kationen auf beiden Seiten der Zellmembran stellt einen Zustand dar, den man als «Gleichgewicht» bezeichnen kann. Wenn die Struktur der Zellmembran sich verändert, dann wird dieses «Gleichgewicht» beeinträchtigt. Aus der Konzentrationsdifferenz kann man die Muskelarbeit ableiten. Je höher der Konzentrationsunterschied ist, desto grösser ist die Muskelarbeit. Es gilt dafür folgende Formel (nach **Fleckenstein** 1942) :

$$A = RT \times \left(\log \frac{Na_e}{Na_i} + \log \frac{K_i}{K_e} \right)$$

A = Arbeit

R = Gaskonstante

T = Temperatur

X = bei jeder Kontraktion austretende Kalium - Menge

Na_i = intrazelluläre Na - Menge

Na_e = extrazelluläre Na - Menge

K_i = intrazelluläre K - Menge

K_e = extrazelluläre K - Menge

Die nach dieser Formel berechnete Muskelarbeit stimmt nach den auf anderen Wegen berechneten Arbeiten des Muskels gut überein.

Um die Kalium - Ionen wieder in das Zellinnere zurückbringen, braucht die Muskelzelle Energie. Die mittels des Kohlehydratstoffwechsels gewonnene Energie bedingt die Wiederherstellung des intrazellulären Ionen - Milieus. Kurz gesagt: Der Muskel arbeitet wie ein Akkumulator, den der Kohlehydratstoffwechsel nach dem Energie - Verlust aufladet.

Nach dieser Auffassung sollte die Verminderung des Kaliums in der extrazellulären Flüssigkeit die Arbeit (Kontraktionsamplitude) vermehren, wenn andere Faktoren (intra- und extrazelluläres Natrium, intrazelluläres Kalium und bei der Kontraktion durch die Zellmembran hinauswanderndes Kalium) unverändert bleiben. Und umgekehrt sollte die Arbeit (die Kontraktionsgröße) sich vermindern, wenn die Kalium - Menge in der extrazellulären Flüssigkeit sich vermehrt. Tatsächlich ergibt sich aus unseren Durchströmung - Versuchen mit K - freier Tyrode - Lösung eine Amplitudenvergrößerung der Herzmusklexplantate und bei den Versuchen mit

der die doppelte Menge K Cl enthaltenden Tyrode-Lösung eine Verkleinerung der Kontraktionsgrösse (Abb. 2 und 3).

Ähnliche Versuche, die mit Tyrode mit verschiedenen Natrium-Gehalt durchgeführt worden, ergaben weniger eindeutige Resultate. Die Vermehrung des Natriums in der extrazellulären Flüssigkeit verursachte keine Vergrösserung der Kontraktionsgrösse, beseitigte aber die Amplitudenverkleinerung der Herzmuskel-explantate, die wir unter reiner Tyrode-Durchströmung nach einer gewissen Zeit immer beobachteten. Die weniger Natrium enthaltende Tyrode-Lösung (extrazelluläre Flüssigkeit) bedingte rascher eine stärkere Verkleinerung der Amplitude als bei den Kontrollversuchen (Abb. 4 und 5).

Wir kommen jetzt nochmals zum **Ewdulefschen** Phänomen. Dieses Treppen-Phänomen kommt erst dann zustande, wenn bei jeder folgenden Kontraktion mehr Kalium durch die Zellmembran austritt als der vorherigen, obwohl die intra- und extrazellulären Ionenverhältnisse unverändert bleiben (**Hajdu**, 1953). In der Ruhephase soll keine Kalium-Austritt stattfinden (Nullwerden der in der obigen Formel mit «x» bezeichneten Kaliumwerte).

Wie können die Herzglykoside das Treppen-Phänomen beseitigen? wir sind der Ansicht, dass unter Digitalis-Einwirkung bei jeder Kontraktion gleiche Mengen von Kalium durch die Zellmembran austreten (in der oben genannten Formel wird «x» konstant). Dementsprechend bleiben die Kontraktionsgrössen bei jeder Kontraktion einheitlich. Selbstverständlich müssen dabei auch die intra- und extrazellulären Ionen-Menge unverändert bleiben.

Wir haben gezeigt, dass die Herzglykoside auch **Lucianische** Perioden beseitigen. Wenn wir wieder mit der **Fleskensteinschen** Auffassung argumentieren, dann handelt es sich um folgendes: Trotz unveränderten intra- und extrazellulären Ionen-Mengen kommt bei sogenannten **Lucianischen** Phänomenen keine Kontraktionen im Ruhe-Zustand hervor, da kein Austritt von Kalium durch die Membran stattfindet ($x = \text{Null}$, Arbeit = Null). Die Beseitigung der **Lucianischen** Perioden durch Digitalis bedeutet, dass x wieder einen Wert gewinnt. Digitalis stellt also den Kalium-Austritt durch die Zellmembran her auch für den Ruhe-Zustand und bekommt das explantat «Dauerarbeit»?

An den Herzmuskelkulturen, an denen «normale» Kontraktionen stattfinden, verursacht der Digitalis-Zusatz zu modifizierten Durchströmungsflüssigkeiten keine Kontraktionsveränderungen der Explantate. Die Veränderungen des Ionen-Milieus der extrazellulären Flüssigkeit bedingen Ab- bzw. Zunahme der Amplitudenhöhe, da Digitalis keine Wirkung über das intra- bzw. extrazelluläre Ionen-Milieu ausübt. Auch hat es keine Wirkung die bei jeder «normalen» Kontraktion durch die Zellmembran austretende Kalium-Menge, sonst würde sich die Kontraktionsgrösse des Muskels verändern.

Die Beseitigung der sogenannten **Bowditch'schen** und **Lucianischen** Phänomene durch Digitalis und seine Wirkungslosigkeit auf die bei «normalen» Kontraktionen die Zelle verlassenden K-Ionen zwingt uns den Angriffsort des Digitalis in der Zellmembran zu suchen.

Während der Ruhepausen der **Lucianischen** Perioden ist die Zellmembran impermeabel für K-Ionen. Beim Treppenphänomen verändert sich die Zellmembran in der Weise, dass sie für Kalium Austritte allmählich mehr permeabel wird.

Als Ergebnis können wir sagen, dass die Digitalisglykoside den durch die Zellmembran bei der Kontraktion stattfindenden Kalium-Austritt der bei Lucianischen und Bowditch'schen Phänomenen verändert ist, wieder normalisieren.

Bei den **Herzinsuffizienzformen**, die wir hier vorläufig als «die Gruppe, die mit Digitalis erfolgreich behandelt werden kann» bezeichnen, möchten wir die Lage folgenderweise auffassen :

Trotzdem intra- bzw. extrazelluläre Ionen sogar in einem optimalen Verhältnis sich befinden, verursacht eine Membranänderung der Muskelzellen bei jeder Kontraktion eine Abnahme der Kalium-Austritte in die extrazelluläre Flüssigkeit. Also vermindert sich in der oben angegebenen Formel das «x». Diese Situation kann entweder allmählich (wie bei chronischen Herzleiden) oder plötzlich (wie z. B. Asthma cardiale) zustande kommen. Auch in diesem Fall dürfte die Wirkung des Digitalis auf einer Wiederherstellung der normalen Lage der Membran für Kalium-Austritte beruhen.

Die von Regent und Mitarb. (1959) durchgeführten Katheterisierung der Coronarsinus bei dekompanierten Herzkranken hat gezeigt, dass das Coronarsinusblut nach Acethyl Strophanthin - Zufuhr mehr Kalium - Ionen enthält, als vorher. Diese Beobachtung stimmt mit unseren Auffassungen gut überein.

Zusammenfassung :

1) Herzmuskelexplantate von Hühnerembryonen wurden erst mit modifizierten Tyrode - Lösungen, die die Kationen in verschiedenen Konzentrationen enthielten, dann mit Tyrode - Lösung mit Digitalis perfundiert. Dabei wurde beobachtet, dass der Digitalis - Zusatz keine weiteren Veränderungen der Kontraktionsgröße der Herzmuskelkulturen verursacht.

2) Die Wirkung der Kationen und des Digitalis auf den Kontraktionsvorgang wurden mit Hilfe der Fleckensteinschen Auffassungen zu erklären versucht.

3) Die gelegentlich auch in Herzmuskelexplantaten beobachteten Lucianischen und Bowditchschen Phänomene konnten mit Digitalis beseitigt werden. Es wurde die Ansicht vertreten, dass der beim Lucianischen und Bowditchschen Phänomen veränderte oder aufgehobene Kalium - Austritt durch die Zellhaut normalisiert wurde.

4) Es wurde die Hypothese geäußert, dass Digitalisglykoside bei in irgendeiner Weise veränderten Zellmembran wieder normale Verhältnisse für den Kalium - Durchtritt bringen.

L I T E R A T Ü R

FUCHER, C (1957) : Dispositif pour enregistrer, par la méthode photoélectrique les pulsations d'un explantat de muscle cardiaque in vitro. Acta anat. 30, 158

— (1957) A photoelectric recording set for pulsation curves of heart muscle cultures in vitro. Exp. Cell Res. 13, 109

— (1957) Apparatur zur photoelektrischen Registrierung der Kontraktionstätigkeit von (Herz) Muskelexplantaten. Verh. Ant. Ges. 198.

CATTELL (1959) : Zit. nach W. Wilbrandt

ERKOCAK Y. (1960) : Ueber den Einfluss verschiedener Digitalisglykoside auf die Kontraktionstätigkeit von Herzmuskel - Explantaten in vitro. Med. exp. 3, 383

FISCHER H. (1929) : Beitrag zur Frage des Synergismus zwischen Digitalis und Calciumwirkung. Arch. exp. Path. Pharmacol. 130, 194

FLUAR C. CAROLFY, B. QUINTON A. and W. COOKE : (1958) The simultaneous determination of total exchangeable sodium and potassium and its significance with particular reference to congestive cardiac failure and the steatorrhea syndrome. Clin. Sci. 17, 81

FLECKENSTEIN A. (1942) : Beitrag zum Mechanismus der Muskelkontraktion und zur Entstehung der Aktionsströme. Pflügers Arch. ges. Physiol. 246, 411

— (1945) Ueber den primären Entziaspeichern der Muskelkontraktion. Pflügers Arch. ges. Physiol. 250, 643

— (1949) und H. HERTEL : Ueber die Zustandsänderungen des kontraktilen Systems in Abhängigkeit vom extrazellulären Kalium und Natrium. Pflügers Arch. ges. Physiol. 250, 577

— (1948) und A. HAROT : Ueber die Kaliumabgabe des Froschbauches bei Einwirkung kontrakturverzeugender Stoffe und die Herabsetzung der Kaliumabgabe durch kontrakturverhütende Lokalanästhetika. Arch. exp. Path. Pharmacol. 207, 39

HAJDU S. (1953) : Mechanism of staircase and contracture in ventricular muscle. Amer. J. Physiol. 174, 371

— (1952) and A. v. SZENT - GYORGYI : action of digitalis glycosides on isolated frog heart. Amer. J. Physiol. 168, 171

HOLLAND W. C., DUNN, E. C. and M. E. GREIG (1951) : studies on permeability. VII. Effect of several substrates and inhibitors of acetylcholinesterase on permeability of isolated auricles to Na and K. Amer. J. Physiol. 168, 546.

KUHNS K. (1959) : Digitalis und Elektrolytkonzentrationen des Herzmuskels. In : Bad Oeynhausener Gespräche III (Herzinsuf-

fizienz und Digitaliswirkungen). Zusammengestellt von **W. Lochner** und **E. Witzleb**. Springer - Verlag 108.

LENZI F. (1956) : Electrolytic balance and myocardial contraction. in: Fortschritte der cardiologie Bd. I. Herausgegeben von **R. Hegglin**, Karger, Basel/New-York, 174.

REGENT T., CHRISTENSEN R., WADA T., TALMERS F. and HELLENS : (1959) Myocardial response to acethyle strophanthidin in congestive heart failure : a study of electrolytes and carbohydrate substrates. J. clin. Invest. 38, 306

SCHOTT A. : (1926) Die Veränderungen im Wassergehalt des Froschherzens unter der Einwirkung von Herzgiften. Arch. exp. Path. Pharmacol. 114, 32

SZENT - GYORGYI A. v. (1956) : General views on the chemistry of muscle contraction. In : Fortschritte der Cardiologie Bd. I. Herausgegeben von **R. Hegglin**, Karger, Basel/New-York, 49.

TRAUTWEIN W. Elektrophysiologische Befunde unter Digitalis. In: Bad Oeynhausener Gespräche III (Herzinsuffizienz und Digitaliswirkungen). Zusammengestellt von **W. Lochner** und **E. Witzleb**. Springer - Verlag, 114

WILERANDT W. (1953) : Die quantitative Abhängigkeit der Strophanthosid wirkung auf das Froschherz von der Tätigkeit des Herzens und von der Glykosidkonzentration. Arch. exp. Path. Pharmacol. 219, 397

— Digitalis und Ionentransporte. In (1959) : Bad Oeynhausener Gespräche III (Herzinsuffizienz und Digitaliswirkungen). Zusammengestellt von **W. Lochner** und **E. Witzleb**. Springer - Verlag 94. (1959)

— und **R. CAVISEL** : (1954) Herzglykosidwirkung und Ionentransporte bei Erregung und Erholung. Arch. exp. Path. Pharmacol. 222, 203 (1954)

CIVE R. L. and J. B. KAHN : (1957) The effect of ouabain and veratridine on potassium movement in the isolated guinea pig heart. L. Pharmacol. exp. Therap. 121, 389.

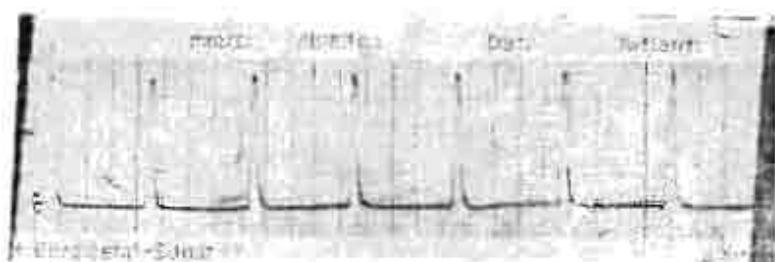
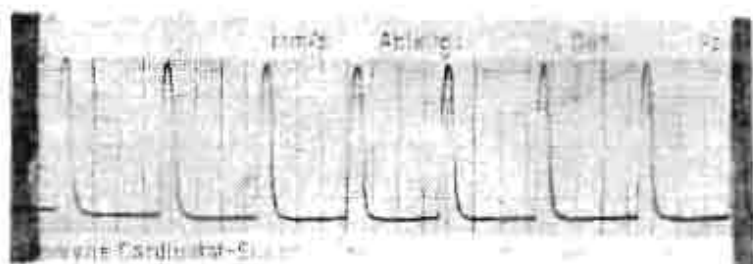


Abb. 1 a-c) Pulsationskurven eines Herzmuskel-Explantates (aus dem Ventrikel eines 6-tägigen Hühnerembryos). Durchströmungsgeschwindigkeit etwa 0,50 cm je Minute.

a) Zu Beginn des Versuches;

b) nach vollständiger Perfusion mit reiner Tyrode-Lösung;

c) nach kurzzeitiger Durchströmung mit Collamid 1/500.000 in Tyrode.

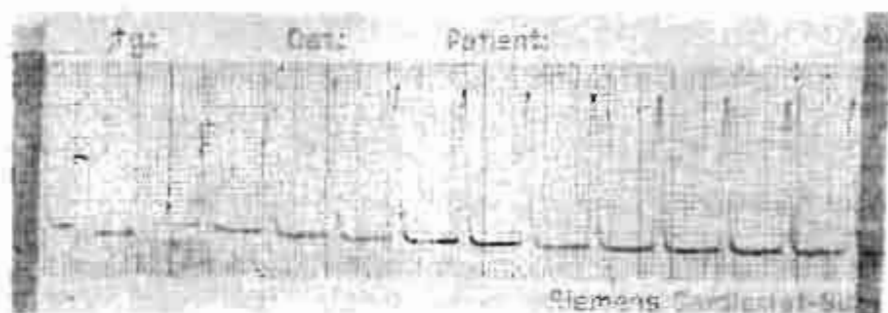
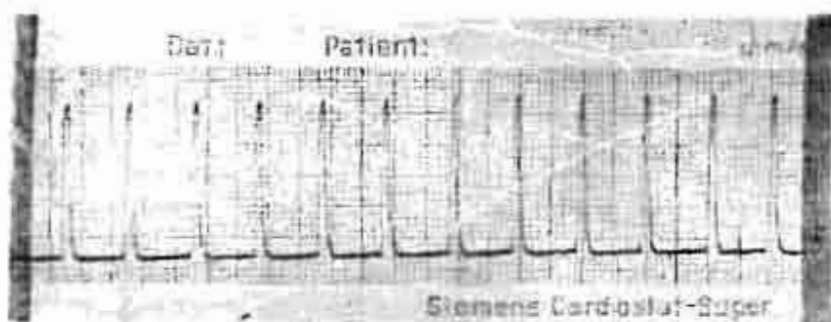
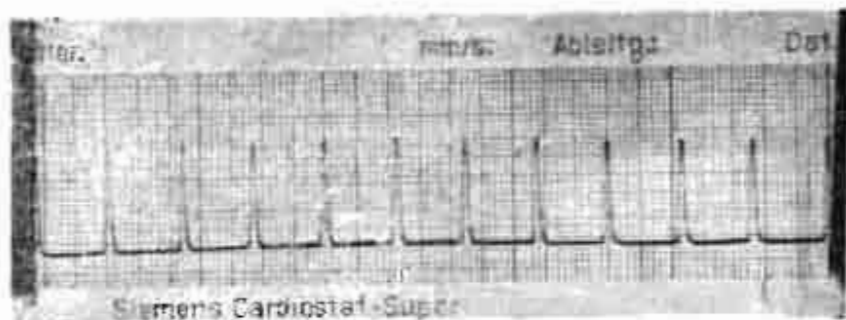


Abb. 2 a-c. Pulsationskurven eines Herzmuskelexplantates (aus dem Ventrikel eines 7-tägigen Embryos). Durchströmungsgeschwindigkeit etwa 0,25 cm je Minute.

- a) Nach einstündiger Durchströmung mit reiner Tyrode - Lösung;
- b) Nach einstündiger Perfusion mit kaliumfreier Tyrode - Lösung;
- c) Nach einstündiger Perfusion mit kaliumfreier Tyrode + Digitaline Nativelle (1:1.000.000).

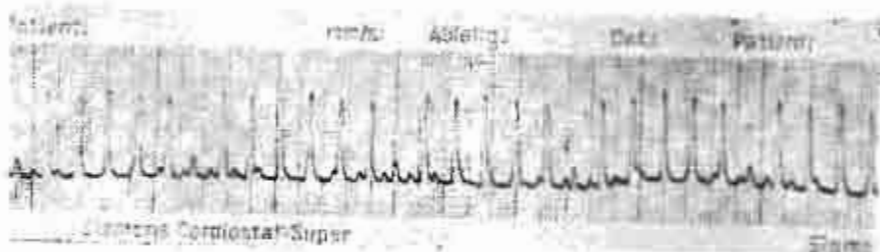
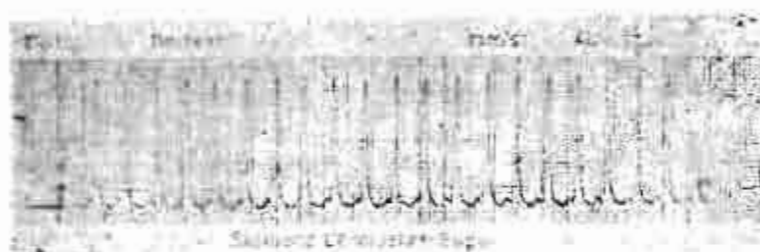


Abb. 3 a-c. Pulsationskurven eines Herzmuskelexplantates (aus dem Ventrikel eines 7-tägigen Embryos). Durchströmungsgeschwindigkeit etwa 0,40 cm je Minute.

- a) Nach einstündiger Durchströmung mit reiner Tyrode - Lösung;
- b) Nach Halbstündiger Durchströmung mit 0,40 g KCl/1 l. enthaltender Tyrode;
- c) Nach halbstündiger Perfusion mit 0,40 g KCl/1 l. enthaltender Tyrode + Digitaline Nativelle (1/1.000.000).

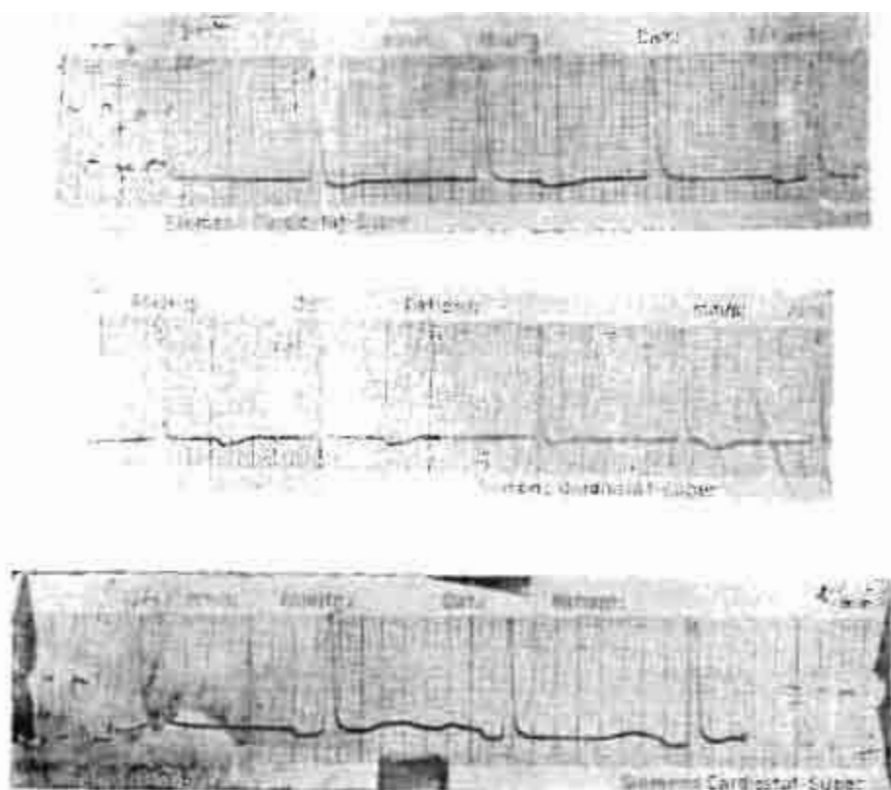


Abb. 1 a-c. Aktionskurven eines Herzmuskelexplantates (aus dem Ventrikel eines 7-tägigen Embryos). Durchströmungsgeschwindigkeit etwa 0,40 cm je Minute.

- a) Nach einstündiger Durchströmung mit reiner Tyrode-Lösung;
- b) Nach einstündiger Perfusion mit 10 g NaCl/l l. enthaltender Tyrode-Lösung;
- c) Nach anderthalbstündiger Durchströmung mit 10 NaCl/l l. enthaltender Tyrode + Digitalis-Nativele (1/1.000.000).



Abb. 3 a-c. Pulsationskurven eines Herzmuskelsplantales (aus dem Ventrikel eines 7-tägigen Embryos). Durchströmungsgeschwindigkeit, etwa 0,25 cm je Minute.

- Nach halbstündiger Perfusion mit reiner Tyrode - Lösung;
- Nach halbstündiger Durchströmung mit 6 g NaCl/l l. enthaltender Tyrode - Lösung;
- Nach einstündiger Durchströmung mit 6 g NaCl/l l. enthaltender Tyrode - Cellulose (1/500.000).



Abb. 6 a und b. Pulsationskurven eines Herzmuskel-explantates (aus dem Ventrikel eines 7-tägigen Embryos). Durchströmungsgeschwindigkeit etwa 0,55 cm' je Minute.

a) Laotianisches Phänomen;

b) Regelmäßige Kontraktionen nach halbstündiger Perfusion mit Cedilanid 1/500.000 in gewöhnlicher Tyrode - Lösung.

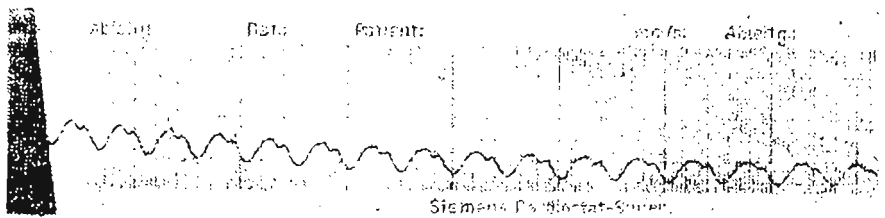
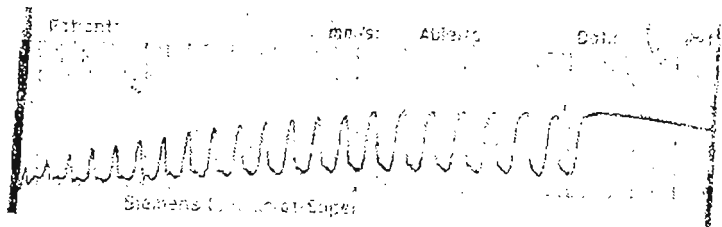


Abb. 7 a und b. Pulsationskurven eines Herzmuskelexplantates (aus dem Ventrikel eines 7-tägigen Embryos). Durchströmungsgeschwindigkeit etwa $0,75 \text{ cm}^3$ je Minute.

- a) Bowditchsche Phänomen nach dreistündiger Durchströmung mit reiner Tyrode - Lösung;
- b) Kleine, jedoch regelmässige Kontraktionen eine Viertelstunde nach Umschaltung, auf Perfusion mit Cedilanid $1:500.000$ in gewöhnlicher Tyrode - Lösung.

KOLORİMETRİK METODLA ANTİSTAFİLOLİZİN (ASTA) TİTRASYONU

Doç. Dr. Muhlis ÖZSAN

Ankara Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Enstitüsü Uzmanı

Stafilokok enfeksiyonu geçiren organizmada, bunların antijenik olan toksinlerine karşı, antikorlar husule gelir. Bu antikorların titresinin yükselmiş olmasının tesbiti geçirilmiş veya geçirilmemekte olan bir enfeksiyonun varlığını gösterir.

Stafilokokların deride ve solunum yolunda, lokalize cehatlanma ile kendini gösteren hastalıklarının bakteriyolojik olarak teşhisi kolay ve basittir. Fakat iç organlarda yerleşmiş, sepsis şeklinde seyreden, hastalıklarının tanısında kan kültürü ile bir sonuç sağlanamadığı taktirde, serolojik bir reaksiyon olan antistafilolizin titrasyonundan istifade edilmektedir.

Bu serolojik reaksiyonun yapılması için kullanılan metodlar İpsen (1) in prensiplerine dayanmaktadır. LH₁ ve LH₂ hemoliz üzerinden çalışan birçok metodlar bildirilmiştir. (2, 3, 4, 5).

Bu metodlarda serumun çeşitli dilusyonlarının yapılması veya değişik miktarlarının hazırlanması ve neticede hesaplarının çıkarılmasındaki güçlük göz önüne alınarak, daha kolay ve pratik bir metotta bu serolojik testin yapılması için çalışmalar yapıldı.

M A T E R Y E L M E T O D

1 — Toksin : alfa stafilolinizin, modifie bir besiyerine üretilmiş (6) stok toksin.

2' — Standard alfa ASTA : Statens Serum Enstitüsü'nden Dr. Tulinius'un yakın alâkalariyle.

3 — **Tavşan eritrositleri** : Eşit hacim Alsever solusyonu ile karıştırılmış, 6-8 C° de buz dolabında muhafaza edilen, steril stok tavşan kanı suspanyionu.

4 — **Ph : 6.8 tampon mahlulu** : Aşağıda bildirilen stok solusyonlardan her defasında taze olarak hazırlanır.

a : stok 0.145 M. Na Cl mahlulu

b : » 0.2 M. NaH₂PO₄.

c : » 0.2 M. Na₂HPO₄.

Bu stok mahlullardan istenilen miktar Ph : 6.8 tampon mahlulu aşağıdaki oranlar içinde karıştırılarak hazırlanır.

100 c.c. tampon mahlulu için : 60.4 c.c. a mahlulundan

27.0 c.c. b »

12.6 c.c. c »

5 — **Standard ASTA çalışma kontrol** : Romatizma şüpheli hasta serumları harmanına aynı hacimde gliserin ilave edilerek hazırlanır. Bunun standard ASTA kıymeti standard test toksin ile tayin edilir.

6 — **Kolorimetre** : Beckman'ın elektrikli kolorimetresi, tip : C - 6, filtre: yeşil filtre.

Eritrosit suspanسیونunun standardizasyonu : Stok eritrosit suspanسیونundan gerekli miktar alınarak 3 defa tampon mahlülüyle yıkanır. En son yıkılmış eritrosit paketinden % 6 luk suspanسیون gene tampon solusyonu ile hazırlanır. Bu suspanسیونun 0.5 c.c. miktarı 5.5 c.c.distille suya karıştırıldığında husule gelen hemoliz sıvısının Beckman kolorimetresinde 1.00 optik dansite verecek şekilde ayarlanması, dilusyon veya konsantrasyon işlemleriyle tamamlanır.

Hemoliz derecesinin tayini : Buz dolabından çıkartılan süporda hemoliz gösteren tüpler hafifçe ırkalanır, oda suhnetinde 1 saat kendi halinde bırakılır; sayet eritrositlerin tam çökmemesinden mütevellit hafif bir bulanıklık varsa, santrifüjde 1000 devirde 5 dakika çevrilir. Üzerindeki berrak hemoliz sıvısından 1 c.c. alınarak 2 c.c. distille suya konur, karıştırılır. Beckman kolorimetresindeki

gösterdiği optik dansite okunur. Okunan optik dansite aynı zamanda % deki hemolizi gösterir. Şöyleki :

0.01 optik dansite	% 0,1	hemolize
0.10 » »	% 10	»
0.20 » »	% 20	»
..... » »	% ...	»
0.999 » »	% 99,9	» uygun gelir.

Standard Test Toksin miktarının tayini : Bu, 1 internasyonal ünite antitoksin karşısında standard eritrosit suspansiyonunun 0.5 c.c. hacminde bulunan eritrositlerin % 50'ünü, 37° C de 45 dakika ve buz dolabında (6-8° C) bir gece sonunda, eriten toksin miktarını bulmaktan ibarettir.

Test toksin miktarının tayinini iki safhada yapmak icabetmektedir :

A : Kaba titraj : Bu da, toksinin katlım dilusyonlarında % 50 hemoliz hududunun hangi tüpte veya tüpler arasında olduğunu bulmaktır. Bunun için bir süpöreye 5 tüp sıralanır ve toksinin tampon mahlülü yardımıyla, 1 c.c. hacminde 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 katlım dilusyonları hazırlanır. Herbir tüpe 0.5 c.c. ünde 1 internasyonal ünite bulunacak şekilde hazırlanmış antitoksin mahlulundan 0.5 er c.c. konur. 37 C° de 15 dakika bırakıldıktan sonra üzerlerine 0.5 er c.c. standard eritrosit suspansiyonundan ilâve edilir, çalkalanır, ilk 15 dakikada tekrar hafifçe çalkalamak şartıyla 37 C° de tekrar 45 dakika enkübe edilir, sonra 6 - 8 C° de buz dolabında ertesi güne kadar bırakılır, sonunda neticeler okunur. Böylece % 50 hemoliz hududu hangi tüpte veya tüpler arasında bulunduğu tesbit edilir. Eğer tüplerde ise, o zaman toksinin 1 c.c. ünde, tüp sırasına göre, 1, 2, 4, 8, 16 test toksin ünitesi var demektir. Şayet % 50 hemoliz iki tüp arasında ise, yani bir tüpte % 50 den fazla, müteakip tüpte % 50 den az hemoliz varsa, bu halde adı geçen tüplerin kapsadığı toksin miktarları göz önüne alınarak ara titrajı için hazırlık yapılır :

Ara titraj : Eğer bir tüpte % 50 den fazla, peşinden gelen tüpte % 50 den az hemoliz husule gelmişse, % 50 hemoliz yapacak toksin miktarı bu iki tüpteki miktarlar arasında bir miktardır. Bu miktarı bulmak için bir süpöreye bir seri tüp sıralanır. 1 inci ve

sonuncu tüplerdeki toksin miktarları adı geçen tüplerdeki kadar olmak şartıyla ara tüplere gittikçe azalan miktarlarda toksin konur. Herbirinin hacmi tamponla 1. c.c. e tamamlandıktan sonra geri kalan işlemler kaba titrajda tarif edildiği üzere tamamlanır.

Bu defa da gene % 50 hemoliz hududu iki tüp arasında ise, o zaman Von Krough denkleminde istifade edilerek çizilecek grafik yardımıyla test toksin miktarı tayin edilir. Liao, S. J. (7).

Esas tecrübelerde toksin sarfiyatını azaltmak ve metodu kolaylaştırmak amacıyla, matematik kaidelerine dayanarak, toksinin 10 katlı dilüe, anti-toksinin 0.5 c.c. ünde 1:10 ünite bulunacak şekilde hazırlanmış mahlulleriyle, yukarıdaki aynı neticelere varılıp varılmıyacağı tesbit için, ara titrajları tekrarlandı.

Serumların rutin titrasyonu : Teste tabi serumlar 56 C° de yarım saat inaktive edilir.

Her serum numunesi için bir süpöre 5 tüp sıralanır. 1 inci tüpe 0.25. 2 inci tüpe 2.7, müteakip tüplere 1 c.c. tampon mahlulünden konur.

Serumdan 0.3 c.c. alınarak 2.7 c.c. tampon bulunan 2 inci tüpe konur, karıştırılır, 1 c.c. alınarak 1 inci tüpe, tekrar 1 c.c. alınarak 3 üncü tüpe aktarılır, bu tüpten müteakip tüplere aktarmalar yapılarak serumun 1:10, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 dilasyonları hazırlanır. Üzerlerine, 1 c.c. ünde 1:10 test toksin kapsayacak şekilde hazırlanmış toksin mahlulundan 1 inci tüpe 0.25, geri kalan tüplere 0.50 c.c. konur. Geri kalan işlemler yukarıda tarif edildiği gibi yapılır.

Serum titresinin tayini (% 50 hemoliz hududunun bulunması) : Serumun rutin titrasyonu sonunda eğer tüplerden birinde % 50 hemoliz husule gelmişse serumun titresini gördüğü tüp sırasına göre 0.25, 0.50, 1, 2, 4 ünite olacaktır.

Şayet serum dilasyonlarından birinde % 50 den az hemoliz, (bu tüp sıra numarasına (r) dersek) müteakip tüpte % 50 den fazla hemoliz (bu tüp sıra numarası da (r + 1) olur) görülürse, % 50 hemoliz hududu bu iki tüp titresini arasındadır. Bu titreinin tayininde Probits hesaplarına dayanarak bulunan konversiyon faktörleri cedvelinçe istifade edilir. Cedvelde (r) ve (r + 1) tüplerindeki hemoliz derecelerine uygun olan faktör bulunur. (r) tüpünün titresiyle çarpılarak serumun titresini tayin edilir.

Tüplerin hiçbirinde erime görülmemişse bu halde serumun titresi 4 ünitenin üstünde demektir.

Serumun, konversiyon faktörleri yardımıyla titresinin bulunmasına bir misal : 1 inci tüpte (r) % 20, 2 inci tüpte (r + 1) % 60 hemcliz tesbit edilmişse, konversiyon faktörü, verilen cedvelde görüldüğü üzere 1.71 dir. Serumun titresini 1 inci tüpün titresiyile konversiyon faktörünü çarpmak suretiyle buluruz. Burada : $0.25 \times 1.71 = 0.42$ ünite olur.

Tablo : 1 konversiyon cedvalini göstermektedir.

Tablo 1. Konversiyon Faktörleri

(r+1)	% 60	% 70	% 80	% 90	% 99.9
(r)					
% 0.1	1.89 (0.92)	1.81 (0.86)	1.71 (0.78)	1.62 (0.70)	1.41 (0.50)
% 10	1.79 (0.84)	1.62 (0.70)	1.51 (0.60)	1.41 (0.50)	1.23 (0.30)
% 20	1.71 (0.78)	1.53 (0.62)	1.41 (0.50)	1.32 (0.40)	1.16 (0.23)
% 30	1.60 (0.68)	1.41 (0.50)	1.30 (0.38)	1.23 (0.30)	1.10 (0.14)
% 40	1.41 (0.50)	1.25 (0.32)	1.16 (0.22)	1.12 (0.16)	1.06 (0.08)

Çalışma kontrolü, serumların titrelenmesinin her defasında, tecrübeler dahil edilmiştir.

Titresi 4 ünite üstünde bulunan serumlar, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 çöşyonları yapılarak, tekrar titrasyona tabi tutulur, ve aynı esaslara dayanarak titreleri tayin edilir.

S O N U Ç L A R

1 — Test toksin miktarının tayini :

A : Tablo : 2 de kaba titraj ve sonuçları gösterilmiştir.

Tablo : 2. Toksinin Kaba Titrajı

Tüp sıra No:	1	2	3	4	5
Toksin dilusyonları	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16
Toksin c.c.	1	1	1	1	1
ASTA (0.5 c.c. de 1 int. ünite) c.c.	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
37 C° de 15 dakika					
Stand. Tavşan erit. susp. c.c.	0.5	0.5	0.5	0	0.5
37 C° de 45 dakika, sonra ertesi güne kadar buz dolabında (6-8 C° de)					
Hemoliz derecesi	tam	çok % 50	az % 50	yc.	yok

Netice : % 50 hemoliz hududu 2. tüp ile 3. tüp arasında, yani toksinin test toksin miktarı 0.50 c.c. ile 0.25 c.c. arasındaki bir miktardır.

B : Tablo : 3 ara titrajı ve sonuçları göstermektedir.

Tablo : 3 Ara Titrajı (İkili)

Tüp sıra No:	1	2	3	4	5	6	7	8	
Toksin miktarı c.c.	0.50	0.40	0.36	0.34	0.32	0.30	0.28	0.26	
Tampon c.c.	0.50	0.60	0.64	0.66	0.68	0.70	0.72	0.74	
ASTA (0.5 c.c. de 1 int. ünite) c.c.	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
37 C° de 15 dakika									
Stand. Tavşan eri. susp. c.c.	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
37 C° de 45 dakika, sonra ertesi güne kadar buz dolabında (6-8 C° de)									
Hemoliz %	1. Sıra	85	90	90	85	64	62	32	yok
	2. Sıra	90	90	84	78	66	63	33	5

Sonuç : Test toksin miktarı 0.29 c.c. dir.

Tablo : 4, 1:10 dilüe toksin ve 0.5 c.c. ünde 1:10 ASTA internasyonel ünitesi kapsayan antitoksin, mahlullarıyla yapılan titraji ve sonuçları göstermektedir.

Tablo : 4 Dilüe Toksin (1:10) ve Antitoksin (0.5 c.c. de 1:10 İ. Ü.) İle Ara Titraji (İkili)

Tüp sıra No:	1	2	3	4	5	6	7	8	
Toksin (1:10) c.c.	0.50	0.40	0.36	0.34	0.32	0.30	0.28	0.26	
Tampon c.c.	0.50	0.60	0.64	0.66	0.68	0.70	0.72	0.74	
ASTA (0.5 c.c. de 1:10 İnt. Ünite) c.c.	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
37 C° de 15 dakika									
Std. erit. sus. c.c.	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
37 C° de 45 dakika, sonra ertesi güne kadar buz dolabında (6-8 C de)									
Hemoli %	1. Sıra	90	88	90	80	65	60	30	3
	2. Sıra	86	90	90	78	68	62	32	yok

Sonuç : Test toksin miktarı gene 0.29 c.c. bulunmuştur.

2 — Serumların titresinin tayini :

Tablo : 5, Serumların ASTA titrajını kontrol ile birlikte göstermektedir.

**Tablo : 5
Serumların ASTA titraji (Standard Çalışma Kontrolü İle)**

Tüp sıra No:	1	2	3	4	5
Serum dilüsyonları	1:10	1:10	1:20	1:40	1:80
Serum dilüsyon miktarı c.c.	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Toksin (0.5 c.c. de 1:10 test toksin) c.c.	1	1	1	1	1
37 C° de 15 dakika					
Stand. Erit. susp. c.c.	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
37 C° de 45 dakika, sonra ertesi güne kadar buz dolabında (6-8 C de)					
Hemolitik teste tabii serum %	20	60	tanı	tanı	tanı
Stand. çalış. kontrol	yok	20	70	tam	tam

Sonuç : Serumun titresi : 1. tüpte (r) de % 20 hemoliz

2. tüpte (r + 1) de % 60 hemoliz
Cedvelde bu hemolizlere uyan faktör : 1.71

Serumun titresi : (r) tüpünün titresi X konversiyon faktörü
: 0.25 X 1.71 = **0.42 İnt. Ünitedir.**

Kontrolün titresi : 2. tüpte (r) de : % 20 hemoliz

3. tüpte (r + 1) de : % 70 »

cedvelde bu hemolizlere uyan faktör: 1.53

Kontrolün titresi : (r) tüpünün titresi X konversiyon faktörü
0.50 X 1.53 = **0.76 İnt. Ünitedir.**

(0.76, kontrolün standardizasyonu ile bulunan sabit kıymetidir.)

M Ü N A K A Ş A

Antistafilolizin titrasyonu, bñhassa iç organlarda lokalize stafilokok enfeksiyonlarının teşhisinde, kemik ve nafsal hastalıklarına birbirlerinden ayırt edilmesinde yardımcı serolojik bir test olarak kullanılmaktadır.

Normal kimselerde bulunan ASTA antikollarının seviyeleri, elde edilen neticelerin kıymetlendirilmesi bakımından, ayrıca araştırılmıştır.

Titrasyonlarda kullanılan metodlar İpsen (1) in prensiplerine dayanmaktadır :

Lack, C. H. ve Ark. (2) stafilokok enfeksiyonlarında bulunan antistafilolizin titrelerinin teşhiste kıymeti mevzuunda yapmış oldukları çalışmalarda çift dilüsyon metodunu kullanmışlar ve % 50 hemoliz üzerinden çalışmışlardır.

Knitz, M. ve Ark. (3) yeni doğan çocuklar ve annelerindeki antikor miktarlarını karşılıklı olarak tetkik etmişlerdir. Tatbik ettikleri metodda serumun 1:5 dilüsyonunun muhtelif miktarları hazırlanmış ve test toksin miktarı da LH₀ üzerinden ayarlanmıştır.

Dobias ve Ark. (4) süt çocukları, çocuklar ve yetişkinlerin kanlarında bulunan antikor seviyelerini araştırmışlardır. İşledikleri metodda, serumun muhtelif dilüsyon ve miktarlarını kullanmışlar, LH₂₀ üzerinden çalışmışlardır.

Hugo Baraun (5) bildirdiği metodda hasta serumunun 1:10 dilüsyonu azalan miktarlarda kullanılmış, ayrıca tecrübeye müsbet ve menfi kontrol serumlar da ithal edilmiştir.

Eütün bu metodlarda toksin ve antitoksinin birleşmesi için 37 C° de veya oda suhnetinde kısa bir müddet enkübasyonu müteakip muhtelif tavşan eritrosit suspansiyonları ve miktarları karıştırılmış, tekrar 37 C° de 1 saat bırakıldıktan veya bunu takiben 1 saat da oda derecesinde kaldıktan sonra netifler okunmuştur.

Üzerinde çalıştığımız kolorimetrik metodda, bildirilen metodlardan farklı olarak, teste tabi tüpler muhtad enkübasyonlara ilaveten ayrıca bir gece de buz dolabında (6-8 C° de) bırakılmaktadır. Bu suretle daha doğru ve emin neticeler elde edilmektedir. Metodda, kullanılan eritrosit suspansiyonu standardize edilmekte, birçok tüp yerine 5 tüp kullanılmakta, Serumun çeşitli dilüsyonları veya miktarları yerine katlım dilüsyonu yapılmaktadır.

Bu metod, Liao, S.J. (7) nin antistreptolizin - O titrasyonunda bildirdiği prensip ve esaslara dayanmaktadır. Metodda dilüsyonların vesair işlemlerinin yapılması kolaydır. Materyel harcanması azalmıştır. Serumların titresi olduğu gibi değerlendirilir. Çok sayıda serumun bir arada titrasyonu mümkündür.

Ö Z E T

Klorimetrik metod ile antistafilolizin titrasyonu yapılmıştır. Bunun için de :

1 — % 50 hemoliz üzerinden çalışılmıştır.

2 — Modifiye bir besi yerinde üretilen toksinin test toksin miktarı ASTA standardı ile tayin edilmiş ve bunun 1:10 dilüsyonu esas tecrübeye kullanılmıştır.

3 — Serumun 5 tüpte, 1:10, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 dilüsyonları hazırlanmıştır.

4 --- Kullanılan eritrosit suspansiyonu kolorimetrede standardize edilmiştir.

5 --- Mutad enkübasyonlara ilaveten tecrübeye tabi tüpleri bir gece de buz dolabında (6-8 C° de) bırakılmıştır.

6 --- Titrlerin ve kıymetlerin bulunmasında Von Krough'un formülünden ve Probits hesablarıyla bulunan konversiyon (çevirme) faktörlerinden istifade edilmiştir.

Metod kolay ve pratiktir. Materyel harcanmasını azaltmıştır. Neticeler doğru ve emindir. Bir defada birçok serumun bir arada titrasyonu mümkündür.

A NEW COLORIMETRIC METHOD FOR THE TITRATION OF ANTISTAPHYLOLYSIN

Dr. M. Özsan

The aim of this paper is to describe a new colorimetric method for the titration of antistaphylolysin. For this purpose :

1. 50 % hemolyse was used.
2. The test dose of toxin was determined by ASTA standard preparation and was used 1:10 dilution in all the titrations.
3. The dilutions of serums were : 1:10, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80.
4. The red blood cell suspension was standardized by the colorimeter.
5. The test tubes were incubated in a refrigerator (about 6 or 8 C°). This is a modification of existing techniques.
6. The Von Krough's equation and the conversion's factors which were found by probits analysis calculation, were utilized to obtain the test toxin dose and the titers.

The method is easy to use; It economise the consumption of materials. Its results are reproducible. It is possible to titrate several serum specimens at on time.

LITERATURE

- 1 — İpsen, 1944, A Standard for Antistreptolysin - O of human serum and its Practical Application. Act. Path. Mic. Scan. 21, 203 - 213
- 2 — Lack, C.H., Towers, A.G. : 1962, Serological Test for Staphylococcal Infection. Brit. Med. J. 10, 1227 - 1231
- 3 — Knitz, M., Kummel, J. : 1960, Der Staphylokokken Alpha Antitoxin Titer bei Neugeborenen und Ihren Müttern. Zeit. Imm. Forsch. 120, 33 - 61
- 4 — Dobias, G., Ballo, T. : 1958, Der Staphylokokken Alpha Antitoxin Titer nicht Pyodermische Säuglinge Kinder und Erwachsener. 116, 372 - 383
- 5 — Hugo Braun : 1941, Mikrobiyoloji ve Salgınlar bilgisi, İstanbul Üniversitesi yayını, Ahmet İhsan Matbaası Ltd. İstanbul, 2. Baskı. sa. 334 - 336.
- 6 — Sevil, N., Özsan, M. : 1965, Alfa Stafillozitin İstihsalinde Modifiye bir Besi Yeri. Türk Hij. ve Tecr. Biyo. Dergisi, 25, 218 - 225
- 7 — Liao, S.J. : 1951, A Modification of Antistreptolysin Test. J. Lab. Clin. Med. 38, 648 - 659.

1-11 Ekim 1965
S. C. M. F. H.
T. E. S. Ü. G. M.

DÜNYA SAĞLIK TEŞKİLATININ KOLERA BAKTERİYOLOJİSİ KONUSUNDA DÜZENLENMİŞ OLDUĞU KURSTAN İZLENİMLER VE KOLERA AŞILARI ÜZERİNDEKİ SON GÖRÜŞLER

2 - 11 Ekim 1965 - TAHRAN

Turgut TULGA

Retik Saydam Merkez Hüfzassıhha Enstitüsü Genel Sekreteri

Dünya Sağlık Teşkilâtının Doğu Akdeniz Bölgesel Bürosu Tahrande 2-11 Ekim 1965 tarihleri arasında Kolera Bakteriyojisi üzerinde son yenilikleri öğretmek üzere bir kurs açmıştır.

Kursun esas gayesi, son aylarda Afganistan, Özbekistan ve İranda birdenbire ortaya çıkıp batıya doğru yayılma istidadını göstermekte olan Kolera salgınına karşı sağlam bir cephe kurmaktır.

Kursa davet edilen Ortadoğu memleketlerinden, Irak, Küveyt, Lübnan, Ürdün, Sudan birer, İran sekiz, Türkiye de iki temsilci ile katılmış bulunuyordu. Birleşik Arap Cumhuriyeti ile Suriye ve Suudi Arabistan kursa iştirak etmemişlerdir.

Kursta eğitici olarak, İran Sağlık Bakanlığı ile Tahran Üniversitesine bağlı Halk Sağlık Araştırma Enstitüsü uzmanları ve Dünya Sağlık Teşkilâtından üç uzman görev almış bulunuyordu. Ayrıca, Tahran Pastör Enstitüsü ve Razi Enstitüsü ilgilileri de bu Enstitüleri ziyaretimiz esnasında gerekli açıklamalarda bulunmuşlardır.

Kurs, Tahranın merkezinde Nejad hastanesinin Referans Lâboratuvarında, 2 - Ekim - 1965 günü saat 9.00 da İran Sağlık Bakanının kısa bir konuşmasıyla açılmış, bunu müteakip derhal teorik ve pratik lâboratuvar çalışmalarına başlanılmıştır. Eğitim tam bir disiplin altında cereyan etmiş ve kursun başarılı olması için ilgililer el-

lerinden geleni yapmışlardır. Kursun son günü konu üzerinde genel müzakere açılmış ve karşılıklı tartışma yapılmıştır. Kurs, İran Sağlık Bakanlığı Müsteşarının konuşmasıyla kapanmıştır.

Kurs programı, Koleranın bakteriyolojisi, fizyopatolojisi, epidemiyolojisi ve İranda ki Kolera Epidemisi gibi konuları kapsamaktaydı. Kolera aşısına programda yer verilmemiş olmasına rağmen ısrarımız üzerine Dünya Sağlık Teşkilâtının bu konuda yetkili uzmanlarından Dr. Y. Watanabe tarafından bir konuşma yapılmıştır. Bu konuda gösterdiğim yakın ilgiyi ince bir hassasiyetle izleyen Dr. Watanabe, hafta sonu tatilinde bana kendisiyle şahsen görüşmek fırsatını vermiştir.

Tahran Fastör Enstitüsü eski müdürü Dr. M. Baltazard da biz Türkleri özel surette kabul etmek nezaketini göstermiş ve İran'da uygulanmakta olan Kolera Aşısı hazırlama tekniği üzerinde etraflı açıklamalarda bulunmuştur. Biz yazımızda bu konulara ayrı ayrı ve teşvikleri öneme göre kısaca değinmekle yetineceğiz.

BAKTERİYOLJİ :

Erken lâboratuvar teşhisi, hastalığın yayılmasını önleyecek tedbirlerin başında gelmektedir. Bu bakımdan, Kolera vibriyonunun izolasyonu ve idantifikasyonunda çeşitli metodlar ve kültür vasatları kullanılmıştır. Literatürlerde bunlara ait geniş bilgi mevcuttur. Dünya Sağlık Teşkilâtı Kolera tehdidi altında bulunan memleketlerle, hastalığın endemik karakter kazandığı bölgelerde, bakteriyolojik teşhis bakımından çabuk ve kesin bir sonuca ulaşabilmek gayesiyle, lâboratuvar metodlarını mümkün olduğu kadar basitleştirmeyi ve standardize etmeyi düşünmüş ve Tahran'daki kursta, metod bakımından ayrıntılara girişmeden aşağıda özetleyeceğimiz şekilde bir çalışma tarzı uygulanmıştır. İran'daki salgında da aynı çalışma tarzı izlenmiştir.

Kolera vibriyon'u izole ve idantifiye etmekle görevlendirilmiş lâboratuvarlar, buna paralel olarak, aynı zamanda Salmonella, Shigella ve Entero - Patojenik koli'ler üzerinde de izolasyon ve idantifikasyon yapmak mecburiyetindedirler. Kullanılan kültür vasatlarını kısaca şu şekilde şematize etmek mümkündür.

I — Dışkıının veya rektal ekuviyon'un muhafaza ve lâboratuvara nakliinde kullanılan vasatlar (Transport Media)

1. Kolera bakımından :
 - a) Alkali âdi tuzlu su
 - b) Tellurit'li Monsur vasatı (sıvı)
 - c) Alkali pepton'lu su

Bu vasatlarda materyel birgün içinde laboratuvara gönderilmelidir. Sonucusu ancak kısa bir süre için uygundur.

2. Salmonella, Shigella ve Entero-Patojenik E. Koliler için uygun muhafaza ve nakil vasatı :

- a) Gliserinli tuzlu su

II — Zenginleştirme vasatları (Enrichment Media)

- a) Alkali pepton'lu su
- b) Tellurit'li sıvı Monsur vasatı

III — Yayma vasatları, Petri kutusuna (Plating Media)

1. Selektiv olmayan alkali jeloz

2. Kolera için selektiv vasatlar :

- a) Monsur'un tellurit'li agar vasatı
- b) TCBS vasatı (Modifiye Nakanishi vasatı)
- c) Kolera vasatı (Oxoid) «Lauryl sulphate Tellurite Agar»

3. Salmonella ve Shigella için selektiv vasatlar :

- a) Desoxycholate Agar (Hynes)
- b) Salmonella - Shigella (SS) Agar
- c) MacConkey Agar (Modifiye)

Salmonella - Shigella izolasyon ve identifikasyonu için bilindiği gibi daha bir çok selektiv vasat mevcuttur. Kolera teşhis laboratuvarları bunlardan en az birini kullanmak zorunluğundadırlar.

İzolasyondan sonra identifikasyon için bu vasatlara ilâveten polivalan Kolera serumu, Polymixin B hassasiyet diskleri, VP ve indol test'leri için gerekli vasat ve miyarlar, endikatörlü arabinose, mannose ve sükröz'lu et suları, Klügler vasatı, Brom cresol purple endi-

katörünü ihtiva eden yarı katı mannit vasatı, hemoliz ve hemagglütinasyon deneyleri için koyun ve tavuk eritrositleri süspansiyonları, lâm agglütinasyon'ları için çukur lamalar, karanlık saha mikroskobu vesaire bulundurmak gerekmektedir.

Kuruluş dışkı ve eküviyyon'lar bakteriyolojik muayeneler için elverişli değildir. Bunun için rektal eküviyyon'lar (Swab) 1 % tellürit'li suya batırıldıktan sonra az miktarda steril transport vasatı ihtiva eden tübe daldırılır, eküviyyon'un sapı kırılır ve tüp kapatılır. Bu arada dışkı da temin edilmişse yine Kolera için uygun bir transport vasatı ihtiva eden tübe veya şişeye ortalama 0,5 gramlık küçük parçalar halinde konur. iyice karıştırıldıktan sonra en seri araç ile laboratuvara sevkedilir. Salmonella - Shigella bakımından gliserinli tuzlu su tercih edilmelidir.

Materyel laboratuvara ulaşınca, kolera transport vasatından alkali peptonlu su tüplerine ekim yapılır. Altı saatlik enkübasyondan sonra buradan, kolera için selektif MONSUR ve TCBS plaklarına ve bu arada Salmonella - Shigella selektif plağına, bir de selektif olmayan alkali agar plağına ekim yapılır. Plaklar 18 - 24 saat enkübe edilir. Eğer materyelde kolera vibriyonu varsa MONSUR ve TCBS vasatlarında karakteristik koloniler ürer. Bu karakteristik veya şüpheli kolonilerden poliv kolera serumuyla lâm agglütinasyonu yapılarak karara varılır. Müshademize göre, TCBS vasatında, 24 saatlik süre içinde koloniler MONSUR vasatındakilerine nazaran daha iyi gelişmekte iseler de, TCBS vasatında üreyen kolonilerden yapılan süspansiyonlarla lâm agglütinasyonu ikincisine nazaran biraz daha geç ve zayıf olmaktadır. Bu bakımdan süspansiyonları biraz yoğun hazırlamak lâzımdır. Hernekadar kolera için selektif olan vasatlarda Proteüs müstesna diğerleri genel olarak üremezse de, Bact. faecalis alkaligen ve Salmonella enteridis'in kolera vibriyonu ile kolera serumu karşısında müsterek agglütinasyon verebileceklerini hatırdan çıkarmamak lâzımdır. Bu gibi şüpheli hallerde tüp agglütinasyonu ile durumu aydınlatmak mümkündür. Kolera müspet hallerde, Ogawa, İnaba ve El-Tor tiplerinin ayrımı için Polymixin B hassasiyet diskleri (50 ünitelik), hemagglütinasyon ve hemoliz testleri uygulanır. Mümkün ise karanlık sahada tip serumlarla mikroskobik muayeneler icra edilir. VP, indol test'leri için uygun vasatlara ve endikatörlü şekerli vasatlara ekimler yapılır. String testi spesifik değildir. Teyit mahiyetinde kullanılabilir. Hemoliz deneyleri, klâsik kolera vibriyon'larıyla El-Tor vibriyonu arasındaki ayrım için her za-

man kesin sonuçlar vermez. İraü epidemisinde hemoliz yapmayan El-Tor suşları da izole edilmiştir. Spesifik kolera serumuyla agglütinasyon vermeyen vibrion'lar (NAG) diağnoz bakımından önem arzederler. Zira bu vibrion'ların da patojen olabildikleri ve ishâl ile müterafık hastalık tablosu meydana getirdikleri sık sık müşahade edilen olaylardandır (Choleraic Diarrhoea). Dr. Watanabe'nin ifadesine göre Japonya'daki gıda zehirlenmelerinin 50 % si bu grup vibrionlardan ileri gelmekteymiş. Teşhiste yalnuş ve acele yargılara varmamak için yurdumuzda da bu nokta üzerinde titizlikle durmanın gerektiğine inanmaktayız.

Koleranın bakteriyolojik teşhisinde çok önemli bir yer işgal eden Poliv. antiserum'un hazırlanması güç değıldir. En uygun üretim hayvanı tavşandır.

Kullanılmaya elverişli bir serum, lam agglütinasyonunda en az 1 8 dilisyonunda işlenmelidir. 1 64 oran iyi bir titredir. Steril ve nötr gliserinle eşit miktarda karırtırılmış serum oda derecesinde bir yıl dayanmaktadır. Bu tarzda muamele görmüş serumlar, özellikle lokal lâboratuvarlar için çok elverişlidir. Kolera bakteriyofajlarının klassifikasyonda önemi bulunmakla beraber henüz Uluslararası kabul edilmiş bir standard yoktur.

FIZYOPATOLOJİ :

Kursta bu konuya çok az yer verilmiş, kiâsik bilgi ve teorilere yeni birşey ilâve cilmemiştir. Bununla beraber, kolerada hastalık tablosunun teessüsüne sebep olan değışikliklerde, vibrionlardan açığa çıkan histamin veya histamine benzer maddelerin rol oynamakta olduğu merkezindeki görüş, inceleme konusu olarak yeniden ele alınmış bulunmaktadır.

TEDAVİ ve KORUNMA :

Bilindiği gibi su ve elektrolit kaybunun telâfisi başta gelmekte, buna antibiyotikler iştirak ettirilmektedir. Başlangıçta hastada şiddetli kusma arazi mevcut olduğuundan antibiyotik, damarığı yolla ve rehidratasyon mayii ile birlikte verilmektedir. Kolera tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin başında tetrasiklin gelmekte, bunu kloramfenikol izlemektedir. Hastanın genel durumunu biraz düzeler dü-

zelmez. antibiyotik ağız yoluyla, günde iki gramdan (altı satta 500 mgr.) üç gün süre ile tatbik edilmektedir.

İddia edildiğine göre, İran'da La Roche firmasının Fanâsil adlı bir sülfamid preparatı hasta ve portör tedavisinde olumlu sonuçlar vermiştir. Sonradan öğrendiğimize göre, bu sonuçlar tatminkâr bulunmuştur. Kolerada kemoprofilâksi'nin önemi yoktur; belki kısa bir süre için faydalı olabilir. Aşı ile korunma konusuna ilerde biraz daha etraflıca değineceğiz.

Hastalıktan korunma bakımından, çevre sağlığı şartları, kültür seviyesi, beslenme derecesi gibi halkın sosyal ve ekonomik durumuyla doğrudan doğruya ilişkileri bulunan faktörler başta gelmekte, kaçak sızmalara karşı sınırlardaki güvenlik tedbirleri ayrı bir önem taşımaktadır. İran bütün bunlardan oldukça yoksun durumda olduğundan, hastalık memlekete kolayca girmiş ve aşağıda açıklayacağımız, sonradan alınan çok sıkı tedbirlere rağmen yayılmış, muhtemelen Irakın kuzey bölgesine sığramış ve sınırlarımıza kadar dayanması önlenememiştir. Bütün bunlarla beraber, zamanımızda hergün büyük bir hızla gelişmekte olan ülkeler arası hava trafiği, özellikle kolera bakımından bütün dünyayı tehdidi altına almış bulunmaktadır.

EPİDEMİYOLOJİ :

Endemik olarak Bengal ve Doğu Pakistan'a yerleşmiş bulunan klâsik koleranın yaptığı tahribatın şu son onbeş yıl içinde tedricen azalmaya ve zayıflamaya yüz tuttuğu memnuniyetle izlenmektedir. Nitekim bu iki memlekette 1945 - 1949 yılları arasındaki dönemin yıllık ölüm ortalaması 164.000 iken, 1950 - 1954 döneminde bu miktar 77.000 olmuş, 1954 - 1959 arasında 42.000'e düşmüş, 1961 yılında da sadece 11.000 ölüm kaydedilmiştir.

Bu endemik bölgelerden zaman, zaman komşu ülkelere sıçramalar olmuş, 1958 yılında Nepal ve Tayland'da, 1960 yılında da Burma'da küçük epidemilerin zuhuru müşahade edilmiştir.

1961 yılında beklenmedik yeni bir durumla karşı karşıya gelinmiş, klâsik koleradan farklı epidemiyolojik bir çehre gösteren yeni bir kolera salgını ortaya çıkmıştır. Bu salgın, Kolera El - Tor'gur ve etkeni olan El - Tor vibrion'u F. Gotselich tarafından ilk kez 1905 yılında Sinai yarım adasındaki TOR karan-

tina merkezinde dizanteriden ölen altı hacıdan izole edilmiştir. Bu tarihten sonra Kolera El - Tor, 1937 yılında Endonezya'nın Celebes adasında görülmüş ve hakiki koleradan farklı, lokal bir hastalık olarak kabul edilerek üzerinde fazla durulmamıştır. Kolera El - Tor, 1961 yılında buradan Güney Borneo ve Endonezya'nın diğer bölgelerine bulaşmış, Sarawak, Kwantung, Hong Kong, Macau'ya geçerek bütün Filipin'lere yayılmış ve Batı Pasifik bölgesini tamamiyle istilâ ederek, 1962 senesinde Kore, Kamboçya, Vietnam, Tayland ve Afganistan'a geçmiş ve nihayet 1965 yılında da Özbekistan ve İrandaki epidemilere sebep olmuştur. 1961 yılından bu yana düzenli bir yayılma temposu gösteren kolera El - Tor artık pandemik bir hüviyet kazanmış bulunmakta ve Dünya Sağlık Teşkilâtının Tahran temsilcisi Dr. Lapeysonnie'in dediği gibi Kolera El - Tor bugün klâsik koleranın yerini almak üzeredir. Zaten şanssızlık ta bundan ileri gelmektedir. Zira, bilindiği gibi, klâsik kolera birden çıkar, en yüksek noktasına eriştikten sonra çıkışı gibi birden söner. Yurdumuzda, geçmiş tarihlerde bu tip kolera salgınlarına rastlanılmıştır.

Kolera El - Tor, daha ziyade sporadik tipte, yavaş bir ritmus ile başlamakta, yatık bir eğri çizdikten sonra, başladığı gibi yine yavaş, yavaş sönmektedir (Tail end). Birinci tip epidemilerin çıkışında, su ve gıda maddeleri, yalnız veya müştereken rol oynamaktadırlar. Kolera El - Tor'da da su epidemilerine rastlanılmakla beraber, burada direkt temas, epideminin çıkış ve seyrinde en önemli yeri işgal etmektedir. Bu bakımdan, portörlerin oynadığı rol çok büyüktür.

Hastalığı geçirmiş şahıslarda portörlük müddeti genel olarak 17 - 20 gün kabul edilmekte ise de 7 - 15 ay süre ile mikrop saçan portörlerin varlığı da tespit edilmiştir. Bunları nadir vakalar ve müşahedçiler olarak kabul etmek güçtür. Gerçek olan, portör araştırmalarında kullanılan lâboratuvar metodlarının yetersizliğidir.

Hastalardan, sağlımlara enfeksiyonu nakleden temas portörlerinin önemini de küçümsemek lâzımdır. Bu gibi şahıslarda hiçbir klinik belirti yoktur veya nazarı dikkatı çekmeyen, hafif seyreden bir ishâl vardır.

Kolera El - Tor,da hasta ile yakın teması bulunan ev halkında portörlük, 10 - 60 %, hastane personeline 14 - 21 %, halk arasında ise ortalama 4 % oranındadır.

Kolera El-Tor vibrion'u klâsik kolera vibrionuna nazaran organizma dışında daha uzun bir süre canlı kalabilmektedir. Klâsik kolera vibrion'ları kuyu sularında (pH 6,8 - 8,8) ortalama 2-7, El-Tor vibrion'ları ile 5-19 gün yaşayabilmektedirler. Bundan başka, yine El-Tor vibrion'ları, nehir deltalarında 70 gün müddetle enfeksiyon kaynağı olarak kalabilmektedirler.

Bugün yürürlükte bulunan Uluslararası Sağlık Tüzüğü (ISR), sadece vakaların ihbarını zorunlu kılmaktadır. Portörler için bir hüküm yoktur. Aşı her şahsı enfeksiyondan ve portörlükten koruyamadığına göre, Uluslararası Aşı Sertifikasının da bu konudaki yetersizliği kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Halen alınmakta olan karantina tedbirleri ve kullanılmakta olan portör araştırma metodları da maksada cevap vermekten çok uzaktır. Tahran'da yapılan oturumlarda bu sorunlar tartışılmış, söz konusu tüzüğün Kolera El-Tor bakımından yeniden gözden geçirilmesinin lüzumuna işaret edilmiştir.

Son zamanda İran'da, kolera tedavisi görmüş ve dışkıları vibrion bakımından steril hale gelmiş nekabet dönemindeki hastalar magnesium sulfat ile pürje edildiklerinde bunların dışkılarıyla bol miktarda Kolera El-Tor vibrion'ları çıkardıkları tespit edilmiştir (1). Çok muhtemeldir ki, uzun bir süre duodenum ve safra kesesine yerleşen vibrionlar, normal bağırsak florasının ve diğer faktörlerin antagonist etkisi altında, bağırsak boşluğunda serbestçe çoğalamamakta ve fakat, mevsim, alınan gıdalar ve bağırsak enfeksiyonları (Salmonella, Shigella, vs.) gibi barrier'i ortadan kaldıracak şartlar teessüs edince, portörler mikrop saçıcı hale gelebilmektedirler. Bu sebeptendirki, Portörlerle kolera epidemiyolojisi arasındaki ilişkilerin incelenmesi, günün konusu olmaya başlamıştır.

Yurdumuzda, özellikle yaz aylarında bağırsak enfeksiyonlarının çokluğu bu açıdan ele alındığı takdirde, bizim için durumun ne kadar ciddiyet arzedebileceğini fert ve toplum olarak düşünmek ve ona göre tedbirler almakta kusur etmemek çok yerinde olacaktır. Bu bahse burada son vermeden önce, Filipin'lerin Bulacan bölgesinde 1963-1964 yılları içinde hüküm sürmüş bulunan Kolera El-Tor epidemisi vesilesiyle, hastalık etkeninin muhtelif kaynaklardan izolasyonu ile ilgili olarak yapılmış bulunan bir araştırmadan, konunun arzette bulunduğu önem dolayısıyla kısaca bahsetmeyi yerinde bul-

duk (2). Bu çalışmada 306 materyel bakteriyolojik muayeneye tâbi tutulmuş, nünuneler koleralı hastalardan, hasta ile temas etmiş şahıslardan ve muhtelif cins hayvandan (hastalık çıkmış evlerin civarında bulunan domuz, kedi, köpek, manda, ördek ve tavuk) rektal yol ile alınmış, ayrıca gıda maddeleri, su ve sinekler incelenmiştir.

Bu 306 adet nünunenin bakteriyolojik muayenesinden, 104 nünune (34 %) yalnız El - Tor bakımından müspet bulunmuş, 19 materyelde El - Tor ve Kolera vibriyon'ları birlikte üremişlerdir. Bu bulgular aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Kaynağın cinsi	Muayene edilen nünune adet	El - Tor pozitif adet	El - Tor ve Vib. kolera birlikte pozitif Adet
İnsan :			
Koleralı hasta	42	38	4
Hasta ile temas eden	58	14	0
Hayvan :			
Domuz	35	9	0
Köpek	4	0	0
Manda	8	0	0
Kedi	4	0	0
Ördek	12	2	0
Tavuk	15	0	0
Gıda maddeleri	69	20	0
Su	33	12	2
Lâğım suyu	2	2	0
Sinek	18	6	1
Kasık (hastanın)	1	1	0
Toplamı	306	104	19

İRAN'DA KOLERA MÜCADELESİ :

1965 yılının yaz başlarında İran'ın Horasan eyaletinde başgösteren kolera salgını üzerine, aşağıda açıklayacağımız idari ve teknik tedbirler derhal alınarak mücadeleye geçilmiştir.

1. Millî Kolera Komitesi : Sağlık Bakan'nın başkanlığında çalışmakta olup, askerî ve sivil teşkilât, Kızıl Arslan, Üniversite ve bütün sosyal teşekküller temsilcilerinden kurulu bulunmaktadır.

2. Alt Komiteler : Eyaletlerde Mülki amirinin başkanlığında faaliyet göstermektedirler.

3. İlmî Konsül : Bu kurul Sağlık Bakanlığı Müsteşarını başkanlığında, Pastör ve Râzi Enstitüleriyle, Üniversite Halk Sağlığı Enstitüsü ve Dünya Sağlık teşkilâtı (İran'daki) temsilcilerinden te-rekküp etmektedir. Sağlık Bakanlığında ayrıca bir de Kolera müca-delesini mali bakımdan yöneten bir büro kurulmuştur.

4. Kolera Referans Lâboratuvarı ve lokal lâboratuvarlar : Öğ-rendiğimize göre, İran'da kolera salgını başgösterdiği zaman, bu konu ile uğraşan herhangi bir lâboratuvar mevcut bulunmamakta idi. Bununla beraber, bütün memleket sathına serpiştirilmiş küçük çap-ta 170 adet lokal Enterobakteri lâboratuvarları mevcut bulunmakta imiş. Derhal Tahran'da bir kolera referans lâboratuvarı kurulmuş ve Dünya Sağlık Teşkilâtından uzmanı celbedilerek, doktor ve tek-nisyenler için 8-10 gün süreli kurslar düzenlenmiştir. Gerek İran-lı ve gerekse Dünya Sağlık Teşkilâtı uzmanlarını ifade ettiklerine göre, bu kurslardan çok iyi sonuçlar alınmıştır. Şimdi lokal lâbora-tuvar kolera vibrionunu izole edecek duruma gelmişler ve böylece Referans lâboratuvarının yükünü büyük ölçüde azaltmışlardır. İran'daki epideminin etkeni El - Tor vibrionudur. Kendi ifadelerine göre, bugüne kadar yalnız Referans lâboratuvarında 100 suş izole edilmiştir. Hastalık İran'a Afganistan'dan bulaşmıştır. 2,5 milyon-luk Horasan eyaletinde 1000 vaka tespit edilmiş olduğunu ilgililer ifade ettiler. İran'da mortalite oranının 50 % olduğu kabul edilmek-tedir.

HORASAN EPİDEMİ BÖLGESİNDE ALINAN TEDBİRLER :

Hastalık çıkan yerlerdeki bütün özel araçlara el konulmuştur. Sağlık ekipleriyle, vali, jandarma ve askeri kumandan arasında çok sıkı bir işbirliği sağlanmış, mücadele ekiplerinin emrine icabında caddeye inebilecek çapta uçaklar verilmiştir. Haberleşme için telsiz istasyonları kurulmuş, PTT. teşkilâtından yararlanma cihetine gi-dilmemiştir. Yalnız Horasan eyaletinde 13 çalışma bölgesi kurulmuş ve her bölge merkezi telsizle donatılmıştır. Crdu ve Jandarma-dan yararlanılarak 78 adet karantine postası tesis edilmiş ve böy-lece enfekte köyler bloke edilmeye çalışılmıştır. Köylerde kurulan 38 aşı istasyonu vasıtasıyla halkın toplu olarak aşılınması sağlan-mıştır.

Bütün içme suları klorlanmış ve hergün iki defa suların klor re-sidüsü ölçülmüştür. Helâlar temizlenmiş, umumi helâlar kapatıl-

mıştır. Meyve ve sebze nakliyatı tamamiyle durdurulmuştur. Halka üç gün süre ile kloramfenikol verilmişse de bunu uygulamak güç olmuş, bu uygulama sadece hastalık çıkan köylerle bunlara mücâvir köylere inhisar etmiştir. Polis merkezlerinin önüne ambulânslar yerleştirilerek hastaların derhal hastaneye nakliyle tecrit ve tedavileri emniyet altına alınmıştır. Koleralı hastaların tedavisi için özel merkezler kurulmuş, cesetlerin yıkanması ve tekfini için bu hastaneler görevlendirilmiş, Meşhet'te 100 yataklı bir hastane bu işe tahsis edilmiştir. Radyo ve gazetelerle geniş ölçüde propaganda yapılmış, halkın eğitime önem verilmiştir.

İran Hükümetinin almış olduğu ve yukarda arzetmiş bulunduğumuz çok sıkı tedbirlere ve mücadele kampanyasına rağmen, Horasan eyaletinde çıkan hastalık bütün doğu İran'a bulaşmış, kuzeye, özellikle Hazer denizinin kıyı eyaleti olan Mazandran'a sirayet etmiş ve Doğu Azerbeycan'a kadar yayılmıştır. Hastalığın, kuzey Irak'ın İran sınır bölgesine de bulaşmış olması çok muhtemeldir.

İran'daki Kolera El - Tor epidemisinin morbitide ve mortalitesi üzerinde kesin bilgi edinmek mümkün olmadı.

Kışın başlamasıyla, kolera'nın İran'da sönmüş olduğu intibahı uyandıran bir durum ortaya çıkmış bulunuyorsa da, 1966 yazının İran ve komşu ülkeler için neler getirilebileceğini şimdiden kestirmek mümkün olamayacaktır. Nitekim, kursun kapanış konuşmasını yapan Sağlık Bakanlığı müsteşarı, İran'da kolera'nın endemik bir karakter aldığını ve mücadelenin bu memlekette en az 20 yıl devam edeceğini samimi bir ifade ile açıklamakta, bir sakınca görmemiştir.

KOLERA AŞILARI :

İlk Kolera aşısı 81 yıl önce (1885) Ferran tarafından hazırlanmış ve bu tarihten sonra zaman, zaman aşının değeri üzerinde lâboratuvar çalışmaları ve saha uygulamaları yapılmışsa da, alınan sonuçlar, bugünkü bilimsel metodların modern prensipleri açısından bir kez daha incelendiklerinde, tatminkâr bulunmamışlar ve aşının koruyucu kudreti üzerinde his edilen şüpheleri gidermekten uzak kalmışlardır. Bu hususu gözönünde bulunduran ve karanlık noktaların aydınlatılması zorunluğunu duyan Dünya Sağlık Teşkilâtı, 1962 yılında (30 Kasım 5 Aralık) Cenevre'de düzenlenen Uluslararası bir toplantıda, Kolera aşısının bilimsel yönden değerlendirile-

mesi amacıyla, aşı üretimi ve standardizasyonu ile uğraşan lâboratuvar uzmanlarıyla, epidemiyologların, Tifoda olduğu gibi kolerada da müştereken çalışmalarını ve Hindistan, Doğu Pakistan, Filipinler gibi koleranın endemik olarak hüküm sürmekte olduğu memleketlerin bazı bölgelerinin uygulama alanı olarak seçilmesini öngören bir kararın alınmasını sağlamıştır. Varılan karar gereğince 1963 yılından bu yana üç büyük saha uygulamasının yapılmış ve gelecekteki çalışmalara ışık tutabilecek nitelikte sonuçların alınmış olduğunu memnuniyetle görmekteyiz.

Bunlardan birincisi, Kalküta'da Dünya Sağlık Teşkilâtının yardımıyla yapılmış ve Hindistan yetkilileriyle Batı Bengal hükümeti tarafından yönetilmiştir. Diğer çalışma, Pakistan - SEATO Kolera Araştırma Lâboratuvarı tarafından Dakka'da (Dacca) yapılmıştır. Üçüncüsü ise Filipinlerde, Filipin Sağlık servisi tarafından yürütülmüş ve Japonya ile Dünya Sağlık Teşkilâtı tarafından desteklenmiştir.

Kalküta'da alınmış bulunan sonuçlar henüz bütün ayrıntılarıyla yayınlanmamış olmakla beraber, edindiğimiz bilgiye göre bu tatbikatta, Dünya Sağlık Teşkilâtının 1959 tarih ve 179 sayılı teknik raporunda açıklanmış bulunan hususlara harfiyen uyularak, agar'da üretilerek hazırlanmış ve bu arada hararetle öldürülmüş ve 0,5 % fenole muamele görmüş üç farklı aşı preparatı kullanılmıştır. Bu aşular, ancak 3 - 4 ay devam edebilen 50 - 60 % oranında bir koruma sağlayabilmişlerdir. (3, 4).

Doğu Pakistan'da uygulama alanı olarak seçilmiş bulunan bölge, Dakka'ya (Dacca) 40 mil mesafedeki Comilla eyaletinin 23 köyüdür ve kolera prevalansı burada son senelerde çok yüksektir (5). Bu 23 köyün total nüfusu 24.000 dir ve bir mil kareye isabet eden insan miktarı 1500 ün üstündedir. Burada kullanılan Kolera aşısı Amerika Birleşik Devletlerinde hazırlanmıştır.

Aşının üretiminde, simli tizim de kullanılmaya başladığımız (Inaba Serotip) NIH 35 A3 ve (Ogawa Serotip) NIH 41 klâsik kolera suşlarından istifade edilmiştir. Bu suşlar, 1941 yılında Hindistan'da izole edilmişlerdir. Agar'da üretilerek hazırlanmış bulunan kültür süspansiyonları hararetle arzedilmeden, yalnız 0,5 % fenol ile muamele edilerek öldürülmüştür.

Amerika Birleşik Devletleri Milli Sağlık Enstitüsü Laboratuvarlarında koruyucu kudret bakımından yapılmış bulunan karşılaştırılmalı deneyler, bu aşının farelerde şimdikiye kadar alışılmamış bir yüksek seviyede koruyucu nitelik taşıdığını ve fakat buna karşılık fazla toksik bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu toksisitenin, aşının ihtiva ettiği jerm adedinin, normal aşılardakinin (1 cc 8 milyar), çok üstünde ve muhtemelen 3 - 6 misli oranında (1 cc/24 - 48 milyar) fazla olmasından ileri geldiği kabul edilmektedir (6).

Saha uygulamasında bu aşı ile birlikte, şahit olarak Tifo Paratifo A Paratifo B, (TAB) aşısı kullanılmıştır. Kçlera ve tifo aşıları birbirinin benzeri şişelere ayrı ayrı tevzi edilmiş ve bir grup şişeye «A» diğer bir grup şişeye de «B» işaretleri konulmuştur. Uygulama süresince bu işaretlerin neye delâlet ettiği yalnız bir izlemci tarafından bilinmiştir.

Başlangıçta her iki aşından 12 yaşından yukarı olanlara 0.5 cc., 2 - 12 yaş arandakilere 0.25 cc., iki yaşından küçük olanlara da 0.1 cc., zerkedilmişse de 0.5 cc., miktarındaki doz çok şiddetli reaksiyonlara sebep olduğundan, halk aşılardan kaçınmış, bunun üzerine zerk miktarı 0.4 cc., e indirilmiştir.

23 köy üç gruba ayrılmış, her grup bu alanda tecrübesi olan kırsalere gözlemine bırakılmıştır. Her aile haftada iki kez ziyaret edilmiş ve hastalık şüphesi gösterenler derhal seyyar hastanelere nakledilerek tedavi altına alınmışlardır. Hastalıktan şüpheli maddeler 24 saat içinde Dakka'daki laboratuvara gönderilmiştir. Diarre ile birlikte hastalık tablosu gösterebilen temas ettikleri kimselerden her iki günde bir dışkı nümunesi alınarak bakteriyolojik analizler yapılmış ve bu inceleme altı ay sürmüştür. Altı ay sonunda bu muayenelere dört günde bir devam edilmiştir. Total nüfusun 50.9 % u, yani 14,058 kişi uygulamaya tâbi tutulmuş ve bu şahıslar arasında ilk üç ayda 29, ikinci üç ayda 13, üçüncü üç ayda 1, dördüncü üç ayda da 12 kolera vakası tespit edilmiştir. A ve B aşıları arasında vaka bakımından yapılan karşılaştırma, (TAB) ile aşılanan şahit grupta ilk sene içindeki koleralı hasta sayısının 1000 kişide 6,1 Kolera aşısı uygulananlarda ise bunun 1000 kişide 1,7 olduğunu göstermiştir.

Yukarda açıkladığımız gibi, bir defada ve yaş gruplarına göre farklı dozlarda tatbik edilmiş bulunan bu aşı, uygulamadan altı ay sonra 80 % oranında etkili bulunmuştur. Bununla beraber, aşının

taşıdığı özellik dolayısıyla şiddetli reaksiyonlara sebebiyet vermiş olduğunu da hatırdan çıkarmamak lâzımdır.

Filipin'lere gelince, bu ülkede Kolera El-Tor'un endemik olarak bulunduğu sahada yaşayan 584.000 kişi üzerinde üç farklı Kolera aşısı uygulanmış ve aşağıda özetleyeceğimiz sonuçlar alınmıştır (7).

Birinci aşı Manila'da klâsik Agar üretim yerinde hazırlanmıştır. Kullanılan suşlar, V. Kolera Inaba 35 A - 3 ve Ogawa 41 dir. Kültür süspansiyonları hararette öldürülmüştür. Koruyucu ajan olarak 0,5 % oranında fenol ilâve edilmiştir. Bir santimetre köb aşıda eşit miktarlarda olmak üzere, total olarak sekiz milyar jermi bulunmaktadır.

İkinci aşı yine Manila'da, sıvı üretim yerinde, iki ayrı El-Tor suşunu kullanılarak hazırlanmıştır.

Uygulamada kullanılan üçüncü aşı ise «Drakeel 6-VR Q 126 patent isimli madeni yağı adjuvant olarak ihtiva eden ve Japonya'da H. Ogonuki tarafından geliştirilmiş olan aşıdır. Aşının istihsalında yine klâsik Ogawa ve Inaba suşları kullanılmış, özel surette hazırlanmış bir katı kültür vasatından istifade edilmiştir.

Kültür süspansiyonları 0,2 % formalin solüsyonuyla öldürülmüş ve koruyucu olarak merthiolate ilave edilmiştir. Jermi sayısı sekiz milyardır. (7).

1964 yılının Mayıs ayı ortalarında başlayan ve altı hafta devam eden aşılama kampanyasında, şahit gruba yalnız Tifo aşısı tatbik edilmiştir. Bütün aşılar bir defada ve derialtı yoluyla olmak üzere, klâsik kolera ve El-Tor aşılardan 0-4 arasındaki yaş grubuna 0,25 cc., 5-9 yaş arasındaki gruba 0,5 cc., 10 yaş ve yukardakilerine 1,0 cc., adjuvant'lı kolera aşısından ise 0-4 yaşındakilere 0,05 cc., 5-9 arasındaki yaş grubuna 0,1 cc., 10 yaş ve daha yukardakilerine ise 0,2 cc., miktarında uygulanmıştır.

Her üç aşı, birinci üç aylık dönemde, Kolera El-Tor enfeksiyonuna karşı eşit seviyede ve 50 % oranında bir koruma sağlayabilmişlerdir. Klâsik kolera aşısının tesiri üç ay devam edebilmiş ve altıncı ay sonunda tamamiyle etkisiz kalmıştır.

Altı aylık dönemi sonunda, El-Tor aşısı koruyucu etkisini ancak 26 % oranında devam ettirebildiği halde, yağ adjuvant'lı aşıda

bu nispet 66 % ya yükselmiş ve dokuzuncu ay sonunda tekrar 50 % ye düşmüştür.

Bu sonuncu kolera aşısı sağladığı bağışıklık oranı ve süresi yönünden diğer aşılara nazaran bariz bir üstünlük göstermişse de uygulandığı şahısların 96 % sında çok geç iyi olabilen ve hattâ aylarca devam eden apseleşme ve ülserasyon gibi çok ciddi komplikasyon'lara yol açtığı müşahede edilmiş ve böylece bu aşının pratikte yer alamıyacağı anlaşılmıştır.

Kullanılmakta olan aşuların yetersizliğini gözönünde bulunduran araştırmacılar, kolera vibriyonundan, antijen niteliği ve değeri yüksek ve fakat toksik etkisi düşük, polisakkarit fraksiyon'ları ayırma çabası içindedirler. Henüz bu çalışmalar lâbcratuvar deneylerine inhisar etmekle beraber bazı olumlu sonuçlar alınmış bulunmaktadır (8, 9).

Yukarda özetlemeye çalıştığımız bu üç saha uygulamasından alınan sonuçları bir kez daha topluca gözden geçirir ve değerlendirmeye yönelirsek, aşağıdaki hususların kısmen de olsa aydınlatılmış olduğunu anlamakta güçlük çekmeyiz.

1. Jerm adedinin çoğaltılması veya adjuvant ilâvesiyle kolera aşularının effikasitesini yükseltmek mümkündür. Fakat bu gibi aşular ciddi sayılabilecek komplikasyon'lara sebep olduklarından kullanılmaları sakıncalıdır.

2. Yalnız 0,5 % fenol ile muamele edilerek hazırlanmış kolera aşuları, ısıtılarak öldürülmüş aşulardan daha üstün bir koruyucu kudrete sahiptirler. Isı, vibriyon'ların antijenisiteleri üzerine olumsuz bir etki icra etmektedir.

3. Bugün için bilinen metodlara uyularak hazırlanmakta olan kolera aşuları, ancak 3-4 ay devam edebilen, 50-60 % oranında bir koruma sayabilmektedirler.

4. Çevre sağlığı şartları islâh edilmeksizin ve diğer tedbirler alınmaksızın, yalnız aşı ile koleradan korunmak mümkün değildir.

5. Dünya Sağlık Teşkilâtının Uluslararası Aşı Sertifikasında kolera aşısı için kabul edilmiş bulunan altı aylık bağışıklık süresi güvenliğin sınırının dışında kalmaktadır.

Eütün bunlara rağmen, kolera aşısı yine de vazgeçilmez bir korunma vasıtası olarak kabul edilmekte ve Dünya Sağlık Teşkilâtı

tarafından açıklandığına göre, Kolera tehdidi altında bulunan memleketlere aşı yardımından bulunulabileceği bildirilmekte, bunun gerçekleştirilmesi için de Milli Kolera Komitelerini tatbikâr bir aşılama programı hazırlanmalarının liizumuna işaret edilmektedir.

Aşının dozu sorununu da bugünkü şartlar içinde yeniden ele almak zorunluğunu duyan Dünya Sağlık Teşkilâtı ferdi aşılmalarda, şahsın immünizasyonu için (1 cc/8 milyar jerm) her defasında bir santimetre küb olmak üzere iki dozluk kolera aşısının derialtı yol ile tatbikini tavsiye etmektedir. Kolera tehdidi altında bulunan memleketlerde yapılacak toplu uygulamalarda ise, bir defalık birer santimetre küblük doz yeter görülmektedir. Yalnız, bu toplu uygulama ülkeye kolera bulaşması ihtimal dahilinde görülen tarihten 3 - 4 ay önce yapılmalıdır. Kolera bulaştıktan sonra birinci aşılama tarihi gözönünde bulundurularak, enfekte bölgeden başlamak ve çevreye doğru genişletilmek suretiyle bütün halk kütleleri yeniden aşılarmaya tabi tutulacaktır. Bununla beraber, enfekte bölgelerde, şahısların bağışıklık durumları dikkat nazarına alınmadan, herkesi iki defada, yeniden immünize etmenin en uygun hareket tarzı olabileceği de kabul edilmektedir. (1). (7 - 10 gün ara ile)

Gebelere ve altı aylıktan küçük çocuklara kolera aşısı uygulanmayacaktır. İhtiyarlara ve sağlık durumları bczuk olanlara, aşı özel bir ihtimamla tatbik edilecektir.

Çocuklara uygulanması öngörülen immünizasyon şeması şöyledir :

6 aylık - 1 yaş için	0.25 cc.
2 yaş - 12 yaş »	0.5 cc.
13 yaş ve yukarısı »	1.0 cc.

ENSTITÜMÜZDEKİ ÇALIŞMALAR :

Konuya girmeden önce, yurdumuzla ilgili tarihi bir olaya kısaca değinmeden geçemeyeceğim.

1892 yılında İstanbul ve İzmirde büyük ölçüde can kaybına sebep olan kolera salgınının memleketimiz ilmüne büyük hizmeti dokunmuş, nitekim Sultan Abdülhamit II nin arzusu üzerine incelemelerde bulunmak üzere Pasteur Enstitüsünden getirtilen Dr. Chante-

messe'nin tavsiyesiyle Sirkeci'de Demirkapıdaki Askeri Tıbbiye'nin bahçesine ilk defa bir Bakteriyolojihane kurulmuş ve başına yine Pasteur Enstitüsünden Dr. M. Nicolle tayin edilmiştir. Böylece bu salgının, getirdiği felâketler yanında, Bakteriyoloji'nin Yurdumuza oldukça erken bir tarihte girmesine sebep olmak gibi mutlu bir yanı da vardır (10).

1947 yılında, Mısır'da çıkan kolera epidemisinde, Enstitümüz gerek yurdumuzu ve gerekse komşu ülkeleri bu salgından korumak için üstün bir gayret sarfetmiş ve hazırlamış olduğu aşından 170.000 dozun Mısıra, bir okadarının Suriyeye ve 33.000 dozunda Ürdün'e yardım olarak gönderilmesini sağlamıştır (11).

Enstitümüz aşı üretimine son vermemiş, her yıl devamlı olarak mahdut ölçüde de olsa hac mevsiminde kullanılmak ve endemik bölgelere seyahat edenlere tatbik edilmek üzere bir miktar hazırlamakta devam edegelmiştir.

Eylül 1965 ayının sonlarında kolera aşısı istihşâli ile görevlendirildiğimizde, Tahran'daki kursa katılmak üzere yol hazırlığı yapmakla meşgul bulunuyorduk. 1947 yılından bu yana, kolera aşısı üretimi ile ilgili metodlardaki vâki gelişmeleri de bu vesile ile yakından izlemek fırsatı elime geçmiş bulunduğundan sevincim sossuzdu. Hareketimden önce, lâboratuvarlarımızda uygulanmakta olan üretim metodlarını inceledim ve çözülmesi gerekli bazı önemli sorunlarla karşı karşıya bulunduğumuzu anladım. Sonradan öğrendiğime göre, kolera İran'ı aşı stokları bakımından çok hazırlıksız bir durumda yakalamış ve birden büyük ölçüde aşı üretimi sorumluluğunu üzerine almış olan müesseseler, teknik bilgi yönünden birçok güçlüklerle savaşmak mecburiyetinde kalmışlardır. Yaptığım şahsi temalar çok faydalı oldu. Onların bu konulardaki sorunları bizimkilerine benziyor ve bazı hususlardaki tereddütlerin henüz giderilememiş olmasının verdiği üzüntüyü anlamak güç olmuyordu.

Bu vesile ile şu noktaya değinmeden geçemeyeceğim. Müessir bir kolera aşısının, hem de milyonlarca doz kolera aşısının kısa zamanında hazırlanması, zannedildiği gibi kolay bir iş değildir.

Yurda dönünce bu alanda tanınmış bir otorite olan, Amerika Birleşik Devletleri Milli Sağlık Enstitüsü, Biyolojik Standardlar Bölümü Lâboratuvar Şeflerinden Dr. Margaret Pittman ile derhal temasa geçmeyi faydalı bulduk ve kendisinden bilgi ve materyel hu-

susunda yardım talebettik. Kısa zamanda aldığımız çok nâzik cevabın meselelerimizin çözümünde büyük ölçüde rol oynamış olduğunu, burada belirtmeyi bir vazife sayarım (12).

Eütin bu temas ve yazışmalardan edindiğimiz bilgilere kendi tecrübelerimizi de ekleyerek Kasım/1965 ayında yaptığımız hazırlık çalışmalarından sonra, aşağıda özetlediğim modifikasyon'larla kolera aşısı üretim kampanyasına başlamış bulunuyoruz.

1. Aşıların hazırlanmasında kullanılan suşlar, Amerika Birleşik Devletlerinde de kullanılmakta olan Vib. Kolera Serotip Ogawa (NH 41), Vib. Kolera Serotip Inaba (35 A 3) klasik kolera suşlarıdır. Suşlar lâyofilize olarak saklanmakta ve bundan hazırlanan tohum kültürü 24 saat aralıklarla birbirini izleyen en çok dört pasaja kadar kullanılmaktadır. Her hafta yeni bir tüp açılarak tohum kültürü tazelenmektedir. Aşı sekiz milyardır.

2. Aşı yine eskisi gibi klâsik Agar vasatında hazırlanmakla beraber, kültür süspansiyon'larının ısı ile öldürülmesine son verilmiştir. Artık bu maksat için yalnız 0,5 % fenol kullanılmaktadır. Diğer bir deyimle, hazırlamakta olduğumuz kolera aşısı 0,5 % fenol ile öldürülmüş ve prezerve edilmiş aşıdır.

3. Kolera vibrion'larının serum fizyolojikteki süspansiyon'ları süratle lize olmaktadır. Nitekim, kısa bir süre de olsa bekletilmiş stok ana süspansiyon'lardan yapılan jerm sayımları çok yalın sonuçlar vermekte ve aşının son sulandırmalarını yapmak mümkün olamamaktadır. Agar'dan tuzlu su ile toplanmış canlı kültür süspansiyonları hiç bir muameleye tâbi tutulmadan, en geç iki saat içinde icra edilen sayımla bu mahzur ortadan kaldırılmış ve bir santimetre kübde ortalama 150 - 190 milyar arasında değişen jerm elde edilebildiği anlaşılmıştır. Bu şartlar altında yapılan sayımda Uluslararası 10 opasite ünitesi, kolerada dört milyar jerme tekabül etmektedir.

Isıtılmış aşılarla, formüllü aşılarla pişme dolayısıyla vibrion'larda parsiyel bir koagülasyon meydana geldiğinden, otoliz keyfiyeti burada biraz daha geç olmaktadır (24 saat).

4. Vib. Kolera Biotip El - Tor'un antijenik struktur bakımından Ogawa ve Inaba olmak üzere iki farklı serotipi vardır.

Hernekadar, klâsik kolera suşlarının eşit miktardaki karışımından hazırlanmış kolera aşuları El - Tor enfeksiyonlarına da aynı şekilde etkili ise de, son zamanlarda Vb. Kolera Biotip El - Tor suşlarının aşılara ilâvesi hususunda bir eğilim başgöstermiş bulunmaktadır. İran'daki epideminin etkeni antijen yapımı bakımından Vib. Kolera Biotip El -Tor Ogawadır. Memleketimize bulaşması muhtemel görülen koleranın hangi serolojik tipten ileri geleceğini önceden kestirmek mümkün olamayacağına göre, söz konusu suşun aşıya ilâvesiyle İnaba antijeni aleyhine denge bozulacağından El - Tor katalmasından vazgeçilmiştir.

Kolera aşuları konusunda henüz kontrol altına alınmamış bir çok biyolojik ve teknik faktörler acı bir gerçek olarak ortada durmaktadır. Bu alandaki gelişmeleri yakından izlemek ilgililerin kaçınılmaz bir görevi olmalıdır.

Teşekkür :

Kolera aşısı üretim lâboratuvarlarında büyük bir feragat ile çalışmakta olan, Dr. Bakt. Emin Yücel, Vet. Bakt. Nail Uçar, Dr. Bakt. Kemal Batum, Vet. Bakt. Ramazan Şentürk, Baş lâborant İbrahim Korur, Ali Beyoğlu, Mehmet Kabasakal ve diğer arkadaşlara teşekkürü bir borç bilirim.

L I T E R A T Ü R

- 1 — Gangarosa, E. J., et al. WHO study in Iran., WHO/Cholera Information/5. 65.
- 2 — Jacalne, A. V., Reyes, W. L., Caoll, F. A., Vibrios isolated in Bulacan, Philippines, A Preliminary Report., WHO/Cholera Information/4. 65.
- 3 — WHO/Cholera Information/4. 65.
- 4 — Kurs notları, Tahran, 2-11/Ekim/1965.
- 5 — Oseasohn, R. O., Benenson, A. S., 1965, Field Trial of Cholera Vaccine in Rural East Pakistan, Lancet, 1, 450.
- 6 — Feeley, J. C., Pittman, M., 1965, Laboratory Assays of Cholera Vaccine, used in Field Trial in East Pakistan., Lancet, 1, 449.

- 7 — Phillippines Cholera Committee., 1965, A Controlled Field Trial of the Effectiveness of Cholera and Cholera El - Tor Vaccines in the Phillipines., Bull. Wld. Hlth. Org., 32, 603.
- 8 — Watanabe, Y., Verwey, W. F., 1965, Protective Antigens from El - Tor Vibrios., Bull. Wld. Hlth. Org., 32, 809.
- 9 — Watanabe, Y., Verwey, W. F., Macdonald, E. M., 1965, Protective Antigens from El - Tor Vibrios., Bul. Wld. Hlth. Org., 32, 823.
- 10 — Şehsüvaroğlu, B. N., 1954, Tarihi Kolera Salgınları ve Osmanlı Türkleri, İstanbul Tıp. Fak. Mec., 17, 282.
- 11 — Erzin, N., Balkan, O., 1948, Mısır Kolera Epidemisi ve Yurdumuzda buna karşı Alınan Tedbirler., Türk. İj. Tec. Biyol. Derg., 8, 37.
- 12 — Pittman, M., Personnel Communications.

TÜRK HİJİYEN ve TECRÜBİ BİYOLOJİ DERGİSİ

Vol : 25 (1965)

YAZAR İNDEKSİ

(AUTHOR INDEX)

AÇAN, H.	5, 12
AKMAN, M.	25, 33
ALKIŞ, N.	9, 24, 36, 40
ARI, A.	105, 153, 164
ATAY, A.	53, 59
BERKİN, Ş. T.	113, 121
ERKOÇAK, Y.	167, 176
GÜRÇAY, A. A.	96, 104
İZGÜ, E.	41, 48
MERDİVENCİ, A.	60, 68
MİZAN, N.	87, 95
ONAN, V.	69, 77
ÖZLÜARDA, D.	5, 12
ÖZLÜARDA, E.	129, 145
ÖZSAN, M.	195, 204
SARP, N.	5, 12
SEZEN, Y.	60, 68
TULGA, T.	206
TÜRKVAN, M.	80, 85
YALÇINDAĞ, N. O.	53, 59

TÜRK HİJYEN ve TEORÜBİ BİYOLOJİ DERGİSİ

Vol : 25 (1965)

KONU İNDEKSİ

AGGLÜTİNİN, (0) Kan Grubunda Titraji ve Klinik Değeri	87
ANTİSTAFİLOLİZİN (ASTA), Kolorimetrik Titrasyonu	195
BCG, Kampanyası Çalışmaları, Türkiye,	5
ÇİÇEK AŞISI, Kuru, İstihsalı ve Yaş Aşı ile Mukayeseli Olarak Yapılan Uygulamadan Alınan Sonuçlar	129
DİJİTAL GLİKOZİT'lerinin İnotrop Tesiri	167
HİPERLİPEMİ, Heparin Vasıtasıyla Tâyini	80
HİPOKROMİ, Muş Pilot Bölgesinde Yapılan Bir Araştırma	98
İYODOFORMLU, Gazın Stabilitesi Üzerinde Araştırmalar	53
KCLERA, Bakteriyolojisi ve Aşları	206
KUDUZ AŞISI, Semple Usulü, Türkiye'de Son Beş Yıllık (1960 - 1964) Tatbikat Sonuçları	153
PEPSİN, Kıymet Tâyini	41
REFİK SAYDAM M. H. Enstitüsünün 1965 Yılı Çalışmaları	113
SALMONELLA Para B Epidemisi, Antakya	36
SHİGELLOSIS Epidemisi, Burdur,	19
SHIGELLA TIPLERİ, Ankara'da İzole Edilen 332 Suşun Anâlizi	25
TÜBERKÜLOZ, Kemik Tüberkülozu Bakteriyolojisinde Özellikler	69
TOXOCARA CANİS, İnfeksiyonuna Karşı Kaptumbağaların Direnci	60
VİROLOJİ, Seksiyon Şefleri Konferansı	113

TÜRK HİJİYEN ve TECRÜBİ BİYOLOJİ DERGİSİ

Vol : 25 (1965)

SUBJECT INDEX

AGGLUTININ, Iso, Titer of (0) Blood Groups	95
ANTISTAPHYLOLYSIN, Colorimetric Method for The Titration	204
BCG., Campaign in Turkey	12
DIGITALISGLYKOSIDE, Über Die Inotrope Wirkung	176
HYPERLIPAEMIA, The Heparin Test for the Diagnosis ...	85
HYPOCHROMIA, A Study on Hypochromia Amongst the Young Women in Muş Pilot District	104
IODIFORM GAUZE, Investigations on the Stability	59
PEPSIN, The Assay of	48
RABIES VACCINATION, Results of Rabies Vaccination by Semple Method in Turkey During Last Five Years (1960-1964)	164
SALMONELLA Paratyphi B in Antakya	40
SHIGELLA, Epidemie in Burdur	24
SHIGELLA, Types Found in Ankara. An Analysis of 332 Strains Isolated	33
SMALLPOX VACCINE, Dried, Production in Turkey and Results Obtained from the Laboratory and Vaccination Studies with Dried and Glycerinated Smallpox Vaccines	145
TOXOCARA CANIS, Immunity of Tortoises against T. Canis Infection	68
TUBERCULOSIS, Peculiarities for the Bacteriology of Bone and Joint Tuberculosis	77
YEARLY ACTIVITIES of the Refik Saydam Central Institute of Hygiene in 1965	113