

İ. Ç.  
Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı  
Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha  
Enstitüsü

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

Cilt : XXII — Sayı 2 — 3  
(1962)

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

•  
REVUE TURQUE D'HYGIÈNE ET DE BIOLOGIE EXPÉRIMENTALE

•  
TÜRKISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

(TURK. HYG. — EXP. BIOL)

Vol : XXII — No. 2 — 3

Ankara, 1962

ISSUED BY  
PUBLIÉ PAR  
HERAUSGEGEBEN VOM

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSIHHA ENSTİTÜSÜ (ANKARA)  
TARAFINDAN NEŞREDİLMİŞTİR.

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 — Prof. Dr. Zühdi Berke emekliye ayrıldı ..... (Prof. Dr. Zühdi Berke retired)	103
2 — Melâhat ONUL Spesifik Rickettsia Antijeni İmâli, Dialize antijenin değeri ..... Die Herstellung des spezifischen Rickettsien — Antigens und die Auswertung des dialysierten Antigens .....	111 117
3 — Bahriye ÖZSÖZ Tetracycline'lerin kâğıt kromatografisi ile idantifikasyonunda laboratuvarımızda bulunan yeni bir deteksiyon miyarı ..... Antimony trichloride as a colour reagent in the paper chromatography of tetracyclines .....	118 123
4 — Dr. Mesude AKTAN Yüksek fevrlî hastaların hemokültürlerinde üreyen L — formu kolonileri. .... Die in dem Blutkulturen der fiebrhaften Patienten gezüchteten L — Phasen Kolonien .....	126 131
5 — Dr. Şükrü KAYMAKÇALAN — Dr. Sevinç ATABAŞ Muhtelif maddelerin kurbağada sperm itrahına tesiri ..... The effects of several drugs on the sperm excretion in frog .....	135 142
6 — Necmettin ALKIŞ — İrfan TUNA Muhtelif bakterilerin antibiotiklere hassasiyetleri ve bu hususta kullanılan test- lerin mukayesesi ..... Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber Antibiotika nach verschiedene Methoden .....	144 155
7 — Dr. Etem UTKU Corticosteroide'ler ve infeksiyon hastalıkları ..... Corticosteroides et Maladies Infectieuses .....	157 185
8 — Necmettin ALKIŞ Ankarada izole etmiş olduğumuz Micrococcus pyogenes var. Aureusların lysoptipleri, antibiyotiklere hassasiyetleri, ekzotoksinleri ve afiniteleri üzerinde bir araştırma ..... Zur Differenzierung von Staphylokokken .....	192 199
9 — Turgut TULGA Clostridium perfringens Alpha toksin prodüksüyonu ..... Production of Clostridium perfringens Alpha toxin .....	201 204
10 — Dr. Elhan ÖZLÜARDA Ççek ezisi istihsalinde kullanılan yeni metod ve aşî tatbikatında dikket edilmesi gerekon hususlar ..... The latest method of smallpox vaccine production in Turkey .....	206 216
11 — Dr. Nermin EGE Helâ hücreleri kültürlerinde insan barsak viruslarının husula getirdikleri göza yozlatgan etki ..... Cytopathogenic effect induced by human enteric viruses in the He — La cell culture .....	219 221
12 — Dr. Melâhat ONUL Boğaz florasının antibiotiklerle ilgili değışiklikler .....	227





### **PROFESÖR Dr. ZÜHDİ BERKE**

Uzun yıllar bu memlekete bilgisi, tecrübesi, değerli bilimsel araştırma ve yayınlarıyla hizmet etmiş ve en verimli zamanlarını Enstitümüzde çok faydalı ve kıymetli çalışmalarla geçirmiş bulunan Viroloji Şubemizin kurucusu ve Müdürü sayın Prof. Dr. Zühdî Berke yaş haddi dolayısıyla 13.Temmuz.1962 tarihinde emekliye ayrılmıştır.

Yerinin doldurulması güç olan Zühdî hocamıza bundan sonraki hayatı için de Enstitü mensupları adına uzun ömürler, sıhhat ve neşe ile dolu günler dilerim.

**Dr. Tahsin Ş. BERKİN**

Enstitü Müdürü

## PROF. DR. ZÜHDİ BERKE VE BİLİMSEL ÇALIŞMALARI

Prof. Dr. Mehmed Zühdî Berke Aydın'da 1897 yılında doğmuştur. Garib-oğullarından müderris Mehmed Alinin oğludur. İlk ve orta tahsilini Aydın ve İzmirde yapmış ve İzmir Lisesini pek iyi derece ile bitirdikten sonra, Yüksek Askerî Veteriner Okuluna girmiştir, Daha öğrenci iken Askerî Bakteriyo-loji— Hane'i Baytari de görevlendirilmiş ve hocası Prof. Osman Nuri'nin Ru-am (Malleus) üzerindeki çalışmalarına iştirâk etmiştir. 1918 yılında tahsilini pek iyi derece ile bitirerek veteriner Hekim diplomasını almış bulunan Züh-di Berke, 10/1/1918 de Bakteriyo-loji asistanlığına atanmış ve aynı yıl içinde Bakteriyo-loji ve Hijiyen ihtisası için Almanya'ya gönderilmiştir. Berlin Ve-teriner Fakültesi Hijiyen Enstitüsünde, Prof. Dr. Frosh, Prof. Dr. Bongert, Prof. Dr. Knuth gibi otoritelerin yanlarında çalışmış ve bu arada Prof. Dr. Flügge'nin bakteriyo-loji ders ve kurslarına devam ederek ihtisasını tamamlamış ve 1919 yılında Dr. Veteriner unvanını kazanmıştır. Bir yıl daha Almanya'da ka-larak, hocalarına özellikle eğitim ve araştırma alanlarında yardım eden Z, Berke, yurda döndükten sonra eski görevinde uzman asistan olarak çalışmaya devam etmiş ve 1921 yılı sonunda da "Anaerobe mikropların üretilmesi ve yeni bir cihaz" adlı tezi kabul edilerek başarılı bir sınavdan sonra müderris Muavini (Doçent) olmuştur, Ertesi yıl Yüksek Askerî ve sivil veteriner okulla-rının birleştirilerek Tarım Bakanlığınca devredilmesi üzerine bu okulun Bak-teriyo-loji, seroloji ve intani hastalıklar müderris muavinitliğine seçilmiştir. Görevine devam etmekle beraber, aynı tarihlerde İstanbul Tıp Fakültesine öğrenci olarak devam etmiş ve 1925 yılında diploma sınavını, 1926 yılında da stajını tamamlayarak tabib diplomasını almıştır (348/3817). 1927 yılı sonun-da, muhtelif Enstitülerde bilimsel araştırmalar yapmak üzere tekrar Almanya-ya gönderilmiştir. Bu defa önce "Reichgesundheitsamt" sonra Robert Koch İntan Hastalıkları Enstitüsünde, özellikle Prof. Dr. Otto yanında muay-yen konular için de (Çiçek) Prof. Gins, Prof. Dr. Boecker laboratuvarlarında, Postdam teşhis müessesesinde çalışmıştır.

Zühdi Berke, Almanya'da bulunduğu 32 ayı aşan bir süre içinde belirli konular üzerinde araştırmalar yapmış ve bu arada birinci sınıf mesleki dergilerde yedi orjinal çalışma yayınlamıştır. Bu çalışmalardan ikisi ayrıca bilimsel toplantılarda tebliğ edilmiştir. 1930 yılında Paris'te toplanmış bulunan Birinci Uluslararası Mikrobiyoloji Kongresine iştirak ettikten sonra yurda dönmüş ve Yüksek Veteriner Okulundaki Müderris Muavinliği görevine devam etmekle beraber, İstanbul Belediyesi Gıda Kontrol Laboratuvarı Şefliğine de atanmıştır.

Robert Koch Enstitüsü Teşhis Laboratuvarında edindiği bilgi ve tecrübelerin ışığı altında Türkiyede ilk defa insan ve ineklerde Bang enfeksiyonu bulunduğunu allerjik, serolojik testlerle ve Bakteriyolojik bulgularla meydana çıkarmıştır. Bu çalışmalar Wiener Med. Wochenschrift'de yayınlanmıştır. (1931—1932).

1933 yılında Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü adı altında kurulmakta olan dört fakültenin Rektör ve organizatörü Prof. Dr. Falke'ye Veteriner Fakültesine bağlı Hijyen Enstitüsünün kurulmasında yardımcı olmuş ve bundan sonra hayatını yalnız beşerî tababet alanında çalışmaya hasretmiştir. İstanbul Tıp Fakültesinden "Birinci Sınıf Bakteriyoloji ve İntani Hastalıklar Mütahassısı (1250/2939)" unvanını aldıktan sonra, 1933 yılında, lağvedilen İstanbul Dârülfünunu yerine, İstanbul Üniversitesi kurulurken, jüri tarafından Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Salgınlar Bilgisi Enstitüsü Doçenliğine seçilmesi, üzerine Tarım Bakanlığından ayrılarak İstanbul Üniversitesinde görev almıştır. O zamanlar, mevcut olmayan bu Enstitünün kurulmasında Prof. Dr. Hugo Braun'a değerli bir yardımcı olmuş ve Enstitü kuruluncaya kadar ders ve tatbikat malzemesini görevli bulunduğu Belediye Laboratuvarında hazırlamış ve bu arada Ruamda (Malleus) Allerji Tetkikatı adlı önemli çalışmasını hazırlanmıştır. 1935 yazı sonunda Afganistan Hükümeti, Prof. Dr. H. Reşat Sığındım'ın avsiyesi üzerine Kâbil Tıp Fakültesi Bakteriyoloji Profesörlüğüne istenmiştir. Bakanlar Kurulu Kararıyla Milli Eğitim Bakanlığı tarafından üç yıl için Kâbil'e gönderilmiştir. Zühdi Berke'nin çalışma süresi Afganistan hükümetinin işeği ve Milli Eğitim Bakanlığının muvafakâtıyla dört defa uzatılmıştır. O tahte (1935) iki yıl önce kurulmuş olan Kâbil Üniversitesi Tıp Fakültesinde akteriyoloji, enfeksiyöz hastalıklar ve Hijyen derslerini üzerine alarak, sarırlı bir çalışmadan Fakültenin eğitim imkânlarını geliştirmiştir. Afganistanda örülmesi mutad olan Çiçek salgınlarının önüne geçmek amacıyla derhal bir çek aşısı laboratuvarı kurmuş, aşı yönetmeliği hazırlamış, aralıksız devam

eden kurslarda yetiştirdiği aşı memurları vasıtasıyla memleket çapında aşı tatbikatına girilmiştir. Başarılı bir savaştan sonra, çiçek salgınları Afganistanda artık görülmez olmuştur. Z. Berke'nin şahsi gayreti ve Afgan Hükümetinin yardımıyla, Kâbilde, Bakterioloji —Seroloji, Çiçek, Kuduz, Kolera ve Tifo (T. A. B.) aşı laboratuvarlarından ibaret bir Bakterioloji ve Hıfzıssıha Enstitüsü kurulmuş, mutaassıb halka aşının faydaları öğretilmiş, taassub yıkılmış, halkta modern Tababete inanç ve güven uyanmıştır. Halk Sağlığı ve Koruyucu Hekimlik bakımından yapılmış olan bu hizmetler sayesinde memleket nüfusunun his edilir derecede arttığı Afgan Hükümeti tarafından, Türkiye Cumhuriyeti Hükümetine yazı ile bildirilmiştir. Nâtekim, 1938 yılında Afganistan'a girmiş olan Kolera Salgını Enstitünün hazırladığı aşı ile söndürülmüş, ondan sonra sınırlarda alınan ciddi tedbirler ve aşılama sayesinde Afganistanda kolera görülmemiştir. Zühdi Berke ayrıca Kâbil Tıp Fakültesi dekanlığını yapmış ve son senelerde de Kâbildeki, sağlık kurullarını, Tıp Fakültesi hastanelerini içine alan Bakanlık seviyesine yakın ve Başbakanlığa bağlı olan "Müstakil Sıhhiye Reisliğinde" Reis olarak çalışmıştır. Z. Berkeye Afganistanda Maarif ve Halk Sağlığı bakımından yaptığı hizmetler için, Maarif Veziri tarafından takdirname verilmiş, Kral tarafından da Birinci derece altın maarif nişanıyla taltif edilmiştir. Bundan başka, Maarif veziri, T. C. Milli Eğitim Bakanına, ve Sadrı Azam (Başbakan) da, T. C. Başbakanına yazdıkları resmî yazılarda, Z. Berke'nin Afganistan tarihinde unutulmayacak hizmetlerini zikrederek T. C. Hükümetine teşekkürlerini arz etmişlerdir.

Z. Berke, 1947 yılında Türkiyeye dönmüş, Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığının, Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsünde çalışmak için vâki davetini kabul ederek Milli Eğitim Bakanlığından naklen Mayıs 1949 da bu Enstitüde Aşı ve Serum Şubesi Müdürü olarak çalışmaya başlamıştır. Z. Berke Enstitüde, özellikle viruslar üzerinde araştırma yapmak için bir virus araştırma servisi kurmayı ve Enflüenza üzerinde çalışmayı ön plâna almıştır. Bu sırada, Türkiyede büyük telefât vererek seyretmekte olan bir tavuk hastalığının etkenini, S. Bilâl Golem'le birlikte çalışarak embriyonlu yumurtada izole etmiş ve bu virusun, Newcastle hastalığı virusu olduğunu tespit etmiştir. Böylece Memleketimizde ilk defa izole edilmiş bu virusa karşı yine ilk defa Comarov tipi atenüe kuru aşı hazırlanmış ve bu aşı tatbikatta çok başarılı sonuçlar vermiştir.

1950 — 1951 Enflüenza salgınında bu serviste izole edilmiş virusun, serolojik olarak tipi tayin edilmiş, Londradaki Dünya Grip Merkezinde teyid edilmiş olmasından sonra, Dünya Sağlık Merkezi tarafından bu laboratuvar, Bakanlığın muvafakatı ile Dünya Grip Merkezine bağlı, Türkiye Grip Merkezi olarak kabul edilmiş ve Z. Berke Türkiye Viroloji eksperî tayin edil



... virus araştırma, doku kültürleri laboratu-  
varlarıyla birlikte Enflüenza merkezini içine alan viroloji Şubesi kurulmuş  
ve kendisi bu şubenin ilk müdürü olmuş, emekliye ayrılıncaya kadar bu gö-  
revi büyük bir başarı ile ifa etmiştir.

Z. Berke 1956 yılında Berlin Mikroyobiyoloji Cemiyetine ittifakla muha-  
bir üye seçilmiştir. Kendisi aynı zamanda Alman Tropikal Hastalıklar Ce-  
miyeti fahri üyesidir.

Türkiye— Suriye hükümetleri arasında Bilharziasis konusu üzerinde Su-  
riyede müzakereye (Dr. Tahsin Berkin ile), Dünya Sağlık Teşkilâtı idaresinde  
Türkiye, İran, Irak ve Suriye hükümetlerinin iştirâkiyle Tahran da toplanan  
Veba Konferansına (1954) raportör ve Türkiye delegesi olarak katılmış, Tür-  
kiyede ve memleket dışında, Almanya, Fransa, İspanya, İsviçre ve Hindistan-  
da kongrelere iştirâk etmiş ve tebliğlerde bulunmuştur. Yayınlarındaki bazı  
buluş ve metodlar Almanca ve Fransızca eserlerde yer almış bulunmaktadır.

## Y A Y I N L A R I

1919

M. Zühdi, Über Bombageerreger Luftdicht Verschlussener Konservbüchsen.  
(Dissertation).

1921

M. Zühdi, Mezbahalar — Teşthaneler ve faydaları.

1922

M. Zühdi, Ein Apparat Zur Züchtung Der Anaerobier, 1922, Berliner Tieraerzt. Woch-  
enschrift, 51.

M. Zühdi, Kuduzla mücadele, sahipli köpekleri aşılama, sahipsizleri ortadan kaldırmakla  
mümkündür, 1922, Milliyet.

M. Zühdi, Kobay Yetiştirme.

1926

Rıza İsmail, M. Zühdi, Tavuk Kolerasına karşı sorum, 1926, Rev. Vet. Constp. 2, 9.

1928

Helm, R., M. Zühdi, Die Feststellung der Traechtigkeit Mittels der Alkohol Extrakte-  
aktion Nach Lüttge Und V. Mertz Und Der Hormonmethode Nach Dahmen—  
Wellersheim, 1928, Arch. f. Wiss. und Prakt. Tierheilk. 58, 5.

1930

M. Zühdi, Über Einige Neuere Liquorreaktionen, 1930, Zschr. f. Hyg. und Inf. Krankh.  
111, 4, 491—502.

M. Zühdi, Über die Hitzeempfindlichkeit von Komplementbindungs —und Flockungsre-  
aktion bei syphilitischen Seren, 1930, Zschr. f. Immun—Forschung, 68, 5/6,  
450—458.

M. Zühdi, Über die Hitzeempfindlichkeit von Komplexbildungs- und Fixierungsreaktionen bei syphilitischen Liquoren, 1930, Zshr. f. Immun—Forschung, 68, 5/6, 459—465.

M. Zühdi, Erfahrungen mit der Terpentın—Trübungsreaktion, 1930, Med. Klinik, 49.

1931

Blumenthal, G., Zühdi, M., Weitere experimentelle Untersuchungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion, 1931, Zbl. f. Bakt. I. Orig. 12), 85—97. (Üyesi bulunduğu Berlin Mikrobiyoloji Derneğinde 16/2/1931 günü tebliğ edilmiştir.)

Blumenthal, G., Zühdi, M., Weitere experimentelle Untersuchungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion. 1931, Zbl. f. Bakt. Ref., 101, 425—426.

1933

Rıza İsmail, Zühdi, M., Die Rinderpest in der Türkei, Bekämpfungsmethoden und Neue Versuche, 1933, Arch. f. Wiss. und Prakt. Tierheilk. 66, Heft 1.

1935

Baller, K., Berke Z., Allergiestudien bei Malleus, 1935, Zsch. f. Infek. Parasitkr. und Hyg. Haustiere, 48, Heft 3.

1936

Berke, Z., Çiçek, 1936, Mecellai Sıhhiye (Farsça)

1946

Berke, Z., İncoculation experiments against typhus in Afghanistan, 1946, Brit Med. J., 4485, 944—945.

Berke, Z., Public Health in Afghanistan, 1946, Afghanistan, 3 (İngilizce, Fransızca, Farsca).

1949

Berke, Z., Golem, S. B. Türkiyede Newcastle Hastalığı (La Maladie de Newcastle en Turquie) 1949, Türk İj. ve Tecr. Biol. Derg., 9, 132—149.

1950

Berke, Z., Golem, S. B., Türkiyede Newcastle Hastalığı münasebeti ile viruslar üzerinde araştırmalar (A L'occasion de la Maladie de Newcastle en Turque Résultats des Recherches sur quelques virus) Türk İj. ve Tecr. Biol. Derg. 10, 34—68.

Berkin, T., Berke, Z., Bilharzia hastalığı hakkında (A Study on Bilharziasis) 1950, Türk İj. ve Tecr. Biol. Derg. 10, 145—167.

Berke, Z., Golem, S. B., Newcastle hastalığında muafiyet Tecrübeleri (Immunitäetsversuche über die Newcastle—Seuche) 1950, Türk İj. ve Tecr. Biol. Derg., 10, 173—197.

Berke, Z., Çilesiz, A., Kuduz virusuna Aureomycin'in tesiri hakkında denemeler (Essais sur l'effet de l'aureomycin dans le virus de la Rage) 1950, Mikrobiyoloji Derg., 4, 89—92.

Berke, Z., Çilesiz, A., Bazı antibiyotiklerin kuduz virusu üzerine tesiri hakkında denemeler (Versuche über die Wirkung manchar Antibiotica auf Tollwut Virus fixe), Türk İj. Tecr. Biol. Derg., 10, 373—393.

1951

Berke, Z., Bejel Hastalığı "Irak çölünde andemik çocuk Frangisi" (Die Becel Krankheit) Türk İj. Tecr. Biyol. Derg. 10, 248—255.

Berke, Z., 1950—1951, Influenza epidemiyolojisi münasebetiyle İnfluenza salgınlarına ve virusu üzerine umumi bir bakış (Allgemeiner Überblick über Grippeepidemien und Deren Erreger Anlaesslich Des Letzten Ausbruches von 1950—1951) 1951, Türk İj. Tecr. Biyol. Derg. 11, 117—163.

Berke, Z., Bazı antibiyotikler ve şemoterapötik maddelerin, bilhassa Quinina'in ve Nitromin'in İnflüenza virus tiplerine tesiri hakkında laboratuvar deneyleri (Sensitivity of different types of influenza virus to some antibiotics and chemotherapeutics especially quinine and Nitromine) 1953, Türk İj. Tetr. Biyol. Derg. 13, 134—164.

Berke, Z., Aureomycin, Terramycin hydrochloride ve Nitromin hydrochloride'in kuduz virus soyları üzerinde tesirleri (Experiments on the effect of Terramycin, Aureomycin and Nitromin hydrochloride strains of fixed Rabies virus) 1953, Türk İj. Tetr. Biyol. Derg., 13, 240—270.

1954

Berke, Z., Tahran Veba konferansı, Türkiyede veba epidemiyolojisi, Suriye, Irak ve İran veba epidemileri ve konferansının tavsiyeleri. (Plague conference in Taheran, Epidemiology of plague in Turkey, plague epidemics of Syria, Irak and Iran) 1954, Türk İj. Tetr. Biyol. Derg., 14, 65—116.

1955

Berke, Z., Turkey, N., Hiperimmün antirebik serum üzerinde eksperimental araştırmalar. (Experimental Studies on the effect of hyperimmune antirabies serum), 1955, Türk İj. Tetr. Biyol. Derg., 15, 307—321.

1956

Berke, Z., Pockenbekämpfung in Afghanistan, 1956, Zbl. Bakter. I. Orig., 165, 301—304.

1957

Berke, Z., Özlüarda, E., Epidemik İnflüenza aşılarına umumi bir bakış ve İnflüenza virusu ile muafiyet tecrübeleri. (A General outlook to the Epidemical İnflüenza and Immunization Experiments with the İnflüenza Virus), 1957, Türk İj. Tetr. Biyol. Derg., 17, 118—144.

Berke, Z., Turkey, N., Kuduz'da seroprofilâksi problemi (The Problem of seroprophylexys in Rabies), 1957, Türk İj. Tetr. Biyol. Derg., 15, 179—191. "Bu yazı Uluslar arası Mikrobiyoloji Cemiyetinin Avrupa seksiyonu tarafından İstanbul'da tertiplenen symposium da tebliğ edilmiştir".

1958

Berke, Z., Arı, A., Özlüarda, E., Teneffüs sistemi virus hastalıkları, bu konudaki yenilikler ve araştırmalarımız (Summary of the Report on acute Respiratory Diseases due to viruses), 1958, Türk İj. Tetr. Biyol. Derg., 18, 182—222. (Sekizinci Türk Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.)

1959

Berke, Z., The Asian İnflüenza Pandemic in Turkey, 1957—1958. Bull. Wild. Hlth. Org., 20, 494—498.

1960

Özlüarda, E., Berke, Z., 1959—1960 kış ve ilkbaharında memleketimizde İnflüenza enfeksiyonu durumu (Inflüenza in Turkey in 1959—1960 winter), 1960 Türk İj. Tetr. Biyol. Derg. 20 271—275.

Berke, Z., Arı A., Türkiyenin Akdeniz ve doğu Karadeniz bölgesinde 0-9 yaşları arasında olan çocuklarda poliyomiyelitis antikor seviyesi. (Poliomyelitis neutralizing

1961

- Berke, Z., İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Salgınlar Bilgisi Enstitüsü sabık Müdürü, pek muhterem eski şefim Prof. Dr. Med. Hugo Braun'ın 80. nci Yıldönümü münasebetiyle. (Zum 80. Geburtstage von Herrn Professor Dr. Med. Hugo Braun, Meinen Hochverehrten Ehemaligen Chef Im Institut Für Mikrobiologie und Seuchenlehre Der Medizinischen Fakultät Der Universität İstanbul 1961. Türk İj Tecr. Biyol. Derg., 21, 3—12.

## SPEŞİFİK RİCKETTSİA ANTİJENİ İMÂLİ, DİALİZE ANTİJENİN DEĞERİ [\*]

Doç. Dr. MELÂHAT ÖNUL

Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Kliniği Doçenti

Rickettsia İnfeksiyonlarının ayırımında, bütün araştırma ve teşhis laboratuvarlarında kullanılan en emin ve kıymetli metotlardan biri Kompleman Birleşmesi reaksiyonudur. Tavuk embrionu kültürleri ve bitlerle yapılan xenodiagnoz erken ve kat'i teşhis bakımından usullerin başında gelmekle beraber, özel laboratuvarlara ihtiyaç göstermesi, tekniğinin güçlüğü, çalışanlar için infeksiyon rizikoları bakımından pratik bir teşhis vasıtası olarak kullanılamamaktadır. Serodiagnostik, retrospektif teşhisi mümkün kılması ve tekniğinin daha kolay olması bakımından üstünlüğü kabul edilen bir metottur. Fakat spesifik bir karakter taşıması uzun ve süreli olması dolayısıyla diğer antikorlardan daha kıymetlidir. Rickettsia infeksiyonlarının teşhisinde, eskiden beri kullanılan müşterek antijen esasına dayanan ve non-spesifik bir aglutinasyon olan Weil-Felix reaksiyonu bugünkü gelişmeler karşısında bilimsel araştırma değerini kaybetmiş ancak teknik vasıtalarından mahrum bulunan laboratuvar ve kliniklerde müracaat edilebilecek bir yardımcı test ve teşhis vasıtası halinde kalmıştır.

Rickettsiozların serolojik teşhis metotlarının araştırılması İkinci Dünya Savaşı yıllarına tesadüf eder. K.B.R. için bir antijen imâli yine bu esnada tifus aşısı çalışmaları sırasında düşünülmüştür. İlk araştırmalara 1940 senesinde Cox ve Bell tarafından (1) rickettsia aşısı hazırlanması ile birlikte başlanmıştır.

Antijen imâli için rickettsia ile infekte yumurta embrionları sarı zarları toplanıp, bakteriyel sterilitesi kontrol edildikten sonra eşit miktarda salen solusyonu ile karıştırılır, cam boncuklu şişelerde 25 saat süre ile çalkalanır, emulsion üzerine tekrar salen solusyonu ilâvesi ile dilusyon 1/5 oranına getirilir, 3500 r.p.m. de bir saat süre ile santrifüje edilir. Ayrıca salen solusyonu içerisine % 1,5 oranında fenol ilâvesi sarı zar lipoitlerini kolaylıkla eritir,

[\*] Bu çalışma Harvard School of Public Health Departement of Microbiology de yapılmıştır.

tüpün içinde 3 tabaka meydana gelir. Dipte toplanan sedimantasyon çökeltileri ve bol miktarda rickettsia ihtiva eder. Sarı renkteki orta kısım rickettsiasızdır. Üst tabakada ise embriyon kültürünün yağlı maddeleri toplanmıştır. Üstteki bu iki tabaka atılarak elde edilen sediment üç volüm salen solusyon ile karıştırılır, dönme hızı azaltılarak (1000 r.p.m. de) 10 dakika müddetle tekrar santrifüje edilir, dibe çöken kaba parçalar ayrılır, rickettsiadan zengin süpernatant alınır, sediment santrifugasyon metodu ile tekrar yıkılarak rickettsiler ayrılır. Elde edilen salen solusyon içindeki fenol konsantrasyonu 0,5 % olacak şekilde ayarlanır. Bu suretle istihsâl edilen Cox aşısı aynı zamanda K.B.R. da da solubl antijen olarak kullanılmış ve bundan memnuniyet verici sonuçlar alınmıştır (2). Bu usulle antijen imâlinde esas infekte sarı zarları salen solusyonu ile defalarca yıkamak suretiyle içerisinde 0,5 % fenol bulunan bir rickettsia emulsiyonu elde etmekten ibarettir.

Daha sonraları rickettsialarla infekte tavuk embriyonu lipoitlerini eter içerisinde eritme fikri ortaya atılmıştır (3). Muhtelif rickettsia'lann aynı muameleler sonucunda husule getirdikleri antijen değerleri değişik olduğu için kıymeti yükseltmek üzere bazı özel tekniklerin kullanılması zarureti doğdu. Bu yönden araştırmalar üç metot üzerinde yürütüldü. Shepard ve Topping 1944 (4). Bütün metotlarda müşterek olan ana unsur, rickettsia ile infekte ve belli ağırlıktaki yumurta sarı zarlarının santrifüj tüpünde toplanıp blenderde homojen bir suspension haline getirilmesidir. Bundan sonra :

Birinci usulde suspensiyonun formalinli veya formalinsiz bir salen solusyonunda % 10 oranında emulsiyonu yapılır, pH 5,5 -5,7 e ayarlanır, emulsiyon 1,5 volümlük eterle karıştırılıp çalkalanır, bir gece buzlukta bırakılır, tüpte üç tabaka teşekkül eder, üstte berrak sarı renkte eter, ortada az miktarda rickettsia bulunan kısım ve altta ise rickettsia ile antijen ihtiva eden tabaka bulunur. Bu kısım ayrılır, karışık bulunduğu eter vakum desikatöründe uçurulduktan sonra, 4000 r.p.m. de bir saat müddetle santrifüje edilir, rickettsialardan tamamen temizlenmiş üstte kalan mayı solubl antijen olarak kullanılır.

İkinci metotda ise sarı zar emulsiyonu evvelâ yumurta pigmentleri ve solubl proteinlerden temizlenmek maksadiyle 4000 r.p.m. de bir saat süre ile santrifüje edilir. Süpernatant atılır, sediment tuzlu su ilâvesi ile eski hacmin 1/10 na getirilir. Bundan sonra 1,5 volümlük eterle karıştırılıp çalkalanır, bir gece buzlukta bırakılır eter ve emulsiyon tabakaları atılarak dipte kalan kısmın eteri vakumda uçurulur tekrar 4000 r.p.m. de santrifüje edilir sediment atılır solubl antijen elde edilmiş olur.

Uçurucu metotlar, dieneerale ezilen infektele yumurta sarı zarı iki volüm soğuk eterle + 4° C de 30 ilâ 60 dakika çalkalanır, eterle birkaç kere yıkanır, üzerine 1 gr. sarı zar için 1 cc. distile su ilâve edilerek karışım tekrar çalkalanır, eter vakum desikatöründe uçurulduktan sonra doku suspensiyonu bir gece buzlukta bekletilir, tekrar 3000 r.p.m. de santrifüje edilir. Bu metotla elde edilen solubl antijen her rickettsia nevi için değişik sonuçlar vermektedir.

Topping ve Shepard'ın metodu bazı modifikasyonlarla birçok laboratuvarlarda kullanılmaktadır (6). Modifikasyonlardan biri, % 50 sarı zar emulsiyonunun 1/5 nisbetinde barbiturat Buffer li salen solusyonunda sulandırıldıktan sonra, eşit hacimde dietil eterle yapılan ekstraksiyonun aköz fazda kalan eterinin vakum desikatöründe doymuş H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> muvacehesinde ve oda hararetinde uçurulması sonucu elde edilen solubl antijen imâli şeklidir. Bu usul birçok rickettsia laboratuvarlarının rutin çalışmaları arasına girmiştir.

Bu metotlar dışında infektele bit barsaklarından da rickettsia antijeni imaline ait bazı başarılı çalışmalar yapılmıştır. Fakat bunun yalnız bilimsel değeri vardır (7).

K.B.R. için kullanılacak antijen mümkün olduğu kadar, nonspesifik ve antikomplemanter cisimlerden temizlenmiş olmalıdır. Bunu hedef tutan araştırmalarımıza antijeni bazı muamelelerden geçirerek konsantre bir şekle getirmek ve daha spesifik işleme kıymeti elde etmek purifikasyonu ilerletmek gayesi ile başlanmıştır.

### Materyel ve Metod

Rickettsia suşları laboratuvarlarda Sörensen solusyonu içerisinde infektele sarı zarların % 50 emulsiyonu yapılarak muhafaza olunur.

Sörensen solusyonu : Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. 2 H<sub>2</sub>O

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ün moleküler vezinleri ile hesaplanıp pH sı 6,2 e ayarlanan özel bir solusyondur.

Antijen imâli için kullandığımız muhtelif R. Prowazeki (7138—IR, 7138—2R, 7993) R. Mooseri (6491, 2992) suşlarıdır.

Bu suşlardan P.G.S. solusyonu içinde 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> dilusyonları yapılarak 7 gün etüvde bırakılarak embriyon teşekkül etmiş tavuk yumurtalarına, her grupta 50 şer adet yumurta bulunmak üzere sarı zar zerkleri yapıldı. Embriyonlar takip edildi, inokulasyonun 6-7. günü yumurta acılarak sarı zarlar teker teker ayrıldı, yapılan preparatlarda rickettsia arandı, kuvvetle müsbet olan sarı zarlar biraraya toplandı, müsavi hacimdeki Sörensen solus-

yonu ile bir blender içinde karıştırılarak 50 % lik bir suspanzyon hazırlanır. Bu şekilde elde edilen ana maddeden bir kısmı Cox metodu ile eter ekstraksiyonuna tâbi tutularak solubl bir antijen hazırlandı. Bu tecrübe dialize antijeni değerlendirme ve mukayese etmek üzere yapılmış olan eksperimental şahit antijendir. Bunun tekniği : 50 % konsantrasyonundaki sarı zar emülsiyonuna, Sörensen solusyonu ilâve edilerek 10 % oranında bir dilusyon yapıldı. Bu emülsiyonun yarısı bir volüm, diğer yarısı iki volüm eterle karıştırılarak 4° C de bir gece bırakılır, sıvı tabakası ayrılarak eteri vakum desikatöründe azeotropize edilir, emülsiyon 1000 r.p.m. de 5 dakika santrifüje edilerek supernatan alınır. 0,2 % formalin ilâve edilerek nihai safhaya erişen solubl antijen titrasyona hazır bir duruma gelir.

Bundan sonra, yukarıda anlatılan maksatlarla, deha fazla spesistite kazandırmak ve içerisindeki entikomplementer ve nonspesifik unsurlardan temizlemek amacı ile dialize antijen elde etmek için çalışmalara başladık. 100 cc. miktarında eter ekstraksiyonundan ibaret olan Cox vaksini alındı, oda hararetinde eritildi, 2000 r.p.m. de santrifüje edilerek hücrelerden temizlendi, üzerine 44 % lik  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ün sudaki solusyonundan 51, 75 cc. ilâve edilerek (nihei  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  konsantrasyonu 15 % dir) oda hararetinde bir saat bırakıldı, karışım 3000 r.p.m. de bir saat santrifüje edildikten sonra, üstteki tabake atılarak sediment 3,5 cc. Buffer solusyonu içerisinde sulandırıldı. Selofen bir torbe içerisine konarak geniş hacimde 0,1 % formalinli salen solusyonu havi cam kap içinde dialize tâbi tutuldu. Ana dializ mahlulü, fizyolojik tuzlu suyun 20 misli konsentre bir solusyondur. 340 gr. Nacl in 2000 cc. distile su içinde eritilmesi ile elde edilir. Bundan 250 cc. alınır, üzerine 4750 cc. distile su, 5 cc. 0,1 lik formalin mahlulü eklenir, böylece 5 litrelik bir dializ mahlulü hazırlanmış olur. Selofen zar içindeki ana antijen dializ mahlulünü ihtive eden cam balon içine serkıtılarak +4° C lik bir odaya bırakıldı, dializ mahlulü günde iki kere değiştirildi ve bu muameleye 3 gün devam edildi, 4. gün antijen selofen zarıdan çıkarıldı. Üzerine 0,1 % lik formalinli salen solusyonu ilâvesi ile 5 ml. lik hacme getirildi, tekrar 2000 r.p.m. de 15 dakika santrifüje edildikten sonra erimeyen sediment atıldı. Üstte kalan mayı dialize antijen olarak kullanıldı (A antijeni).

Üçüncü bir antijen olarak ana rickettsia emülsiyonundan alınarak yukarıda anlatılan dializ muamelesi için selofen zar içine kondu. Bu partide aynı metot takip edildi, yalnız değişik olarak 7 günlük bir dialize tâbi tutuldu. Bu suretle B antijeni elde edildi.

#### **Deneyleer :**

Çalışmalarımızla istihisâl edilen çeşitli antijenler, ticarete kullanılan an-



tijenler ile karşılaştırmak suretiyle titre edildi. Bunlardan alınan sonuçlar aşağıda gösterilmiştir.

1 — E<sup>273</sup> standard Lederle antijeni (Murin) ile

Serum dilusyonları (Murin anti serum 4831)

	1/40	1/160	1/640	1/2560
Antijen Dilusyonları	1/10	4	4	0
	1/20	4	4	0
	1/40	4	3	0
	1/80	0	0	0
	1/160	0	0	0

Antijenin işleme değeri 1/40

Epidemik Antiserum (Brill-Zinnsers Pool)

	1/40	1/160	1/640	1/2560
Antijen Dilusyonları	1/10	4	4	0
	1/20	4	4	0
	1/40	4	2	0
	1/80	1	0	0
	1/160	0	0	0

Antijenin işleme değeri 1/40

**Deney Gurubu II :**

Eter ekstraksiyonundan ibaret dialiez edilmemiş eksperimental Murin antijen titrasyonu (Prot. No : CO<sub>2</sub> No : 6603)

Murin antiserum (A — 4831)

	1/40	1/160	1/640	1/2560
Antijen Dilusyonları	1/5	4	4	0
	1/10	4	4	0
	1/20	4	4	0
	1/40	4	4	0
	1/80	4	4	0
	1/160	4	2	1

Antijenin işleme değeri 1/80

Epidemik antiserum (Brills Pool)

	1/40	1/160	1/640	1/2560
Antijen Dilusyonları	1/5	4	4	0
	1/10	4	4	0
	1/20	4	4	0
	1/40	4	4	0
	1/80	4	4	0
	1/160	4	3	2

Antijenin işleme değeri 1/80

### Deney Garubu III :

Eksperimental Murin antijen, dialize konsantre edilmiş antijenle

#### Murin antiserum A — 4831

	1/40	1/160	1/640	1/2560	
Antijen Dilasyonları	1/40	4	4	3	0
	1/80	4	4	3	0
	1/160	4	4	3	0
	1/320	4	4	3	0
	1/640	4	0	0	0
	1/1280	0	0	0	0

Antijenin işleme değeri 1/320

#### Epidemik Antiserum (Brills Pool)

	1/40	1/160	1/640	1/2580	
Antijen Dilasyonları	1/40	4	4	1	0
	1/80	4	4	1	0
	1/160	4	4	1	0
	1/320	4	4	2	0
	1/640	3	0	0	0
	1/1280	0	0	0	0

Antijenin işleme değeri 1/320

### Münakaşa ve sonuç :

Çalıştığımız 3 tip rickettsia antijeni ile alınan sonuçların özeti :

- 1 — Ticari bir antijen olan Lederle E<sup>273</sup> 1/40 dilasyonunda çalışmaktadır.
- 2 — Eter ekstraksiyonu ile kendi hazırladığımız, eksperimental antijen 1/80 dilasyonunda çalışmıştır.

3 — Çalışmamızın esasını teşkil eden, eter ekstraksiyonundan sonra dialize muamelesine tâbi tutulan (A ve B) eksperimental antijeni ile 1/320 değerinde titrasyon elde edildi.

Bu sonuçlarla rickettsios'ların en önemli teşhis vasıtalarından biri olan K.B.R. için kullanılan antijenin imâlinde bazı özel metotların konulması ile pürifiye edilmiş ve daha yüksek titrelere çalışan bir antijen yapılmasının kabîl olduğu anlaşılmaktadır.

## (ZUSAMMENFASSUNG)

(Die Herstellung des spezifischen Rickettsien-Antigens und die Auswertung des dialysierten Antigens)

Auf Grund kritischer Auswertung der in verschiedenen Methoden hergestellten Rickettsien-Antigenen für Komplementbindungsreaktion ist die Arbeit durchgeführt: Als die kommerzielle Antigen Lederle E<sup>273</sup> in 1/40 Titer arbeitete, zeigte unsere experimentelle, in Cox Methode hergestellte und aus einfachen Etherextraktion bestehende Rickettsien-Antigen ein Titer von 1/80. Um die Spezifität des Antigens zu erhöhen und die nonspezifische Hemmungs-Wirkungen zu vermindern, haben wir eine weitere Entwicklungsmethode dem Antigen zugeführt. Die Coxvaccine wurden einmal 3 Tagen einmal 7 Tagen in Formalin enthaltenden Kochsalzlösungen zur Dialyse herangezogen. Die Auswertung der dialysierten Antigenen zeigten uns, dass sie 4 mal stärker wirkten, als die kommerzielle Antigen von Lederle E<sup>273</sup>.

Beide in 1/320 wirkenden, dialysierten Antigenen sind wegen mehreren Vorteilen sind zu empfehlen.

## REFERENZ

- 1 — Cox, H. R., Bell, E. J., 1940, Epidemic and Endemic Typhus: Protritiv Value for guinea pigs of vaccines prepared from infected Tissues of the developing Chick embryo, Pub. Health Rep. 55, 110—115.
- 2 — Dreguss, M., Farkas, E., 1948, Complement-fixation test for serological studies in typhus fever. Estimation of the antigenic value of typhus vaccines by complement-fixation test, Arch. f. die ges. Virusforsch., 4, 47-54, 55-62.
- 3 — Craigie, J., 1945, Application and control of ethyl-ether-water interface effects to the separation of rickettsiae from yolk salk suspensions, Canad. J. Research, 23, 1Sec. E1 104.
- 4 — Topping, N. H., Shepard, C. C., 1946, The preparation of antigens from Yolk Sacs infected with rickettsiae, Pub. Health Rep. 61, 701-706.
- 5 — Topping, N. H., Sheare, M. J., 1944, Studies of Antigens in infected Yolk sacs, Pub. Health Rep. 59, 1671-1675.
- 6 — Boyd, H. M., 1951, Quantative estimation of the rickettsial antigens in infected yolk sac membranes by complement fixation using a fifty per cent hemolysis technique, J. Lab. and Clin. Med., 38, 313—323.
- 7 — Snyder, J. C., Wheeler, C. M., 1945, The Experimental Infection of the Human Body Louse, *Pediculus humanus Corporis*, with Murine and Epidemic Louse-Borne Typhus Strains. J. Exper. Med., 82, 1—19.

# TETRACYCLINE'LERİN KÂĞIT KROMATOĞRAFİSİ İLE İDANTİFİKASYONUNDA LABORATUVARIMIZDA BULUNAN YENİ BİR DETEKSIYON MİYARI

Kimyager Bahriye ÖZSÖZ

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

İlaç Kontrol Şubesi Mütahassısı

## GİRİŞ :

Tetracycline'ler terapide hiçbir zaman birlikte tatbik edilmediğinden tâyin metodları arasında kâğıt kromatografisi ile separasyonları düşünülmemiştir. Yalnız, tetracycline imalâtının iptidai maddesinin Aureomycin (Chlortetracycline) olması sebebiyle impürite olarak imalâttan gelen aureomycin'i aynı şekilde aureomycin'den metil gruplarının çıkartılması (2) ile yapılan Demethyl chlortetracycline'nin aureomycin ile kimyevi idantifikasyonlarının aynı olması kromatografiyi luzumlu hale getirmiştir, Diğer tetracycline'lerden Terramycin ve tetracycline'nin kimyevi idantifikasyonları birbirinden farklı ise de oldukça pahalı müstahzarlar arasında bulunan bu maddelere herhangi bir maksatla yapılacak karışımlar veya impüriteler ve bilhassa boya ihtiva eden renkli kompozisyonlarda mevcut metodlar kontrole yeter gelmediğinden yine kromatografiden istifade edilmiştir.

Tetracycline'lerin kromatografisinde (3) kullanılan hafif yaş kâğıt tekniği, kâğıdın hiçbir zaman homojen bir yaşlıkta olmaması sebebiyle çok defa aynı maddenin yürüyen lekelerinin Rf değerleri, solvent'in kâğıdın farklı yaşlıktaki kısımlarında farklı süratte olacağından, bundan başka deteksiyon miyarı olarak kullanılan Methanolic FeCl<sub>3</sub> ün tetracycline'lerle verdiği esmer rengin bütün tetracycline'lerde farksız oluşu bizi daha spesifik bir deteksiyon miyarı aramaya sevk etmiştir.

Laboratuvarımızda yapılan deneyler neticesinde SbCl<sub>3</sub> ün kloroformdaki solüsyonu deteksiyon miyarı olarak bulunmuş, tetracycline'lerle verdiği ve âdi ışıpta görülebilen değişik renklerle, U. V. deki karakteristik fluoresans'ları sayesinde daha canlı ve kesin olarak farkedilmiştir. 3—5 mikrogramlık bir miktar idantifikasyona yeter geldiği gibi, oleandomycin kombinasyonlarında, Oleandomycin ve tetracycline'i aynı solvent sistemi ve aynı miyar ile tek bir işlemde tâyin etmek imkân dahiline girmiştir.

Buna ek olarak oleandomycin'lerin separasyonunda kullanılan solvent sistemi ile (4) Triacetyl—oleandomycin hariç, diğer oleandomycin'leri tetracycline yanında ayırmanın imkânsız olduğu görülmüştür. Zira bu solvent sisteminde tetranın da aynı süratle yürümesi lekelerin üst üste gelmesine sebep olmakta ve idantifikasyona imkân bırakmamaktadır. Halbuki burada, tetracycline'ler için kullanılan solvent sisteminde, oleandomycin'nun tetracycline'den daha süratli yürümesi neticesi yukarıda anlatılan mahzurlar ortadan kaldırılmıştır. Yapılan deneylerde, kâğıdın rutubet derecesinin önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir.

Çok kurumuş kâğıtta yürüme olmadığı gibi, tamamen yaş kâğıtta da separasyon olmamaktadır. Teknikte dikkate alınacak diğer hususlar metod ve materyel bölümlerinde açıklanmıştır.

### Materyel :

1. Tetracycline, Oxytetracycline, Chlortetracycline, Oleandomycin-phosphate, Demethyltetracycline, U. S. P. saflığında.
2. Whatman kâğıdı, No : 1
3. Methyl iso—Butyl Ketone, P. A.
4. n—Butyl Alcohol, P. A.
5. n—Butyl Acetate, P. A.
6. Formic Acid, P. A.
7. Antimon trichlorure (SbCl<sub>3</sub>), P. A.
8. Chloroform, P. A.
9. Methanol, P. A.
10. 25 × 15 cm. büyüklüğünde cam kavanoz, cam plak kapağı ile.

### Metod :

A — Solvent sistemi :

Bir ayırma hunisine aşağıda yazılı oranda,

Methyl iso—Butyl Ketone 15 cc.

n—Butyl Acetate 5 cc.

n—Butyl Alcohol 2 cc.

Distile su 22 cc.

kariştirilip on dakika çalkanarak ayrılmaya bırakılır.

Üst organik faz alınır ve solvent'in 25 cc. miktarına 2 cc. formic acia ka-  
nılır, derhal kromatografi tankına alınır.

Solvent, tankı doymuş hale getirmesi için tecrübeye başlamadan 4-5 saat  
evvel hazırlanmalıdır.

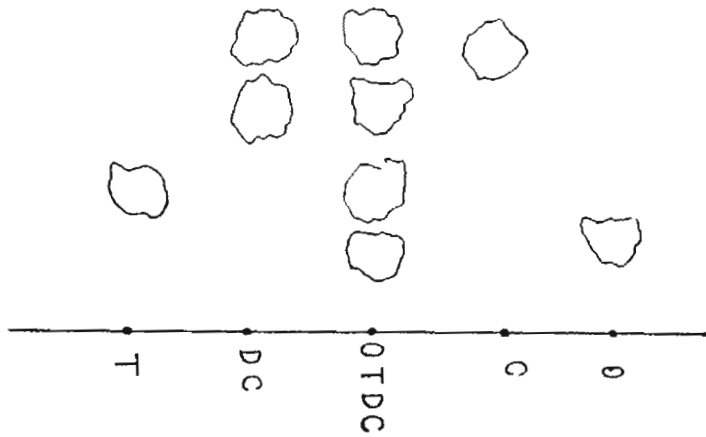
B -- Whatman No : 1 kâğıdı 15 × 20 cm. büyüklüğünde kesilir. 2,5 cm.  
mesafeden çizilerek çalışılacak tetracycline'lerin yerleri kurşun kalemle tes-  
pit edilir. Kâğıt distile su ile ıslatılır, suyun fazlası iki süzgeç kâğıdı ara-  
sında emdirilerek alınır. Lekelerin yayılmaması ve iyi bir separasyon için  
kâğıt, henüz çok yaş iken bir mikro pipetle tetracycline'lerin metanoldeki  
1000 microgram/cc. solüsyonundan 0.003—0.005 cc. kâğıda tatbik edilir.

Kâğıt kenarları değmiyecek şekilde iplik ile tutturularak silindir şekli  
verilir. Şeklini muhafaza edecek bir hale gelinceye kadar kâğıt kurumaya  
terkedilir. Ankarada evaporasyon çabuk olduğundan, kâğıdı ayrıca kurut-  
manın separasyonu imkânsız hale getirdiğini tecrübelerimizle tespit ettiğİ-  
mizden bu işleme lüzum yoktur. Bu şekilde hazırlanmış kâğıt solventin bu-  
lunduğu tanka ascending tekniğine göre batırılır. Tankın kapağını iyi ka-  
patmalıdır. Kapak vazifesini gören cam plak üzerine 1-2 Kg. lık bir ağırlık  
koymak uygundur. Solventin kâğıdın üst kenarına 1,5 santimetrelık bir me-  
safeye gelmesi için gereken passaj zamanı 80-90 dakikadır. Developpe olan  
kâğıt tanktan alınır. Solventin fazlasının uçması için havada kurumaya ter-  
kedilir. Kuruyan kâğıda  $SbCl_3$  ün klorofomdaki 15 % solüsyonu sıkılır.  
70 sanigrad'lık bir etüvde iki dakika tutulur. Lekelerin Rf değerleri ile mey-  
dana gelen renkler ve floresanslar tablo (I) de ve kâğıdın fotodiyagramı da  
şekil (1) de gösterilmiştir.

**Tablo : I**

Tetracycline'lerin kâğıt kromatografisi ile  
identifikasyonunda Antimon trichlorure

Tetracycline'ler	Rf değeri	$SbCl_3$ ile verdiği renk	U. V. deki floresans
Oxytetracycline	0.14	Saman sarısı	Açık sarı
Tetracycline	0.21	Portakal sarısı	Koyu portakal sarısı
Demethyltetracycline	0.31	Limon sarısı	Sarı filizi
Chlortetracycline	0.40	Pembe	Kiraz kırmızısı



Şekil. 1— Tetracycline'lerin separasyonu.

Fig. 1— Separation of tetracyclines.

O = Oxytetracycline, C = Chlortetracycline

D = Demethyltetracycline, T = Tetracycline

#### Oleandomycin ve Tetracycline Kombinasyonunda çalışma :

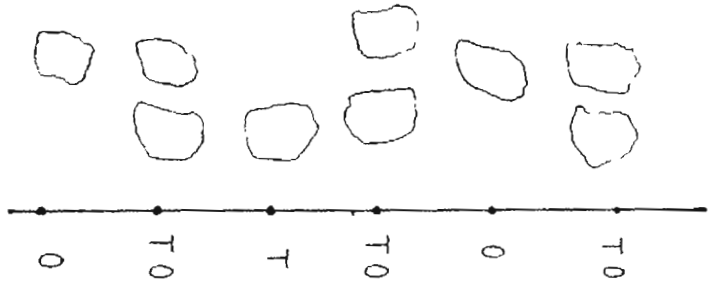
Teknik ve solvent tetracycline'lerin ayrılmasında olduğu gibidir. Şu farklıki, burada kâğıt distile su yerine 0.1 N. HCl ile ıslatılmalıdır. Nümune methanol ile 1000 microgram/cc. olmak üzere seyreltilir. 0.1 N. Hcl ile ıslatılarak fazla yaşığ; alınan kâğıda 0.003—0.005 cc. tatbik edilir. Kâğıdın yine hafif bir yaşıklıkta olmasına kadar beklenir. Passaj zamanı 80—90 dakikadır. Tanktan çıkartılan kâğıt havada kurutulur.

Kuruyan kâğıda  $SbCl_5$  ün kloroformdaki 15 % solüsyonundan sıkılır. 100 santigrad'lık bir etüvde üç dakika tutulur. Meydana gelen renklerle laboratuvarımızda elde edilen  $R_f$  değerleri tablo (II) de, kâğıdın totodiyagramı da şekil (2) de gösterilmiştir.

**Tablo : II**

Oleandomycin—Tetracycline kombinasyonunun kâğıt kromatografisi ile idantifikasyonunda Antimon trichlorure

Antibiyotik	$R_f$ değeri	Renk
Tetracycline base	0.16	Pas rengi
Oleandomycinphosphate	0.20	Gri viyole



Şekil 2—Oleandomycinphosphate tetracycline kombinasyonunda separasyon.  
Fig. 2— Separation of oleandomycinphosphate-tetracycline combination.



O = Oleandomycinphosphate

T = Tetracycline

### Sonuç ve Tartışma :

Kromatografik separasyonlarda aynı kâğıt üzerinde aynı kimyevi maddelerle farklı Rf değerlerinin elde edilmesi tecrübeli kimselerin dahi çok defa yapacağı hatalardandır.

Bu çalışmamızla tetracycline'lerin  $SbCl_3$  ile verdiği değişik renkler, daha evvelce  $FeCl_3$  ile yapılan deteksiyondan çok daha spesifik ve kesin bir hale getirilmiştir.

Bu renklerin Ultraviole'teki fluoresanslarının bütün karışıklıkları önleyecek kadar belirli oluşu metoda kıymet kazandırmaktadır. Aynı solvent sistemi ve bir işlem ile tetracycline-oleandomycin kombinasyonlarına tatbik edilebilmesi, zamanı kısalttığı gibi ekonomik oluşu metodun belirtilecek özellikleri arasındadır.

## ANTIMONY TRICHLORIDE AS A COLOUR REAGENT IN THE PAPER CHROMATOGRAPHY OF TETRACYCLINES [\*]

**Bahriye ÖZSÖZ, Chemist**

Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Section of drug control  
Ankara

The use of methanolic solution of  $FeCl_3$  for the detection of tetracyclines gives rise to some difficulties.

These difficulties are due to developing the same colored spots and giving irregular and unsatisfactory Rf values on the wet paper. To eliminate these difficulties we have already applied 15 % chloroform solution of antimony trichloride as a colour reagent in the paper chromatography of tetracyclines, with extremely good results.

Tetracyclines were differentiated simply by different colored spots produced with this reagent.

[\*] "Received for Publication June 15, 1962".

### Materials and methods :

A solvent prepared by mixing Methyl-isobuthyl keton,  
n-Butyl-acetat, n-Butyl-alcohol, water=15 : 5 : 2 : 22, V/V.

2 ml. formic acid was added to 25 ml. up organic layer, it was used as resolving solvent in the ascending technique.

The paper used for chromatograms was Whatman No : 1 cut into strips 150×250 mm. and previously moistened with water. The spotting amount of methanolic solution of tetracyclines was 3—5 microgrames.

Development took 80—90 minutes at room temperature.

All the chromatographic experiments were performed in 150×250 mm. glass jars. We applied the ascending technique.

### Detection and results :

The air dried chromatograms were sprayed with a 15 % solution of antimony trichloride in chloroform, and heated for two minutes at 70 centigrade degs.

The results obtained with the described technique are summarized in Table (I).

TABLE : I

Compound	Rf.	Colour	
		Under daylight	Under U. V.
Oxytetracycline	0.14	Pale yellow	Yellow
Tetracycline	0.21	Orange	Dark orange
Demethyltetracycline	0.31	Yellow	Greenish yellow
Chlortetracycline	0.40	Pink	Cherry

Both solvent and colour reagent can be used to separate and identify oleandomycin-tetracycline combination by heating chromatogram three minutes at 100 centigrade degs.

Figs. 1 and 2 represent tracings from typical chromatograms of tetracyclines and oleandomycin-tetracyclines combination obtained using this method.

## LITERATURE

- 1 — Booth, J. H., Morton, J., Petisi, J. P., Wilkinson, R. G., Williams, J. H., 1953, Tetracycline, *J. Am. Chem. Soc.* 75, 4621.
- 2 — McCormick, J.R.D., Sjolander, N. O., Hirsch, U., et al., 1957, A new family of antibiotics: The demethyltetracyclines, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 4561—4562.
- 3 — Henry Fishbach and Joseph Levine., 1955, *Antibiotic and Chemotherapy*, 5, 640.
- 4 — *Compilation of Regulations for tests and Methods of Assay and certification of antibiotic and antibiotic containing drugs: U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, F.D.A., May—20—1960, Vol: 1, 141—C—231.*

## YÜKSEK FİYEVRLİ HASTALARIN HEMOKÜLTÜRLERİNDE ÜREYEN L—FORMU KOLONİLERİ [\*]

Dr. Mesude AKTAN

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıha Enstitüsü

Son senelerde, yüksek fiyevrli bazı hastalarda, antibiotik tedavisinden sonra, mutad metodlarla yapılan bakteriolojik muayenelerde, çok zaman kat'i teşhis yapılmamakta, değişik ve birazda halli müşkil neticeler elde edilmektedir.

İNGBORG, S, (1956) antibiotik tedavisi görmeyen yüksek fiyevrli hastalarda, normal bakteriolojik metodlarla yaptığı muayenelerde, hastanın idrar ve gaitasında, tifo basillerini ürettiği halde, antibiotik tedavisi gören hastalarında, bir müddet ateşin düştüğünü ve fakat tedavi kesilir kesilmez yeniden hararetin yükseldiğini, buna rağmen ne idrar ve ne de gaitadan mikroç izole edilemediğini bildirmektedir.

ROUX (1954) son senelerde, antibiotik tedavisinden sonra bazı hastalardan normal vasatlara yapılan hemokültürlerin pek çok zaman negatif kaldığını, buna mukabil aynı materyalin semisolid serumlu vasatlardaki hemokültürlerinde bol miktarda L—formun kolonilerinin ürediğini ve muhtelif pasajlardan sonra da bu L—kolonilerinin bir kısmının normal formuna döndüğünü müşahede ettiğini bildirmektedir. Yine SOREL, C. ve arkadaşları (1954) Saint Lazar hastahanesinde yaptıkları hemokültürlerde, PPLO grubu mikro organizmleri ürettiklerini ve fakat bu kültürlerin bir kısmının bişimik vasıflarının tetkiki neticesinde, bir kısmının da normal bakteri formuna dönüşleri dolayısıyla, bunların, bazı bakterilerin L—formu kültürleri oldukları kanaatine vardıklarını bildirmektedir. HAUDOROY, P. (1949) antibiotiklerin tesiri altında bakterilerin mukavim şekillere geçtiğini, invisibl olan bu şekillerin normal bekleri formuna dönmek için bir arzuları bulunduğunu, bilhassa tifo vakalarında bu hadiseyi müşahede ettiğini yazmakta ve bu invisibl şekillerin, yani L—formlarının, hastalığın etiolojisinde de mühim rolü olduğunu ayrıca işaret etmektedir.

Biz de şahsen, bu güne kadar yaptığımız muhtelif çalışmalarda, bakterilerin

[\*] X. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

çeşitli antibiotiklerin tesiri altında gerek *invivo*, gerekse *invitro* L—tomuna döndüklerini ve bu L—formu kültürlerinin sonradan antibiotik tesirinden kurtulunca tekrar normal bakteri formuna geçtiklerini müşahade etmiş bulunuyoruz. AKTAN, M. (1957, 1960) bu konuda bu güne kadar yaptığımız mesailerin çoğu laboratuvar çalışmaları çerçevesi içerisinde kaldığı halde, bu defaki mesaimiz tamamen klinik vakalara inhisar etmektedir.

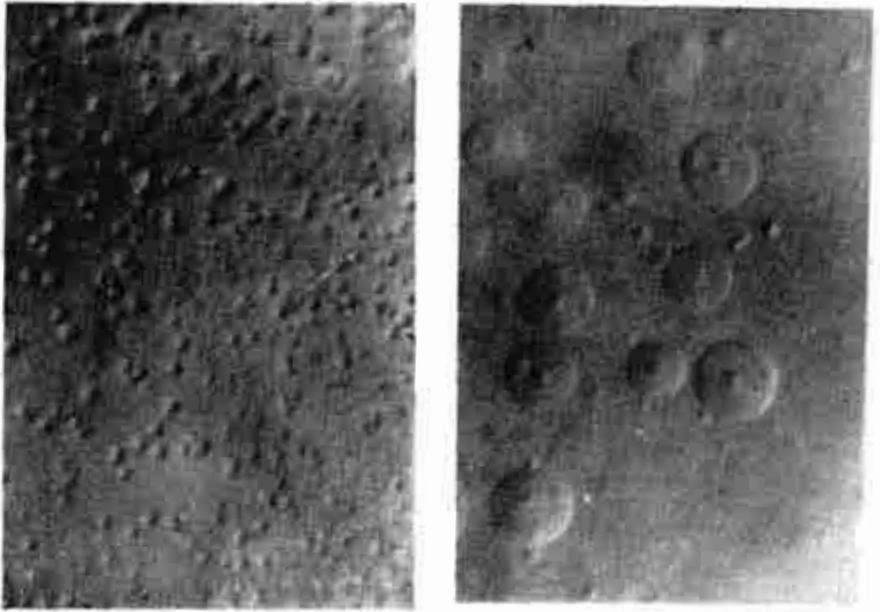
Ankara—Numune hastahanesi çocuk servisinde, bazı hastalarda çeşitli antibiotik tedavisine rağmen fiyevr düşmemiş ve bakteriyolojik muayene sonuçları da daima menfi kalmıştır.

Bu durum karşısında, çocuk servisinin kıymetli baş asistanı Dr. Güner Abalı'nın müeesesemize yaptığı müracaatta, bu vakaları yakinen tetkik etmeyi faideli bulduk ve bu durumdaki otuz vakayı inceleme imkanını sağladık.

### MATERYAL ve METOD

Ankara Numune hastanesi çocuk servisinde çeşitli antibiotik tedavisine rağmen, ateşi düşmeyen hastalardan steril şartlarda ufak boncuklu şişelerde, 2—3 c. c. kan alınarak laboratuvarımıza gönderildi. Bu numunelerden hemokültür için, besi yeri olarak, hususi şartlarda hazırladığımız ve içerisinde % 10 nisbetinde normal at serumu ihtiva eden dana kalbi infuzyonu ile, yine içerisinde at serumu bulunan ve % 2,5 tuz ve % 01 glikozu muhtevi triptozlu jeloz kullandık, bu numunelerden yapılan kültürleri muhtavi sulu besi yerleri doğrudan doğruya katı besi yerleri ise % 10 CO<sub>2</sub> konsantrasyonunda olmak üzere 37 derecelik etüve bıraktık. Katı vasatlar 48—72 saat sonra etüvden çıkarıldı ve steroskopik mikroskopta muayene edildi. Şüpheli veya katı olarak L—formu kolonisi gösterenlerden, sulu besi yerlerine subkültür yaptık. Sulu besi yerlerindeki kültürler ise her gün muntazaman muayene edilerek 3—8 gün zarfında hafif bir opalesans gösterenlerden preparat yaparak gramla boyadık.

Malum olduğu üzere L—formu kültürlerinde, mikroorganizmlerde hücre zarı bulunmadığından, dolayısıyla muayyen bir şekilleri olmadığından boya alma kabiliyeti mevcut değildir. Bu yüzden her hangi bir boya ile boyandıkları zaman, mikroskopta sadece çok silik ve gayri muayyen şekillerde görülürler. Bizim bu kültürleri boyamadaki maksadımız, L—formu kültürü görmek için değil, sadece bu kültürlerin içerisinde yabancı bir bakterinin mevcut olup olmadığını tetkik yönünden yapılmıştır. Yabancı bakteribulunmadığı takdirde L—formu kültürleri, katı vasata geçirilerek, muayyen bir inkubasyondan sonra, tipik L—kolonilerinin üreyip üremediğine bakıldı. Eğer tipik L—kolonileri üremişse, normal bakteri formuna dönmeleri için, sulu besi yerlerinde



Resim 1 — Hemokültürlerden üretilen tipik  
L—formu kolonileri.

müteaddid pasajlar yapıldı. Bu metod dahilinde otuz kan numunesinin hemo-kültürlerini tetkik ettik.

### NETİCE ve MÜNAKAŞA

Tetkik ettiğimiz otuz kan numunesinin hemokültürlerinden yalnız No. 1 ve No. 27 den doğrudan doğruya saf Alcalessence—Dispar ve Staphlococcus albus üremiştir. Dokuz adedinin kültürleri tamamen steril kalmış, dört materyal ise kontamine olduğundan, kati bir sonuç alınamamıştır. Geri kalan on beş kan numunesinin ekimlerinden ise, saf L—formu kültürü üretilmiş ve mütead-dit pasajlarla idameleri mümkün olmuştur. Bu kültürlerin kati vesailarda yapı-lan pasajlarında bir çok zaman tipik ve nadir olarak da atipik koloniler görül-müştür (resim) 1.

On beş L—formu kültüründen yedisinin, dört ve beşinci pasajlarında sonra idameleri mümkün olmamış, dört tanesinin ise otuzuncu pasaja kadar idame-leri sağlanmıştır. Diğer dört kültür, iki ve üçüncü pasajlardan sonra normal bakteri formuna dönmüştür, normal bakteri formuna dönen bu kültürlerin bio-

şimik vasıflarının tetkiki neticesinde No. 3 *Escherichia Freundii*, No. 7 *pseudomonas auriginosa*, No. 13 *corynebacterium*, No. 15 ise *staphylococcus albus* oldukları anlaşılmıştır. Bahis konumuz olan materyallere ait hastalar, hastahaneye gelmeden veya hastahaneye yatar yatmaz antibiotik tedavisine tabi tutulmuş ve hemen hepsine evvelâ penicillin, bilahare streptomysin, chloromycetin ve loromycin verilmiştir (cetvel). Bu şekilde penicillin ve diğer antibiotik tedavilerine rağmen, hastalarda fiyevr düşmemiş, yine derece 40—41 arasında kalmıştır.

Bilindiği üzere yapılan deneylerde, antibiotik canlı organizmada bilhassa yüksek dozlarda verildiği takdirde, bakterilerde evvela bir şekil değişmesi husule getirmekte (dev cisimcikler), bilhara L—formu teşekkül etmektedir. (resim 2).



- 1 — Hareketli bakteri
- 2 — Bakteride büyüme
- 3 — Bakteride tomurcuklanma
- 4 — Tomurcuğun büyüüp gelişmesi
- 5 — Nihayeti koparak dev cisim meydana gelişi
- 6 — Yeni dev cisimciklerin hasil oluşu (Dev cisim: large body)
- 7 — 14 saat sonra meydana gelen taze L—kolonisi.

Nitekim, CARREÉ, L. ve BOUX, j. (1954) antibiotiklerin invivo olarak bakteriler üzerinde ne gibi bir tesir icra ettiğini tetkik için, proteus'un jelozdaki 24 saatlik kültürünü tavşanların kulak damarından zerkedip bir kaç saat sonra deri altına yüksek dozda penicillin enjekte ederek durumu tetkik etmişlerdir. Tecrübe neticesinde canlı organizmada bakterilerin penicillin tesirinde vegetatif şekillerini ve L—formuna geçişlerini müşahade ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı hadiseyi GRASSET ve BONİFAS (1955) damuhtelif yönlerden incelemişlerdir. Bu tetkikler sonunda, bazı bakterilerin antibiotik tesiri altında L—formuna geçtikleri ve böylece tamamen mukavim bir hal kazanarak hayatiyetlerini muhafaza ettikleri anlaşılmıştır. Bu incelemeler göstermiştir ki, verilen antibiotiklere rağmen esas ajan ortadan kalkmadığından hararet düşmemekte buna mukabil, normal bakteriolojik muayenelerde kültürler steril gibi görülmektedir. MOUSTARDIER, G. ve BRİSSON, j. (1953) uretrite amicrobien vakalarında ürettikleri L—formu kültürlerinden bir kısmının normal bakteri formuna döndüğünü bildirmektedirler. Aynı müelliflerin ifadelerine göre bu hastaların çoğında penicillin, auramycin ve streptomycin tedavileri yapılmış fakat

bu tedavilerden hiçbir netice alınmamıştır. Zira buradaki bakteriler invivo olarak organizmada L—formuna geçmekte ve dolayısıyla üreterde mukavemet ederek akıntıyı muhafaza etmektedirler. Biz de, AKTAN, M. ve AKTAN, F. (1960) yaptığımız bir çalışmada, bir Mastitis vakasında aynı hadiseyi müşahade etmiş bulunmaktayız. Bu vakada yaptığımız müteaddid antibiotik tedavileri, tamamen menfi netice vermiştir. Vakamızda hasta memeye antibiotik (penicilin ve streptomycin) verildiği zaman, corynebacterium pyogenes'in L—formu meydana gelmiş, antibiotik tedavisi kesildikten kısa bir müddet sonra da bakteri yeniden normal şekline dönmüştür.

Bu gün için antibiotik tedavisi, halli müşkil bir problem olarak ortaya çıkmakta, bilhassa bakterilerin bu invisibl mukavim şekilleri hastalığın etiyo-lojisinde ve klinikte mühim rol oynamaktadır.

Yapdığımız mesaide, cetvelin tetkikinden anlaşılacağı üzere, yüksok fiyevrli olan bu hastalara ilk tatbik edilen antibiotik daima penicillin olmuştur. Bilindiği üzere laboratuvar deneylerinde bir çok bakterilerin penicillin tesiri altında L—formu kültürleri elde edilmektedir. Vakalarımızda da muhtemelen ilk ateş halinde yüksek dozlarda tatbik edilen penicillin, bakterilerin derhal mukavim şekle geçmelerine sebep olmuş ve sonradan tatbik edilen diğer antibiotikler de bu mukavim şekillere karşı tesirsiz kalmıştır. Hemokültürü yapılan otuz materyalin on beşinde L—formu kültürü üreyişi bize bunu düşündürmektedir.

## Ö Z E T

Ankara—Numune hastahanesi çocuk hastalıkları servisinde tedavi edilmekte olan bazı hastalarda, çeşitli antibiotik tedavilerine rağmen ateşin düşmediği görülmüştür. Bu hastalarda yüksek fiyevr ve hastalık belirtilerine rağmen, yapılan hemokültürler, normal bakteriyolojik muayenelerde, daima steril bulunmuştur. Bu kabil hastalardan, bir aylık ile beş yaş arasında otuz çocuğun kani, L—formu kültürü bakımından incelenmiş ve aşağıdaki neticeler elde edilmiştir. :

1 — incelenen otuz ken kültüründen,

a) on beşinde tipik L—form kolonileri üremiştir,

b) dokuzu steril kalmıştır,

c) dördü kontamine olduğundan netice alınamamıştır,

d) ikisinde hemen ilk kültürde bakteri üremiştir (1. No. da alcalessence dispar, 27, No. da staphylococcus albus).



- 2 — L—form kolonisi üretilen bu on beş vakanın yalnız dördünden mükerer pasajlar sonunda L—form kolonileri normal bakteri formuna dönmüşlerdir.

(ZUSAMMENFASSUNG)

DIE IN DEM BLUTKULTUREN DER FIEBERHAFTEN PATIENTEN GEZÜCHTETEN L-PHASEN KOLONIEN.

Bei manchen Patienten, die in der Abteilung der Kinderkrankheiten des Numune Krankenhaus von Ankara behandelten, fallen des Fieber nicht, trotz verschiedenen antibiotica Behandlungen.

Bei diesen Patienten trotz des hohes fiebers und krankheit Erscheinungen erwiesen sich die Blut kulturen bei den normalen bakteriologischen Untersuchungen immer frei von Bakterien.

Dreisig Kinder von solchen Patienten, die ein Monat bis fünf jahre alt waren, wurden von der seite der L-phasen von bakterien haemokulturell untersucht und folgendes festgestellt :

1 — Von den dreisig Untersuchten Blut kulturen :

- a) in fünfzehn Kulturen wurden tipische L—phasen von bakterien gezüchtet (tabella 1),
- b) Neun kulturen bleiben steril,
- c) Vier kulturen waren kontaminiert und wurde keine Resultat erzielt,
- d) In zwei kulturen wurden normalen bakterien, bzw. bei No. 1. alcalence dispar und bei No. 27 staphylococcus albus gezüchtet.

2 — Nach mehreren passagen diese 15 L-phasen kolonien wurden nur vier Fallen über normale bakterien Form umgewandelt (tabella 1).

**YİYEVRİLİ HASTALARDA TATBİK EDİLEN ANTİBİYOTİKLER VE  
BAKTERİYOLOJİK MUAYENE NETİCELERİ**

Sıra No.	Protokol No.	Yaş	Tetbik edilmiş bulunan Antibiyotik neveleri	Bakteriyolojik muayene neticeleri				
				İlk kùltürde üreyen Bakteri	Kontamine meyale	Tamamen steril kalan kùltürler	L-Form üreyen kùltürler	L-Formdan normale dönen kùltürler
1	20467	1,2 ay	penicillin, Streptomycin.	Alk. dışarı	-	-	-	-
2	19885	1,5 yaş	penicillin, chloromycetin, Erytromycin.	-	-	+	-	-
3	20518	1 yaş	penicillin, sulfaganidin.	-	-	-	+	Escherichia freundii.
4	12725	1 yaş	penicillin, streptomycin.	-	-	-	+	-
5	20566	8 ay	penicillin, Terramycin.	-	-	-	+	-
6	20335	10 ay	penicillin, Streptomycin, Sulfaganidin	-	-	+	-	-
7	177	2 yaş	penicillin, Chloromycetin.	-	-	-	+	Pseudomonas Aureginosa.
8	140	1,5 yaş	penicillin, Streptomycin.	-	+	-	-	-
9	231	1,5 ay	penicilin, Streptomycin, Sulfonamid.	-	+	-	-	-
10	826	1 yaş	penicilin, Chloromycetin.	-	-	+	-	-
11	757	2 yaş	penicillin, Chloromycetin.	-	-	+	-	-
12	777	1 yaş	penicillin, Streptomycin.	-	+	-	-	-
13	879	Çocuk	penicillin, Leukomycin.	-	-	-	+	Corynebacterium.
14	1038	Çocuk	penicillin, Streptomycin, Leukomycin.	-	+	-	-	-

Bakteriyolojik magyene neticeleri

Sıra No.	Protokol No.	Yaş	Tatbik edilmiş bulunan Antibiyotik navileri	Bakteriyolojik magyene neticeleri				
				ilk kültürde üreyen Bakteri	Kontamine materyal	Tamamen steril kalan kültürler	L-Form üreyen kültürler	L-Formundan normale dönen kültürler
16	757	2 yaş	penicillin, Chloromycefin.	—	—	+	—	—
17	2125	5 yaş	penicillin, Streptomycin.	—	—	—	+	—
18	2067	6 yaş	penicillin, Sulfonamid.	—	—	—	+	—
19	2413	3 yaş	penicillin, Chloromycefin.	—	—	—	+	—
20	2188	8 ay	penicillin, Chloromycefin.	—	—	—	+	—
21	2361	1 yaş	penicillin, Streptomycin, Chloromycefin	—	—	+	—	—
22	2835	2 yaş	penicillin, Chloromycefin.	—	—	+	—	—
23	25 39	3 yaş	penicillin, Streptomycin.	—	—	+	—	—
24	3276	1 yaş	Chloromycefin, Leukomycin.	—	—	—	+	—
25	4027	7 ay	Leukomycin, Streptomycin.	—	—	—	+	—
26	3788	9 ay	penicillin, Leukomycin, Streptomycin.	—	—	—	+	—
27	3221	1 yaş	Chloromycefin, Leukomycin.	St. Albus	—	—	—	—
28	3759	1 yaş	penicillin, Streptomycin.	—	—	—	+	—
29	4986	2 yaş	Chloromycefin, Penicillin.	—	—	—	—	—
30	—	5 yaş	penicillin, Streptomycin, Chloromycefin.	—	—	—	+	—

## LİTERATUR

- Aktan, M. (1957) Türk İjyen ve Tecrübi Bioloji Dergisi : XVII, 262  
Aktan, M. ve Fisek, N. (1957) Türk İjyen ve Tecrübi Bioloji Derg. XVII, 59  
Aktan, M. ve Aktan, F. (1960) Deutsche Tierärztliche Wschr. 15, 405  
Aktan, M. (1960) Türk İjyen ve Tecrübi Bioloji Dergisi XX, 348.  
Bogovic, J. (1957) Archiv f. Hygiene und Bakter. 141, 469  
Carrère, L. et Roux, J. (1954) C. R. Soc. Biol. 148, 2052  
Dienes, L. (1942) J. Bact. 44, 37  
Gresset, et Bonifas, V. (1955) Ann. Inst. Past. 88, 651  
Houdoroy, P. (1949) Bull. Acad. med. 133, 669  
İngeborg, S. (1956) Ärztliche Wschr. 13, 283  
Lavashe, V. S. (1962) Bullt. de L'Inst. Past. 60, 46, (6200094)  
Minck, R. (1954) C. R. Soc. Biol. 148, 715  
Moustardier, G., Brisson, J. et Perrey, M. (1953) Ann. Inst. Past. 85, 520  
Roux, J. (1954) C. R. Acad. Sc.  
Sorel, C. (1954) Organisation Mondiale de la Santé WHO/VDT/123

## MUHTELİF MADDELERİN KURBAĞADA SPERM İTRAHINA TESİRİ [\*]

Dr. Şükrü KAYMAKÇALAN [\*\*] ve Dr. Sevinç ATABAŞ [\*\*\*]

Erkek kurbağalarda sperm itrahının tetkiki, son zamanlarda gebeliğin erken teşhisi için bir biyolojik test olarak geniş bir şekilde kullanılmaktadır (2, 6, 10). Galli-Mainini adını da alan bu reaksiyon, tekniğin basitliği, çok kısa zamanda netice alınması ve ekonomik olması özelliklerinden, aynı maksatla yapılan Friedman ve Ascheim—Zondek reaksiyonlarının yerini tamamen almıştır. Gebelik teşhisinde kullanılan bütün bu biyolojik reaksiyonların esasının idrarla koriongonadotropik hormon itrahına dayandığı malumdur. Gonadotropik hormonlardan başka, kurbağada Adrenaline ve bazı derivelerinin de sperm itrahını mucip olduğu bildirilmiştir (5, 7). Ayrıca son zamanlarda uzunca müddet trankilizanlarla tedaviye tâbi tutulan psikiyatri hastalarının idrarlarının kurbağada yalancı gebelik reaksiyonu verdiği müşahade edilmiştir (1, 3, 8). Pratik olduğu kadar akademik bir önem de taşıyan bu konu ile biraz yakından ilgilenmeye karar verdik. Bu maksatla muhtelif maddelerin kurbağada sperm itrahına olan tesirlerini araştırdık. Bazı maddelerin tesirleri ile dozları arasında kantitatif bir münasebet olup, olmadığını incelemek gayesiyle kurbağa idrarındaki spermatozoit sayısını tayin ettik. Kurbağada Adrenaline'in yapmış olduğu sperm itrah ettirici tesirin diğer adrenerjik maddelerde de bulunup, bulunmadığını ve bu özelliği gösteren maddelerin kimyasal yapıları ile tesirleri arasında bir bağlantı kurulup kurulmayacağını araştırdık. Ayrıca kurbağada Adrenaline'e bağlı sperm itrahını bir test materyeli olarak ele alıp, adrenerjik sistem farmakolojisinin bazı özelliklerini kontrol maksadiyle, sempatikolitik maddelerle, muhtelif farmakolojik özellikleri haiz diğer maddelerin de tesirleri araştırılmıştır.

### Materyel ve Metod

Tecrübelerimizde kullanılan maddelerle bu maddelerin bir kurbağaya (*Rana esculenta*) tatbik edilen dozu ve her madde ile kaç kurbağada deney yapıldığı Tablo 1 de gösterilmiştir. Tekniğin teterrütatından ayrıca bahset-

[\*] Bu çalışmanın bir özeti XVII. Millî Türk Tıp Kongresinde tekdin edilmiştir.

[\*\*] Ankara Tıp Fakültesi Farmakoloji Enstitüsü Kürsü Profesörü.

[\*\*\*] Ankara Tıp Fakültesi Farmakoloji Enstitüsü Asistanı.

mege uzukı görülmemiştir. Kurbağa ...  
Metodu ile lökosit sayma cihazı ile yapılmıştır.

Chlorpromazine ile tedavi gören hastalara ait idrar Ankara Tıp Fakültesi Psikiyatri Kliniğinden temin edilmiştir. Dördü erkek ve ikisi kadın olan bu hastaların hepsi kâhil olup, ortalama olarak 11, 6 gün müddetle günde 212 mgm. Chlorpromazine kullanmışlardır.

Tablo 1. de bildirilen deneylerden başka, sempatikolitik maddelerin Adrenaline'in sperm itrah ettirici tesirini önleyip, önlemediğini kontrol gayesile 30 kurbağada Yohimbine (250  $\gamma$  — 2 mgm) dan yarım saat sonra Adrenaline (500  $\gamma$  — 1 mgm), 12 kurbağada Dihydroergotamine (250  $\gamma$  ) den yarım saat sonra Adrenaline (250  $\gamma$  ) ve 18 kurbağada da Hydergine (250  $\gamma$  — 500  $\gamma$  ) den yarım saat sonra Adrenaline (250  $\gamma$  — 500  $\gamma$  ) zerkedilerek dörder saat müddetle kurbağaların idrarında sperm araştırması yapılmıştır.

Tablo 1. Kurbağada Sperm İtrahına Tesiri Arastırılan Maddeler.

Maddenin adı	Doz	Kurbağa sayısı	Maddenin adı	Doz	Kurbağa sayısı
<b>I. Sempatikomimetik :</b>			<b>III. Muhtelif :</b>		
Adrenaline Chl.	250—500 $\gamma$	15	Choriongonadot.	50—500 U.	88
Noradrenaline Bit.	200 $\gamma$ —2 mgm	15	ACTH	1—10 U.	3
Isoprenaline Sulf.	50—500 $\gamma$	3	Posthipofiz ekst.	5 U.	2
Ephedrine Chl.	1—10 mgm	13	Reserpine	0,1—1 mgm	5
Sympathol	1—10 mgm	9	Chlorpromazine	250 $\gamma$	2
Neosynephrine	10 mgm	8	Hexamethonium Chl.	1—10 mgm	3
Veritol	1—10 mgm	14	Morphine Chl.	1—10 mgm	6
Privine	200 $\gamma$ —2 mgm	3	Chloramphenicol	5—50 mgm	3
Tyzine	1—2 mgm	6	Histamine Phos.	50—500 $\gamma$	3
<b>II. Sempatikolitik :</b>			Aminophylline	10 mgm	6
Priscol	1—10 mgm	26	Vergitryl	0,1 U.	2
Regitine	1—10 mgm	13	Chlorpromazine tedavisinde		
Yohimbine	250 $\gamma$ —5 mgm	3	6 psikiatrik hastanın	2—3 cc	14
Ergotoxine Phos.	250 $\gamma$ —	3	idararı		
Dihydroergotamine	1—5 mgm	10			
Hydergine	250 $\gamma$	6			

### Tecrübe sonuçları

Choriongonadotropin Adrenaline, Noradrenaline ve Isrenaline (Isopropylnoradrenaline) ile yapılan bütün deneylerde kurbağada sperm itrahı tespit olunmuştur. Diğer sempatikolitik maddelerden Veritol 10 mgm ile 9 kurbağadan 2 sinde pozitif, Neosynephrine 10 mgm ile 8 kurbağadan 2 sinde pozitif sonuç vermiştir. Sempatikolitik maddelerden Priscol 10 mgm ile 14 kurbağadan 8 inde pozitif sonuç vermiştir. Bu iki grubun dışında

...müshemmesinde de 10 mgm ile 6 kurbağadan 1 inde sperm itrahını mucip olmuştur. Diğer bütün maddeler ile Chlorpromazine tedavisindeki hastaların idrarı negatif sonuç vermiştir.

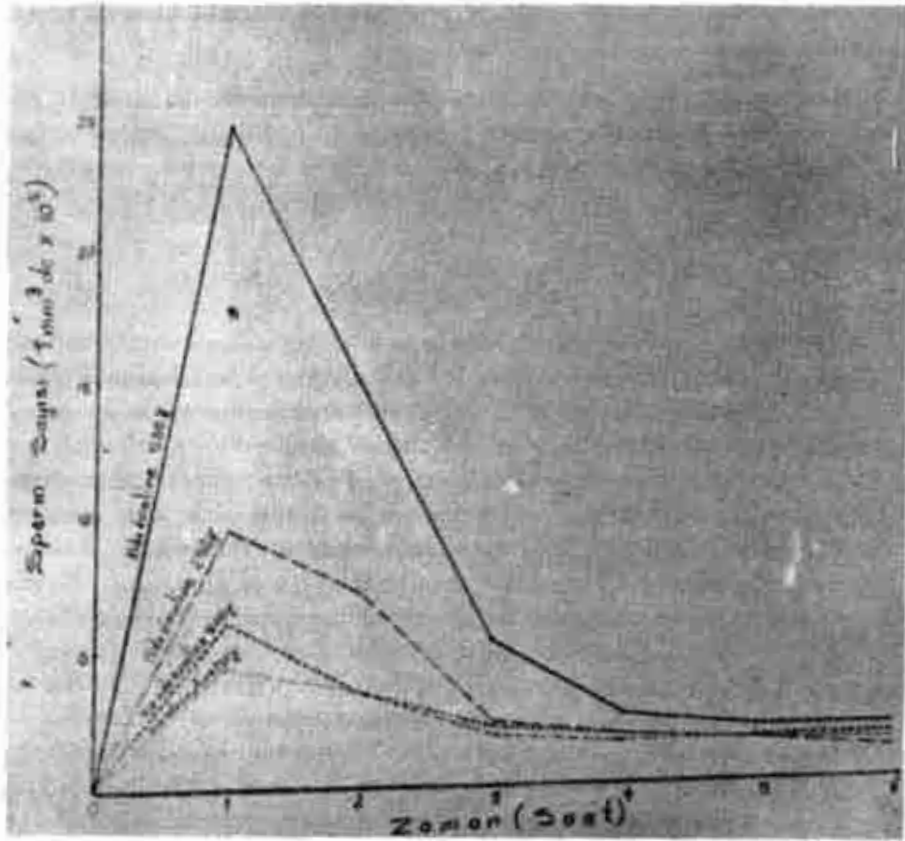
Kurbağa idrarında spermatazoit sayısı ile yapılan deneyler, aynı ilâcın aynı dozuna karşı muhtelif kurbağaların verdiği cevapta çok büyük endividüel farklar olabileceğini, fakat muhtelif kurbağaların verdiği cevabın ortalaması alındığında doz ile tesir arasında bir münasebet bulunduğunu, birinci saatin sonunda tesirin en şiddetli olduğunu ve 6 saat zarfında bu tesirin tedricen azaldığını göstermiştir (Şekil 1 ve 2).

Sempatikolitik maddeler ile Adrenaline'in müştereken kullanıldığı deneylerde Yohimbine Adrenaline'in tesirini % 60 nispetinde, Hydergine ise % 28 nispetinde önleyebilmiş, buna mukabil Dihydroergotamine hiç önleyememiştir.

### Münakaşa ve hüküm

Bazı ilâçların çok yüksek dozuna karşı 1—2 kurbağanın verdiği müspet reaksiyon istisna edilirse, gonadotropik hormonlardan başka kurbağada sperm itrahını mucip olan maddelerin (Adrenaline, Noradrenaline ve Isoprenaline) catechol derivesi sempatikomimetikler olduğu görülmektedir. Hinglais ve Hinglais (5, 7), kurbağada yapmış oldukları aynı mahiyetteki çalışmalarda Adrenaline, Noradrenaline ve Adrenalone ile müspet sonuç elde etmişler, buna mukabil Adrenoxyl, Ephedrine, Acetylcholine, Pilocarpine, Eserine, Atropine, Histamine ve Yohimbine sperm itrahını mucip olmamıştır. Burada pozitif tesir gösteren maddeler arasında yer alan Adrenalone'un da bir catechol derivesi sempatikomimetik olması enteresandır. Elde ettiğimiz sonuçlar adı geçen iki yazının neşriyatına bir kaç bakımdan uymaktadır: a) Her iki çalışmada da kullanılmış olan maddelerden Adrenaline, Noradrenaline, Ephedrine, Histamine ve Yohimbine aynı şekilde tesir göstermişlerdir. b) Spermatazoit sayısını tespit ederek yaptığımız kantitatif çalışmalarda, kurbağaların vermiş olduğu cevaplar arasında büyük endividüel farklar tespit ettik. Hinglais ve Hinglais (4) te gonadotropik hormonlara hassasiyet bakımından kurbağalar arasında önemli endividüel farklar olduğunu ve bu hususun hayvanın büyüklüğünden ziyade, testislerin anatomik durumu ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir. c) Adı geçen yazarların başka bir çalışmasında (7), sperm itrahi bakımından Adrenaline'in Noradrenaline'den daha müessir olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da Şekil 2 de görüldüğü üzere, 250 gama Adrenaline'in verdiği cevap 500 gama Noradrenaline'den daha kuvvetli olmuştur.

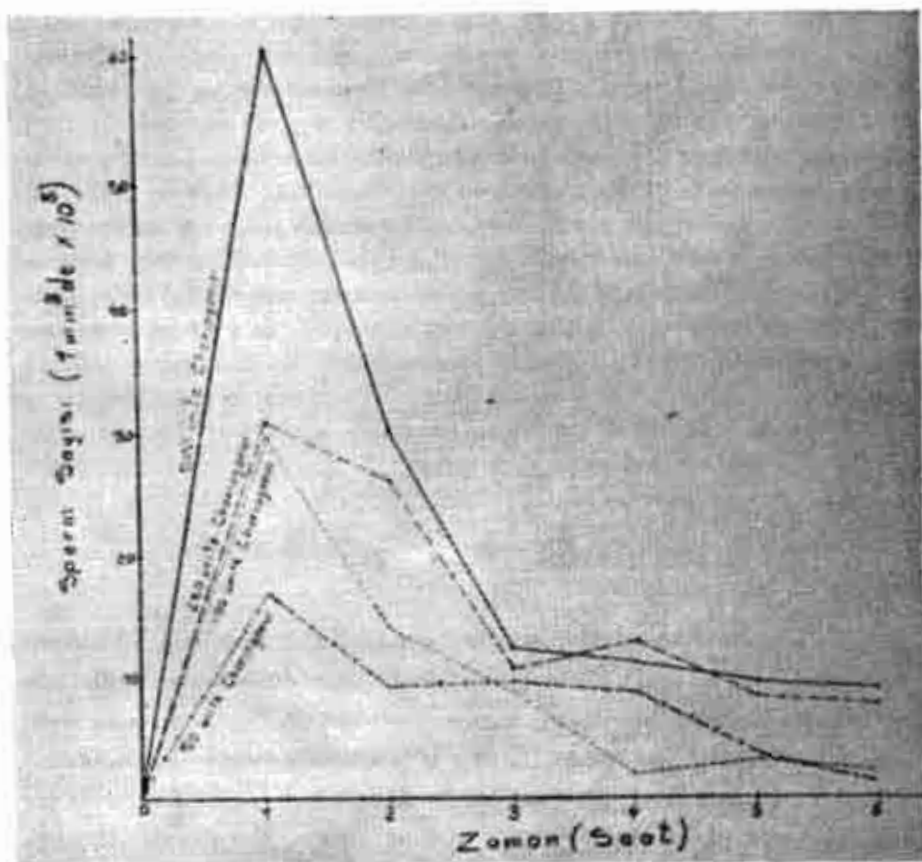
Sempatikolitiklere dahil bulunan Priscol maddesinin yüksek dozda sperm itirahını mucip olabilmesi farmakoloji bakımından enteresandır. Priscol'un insanda yapmış olduğu taşikardi adrenerjik bir tesir olarak kabul olunur. Tecrübelerimizde Priscol'un adrenaline'e nazaran çok zayıf olmakla beraber başka bir adrenerjik tesiri de ortaya çıkmış bulunuyor.



Şekil — 1. Epinephrine'in ve Norepinephrine'in spermatozoi sayısına tesiri

Chlorpromazine ile tedavi gören 6 hastanın idrarı ile yaptığımız deneyler negatif sonuç vermiştir. Bununla beraber gerek hasta sayısının az oluşu, gerekse hastaların nisbeten kısa bir zaman için ilaç kullanmış olmaları bu





Şekil — 2. Choriongonadotropin'in muhtelif dozları ile sperm sayısı arasındaki münasebet

hususla kesin bir hüküm vermemize imkân vermemektedir. Literatürde Chlorpromazine ve promazine ile tedavi gören bir hasta gurubunda % 43 nisbetinde (3) yalnız Promazine ile tedavi gören bir başka hasta gurubunda ise % 75 nisbetinde (1) yalancı pozitif kurbağa reaksiyonu tesbit edilmiştir. Aynı şekilde Prochlorperazine'in de yalancı pozitif gebelik reaksiyonuna sebep olabileceği bildirilmiştir (8). Her halde pratikte gebelik teşhisi için Galli-Mainini reaksiyonu yaparken hastanın Phenothiazine gurubundan bir frankilizan alıp, almadığını araştırmak lüzumludur. Phenothiazine devresi frankilizanların bu enteresan tesirinin mekanizması henüz anlaşılmanıştır. İlk akla ge-

len ihtimal bu maddelerin vücutta bazı hormonal değışikliklere sebep olmalarıdır. Meselâ Phenothiazine gurubundan muhtelif ilâçlarla (Chlorpromazine, Prochlorperazine, Trifluoperazine, Fluphenazine ve Thioridazine), Meprobamate alan 100 kadın psikiatrik hastanın 26 sında anormal süt ifrazı müşahede edilmiştir (8). Aynı şekilde Rauwolfia tedavisindeki bazı hastalarda da gynecomastie tesbit olunmuştur (9). Trankilizan ilâçların meme bezine olan bu tesirlerinin, hipotalamus'un hipofizden prolactin ifrazını frenleyici tesirini inhibe etmek suretiyle olduğu ileri sürülmüştür (9). Bununla beraber Phenathiazine'lerle yalancı pozitif kurbağa reaksiyonu veren idrarın Friedman reaksiyonu ile pozitif sonuç vermeyişi ve yine bu hastaların kan serumunun kurbağada pozitif tesir yapmayışı, gonadotropin ifrazının aleyhindedir. Başka bir ihtimal, trankilizan ilâçların idrara geçen metabolizma ürünlerinin kurbağada sperm itrahına sebep olmasıdır. Yaptığımız tecrübeler bizzat Chlorpromazine veya Reserpine'in kurbağada sperm itrahını tenbih etmediğini göstermiştir.

Yazımıza son verirken pratik veya akademik önemi haiz üç nokta üzerinde durmak istiyoruz :

1 — Koriongonadotropik hormonun muhtelif dozlarına karşı kurbağada husule gelen sperm itrahı hakkında takdim ettiğimiz "doz—cevap" eğrilerinin yardımı ile herhangi bir idrarda mevcut koriongonadotropik hormon dozu hakkında kısa zamanda takribi bir fikir elde etmek mümkün olur kanaatindeyiz. Bu hususta Kadın—Doğum Kliniği ile iş birliği yaparak muhtelif gebelik periodlarına ait idrarlarla, Chorionepelioma ve Mol Hydatiform vak'alarına ait idrarlarda deneyler yapmak enteresan olur

2 — Adrenaline ve Noradrenaline'in kurbağada yapmış olduğu sperm itrahının Pheochromocytoma vak'alarının teşhisinde pratik bir değeri olup, olamayacağı hususu düşünülebilir. Her ne kadar henüz bu şekilde bir inceleme yapmak fırsatını bulamadık ise de, bu vak'alarda idrarda itrah edilen catecholamin dozunun kurbağada sperm itrahına bir tesiri olabileceğini zannetmiyoruz,

3 — Yapmış olduğumuz deneylerde muhtelif antiadrenerjik maddelerin Adrenaline'in tesirine mani olamayışı, Adrenaline'in kurbağadaki bu tesirinin daha ziyade beta reseptörlerle alâkalı olduğunu düşündürmektedir. Bu hususu kontrol etmek gayesiyle —temin edebildiğimiz takdirde— Dichlorisopropylarterenol maddesi ile de bazı deneyler yapmayı düşünmekteyiz.

## Ö z e t

1 — Sempatikomimetik, Sempatikolitik ve muhtelif farmakolojik özellikleri haiz olmak üzere üç grupta toplanabilen 26 maddenin kurbağada sperm itrahına olan tesirleri araştırıldı. Bunlardan Choriogonadotropin, Adrenaline, Noradrenaline ve Isoprenaline ile kuvvetli pozitif netice alındı. Ayrıca Prisol ve nadiren de Veritol, Neosynephine ve Aminophylline sperm itrahını mucip olabilmektedir.

2 — Sempatikomimetiklerden kuvvetli pozitif tesir gösterenler, Catechol derivesi olanlardır.

3 — Sempatikolitiklere dahil olan Prisol'un yüksek dozlarda sperm itrahını mucip olmasının farmakolojik manası üzerinde duruldu.

4 — Choriogonadotropin, Adrenaline ve Noradrenaline'in muhtelif dozlarının tesiri ile, spermatazoit sayısı arasındaki münasebetler araştırıldı. Spermatazoit sayısının birinci saatin sonunda azarlı olduğu ve altı saat zarfında tedricen azaldığı tespit olundu.

5 — Sempatikolitiklerden Yohimbine, Hydergine ve Dihydroergotamine'in Adrenaline'in sperm itrah ettirici tesirini tamamen bloke edemedikleri tesbit olundu.

6 — Chlorpromazine tedavisindeki 6 hastanın idrarı menfi sonuç verdi. Bu münasebetle Phenothiazin derivesi trankilizanların sebep olabildiği yalancı gebelik testinin mekanizması gözden geçirildi.

7 — Yukarıda sıralanan bulguların pratik ve akademik yönden münakaşası yapıldı.

Chlorpromazine tedavisindeki hastaların idrarı ile deney yapmak imkânını veren Fakültemiz Psikiatri Kliniğine ve bilhassa sayın arkadaşımız Doç Dr. D. Karan'a teşekkürlerimizi sunarız,

## THE EFFECTS OF SEVERAL DRUGS ON THE SPERM EXCRETION IN FROG

**Prof. Dr. Şükrü KAYMAKÇALAN and Dr. Sevinç ATABAŞ**

Dept. of Pharmacology, Ankara University Medical School

### Summary,

1.) The effects of the following drugs on the sperm excretion in frog have been investigated : Epinephrine, Norepinephrine, Isoprenaline, Ephedrine, Sympathol, Neosynephrine, Veritol, Privine, Tyzine, Priscol, Regitine, Ergotoxine, Dihydroergotamine, Hydergine, Choriogonadotropin, ACTH, Post pituitary extract, Reserpine, Chlorpromazine, Hexamethonium, Morphine, Chloramphenicol, Histamine, Aminophylline, Yohimbine and Vergitryl. Among these 26 substances Choriogonadotropin, Epinephrine, Norepinephrine and Isoprenaline produced sperm excretion in every experiment. Priscol and in a lesser degree Veritol, Neosynephrine and Aminophylline also produced positive reactions in some experiments.

2.) The adrenergic substances which gave a definit and strong result are the catechol derivatives.

3.) Priscol which is an adrenergic blocking agent, in bigger doses produced sperm excretion. This finding calls attention to the positive chronotropic effect of Priscol.

4.) The quantitative relations between the doses of Choriogonadotropin, Epinephrine and Norepinephrine and the amount of spermatozoit in the frog's urine have been investigated. The sperm excretion is maximum at the end of first hour and it decreases gradually during six hours.

5.) Yohimbine, Hydergine and Dihydroergotamine could not completely block the action of Epinphrine on the sperm excretion,

6.) The urine of six psichiatric patient under Chlorpromazine treatment gave negative result. The mechanism of the pseudo-pregnancy reaction due to these kind of medication has been discussed.

## L I T E R A T Ü R

- 1.1 Foxworthy, D. L. and Lehman, R. M. False—positive Frog Tests due to Promazine Hydrochloride. *Obst. Gynecol.* 10 : 385, 1957.
- 2.1 Galli—Mainini, Carlos. Pregnancy test using the mele batrachia. *J. A. M. A.* 138 : 121, 1948.
- 3.1 Hilbert, G. H. False—Positive Pregnancy Tests Caused by Sparine and Thorazine. *Am. J. Clin. Path.* 31 : 466, 1959.
- 4.1 Hinglais, H. et Hinglais, M. Emploi des amphibiens mâles pour le recherche des gonadotrophines. Action des doses massives répétées des gonadotrophines chorales sur la migration spermatique. *C. R. Soc. Biol.* 143 : 809, 1949.
- 5.1 Hinglais, H. Hinglais, Actions de l'adrénaline sur l'excrétion spermatique chez les grenouilles mâles. *C. R. Soc. Biol.* 143 : 811, 1949.
- 6.1 Hinglais, H. et Hinglais, M. Le Rane et la Bufo—réaction de grossesse. *Presse Med.* 58 : 95, 1950.
- 7.1 Hinglais, H. et Hinglais, M. Action des dérivés adrénalinique sur le spermatomigration chez la grenouille mâle commune et les amphibiens mâle communes. *C.R.Soc. Biol.* 150 : 55, 1956.
- 8.1 Hooper, J. H. et al. Abnormal Lactation Associated with Tranquilizing Drug Therapy. *J. A. M. A.* 178 : 506, 1961.
- 9.1 Khazan, N. et la, The Mammotropic Effect of Tranquilizing Drugs. *Arch. Int. Pharmacodyn. et Therap.* 136 : 291, 1962.
- 10.1 Hodgson, J. E. Office Use of the Frog Test for Pregnancy. *J. A. M. A.* 153 : 4 1953.

## MUHTELİF BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİKLERE HASSASİYETLERİ VE BU HUSUSTA KULLANILAN TESTLERİN MUKAYESESİ [\*]

Necmettin ALKIŞ

İrfan TUNA

Rerik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

1935 yılında farelerin, hemolitik streptokoklardan mütevellit öldürücü enfeksiyonunda Domagk'ın azo boyaları (sulfonamido-chrysoidin) ile şifalı tesir elde edilmesiyle açılan chimiotherapeutique yol süratle inkişaf etti.

Daha sonra 1940 da Oxford'da Florey ve arkadaşlarının çalışmaları ile Fleming'in 1928 de tesadüfen keşfetmiş olduğu Penicillin inkişaf ettirilerek antibiotik devri açılmış oldu.

Gerek chimiotherapeutique ilâçların ve gerekse antibiotiklerin patojen bakteriler üzerine olan harika tesirleri, bu ilâçların, lüzumlu, lüzumsuz her hastalıkta kullanılması, ve en basit antipiretik ilâçlar gibi serbestçe ve hiç bir kayda tâbi tutulmadan satılması neticesi; bu ilâçlara karşı mukavemet husule gelmesine ve bu sebeple de bu çok kıymetli ilâçların bakteriler üzerindeki tesirlerini kaybetmelerine sebebiyet vermiştir. Gelişi güzel kullanılan bu ilâçlar enfeksiyonların gelişmelerine, bakteri flora ve formlarının değişmelerine sebep olmaktadır. Bu husus hergün klinikte ve bu işlerle uğraşan lâboratuvarlarca müşahade edilmektedir. Antibiyotiklere mukavim bakterilerin, bilhassa son yıllarda aşırı şekilde artışı yeni yeni antibiotiklerin keşfi için devamlı araştırmalar yapılmasına sebep olmaktadır.

Bu güne kadar yapılan tecrübeler göstermiştir ki keşfedilen ve tedavide kullanılan her antibiotik yeni bakteri varyasyonlarının meydana çıkmasına âmil olmaktadır.

Antibiyotiklerin çok defa, hassasiyet testi yapılmadan tesadüfi ve sadece klinik teşhise göre verilmesi, bu gün tedavide kullanılmakta olan 20 kadar antibiotikten pek çoğunun tesirsiz hale gelmesine sebebiyet vermiştir. (1—2—3—4—5—6—7)

Bütün dünyada kullanılmakta olan antibiotik miktarı çok fazladır. Birleşik Amerika'nın yıllık antibiotik istihşâli, global olarak 500 tondur (1). Ar-

[\*] X. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

karada, bir yıl zarfında, altı hastahane de 163 kilo antibiotik kullanılmıştır. İstanbulda 1959 yılında 306279 gr. Chloramphenicol, 25703 gr. Oxytetracyclin, 18907 gr. Tetracyclin, 4919 gr. Chlortetracyclin, 712 gr. oleandomycin, ve 438 gr. Erythromycin kullanılmıştır (I). Şüphesizki bunlar sadece hastahane de verilen miktarlardır. Buna, hastaların hekime danışmadan aldığı miktarlarda ilâve edilecek olursa bu rakkamların 2-3 misli antibiotiğin bu iki şehirde kullanılmış olduğu anlaşılır. Mutad olarak antibiotikler tam dozda verilmediği, veya tam olarak tesirini göstermediği hallerde bakteriler, bu antibiotiğe karşı mukavemet kazanmaktadırlar. Kronik vak'alar da elde edilen suşların, muhtelif antibiotiklere karşı mukavemetleri daha fazladır. Esasen tedaviye yeni sokulan bir antibiotiğin, tesirli olduğu bildirilen bakterilere karşı bile muayyen bir nisbette (Yüzde beş kadar) mukavim olduğu görülmektedir. İlk keşfinden itibaren büyük güvenle kullanılan penicillin bu gün artık, bilhassa memleketimizde, değerini kaybetmek üzere dir. Penicilline mukavim Staphylococcus Aureus suşlarının (8) e göre yüzde seksen iki, (9) a göre yüzde 78,6; (1) e göre yüzde 66,3; (10) a göre yüzde 86,6; (II) e göre ise yüzde 71 nisbetinde bulunuşu bu değerli antibiotiğin çok suistimal edilmiş olduğunun bir belgesidir.

Geniş spektrumlu olarak tanınan, fakat patojen etkenin cinsi tayin edilmeden ve hassasiyet testi yapılmadan kullanılan antibiotiklere karşı da mukavemet artmaktadır. Gram menfi bakteriler chloramphenicol'a yüzde 59 teracyclin grubuna yüzde 32—40 Neomycin'e yüzde 64 hassastır. (Waisbren B. A.).

Antibiotiklerin bakterilere tesirleri değişik olduğu gibi aynı nevideki suşların dahi hassasiyetleri arasında fark mevcuttur (8—10—11). Bununla beraber patojenite ile hassasiyet arasında kat'i bir münasebet yoktur. Muhakkakki burada bakterilerin antibiotiklere karşı olan mukavemetlerinden başka faktörlerin de rolleri olması icap etmektedir. Acné ve folliculite'lerden izole edilen staphylococcus albus'ların pek çok antibiotiğe mukavim oluşları antibiotiklerin fazla kullanılmasından ziyade, affinite, süt analık gibi faktörlerle izah edilebilir. (6—8—12).

Patojen bakterilerin antibiotiklere karşı hassasiyet veya mukavemet tecrübelerinin çok önemi vardır. Tesirli ve rasyonel bir tedavi takip edilmek ve netice alınmak isteniyorsa bu tecrübeyi yapmak elzemdir.

Bir suşa sadece, hassas veya rezistan demek kâfi değildir. Bunu kantitatif olarak değerlendirmek icap eder. Rezistan bir suş demek o antibiotiğin in vivo en yüksek kesafetinde bile üreyebilen bir suş demektir. Antibiotiklere karşı bakteriyel rezistans, bu antibiotiğin tedavide tesirli olarak kulla-

ılmasına başlıca engeldir. Bir tedavi esnasında bu halin görülmesi hastayı bu ilâcın faydalı tesirinden mahrum bırakır.

Rezistans sebebinin biyöşimik mekanizması tamamiyle tanınmış olmakla beraber başlıca şu iki prensibin mevcudiyeti kabul edilmektedir.

1 — Bakteri hücrelerine antibiotikin nüfuz edememesi, Rezistan bakteri hücrelerinde hassas reseptörlerin bulunmaması veya bunlara rağmen hücre metabolik faaliyetinin devam etmesi.

2 — Hususi bir inhibitör veya enzim neticesi antibiotikin harab olması

#### **Hassasiyet testleri için indicationlar**

a) Muayyen bir antibiotike daima hassas olarak kalan bir bakteri tarafından husule gelmiş bir enfeksiyonda ve bu enfeksiyonun tabiatı klinik ve bakteriyolojik olarak tesbit edilmiş olduğu hallerde hassasiyet deneyi yapmaya lüzum yoktur. Meselâ A grubu streptococcus pyogenes penicillin'e daima hassastır.

b) Enfeksiyonun tabiatı henüz belli olmamış vak'alarda, eğer kültürde patojenliği şüpheli, karışık bakteriler elde edilmiş ise bunlardan yapılacak bir hassasiyet deneyi tedaviyi karıştırmaz.

Buna mukabil şöyle vak'alarda rezistans deneyi tavsiye edilir :

1 — Meselâ stafilokoklar, mukobakterium tuberculosis, veya gram negatif bakteriler (Esheriçhia, Klebsiella, Pseudomonas, Proteus) le husule gelmiş bir enfeksiyonda rezistans deneyi mutlaka lâzımdır. Çünkü bu bakterilerin bir çok suşları bir çok antibiotike mukavimdirler.

2 — Herhangi bir antibiotik kullanılmakta iken (Meselâ streptomycin gibi) buna karşı çok çabuk rezistans husule gelebilir.

Hassasiyet deneyinde antibiotikleri şu şekilde gruplandırabiliriz :

Penicillin'ler

Streptomycine ve Dihydrostreptomycine

Tetracycline grubu

Neomycine (Kanamycine, Framycétine, Paramomycin)

Erythromycine (Oleandomycine, Spiramycine)

Polimixine B ve Colistine

Bu gruplardaki antibiotiklerin bakteriler üzerindeki tesirleri birbirlerine



çok muşabın otduklarından her gruptan bir tanesi ile hassasiyet deneyi yapmak kâfidir.

Bakteri hassasiyetini tayin için kullanılan metodlar umumiyetle ikidir :

1 — Dilüsyon metodu

2 — Diffüzyon metodu

Dilüsyon metodunda, muhtelif kesafetteki antibiotikleri ihtiva eden tüplerde bakteri kültürünü enkübe etmektir. Umumiyetle mayi vasatlarda yapılır. Bu metodun avantajı muayene edilen bakteri üzerindeki inhibition tesirinin hangi antibiotik kesafette olduğunun kolayca tesbit edilebilmesindedir.

Diffüzyon metodu sert bir vasat üzerinde (Petri kutusundaki jeloz da) antibiotikin diffüzyonu esasına istinat eder. Bu metod da jeloz üzerinde delikler açarak buralara antibiotik mahlulü koymak, veya jeloz sahuna antibiotik emdirilmiş kâğıt disk veya komprime koymak sureti ile yapılır.

Dünya Sağlık Teşkilâtının "Bakteri hassasiyet test metodlarının Standardizasyonu" hakkında antibiotik eksperler komitesine hazırlatılmış olan ikinci raporda tavsiye edilen metodlar arasında tüpte dilüsyon metodu uzun ve zor olarak vasıflandırılmıştır. Diffüzyon metodunda komprimeler kullanmak da az memnuniyet verici bulunmuştur. Çünkü komprimelerde antibiotikin açığa çıkması hem geç olmakta hem de tam olmamaktadır.

Umumiyetle klinik ihtiyacını karşılayacak olan, jeloz üzerine konulan, antibiotik emdirilmiş kâğıt diskler kullanmaktır. Bu diskler 5-7 mm. den fazla kuturlu olmamalı, kalınlıkları da kâfi miktarda antibiotik emecek ve kıvrılmıyacak kadar olmalıdır. Teşkilâtı noksan olan laboratuvarlar ticari maksatlarla hazırlanmış olan bu diskleri kullanabilirler.

### **Tecrübelerimizde kullandığımız metod ve materyal**

Disklere emdirilen muhtelif antibiotiklerin, eriyerek vasata nüfuzları farklıdır, ve böylece inhibitör zonun çapı aynı derecede hassas olan bakteriler arasında farklı olarak meydana gelmektedir. Keza kullanılan vasatın Ph değerinin muayyen oluşu antibiotik için o Ph değerinin uygun olmayışı ile tahribi de düşünülebilir. Disk metodunun pek çok antibiotiğe inukavim bulunduğu ahvalde dilüsyon metodunun yapılması icap etmektedir.

Disk metodlarında geniş inhibisyon zonu veren antibiotik mutlaka en tesirli antibiotik demek değildir. Zonlardaki bir kaç milimetrelilik fark antibiotikin diffüzyon nisbetine bağlı olarak mütalâa edilebilir. Burada bu

bir kaç milimetrelık fark bir tarafa bırakılarak en az 10x10 mm. olarak tavsiye edilmesi icap etmektedir.

Bizim ve diğer araştırıcıların tecrübelerinde görüldüğü üzere Polimixin B nin jeloz diffüzyon kabiliyeti azdır. Takriben 4-5 mm. lik bir inhibisyon zonu husule getirmektedir. Aynı suşlarla dilüsyon metodu ile kontrol ettiğimizde tam hassas olduğunu müşahede ettik. Takip ettiğimiz vakalarda da invitro olarak disk metodu ile aldığımız neticelerin vivo olarak da tesir etmişli.

Biz tecrübelerimizde disk metodu için yüzde beş ilâ yedi defibrine koyun kanı ilâve edilmiş ve son Ph sı 7.0 olan Beef extract ile hazırlanmış yüzde ikilik jeloz ihtiva eden vasat kullandık. Şüphesizki, bakterinin nevine göre, ilâve edilen kan, suş için optimal bir üreme imkânı sağlamaktadır. Neisseria Gonorrhæ'lerle yapılan hassasiyet testlerinde plâklar yüzde onluk Carbon dioxide'de bırakılmıştır. Diğer bakteriler normâl 37 derece santigratlık etüvde enkübe edilmiştir. Diskler (Bacto Unidisk for Antibiotik) ve (Difco Standard) diskleridir. Petrilerimizin çapı 9 mm. dir. Bir petriye 16 cc. vasat konulmuştur. Vasatın safı iyice kuruduktan sonra bakterinin 18 saatlik buyyon kültürünün 1/1000 dilüsyonu yapılarak hava habbeciği bırakılmamak şartı ile, 1 cc. yaygın olarak ekilmiştir. Kültürün fazlası aynı pipetle çekilerek atılır. Yanan hava gazı bekinin etrafına Petriler dizilerek safı iyice kurutulduktan sonra, steril bir pensle antibiotik diskleri, muntazam aralıklarla vasatın safına 6 disk konulur. Karşılıklı olarak yaptığımız tecrübelere istinaden, iyice kuruyan vasata antibiotikin diffüzyon kabiliyetini artırmak için diskler üzerine, ince çekilmiş pastör pipeti vasıtası ile birer damla, steril eau distillée koymak faydalı olmaktadır.

Petri kutuları 18 saat 37 derece C. lik etüvde bırakıldıktan sonra disk etrafında husule gelen inhibitör saha 5 × lik pertavsızla kontrol edilerek tek tek kolonilerin mevcut olmadığını da tesbit ederek disk'in bir kenarından jeloz besi yerine doğru mm. olarak ölçülmüştür. Neticeler hassas, az hassas ve mukavim olarak kaydedilmiştir. Disk'in emmiş olduğu antibiotik miktarları arasında asgari 6 misli fark olmadıkça inhibisyon mıntkalarının genişlikleri arasında fark olmamaktadır. Bundan ötürü disk metodunu kantitatif olarak değerlendirmek imkânı yoktur.

Disk metodunda : Yukarıda arzettiğimiz veçhile Polimixin B nin vasata diffüzyonu az olduğundan ötürü 3-4 mm. lik inhibisyon husule getiren suşları hassas, 1,5-2 mm. olanlar az hassas olarak kabul edilmiştir.

Diğer bütün antibiotikler için 4-6 mm. inhibisyon yapanlar az hassas, 7 mm. ve daha fazla inhibisyon yapanlar hassas, bir kaç mm. lik inhibisyon

... dilüsyonu nusre getirmeyenleri ise mukavim olarak kabul ettik. Kontrol etmiş olduğumuz suşların bir kısmında ise umumi olarak disk'in yakınlarına kadar tek kolonilerin ürediğini müşahede ettik. Bu şekilde olan suşları da mukavim kabul ettik. Esasen bu tarzda üreme gösteren plakları 18 saat sonra tekrar kontrol ettiğimizde tamamen yaygın olarak ürediğini gördük. Biz hassasiyet testlerimizde inhibitör saha hudutları olarak disk'in kenarından vasatta üremenin başladığı sahayı kabul etmekteyiz.

Yukarıda izahına çalıştığımız veçhile kantitatif olarak ve tanı sıhahlı bir şekilde bilhassa disk metoduyla bütün antibiotiklere mukavim bulduğumuz suşları tüp dilüsyon metodu ile kontrol ettik.

Bu hususta Leinbrock'un (13) tavsiye ettiği yarı sentetik : 1 gr. pepton + 3 gr. alanin + 1 gr. glykokol + 5 gr. NaCl + 1000 cc. eau distillée ve bu vasatın otoklavda sterilizasyonundan sonra 5 gr. Glucose ilâve edilen vasatı ile çok iyi neticeler alınmakta ise de bilhassa kötü üreyen suşlar için yüzde beş inaktif serumla veyahutta yüzde bir glikozlu buyyonla iyi neticeler almaktayız. Adı, yani üreme potansiyeli yüksek olan bakteriler için adı buyyon kullandığımızda da hiç bir kötü netice ile karşılaşmadık. Yukarıda zikrettiğimiz vasatların son Ph'ı 7 ye tampone edilir.

Dilüsyon metodunda saf suşun on sekiz saatlik kültürünün 1/10000 dilüsyonu yapılarak steril tüpe 0,1 cc. konur. Üzerine penicillinin 4,5—6,5, streptomycinin 7,5—9, Chlorotetracyclinin 4—5, Oxytetracyclinin 7, Tetracyclinin 5,2, Chloramphenicolun 7, Polimixinin 7, Erythromycinin 8, Neomycinin 7,5 Ph tesir optimumu dikkate alınarak hazırlanmış antibiotik dilüsyonlarından 2 cc. içerisinde :

Penicilline	0,5— 2	Ü./cc.
Streptomycin	2— 10	γ /cc.
Terramycin	5— 30	γ /cc.
Tetracycline	5— 30	γ /cc.
Aureomycin	5— 30	γ /cc.
Erythromycin	2— 15	γ /cc.
Neomycin	5— 30	γ /cc.
Novobiocin	5— 30	γ /cc.
Chloramphenicol	5— 30	γ /cc.
Kanamycin	5— 30	γ /cc.
Polimixin B	25—100	Ü./cc.

... olmak üzere antibiotik dilüsyonlarından 0,1 cc. ilâve etmekteyiz. Tüpler

buyyon, serumlu buyyon, glocoslu buyyon, veyahutta .....  
ile 2 cc. tamamlanır. 18 saat 37 derece C. etüvde bırakıldıktan sonra neti-  
celeri kaydederek hangi ünite de amilin hassas olduğunu işaretlemekteyiz.  
Tüplerin 18-24 saat daha enkübe edilmesiyle de antibiotikin suşun üreme  
kabiliyetini kısmen veyahutta tamamen durdurup durdurmadığını tesbit et-  
mekteyiz. Holman, L. (13) suşun 1/10000 dilüsyonu yerine 18 saatlik glucoslu  
buyyon kültüründen koliform bakteriler için bir damla, stafilokoklar için  
2 damla, streptokok, pnömokok ve diğer ağır üreyen etkenler için 6 damla  
konulmasını tavsiye etmektedir. Biz suşun yukarıda arzettiğimiz dilüsyonu  
ile bu testin yapılmasında hiç bir fark göremedik.

### **Bulgular :**

Muhtelif muayene materyalinden elde edilen mikrop nevileri, suşların  
miktarı tablo : I de gösterilmiştir. Tablonun tetkikinden de anlaşılacağı  
veçhile denemeye tâbi tutmuş olduğumuz 328 suştan 88 suşla stafilokokkus  
Aureus başta gelmektedir. Mevcut yekûnun yüzde 23,8 i. İkinci sırayı 65  
suşla C. difteri işgal etmektedir, yüzde 20,1. Üçüncü Candida Albicans 52  
suşla yüzde 10,6 sını teşkil etmektedir. Tabloda görüldüğü veçhile vajen  
ıfrazatından elde ettiğimiz Candida Albicans ve Corynebacteri takriben aynı  
miktarıdadır. Antibiotiklerin suistimal edilmesiyle Proactinomyceales fa-  
milyasından olan bu iki grup arasında bir münasebet bir geçiş düşünülebi-  
bilir.

Bu corynebacteriler coryne bacterium diphteria değildirler.

Antibiotik hassasiyet testlerini karşılıklı olarak disk ve tüp dilüsyon me-  
todu ile yaparak disklere mukavim çıkan suşları bir kerre de dilüsyon me-  
todu ile kontrol ederek hassasiyet tecrübelerimize dilüsyon metodunu esas  
olarak aldık. Burada disk metodunun yüzde 8-10 nisbetinde bir yanlışme  
gösterdiği dikkatimizi çekti. Esasen kantitatif olarak neticelerin sarıh olarak  
gösterilmeyişi de bu test için fena bir puvandır.

TABLO — I

MATERYALIN CINSİ  (Material) art	Materials zahl	ETKENİN NEVİ (Erregers art oder varietæt)										
		Staphylococcus Aureus	H. E. Coli	Candida	Coryne bacterium diphtheriae	Klebsiella	Pseudomonas Aeruginosa	Neisseria Gonorrhæe	Streptococcus	Corynebacterium	Enterococcus	Muayene mater. elde ed. suş. sayısı (Erregers zahl)
Meni (Sperm)	50	4	5	15				10	6	7	3	50
Vajen ifrazatı (Vaginal saft)	64		4	17		8	5		7	14	9	64
Boğaz, burun materyali (Rachen-Nasen material)	93	20		12	66				10		5	93
Cerahat (Eiterungen)	48	46					2					48
İdrar (Urin)	11		3	3		5						11
Balgam (Sputum)	50	15	3	5					8	7	12	50
Dışkı (Kot)	6	3	3									6
Safra (Duodenal saft)	5		2			3						5
Prostat ifrazı (Prostats saft)	1		1									1
Suş sayısı (Total)	328	88	21	52	66	18	7	10	41	28	29	328

Hassasiyet tecrübelerimizde suşların her antibiotike karşı hassasiyetle rini gerek teker teker ve gerekse antibiotik, suş ve menşei arasında bir münasebetin bulunup bulunmadığını da araştırdık.

Tetkik etmiş olduğumuz antibiotiklerden en kötü neticeyi penicillinden aldık. Suşlarımızın yüzde 86 sının mukavim olduğunu ifade edersek durumun

ehemmiyeti anlaşılmış olur. Mevcut suşlarımızın yüzde 31,4 ü Chloramphenicol'e, yüzde 13 ü tetracyclin grubuna, yüzde 8,2 si erythromycine mukavim bulunmuştur. Suşların yüzde 6-8 nisbeti ise neomycin, novobiocin ve kanamycin'e mukavim bulunmuştur.

Corynebacterium diphteria'ya karşı durum şöyle bulunmuştur. Tetracyclin grubu, chloramphenicol ve erythromycine mukavim suş tesbit edemedik. Neomycin'e yüzde 6,6 s1, penicillin'e yüzde 13,2 si, kanamycin'e yüzde 19,6 s1, novobiocin'e yüzde 21,2 si, furodantin'e yüzde 42,2 si mukavim bulunmuştur.

Polimixin B ye ise mevcut corynebacteri suşlarının yüzde 10,6 s1 hassas bulunmuştur.

Polimixin B nin durumuna gelince : 21 hemolitik E. Coli ve 18 klebsiella pneumonie üzerinde yaptığımız hassasiyet testinde mukavim suş tesbit edemedik. Polimixin B staphylococcus aureuslar dahil diğer âmiller üzerinde hiç bir tesir göstermedi. Pseudomonas aeruginosa üzerindeki tesirleri ise hassas suşlar tesbit edilmiştir. Neomycin, novobiocin, streptomycin ve kanamycin'e karşı ise klebsiella pneumonia, hemolitik E. Coliler yüzde 21 nisbetinde hassas bulunmuştur. Neticelerimizi toplıyacak olursak : Tablo II nin tetkiki.

TABLO — 2

ANTIBIOTİKLER (Antibiotikum)	Antibiotiklerin etkenlere tesir yüzdeleri (Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber Antibiotika)		
	% 75—100	% 50—75	% 20—50
Penicillin	C. Diphtheriae		S. Aureus N. Gonorrhae
Streptomycine	C. Diphtheriae Hem. E. Coli Klebsiella Can. Albicans Streptecoccus	S. Aureus	
Chloramphenicol	C. Diphtheriae Streptecoccus Can. Albicans Neis. Gonorrhae	Hem. E. Coli Klebsiella Enterococcus S. Aureus	Pseudomonas
Erythromycine	C. Diphtheriae N. Gonorrhae Streptecoccus S. Aureus Entereoccus	C. Albicans	Klebsiella Pseudomonas
Tetracycline	C. Diphtheriae S. Aureus Streptecoccus	Pseudomonas	Klebsiella C. Albicans
Terramycine	C. Diphtheriae	S. Aureus	
Aureomycine	C. Diphtheriae	S. Aureus	
Neomycine	Klebsiella C. Diphtheriae S. Aureus C. Albicans	H. E. Coli Pseudomonas	
Novobiocin	C. Diphtheriae S. Aureus	Klebsiella H. E. Coli C. Albicans	
Polimixın B	H. E. Coli Klebsiella Pseudomonas		C. Diphtheriae
Kanamycine	C. Diphtheriae	Klebsiella Pseudomonas H. E. Coli	

OLDUGU GÖRÜLÜR.

## MÜNAKAŞA VE NETİCE

Enfeksiyon etkenleri invitro olarak yapılan hassasiyet deneyleriyle seçilen antibiyotikle tedavi edilebilir. İnvitro olarak hakim olunamayan (affinite, Sinergizm, süt analık v. b. gibi) faktörler istisna edilirse invitro testler neticesinde hassas olduğu bilinen antibiyotiklerle invivo olarak netice alınabilir. Her ne kadar rutin olarak disk metodu ile süratle netice alınabilirse de, kantitatif olarak antibiyotikin bildirilmesi, antibiyotiklerin pH optimumlarının tam olarak hazırlanabilmeleri ve hastanın mikrop nevinin tam hassas olduğu antibiyotiki alabilmesi ve dolayısıyla de kantitatif olarak antibiyotik dozunun kan aynasındaki ıtrahına göre doz tayin edebilmek bakımından dilüsyon-tüp metodu disk ve benzeri metodlara tercih edilir. Esasen tecrübelerimiz disk metodunun 8-10 % luk bir yanılma payı göstermiş olduğu dikkatimizi çekti. Lüzumu olmadığı halde yüksek dozlarda antibiyotiklerin verilmesiyle de sekonder etkenler mukavemet kazanmaktadır.

Hassasiyet testlerinde patojen etkenin saf olarak izolesiyle bunun kültüründen hassasiyet testi yapmak en uygundur.

Stafilokoklar penicilline 82 % nisbetinde mukavim bulunmuştur. Bu muhtelif araştırmacıların neticelerine intibak etmektedir. (2,4,9,10,11).

*Coryn. diphterae*'ye karşı aldığımız neticeler T. Çetin ve Arkadaşlarınınkine uymaktadır. Yalnız biz Polymixin B ye çok daha az hassas suşlar tesbit ettik. Hem *E. Coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* için en iyi neticeleri Polymixin B, Neomycin, Kanamycin, Novobiocinden aldık (75—100 %).

Neomycin, Novobiocin, Kanamycin, Chloramphenicol, Tetracyclin grubu ve Erythromycin, *Coryn. diphteriae*, Streptokok, Neis. gonorrhoeae, *Staph. aureus*, *Can. albicans* üzerinde tama yakın müessirdir (75—80).

Polymixin B yukarıda işaret ettiğimiz bakteriler hariç iyi netice vermemektedir.



# EMPFÄNDLICHKEIT DER BAKTERIEN GEGENÜBER ANTIBIOTIKA NACH VERSCHIEDENE METHODEN

Necmettin ALKIŞ

İrfan TUNA

Refik Saydam Zentral Hygiene Institut

Ankara/Türke

Mit der Einführung der Antibiotika in die Klinische Praxis und zugleich mit der Erkenntnis der Grenzen ihrer therapeutischen Verwendbarkeit ist der Wunsch nach Testverfahren.

Wir haben mit der Disk [\*] Röhrchentest Methoden gearbeitet. Bei insgesamt 328 Materialien konnten als verschiedene Erreger isoliert werden (Tabelle I)

Wir haben gesehen dass die Disk-Methoden 8-10 % Fehler enthalten. Deshalb empfehlen wir das zweite mal mit dem Röhrchen-test zu kontrollieren. Es ist möglich mit —dem Röhrchen— methoden quantitativ gute ergebnissen zu erzielen, auch die Fehler —quellen sind verhaeltnissmaessig niedrig.

Penicillin hat die schlechtesten resultate gegeben.

Antibiotikum	in Prozent rezistenz
Penicillin	86
Chloramphenicol	31,4
Tetracyclin	13
Erythromycin	8,2
Neomycin	6
Novobiocin	6
Kanamycin	8

Sensibilitaetsprüfung gegenüber verschiedene Antibiotikum im Röhrchen-test s. Tabelle II

[\*] Difco Bacto--Sensitivity Disks.

## LİTERATÜR

- 1 — Çetin, E. T., 1959, Antibiotiklere Mukavim Bakterilerin Çoğalması, Türk Biyoloji Derg., 10,2; 49—61.
- 2 — Akman, M., 1959, Hastahanemizde çocuklardan izole ettiğimiz stafilokokların antibiyotiklere hassasiyet durumları, Çocuk Sağ. Hast. Derg., 2,129.
- 3 — Alkış, N., Bora, N. 1962, 1960—1961 yılları arasında izole ettiğimiz *Corynebacterium Diphtheriae* tipleri, virulans deneyleri ve antibiyotiklere hassasiyetleri, Türk Hij. Tec. Biyol. Derg., XII,I;23—27.
- 4 — Alkış, N., Incl, Ş., Akman, M., 1961, Pathogenic Staphylococci and their Antibiotic Resistance Pattern in Hacettepe Children's Hospital, 2. Orta doğu-Akdeniz Pediatri Kongresi Scientific Program 41.
- 5 — Branch, A., Starkey, H. D., Power, Edna, 1957, 1958, Control of Antibiotic Sensitivity Discs, Reprinted from Antibiotics Annual, 107—110.
- 6 — Zalay, L., Kliss, Irén, Furessy, J., Doblás, G., 1961, Die Produktion eines hochwertigen Staphylokokken-toxins und Fermentor 183,2.
- 7 — Presinger, M., 1956, Zum Problem der Antibiotikaresistenz. Arch. Hyg. 140,281.
- 8 — Alkış, N., 1962, Ankarada izole etmiş olduğumuz *Micrococcus Pyogenes* var. *aureus*ların Lysotipleri, Antibiotiklere hassasiyetleri, Eksotoksinleri ve affiniteleri üzerinde bir araştırma. Türk Hij. Tec. Biyoloji Derg. (Bu sayıda neşredilmekte olan)
- 9 — Çetin, T., Anđ. Ö., Törel, K., 1960. 1958 ve 1959 senelerinde izole ettiğimiz 405 Bakteri suşunun Antibiyotiklere ve Furadantine hassasiyetlerinin denemesi. İstanbul Üni. Tıp Fak. Mec. 23—1, 143—169.
- 10 — Bernhard, S. Volker, L., 1958, Antibiotica rezistenz und Phagenbild bei Pathogenen Staphylokokken, Zbl. Bakt. 171,8 590.
- 11 — Pulverer, G., 1961, Lysotype Serologie, und Antibiogramme, Zschr. Hyg. 147,5—417.
- 12 — Waisbren, B. A., Streiltzer, C. L., 1956—1957, The sensitivity and cross resistances of Gram negative bacilli to antibiotics. Antibiotics Annual 648.
- 13 — Halmann, L., 1955, Bakteriologie und Serologie, 687—698.
- 14 — Org. mou. Santé Sér. Rapp. techn., 1961, 210. Standardisation De La Méthodologie Des Tests De Sensibilité Bactérienne 3,25.

## CORTICOSTEROİDE'LER VE İNFEKSİYON HASTALIKLARI [\*]

Doç. Dr. Etem UTKU

İnfeksiyon Hastalıkları Doçenti,  
Refik Saydam Enstitüsü Mütahassısı

### I — GİRİŞ :

Addison, 1849—1885 yıllarında insanda, Brown—Sequard ise 1856 da, böbrek üstü bezi çıkarılmış hayvanda, sürrenal bezleri hormonlarının hayati ehemmiyette olduğunu gösterdiler (1). 1927 senesinde Rogoff ve Stewart, Hartman, Brownel, Swingle ve Pfiffner (1, 2), sulu ve yağlı vasallarda sürrenal ekstreleri elde ederek, bunlarla adinami, hipotansiyon, mide ve bağırsak bozuklukları, adale zafiyeti, uykuya meyil, metabolizmanın düşmesi, sıcak ve soğuktan çok müteessir olmak, hipoglisemi, anhidremi, kan fosfatlarının ve non proteik nitrojenin artması gibi sürrenal yetmezliği ve bunun sonucu olan ölümü önleyerek, hayat için çok önemli olan bu bezlerin aktif maddelerinin elde edilmesinde ilk adımı atmış oldular. Daha sonraları başta Kendall (3) olmak üzere birçok araştırmacı, bu aktif maddeleri saf olarak elde etmeğe ve bunların şimik yapılarını anlamağa çalıştılar. Bu araştırmacılar sürrenal ekstrelerinden steroid yapıda 30 kristal cisim elde ettiler, Bu ekstrelerin bir çoğunun biyolojik olarak inaktif olduğu anlaşıldı. Fakat içlerinde aktif olanlar da vardı. Bu sonuncular, sürrenalektomi yapılmış hayvanlardaki organ yetersizliğini ve buna bağlı ölümü engellemekte idiler. Son zamanlarda sürrenal bezlerinin fizyolojik faaliyetleri, hormonlarının ve bilhassa aktif olanlarının şimik yapıları ve bunların muhtelif metabolizmadaki rolleri aydınlandı.

Bugün, sürrenal bezleri korteks hormonları, fizyolojik aktiviteleri bakımından 3 guruba ayrılmaktadır :

1 — Mineral Kortikoidler : Elektrolit metabolizmasında önemli rol oynayan hormonlardır. Aktif olanları : Aldosterone, Dosoxy corticosterone (DOC) ve Corticosterone dur.

[\*] Bu çalışma Ankara Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü, Araştırma Şubasında ve Ankara Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Kliniğinde yapılmıştır.

2 — Gliko — Kortikoidler : Karbon hidrat ve protein metabolizmasına tesir edenlerdir. Aktif olanları şunlardır :

- Kendall'ın Coumpound A si : Dehydrocorticosterone.
- " " B : Corticosterone.
- " " F : Hydrocortisone.
- " " E : Cortisone.

Bu iki grup hormona (korteksin metabolik hormonları),

(Corticoide'ler) veya (Corticosteroide'ler) denir (1, 2, 4). Hidrokortizonun periferdeki transformasyonu neticesi cortisone'un husule geldiği de anlaşılmıştır (4).

3 — Genital Kortikoidler : Androjenler, östrojenler ve progesteron denilen bu hormanlar, sürrenal korteksinden başka, gonadlar ve plâsenta tarafından da ifraz edilirler. Çalışma konumuzu ilgilendirmeyen maddelerdir.

Korteks steroidleri, biyo—şimik karakterlerine göre de tasnif edilmişlerdir (5, 6, 7).

Bu asrın başındanberi, hipofizektomi yapılmış hayvanlarda, sürrenal bezlerinin atrofiye olduğu bilinmektedir. Bu hâdise, bu iki bezin, yani hipofiz ile sürrenallerin arasındaki çok sıkı ve hayatî münasebetlerin mevcudiyetini isbat etmişti. Bu yönden yapılan araştırmalar, hipofiz önfussu ekstralarının, hipofizektomi yapılmış hayvanlarda, sürrenal korteksini tenbih ettiğini gösterdi. Bu tesirli maddenin protein yapısında olup, sürrenal korteksi fonksiyonlarına kuvvetle tesir ettiği anlaşıldı. Bu yeni hormona Adrenocorticotropic Hormon (ACTH) adı takıldı. Kortikosteroidlerin iptidai maddesi, kolesterol ve karbon hidratlar ile yağların parçalanması sonucu meydana çıkan asetatlardır (5, 8, 9, 10, 11). Kolesterol, hormonlarla stimüle edilen anzimler vasıtasile korteks steroidlerine tahavvül eder. Bahis konusu anzimler, muhtemelen ACTH tesiri ile faaliyetlerini ayarlamaktadırlar (5, 6, 9, 12, 13,).

ACTH, Kolesterolün steroidlere değişmesini, yani steroid husulünü sür'atlendirir ve miktarlarına tesir eder (6, 12, 13, 14). Kanda steroidler proteinlere ve bilhassa gama globulinlere bağlı olarak bulunurlar (15, 16). Karaciğerde glikuronik ve sülfürik asitle birleşerek ve suda eriyen inaktif maddeler haline gelerek, böbreklerden kolayca itrah edilirler (5, 14, 17, 18, 19).

Tiroidektomi veya miksödem vakalarında sürrenal korteksi fonksiyonlarının gerilediği (4), aksine olarak hipertroidide kortikosteroidlerin itrahının çoğaldığı tesbit edilmiştir (20),

Kortizon ve hidrokortizonun istenmiyen fena yan tesirlerini ortadan kaldırmak ve yalnız iyi tesirli maddeler elde etmek için, son senelerde bu hormonların sentetik deriveleri imal edilip tedavi alanına sokuldu. Bunların en mühimleri şunlardır :

a) Halojen deriveleri : Bunlar Chlorhydrocortisone, Chlorocortisone, Bromohydrocortisone ve Fluorohydrocortisone dur. En iyi deriye en sonucusudur (21).

b) Dehidrojene deriveler : Bunlar, kortizon ve hidrokortizonun birinci karbon atomundan bir hidrojen çıkarılarak elde edilen Prednisone ve prednisolone dur. Bunların Anti-enflâmatuvar tesiri, ana maddelerine nazaran 4-5 kere kuvvetli olduğu halde, yan tesirleri onlardan çok daha hafiftir. Günlük tedavi dozu, klâsik olarak, 30—60 mg., idame dozu ise 5—15 mg. dır (22).

c) Methyl-prednisolone : Antiflojistik tesiri kortizondan 10, hidrokortizondan 6 misli fazla, yan tesirleri daha hafif ve nadirdir. Tedavi dozu 8-40 mg., idame dozu 2-20 mg. dır (23).

d) Fluoro-hydroxy-prednisone (Triamcinolone) : Tesiri ve toksisitesi metil prednizolon gibidir. Tedavi dozu 16-20 mg., idame dozu 2-16 mg. dır (24, 25)

e) Fluoro-methyl-prednisolone (Dexamethasone) : Anti-enflâmatuvar tesiri prednizondan 7—8 defa daha yüksektir, Tedavi dozu günde 2—4 mg., idame dozu 0,75—1,25 mg. dır (26, 27).

Kortikosteroidlerin muadil miktarları aşağıda gösterilmiştir (4) :

25 mg.	Cortisone
20 "	Hydrocortisone
5 "	Prednisone veya prednisolone
4 "	Methyl prednisolone
4 "	Triamcinolone
0,75 "	Dexamethasone

Yukarıda görüldüğü gibi, kortikosteroidlerin pratik tababete intikal edecek kadar inkişaf etmesi, Selye'nin Stres nazariyesi ve muhtelif straster üzerine araştırmalar, ACTH ve kortikosteroidlerin, insanda en fazla görülen bir stres olan infeksiyon hastalıklarında ve organizmanın infeksiyonlara karşı göstermiş olduğu bir reaksiyon olan iltihap hâdiselerinde bu hormonların ne kadar mühim bir rol oynayabileceğini ortaya attı. Bugüne kadar birçok araştırmacılar kortikosteroidlerin, sürrenal yetmezliği dışında daha birçok kıymetli

tesirlerinin mevcut olduğunu gösterdiler (28'den 44'e kadar otan tımarıure bakımız). Bu şekilde, ACTH ve kortikosteroidlerin iltihap hâdiseleri ve infeksiyonların tedavisinde pek çok yenilikler doğurabilecek kıratla ilâçlar olduğu belli oldu.

Kortikosteroidlerin tedavi alanına girdikleri zaman ilk belli olan hassası, bu hormonların iltihabî reaksiyonları nehyedici tesiri oldu. Bu yüzden bunlara (iltihabî önleyici hormonlar — Hormones antiphlogistiques) dendi. İltihap hâdiseleri, çok defa birbirinin aksi nazariyelerle ele alınmış bir problemdir. Bazı yazarlar, iltihabın organizmaya zararlı olduğunu ve binaena-leyh bastırılması icabettiğini ileri sürerler. Diğer bazıları ise, bu reaksiyonun, organizma müdafaa kuvvetlerinin bir tezahürü olduğundan ötürü, kendi seyrine bırakılmasının çok defa daha faydalı olduğunu iddia ederler (45). Fikrimizce her iki noktâi nazar da, vakasına ve zamanına göre haklıdır. Yani bâzan iltihabî bastırmak, bâzan da kendi seyrine bırakmak icabeder. Bütün bu fikirler şu noktada toplanmaktadır ki, antiflojistik tedavi iyi, fakat noksan tedavidir. Eksik tarafı patojen mikroorganizmayı yok edecek spesifik bir tedavi ile beraber yapılmamasıdır. Bundan başka kortikosteroidlerin iltihap hâdiselerinin muhtelif safhalarına nasıl tesir ettiğini, muhtelif streslerde bu ilâçların oynayacağı rolü bilmek elzemdir.

İşte bu travayımız bu komplike problemi çözmek amacı ile yapılmıştır. Bu amaçları kısaca aşağıdaki şekilde özetleyebiliriz :

1 — Bizi ilgilendiren başlıca sters olan infeksiyona karşı organizmanın reaksiyonu olan iltihap hâdiselerinin muhtelif devrelerine, yani :

- a — Yerleşme,
- b — Peristatik dolaşım bozukluğu,
- c — Adaptasyon (antikor teşekkülü),
- d — Şifa (rejenerasyon ve sikatrizasyon) safhalarına;

2 — İnfeksiyon ve infeksiyon hastalıklarına,

3 — İnfeksiyon hastalıklarındaki endikasyon ve kontr—endikasyonlara tesir derece ve mekanizmasını incelemektedir.

Biz, 1958 yılındanberi, Refik Saydem Hıfzıssıhha Enstitüsü Araştırma Şubesi Lâboratuvarlarında ve Ankara Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Kliniğindeki hastalar üzerinde yaptığımız araştırma ve incelemelerimize devam etmekteyiz. Bu travayımız ile bütün dünyada yapılan bu türlü veya buna benzer çalışmalara imkân ve kudretimiz derecesinde katılmak istedik.

## II — Materyel ve metod

Yukarıda da belirtildiği gibi, bu travayımızı ikiye ayırmak mümkün ve konunun dağılmaması için elzemdir. Bunlar :

A — Hayvan deneyleri : Amaçları, bu ilâçların,

a — İnfeksiyonlara,

b — İltihabın muhtelif devrelerine,

c — Bakteri toksinlerine,

d — İlâcın antipiretik mekanizmasına,

tesirlerini incelemektedir.

B — Klinik tatbikat : Hayvan deneyleri sonuçları ve literatür bulguları yardımı ile infeksiyon hastalarına kortikosteroidleri tatbik ederek, bu hastalıklardaki endikasyon ve kontr endikasyonlarını bulmaktır.

Yukarıdaki gayelerin tahakkuku için ilâç olarak, gerek insan ve gerek lâboratuvar hayvanlarında prednisone veya prednisolone kullandık.

Biz, ilâç dozunu dörde ayırdık, şöyle ki, insanlar için :

1 — Ortalama veya fizyolojik doz olarak, 20—30 mg. prednizon veya prednizolon.

2 — Küçük doz olarak 10—20 mg.

3 — İdame dozu olarak 5—10 mg.

4 — Yüksek doz olarak, 30—70 mg.

kabul ettik.

Hayvanlar için ilâç dozu, kilogram başına olmak üzere :

1 — Ortalama doz : 0,05 — 0,1 mg.

2 — Küçük doz : 0,01 — 0,05 mg.

3 — İdame dozu : 0,01 mg.

4 — Yüksek doz : 0,1 — 0,25 mg.

olarak kullandık,

İlâcın tatbik şekli, hayvanlarda da aynı insan tatbikatı gibi yapılmıştır. Yani ağız yolu, lokal ve parentral yol kullanılmıştır.

Hayvanlara ağız yolu ile ilâç vermek, yemlerine karıştırmaktan daha sahil neticeler verdiği için tercih edilmiştir. Bu şekilde, hayvan istenilen dozu muhakkak almaktadır. Hayvana ilâç içirmek için daha evvelki çalışma-

larımızda (46,47) olduğu gibi, ucu iğritilmiş ve bizosu yontulmuş bir lomber ponksiyon iğnesi kullandık. İlâcın istenilen süspansiyon ve miktarı bir şırıngaya çekilerek, iğne hayvanın boğazının üst ucuna getirilir. Yutkunma refleksi doğunca piston itilerek ilâc içirilmiş olur. Bu ameliye hayvanı istenilen pozisyonda tutmasını bilen bir yardımcı ile yapılır. Alışanlar için çok kolaydır.

Tecrübelerimiz (insanda olsun, hayvanda olsun) daima aynı miktar ve şartlarda bir şahit grupla mukayese edilerek ve biyostatistik hesaplara imkân dairesinde uymak suretiyle yapılmıştır. İnsan tıbbikatında, aynı cins hastalıktan bir kısım hastaya kortikosteroid vermeden klâsik tedavi yaptık. Kâfi miktar vaka bulunmayan hastalıklarda, şahit olarak kliniğimizin arşivinden istifade ettik,

Klinik tatbikatı çok daha yüksek adette yapmak istememize rağmen, ilâçların pahalı olması yüzünden vak'a sayısı az olmuştur. Klinik ve lâboratuvar muayenelerini, kliniğimizin oturmuş metodu olan komple klâsik muayene metodları ile, icabettiği zaman bunlara ilâveten ve mümkün olabilen bütün tetkikleri tam olarak yapmağa gayret ettik. Tatbikatımızı 19 çeşit infeksiyon hastalıklarında (eritem polimorf, E. nodozum, tüberküloz menenjit, tüberküloz plörezisi, akut poliartiküler romatizma, abartiküler romatizma, kabakulak orşiti, tetanus, infeksiyöz hepatit, lepra reaksiyonu, sepsisler, tifo, serum hastalığı, bronşial astma, difteri, ilâc veya serum hassasiyeti, agranülositoz) yaptık.

132 vakayı kortikosteroidler ile beraber spesifik veya buna yakın, oturmuş klâsik tedaviye tâbi tuttuk. Diğer 132 vaka şahit gurup olduğundan, kortikosteroidler verilmemiştir.

Hayvan deneyleri için bakteri olarak *Staphylococcus Aureus* suşu kullandık. Çok patojen olan bu suş, bilhassa kobaylarda deri altına şırıngalarda bile geniş ödem ve eskarlara sebebiyet vermekte ve öldürücü septisemi ile sonuçlanabilmekte idi. Stafilokok suşu, taze kültür emülsiyonundan kolorimetrik olarak konsantrite edildi. Bu konsantrasyon, CC. de 1 milyar jerm bulunacak şekilde ayarlandı. Miktar hayvanın kilosuna göre, 1—3 cc. olmak üzere inoküle edildi.

İnfeksiyonların tedavisinde, bakterinin hassas olduğu antibiotik veya şimioterapötiklerden istifade edilmiştir. Hayvan deneylerindeki stafilokok infeksiyonu, hassasiyet deneylerinin neticesi olarak zamanına göre penisilin, eritromisin veya sülfamitlerle tedavi edilmiştir.

İnokülasyon yeri, maksada göre deri altı veya periton içi olarak seçildi.



İnfüksiyon ve ekzotoksin tecrübeleri için kobay kullanıldı. Ekzotoksin tecrübelerinde, tetanus için hayvanı 4 günde, difteri için ise, 2—4 günde öldüren doz kullanılmıştır. Toksinler hayvanın kuyruk dibine veya arka bacağına şırınga edilmiştir.

Kortikosteroidlerin antipiretik hassalarının mekanizmasını incelemek için, kobaylara, 41 derecenin üstüne çıkacak şekilde ateş tevli deden dinitrophenol verilmiştir.

### III — Fondamantal Tecrübeler

Bu tecrübeler 4 ana deney altında toplanmaktadır :

- 1 — İnfeksiyonlarda kortikosteroidlerin tesiri,
- 2 — Bu ilaçların muhtelif iltihap devrelerine olan tesiri,
- 3 — Ekzotoksinlere karşı koruyucu hassaları,
- 4 — Antipiretik hassanın mekanizması.

Bütün bu tecrübelerde staphylococcus aureus suşundan, birinci tecrübeye cc. de 1 milyar jerm periton içine, 2 ci tecrübeye 10 milyon jerm deri altına şırınga edilmiştir. 3. cü tecrübeye difteri ve tetanus toksinleri kobaylara inoküle edildiği zaman, hayvanı 2—4 günde öldüren miktar, doze edilerek kullanılmıştır. 4. cü tecrübeye, dinitrophenol solüsyonu, hayvana ağızdan içirildiği zaman 6—8 saat sonra ateşini 41 derecenin üstüne çıkaran miktar doze edilerek deney yapılmıştır. Bütün bu deneylerde, steroidler ve bakteriyeye hassas antibiotikler ağız yolundan verilmiştir.

Şimdi fondamantal tecrübelerimizi sırasıyla görelim :

#### Deney No. 1 :

120 kobayla yapılan bu tecrübeyin amacı :

- a — İnfekte hayvanlara kortikosteroidlerin koruyucu bir tesiri olup olmadığını incelemek,
- b — Spesifik tedavi ile beraber verilen kortikosteroidlerin, yalnız steroid verilen hayvanlarla mukayesesini yapmaktır.

Bu ana tecrübe 3 grupta toplanmaktadır :

- A — İnfeksiyon tecrübesi :

Yukarıda târif edildiği gibi infekte edilen 60 kobaydan :

a — 30 tanesine bakteriye spesifik tesirli antibiotik (Trisulfamit) ağız yolu ile kilo başına 0,05 gram verildi. Şöyle ki :

— 10 kobaya şimiyoterapötik ilaç, inokülasyonla beraber verildi. Hayvanlardan yalnız birinde 4 gün süren hafif ateş, miskinlik ve iştahsızlık tesbit edildi. Diğer hayvanlar tamamen normal kaldılar.

Bu gurupta ölüm görülmedi.

— 10 kobaya sülfamid, ateş, halsizlik, uyuklama, iştahsızlık gibi hastalık belirtilerinin başladığı günden itibaren içirildi. Hepsinde hastalık 7—10 gün zarfında şifa buldu.

— Bu kümedeki hayvanlara şimiyoterapötik, belirtilerin görülmesini takip eden 3. cü gün verildi, Bu hayvanların da hepsi 10—18 gün zarfında iyileştiler.

b — Diğer 30 kobaylık küme, şahit gurubu teşkil etti. Yani, bunlara şimiyoterapötik verilmedi ve infeksiyon kendi seyrine bırakıldı. Bunlardan :

— 24 tanesinde hastalık muhtelif şiddette seyrederek hayvanları 4—32 gün zarfında öldürdü. Otopsileri akut streptokok septisemisi, seftikopyemi, cerahatli peritonit, akciğer abseleri vesaire gibi patolojik tablolar gösterdi.

— Geri kalan 6 hayvanda, tedavi altına alınmadıkları halde vefiyat görülmedi, ve bunlar 13—42 günde şifa buldular.

Bu gurup şahit olup, normal stafilokoksik infeksiyonu ve sonuçlarını, bu infeksiyonun spesifik tedavisini göstermek bakımından önemlidir. Bu deneyin teferruatını ve sonuçlarını aşağıdaki 2 tabloda göstermeyi uygun bulmaktayız :

(Tablo : 1)

**Deney No. 1, (a) küme'si sonuçları**  
(İnfeksiyon deneyi : şahit)

Hayv. sayısı	Ölüm günü	Ölüm sebebi	Ölüm adet %	Şifa adet %	Şifa günü
20	4-7	Sepsis	20 (% 66,66)	—	—
3	15-18	"	3 (% 10)	—	—
1	32	Septikopy	1 (3,34)	—	—
6	—	—	—	6 (% 20)	13-42
30	4-32	Jeneralizas	24 (% 80)	6 (% 20)	13-14

**Deney No. 1, (b) küme'si sonuçları**  
(Spesifik tedavi denemesi)

Hayv. sayısı	Tedavi başı	Hastalanan	Şifa adet %	Ölüm adet %	Şifa günü
10	İnokülasyon ile beraber	1 (% 10)	10 (% 100)	—	0-4
10	Hastalık başında	10 (% 100)	10 (% 100)	—	7-10
10	Hastalığın 3. cü günü	10 (% 100)	10 (% 100)	—	10-18
30		21 (% 70)	30 (% 100)	0	0-18

(Tablo : 2)

Bu tecrübeler gösteriyorki, infeksiyon kendi hâline bırakılırsa, normal seyri yapıyor, bir kısım (% 80) hayvan ölüyor, fakat diğer bir kısmında da, organizma kendi savunma gücü ile infeksiyonu yenerek hayvanlar şifaya (% 20) kavuşuyor.

Spesifik şimioterapi, hastalık enkübasyonunda yapılırsa hastalıklan koruyor, ancak çok cüz'i olarak hafif bir hastalıkla şifayı tevhit ediyor (% 10 hastalık). Hastalığın başında veya biraz ilerlemiş devrede tedaviye alınanlarda, ise infeksiyon bâzan biraz geç te olsa bastırılıyor. Tedavi edilenlerde mortalite görülmüyor,

Bu tecrübe diğer deneyler için tedavi ve enfeksiyonun seyri bakımından şahit olarak ta kabul edilmiştir.

B — Enfeksiyon ve kortikosteroidler :

30 kobay enfekte edildikten sonra :

— 10 tanesine kilo başına 0,01 mg. Steroit,

— 10 " " " 0,1 mg. "

— 10 " " " 0,25 mg. "

ağız yolu ile verildi.

Her 30 kobay da 2—4 gün zarfında jeneralizasyon tabloları ile öldüler (mortalite % 100).

Bu hayvanlarda, başlangıçta enfeksiyon gayet iyi seyretti. Bilhassa bazılannda genel durum tamamen normaldi. Ekserisinde ufak tefek ateş yükselmeleri (38—39,5), hafif iştihasızlıktan başka hiçbir patolojik tablo mevcut değildi. Fakat birdenbire her şey değişti ve hayvanlar ölümlerinden 12—24 saat sonra tanınmıyacak derecede hastalandılar. Otopsislerinde, hemen hepsinde akut sepsis tabloları hâkimdi.

C - - Kombine tedavi denemeleri :

Bu deney, kombine tedavi, yani spesifik tedavi ile beraber kortikosteroidlerin verilmesinin, enfeksiyonlarda ne gibi bir tesir icra ettiğini, kombine tedavi sonucunun nasıl olması gerektiğini incelemek maksadı ile yapıldı. 30 kobay enfekte edildikten sonra :

a — 10 kobay kombine tedaviye alındı. Hayvanlara ağız yolu ile kilo başına 0,05 gr, trisülfamit ile 0,15 mg. prednison verildi ve tedaviye sonuna kadar devam edildi. Ara sıra kortikoidlere fasıla verilerek antibiyotige devam edildi. Bu suretle tam şifa, klinik ve laboratuvar olarak tesbit edilinceye kadar tedavi altında bulunduruldu. Bu küme hayvanlardan yalnız bir tanesi öldü. Otopsisinde pnömokoksik pnömoniden başka patolojik bir bulgu tesbit edilemedi. Diğer 9 u tamamen şifa buldular. Şu halde tecrübe inokülasyonundan başka bir sebepten ölen kobay hariç, vefiyat olmadı.

b — 10 kobayda kombine tedavi devam ederken, kortikoid kesildi, şimioterapiye devam edildi. Bu hayvanlardan yalnız ikisi öldü, diğerleri iyileştiler (mortalite % 20). Ölen her iki hayvanın otopsisinde süpüre peritonit tesbit edildi.

10 koyunda kombine tedavi devam etti. Hastalık klinik ve lâboratuvar bulguları ile salâha gittiği bir zamanda şimioterapi kesildi ve kortikosteroitlere devam edildi. Bu kümedeki hayvanlardan 4 tanesi şifa buldu, geri kalan 6 sında, hastalık gettikçe alevlenerek hayvanları bir iki hafta zarfında ölüme sürükledi (mortalite % 60). Otopsilerinde jeneralizasyon (sepsis) tabloları tesbit edildi,

(Tablo : 3)

**Kombine tedavi (a) küme'si sonuçları**

Hayvan sayısı	Şifa adet ve yüzdesi	Ölüm adet ve yüzdesi
10	9 (% 90)	1 (% 10)

**Not :** Ölen hayvan Streptokok infeksiyonundan ölmediği için bu tecrübeki şifa nispetini % 100 olarak kabul etmekteyiz.

**Kombine tedavi (b) küme'si sonuçları**

(Evvelâ kortikoit kesildi)

Tablo — 4

Hayvan sayısı	Şifa	Ölüm	Mortalite yüzdesi	Şifa yüzdesi
8	8	—	—	% 80
2	—	2	% 20	—
<b>10</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>% 20</b>	<b>% 80</b>

**Kombine tedavi (c) küme'si sonuçları**

(Evvelâ spesifik tedavi kesildi)

(Tablo : 5)

Hayvan sayısı	Şifa	Ölüm	Mortalite %	Şifa %
4	4	—	—	40
6	—	6	60	—
<b>10</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>60</b>	<b>40</b>

Her 3 kümenin tetkikinde, kombine tedavide mortalitenin takriben sıfır olduğu halde, kortizonun kesilmesiyle ölüm nispetinin % 20 ye, spesifik tedavinin kesilmesiyle ise % 60 a yükseldiği görülmektedir.

Kombine tedavide şifa umumiyyetle 2—5 gün zarfında tamamiyle iyileşir. Halbuki, yukarıda da gördüğümüz gibi, yalnız spesifik tedavi yapılan hayvanlarda bu müddet 3 misline kadar çıkmaktadır.

### Deney No. 2 :

Bu tecrübe kortikosteroidlerin iltihabın muhtelif devrelerine tesirlerini incelemek amacı ile yapılmıştır. Bu maksatla 30 kobaya, 10 milyon jerm, deri altına inoküle edildikten sonra, 10 ar kobaydan 3 guruba, bunlarda 5'er kobaydan 2 şer kümeye ayrıldılar. Her grubun bir kümesine ufak doz kortikosteroid (kilo başına 0,01 mg.) diğerine ise fort doz (kilo başına 0,25 mg.) ilâç ağız yolu ile verildi. Şöyle ki :

- a — 10 kobaylık birinci guruba kortikoid inokülasyonun 2. ci günü verilmeğe başladı. Bunların hepsi şifa buldular, İnokülasyon yerindeki ödem ve konjestion geriledi, infeksiyon lokalize olarak abseleşti. Bu da drene olarak boşaldı ve hayvanlar iyileştiler.
- b — Yine 10 kobaylık ikinci guruba steroid, inokülasyondan 4 gün sonra verildi. Kortikosteroid tedaviye başlandığı zaman hayvanların derisinde şiddetli ödem ve konjestion teşekkül etmişti. Bu grup hayvanların hepsi iki hafta içinde öldüler. Otopsilerinde, ufak doz kortikoid verilenlerde infeksiyonun jeneralize septisemi tablosu ile, yüksek doz verilenlerde ise, lokal belirtiler (deri altı absesi ve süpüre peritonit) tesbit edilirdi. Derideki ödem ve konjestion kaybolmuştu.
- c — Üçüncü grup hayvanlara steroidler inokülasyonun 10. cu günü verildi. Bu grupta küçük doz steroid verilen hayvanlardan 1 tanesi öldü, 4'ü şifa buldu. Yüksek doz verilenlerden hiçbirisi iyileşemedi. Otopsileri, iyileşmek üzere olan bu hayvanlarda jeneralize tabloları gösterdi.
- d — Şifa bulan 4 hayvanla yapılan ikinci bir deneyi, sayısı az olmakla beraber enteresan olduğu için, burada zikredilmeğe değer bulduk. Bu 4 hayvandan ikisine fort doz, geri kalanlara da ufak doz kortikoid verdik, Ufak doz verdiklerimiz yaşadığı halde, yüksek doz alanlardaki sikatrizasyon durdu, lokal infeksiyon yayıldı ve hayvanlar yaygın bir deri absesi ve peritonit ile öldüler.

Bu deneyimizi daha açık şekilde arz etmek için aşağıdaki tabloları lü zumlu bulduk :

**Deney II. (a) küme'si sonuçları**  
(İltihabın yerleşme safasında)

Hayv. sayısı	Kortikoit dozu	Deney başı	Lezyon	Şifa adet. % ölüm
5	0.01 mg/Kg.	2 ci. gün	Lokal	5 (% 50) 0
5	0.25 ..	.. ..	Lokal	5 (% 50) 0
10			Lokal	10 (% 100) 0

(Tablo : 6)

**Deney II. (b) küme'si sonuçları**  
(Paristatik dolaşım bozukluğu safhası)

Hayv. sayısı	Kortikoit dozu	Deney başı	Lezyon	Şifa	Mortalite %
5	0,01 mg/Kg.	4. cü gün	Jeneral	—	5 (% 50)
5	0,25 ..	.. ..	Lokal	—	5 (% 50)
10			L ve Jn.	0	10 (% 100)

(Tablo : 7)

**Deney II. (c) küme'si sonuçları**  
(Adaptasyon : antikor teşekkülü safhası)

Hayv. sayısı	Kortikoit dozu	Lezyon	Şifa	Mortalite	Deney başı
5	0, mg/Kg.	Lokal	4 (% 80)	1 (% 20)	10 cu. gün
5	0,25 ..	Jener.	—	5 (% 100)	..
10			4	6	

(Tablo : 8)

**Deney II. (d) kümesi sonuçları**  
(Sikatrizasyon devresi)

(Tablo : 9)

Hayv. sayısı	Kortikoit dozu	Deney başı	Lezyon	Şifa	Ölüm
2	0,01 mg/Kg.	20. ci gün	Yok	2 (% 100)	—
2	0.25 ..	.. ..	Lokal	—	2 (% 100)
4				2	2

### **Deney No. III :**

Bu deneyin amacı bakteri ekzotoksinlerine karşı kortikosteroidlerin tesirlerini incelemektir. Literatürde (45) bu ilâçların antitoksik hassalarının olmamasına rağmen, toksinle hücreler arasına bir perde veya baraj gibi girdiği ve toksinle hücrelerin birleşmesine mâni olduğu bildirilmektedir. Biz bu deneyimiz ile toksinlerle kortikosteroidlerin münasebetlerini incelemeyi uygun bulduk.

Bu deneylerimiz 120 kobayda yapılmış ve 3 gurup halinde toplanmıştır.

a — Birinci gurup 50 kobaydan müteşekkildir. Bunların hepsine, yukarıda târif ettiğimiz miktar ve teknikle Tetanus ekzotoksini şırınga ettik. Şöyle ki:

25 tanesine, toksine ilâveten 0,25 mg./Kg. prednizon verdik, geri kalanları da şâhit olarak bıraktık,

Hayvanlardan kortikoid alan ve almayanların hepsi 2 — 4 günde öldüler.

b — Aynı tecrübe, yine 25 şer kobaylık iki gurup hâlinde Difteri toksini ile yapıldı. Bu tecrübeye Prednizon alan 2 kobaydan başka, hepsi, yine 2—4 günde öldüler.

c — Steroitlerin antitoksit hassalarının olup olmadığını anlamak için 200 kobaylık üçüncü bir tecrübe yaptık. Şöyle ki

Toksin ve kortikoid alan kobaylardan 20 sinden (10 tetanos, 10 difteri toksini inoküle edilmiş olanlardan), inokülasyonun 2. ci günü kan aldık, 20 yeni kobaydan 10 una (tetanos toksini ve kortikoid) almış olan hayvanın kanı (5 kobaya kan, 5 kobaya serum), diğer 10 hayvana da aynı şeyi difteri için yaptık. 20 kobayın hepsi de yalnız toksin şırınga edilmiş olan kobaylar gibi öldüler.

Şu halde, bizim deneylerimiz literatürdekilere (45) uymamaktadır. Çünkü, tetanus için şifa elde edemediğimiz gibi, difteride de ancak % 6,6 gibi çok küçük nispette bir iyilik gördük.

Kortikosteroidlerin antitoksit hassalarının olmadığını, bizim tecrübelerimiz de teyit etmiştir.

Daha aşağıda insan tıbbikatında da göreceğimiz gibi, hayvan tecrübeleri insanlarda da aynı neticeyi vermektedir.

### **Deney No. IV :**

Kortikosteroidlerin anti—enflâmatuvar tesirleri malûmdur. Bu tesirleri arasında antipiretik hassalarının mevcudiyeti ise, inkâr edilemez bir hakikattir.



Her hayvan deneyinde, birçok hastalıklardaki tatbikatında bu hassayı görmek her zaman için mümkündür. Yalnız, bu ilaçların ateşi hangi mekanizma ile düşürdüklerine dair literatürde bir kayıda rastlayamadık. Antipiretik ilaçların çoğu merkezi tesirle ateşi düşürürler. İnfeksiyonlardaki ateş yükselmeleri pirojen maddelerin damar andotellerinin hissi sinir uçlarını uyararak hâsıl ettikleri bir refleksle hararet merkezinin eksitasyonu sonucu olmaktadır. Kortikosteroidlerin ateş düşürücü hassalarının merkezi veya muhitî bir mekanizma ile hâsıl olduğunu anlamak için şöyle bir deney yaptık :

20 kobaylık bir gurubu iki kısma ayırdık. Hepsine 41 derecenin üstünde ateş yükseltecek miktarda Dinitrophenol solüsyonları verdik. İlacın verildiği müddetçe ateş şahit gurupta bu dereceden aşağı inmedi. Şahit hayvanlardan geri kalan diğer onuna O, 25 mg./Kg. prednizon verdik.

Steroid alan ve almayan hayvanlarda hiçbir fark görmedik. Her iki gurupta da ateş 41 derecenin üstünde seyretti, en ufak bir fark belirmedik.

#### IV — FONDAMANTAL TECRÜBE SONUÇ VE DİSKÜSYONU :

Yukarıda teferruatı ile arzedilen hayvan deneyleri sonuçlarını şöylece arzedebiliriz :

1 — Yalnız bakteri inoküle edilen hayvanlarda, infeksiyon normal seyirini yapmış, bir kısım hayvan ölmüş (% 80), bir kısmı ise, organizmanın kendi savunma sistemleri aracılığı ile şifaya kavuşmuştur (% 20).

2 — Spesifik tedavi denemesi normal sonuçlanmış, deney tedavisi yaptığımız trisülfamite hassas olmayan pnömokok pnömonisi ile ölen bir tek kobay hariç, keza bir mortalite olmamıştır.

3 — Enfekte hayvanlarda kortikosteroidler yalnız başına verilirse, ve-  
rilmeyen şahit guruba nazaran muayyen bir müddet infeksiyon belirtileri bastırılmakta, genel durum pek bozulmamakta, fakat bakteri, kortikoidlerin organizma müdafaa sistemini takviye edici kudretini aşacak kadar ürettiği zaman, hayvanlar âni denecek kadar çabuk ölmektedirler. Ölen hayvanların otopsileri gayet ağır jenaralizasyon tabloları göstermiştir.

4 — Spesifik tedaviye ilâve edilen kortikosteroidlerle yapılan denemeler, yani kombine tedavi tecrübeleri, yalnız spesifik tedavi gören şahit guruba nazaran, hayvanların 3 misli daha sür'atle iyileştiklerini göstermiştir.

5 — Kombine tedavi neticesi salâh elde edildiği zaman, evvelâ spesifik tedavinin kesildiği vakalarda % 60 nisbetinde mortalite görüldüğü halde, evvelâ kortikoidlerin kesilmesi bu nispeti % 20'ye düşürmektedir.

6 — Kortikosteroidlerin iltihabın muhtelif devrelerine tesiri ilâcın dozuna göre değişmektedir. Şöyle ki :

a — **Yerleşme safhasında** : Kortikoidler infeksiyonun lokal kalmasına, doku mukavemetinin artmasına, diğer bir deyimle, patojen etgenin organizma tarafından bloke edilmesine, üreme ve nüfuzetme kabiliyetine mâni olmaktadır. Bu safhada kortikosteroidlerin dozunun büyük bir önemi yoktur. Çünkü küçük veya büyük dozda olsun, denemelerimiz kortikosteroidlerin lokal müdafaayı aynı nispette takviye ettiğini göstermektedir.

b — **Peristatik dolaşım bozukluğu safhasında** : Bu safhadaki eksüdatif ve proliferatif hâdiselere, kortikosteroidlerin, doza göre başka başka tesir ettikleri görülmektedir. Yüksek doz ilâç, eksüdasyon ve proliferasyona mâni olmakta; küçük doz ilâç ise, aksine olarak böyle bir hassaya malik bulunmaktadır. Bu hakikatleri yüksek doz kortikosteroid verilen hayvanlarda infeksiyonun lokal kalması, ödem ve konjestiyonun kaybolmasıyla, küçük dozlarda ise, infeksiyonun jeneralize tablolar göstermesi, ödem ve konjestif hâdiselerin devam etmesiyle anlamaktayız.

c — **Adaptasyon, yâni antikor teşekkülü ve fagositoz safhasında** :

Burada yine doz farklarının çok mühim ve birbirlerine ters sonuçlar verdiği görülmektedir. Ufak dozlarda iltihabî hâdiseler lokal, yüksek dozlarda ise jeneralize olmaktadır. Şu halde bu tecrübe, ufak dozların antikor teşekkülü ve fagositozu tenbih ettiğini; bu yüzden lezyonun lokalize olduğunu; yüksek dozlarda ise aksi tesir elde edildiğini göstermektedir.

d — **Sikatrizasyon safhası** : Bu safhada ufak doz kortikosteroidlerin şifa safhasına iyi tesir edip nedbeleşmeyi kolaylaştırdığı, aksine olarak yüksek dozların bu faaliyetlere mâni olduğu görülmektedir.

7 — Egzotoksinlerle kortikosteroidlerin münasebetlerini araştıran deneylerimiz, bu ilâçların antitoksit hassalarının ve toksinle hücrelerin birleşmesine mâni olmadıklarını ispat etmektedir.

8 — Kortikosteroidlerin ateş düşürücü hassalarının merkezi olmaktan ziyade muhîfi bir mekanizma ile hâsıl olduğu anlaşılmaktadır. Çünkü merkezi tesiri olmayan şimik ilâçlar hayvanlarda antiperetik tesir etmektedir. Bu tesir, herhalde Onul'un bildirdiği gibi (48), pirojen maddelerin damar endotelilerine tesir ederek piretik refleksi uyarmasına engel olmasından ileri gelmektedir.

Yukarıda kısaca arz edilen deney sonuçlarının disküsyonunun çok enteresan bulgulara ışık tutacak kıymette olduğu fikrindeyiz. Bu tecrübe sonuçlarının münakaşasını tek tek ele almak faydalı olacaktır.

A — Kortikosteroidlerin yalnız kullanılması, infeksiyonlarda çok kıymetli olan belirtileri maskeleyemekte ve fakat bakterinin üreyip jeneralize olmasına mâni olamamaktadır. Başlangıçta görülen iyilik devresi, bu ilâçların organizma müdafaa sistemini takviye ettiğini göstermekte ise de, bakteri üremesi bu takviye kudretini aştığı zaman, organizmanın müdafaa sistemi iflâs etmektedir. Şu halde, infeksiyonlarda kortikosteroidlerin tesiri terapötik değil, fakat kıymetli bir yardımcı olmaktan ileri gidememektedir.

B — Kombine tedavi, infeksiyonlarında, yalnız spesifik tedaviye nazaran 3 defa daha kuvvetli görünmektedir. Yalnız bu halin her infeksiyonda doğru olup olmadığını insan tatbikatı gösterecektir. Şimdilik, kortikosteroidlerin infeksiyonların tedavisinde çok kıymetli bir yardımcı olduğunu söyleyebiliriz.

C — Kombine tedavi esnasında, evvelâ spesifik tedaviyi kesip steroidlere devam etmek doğru olmasa gerektir. Çünkü bu taktirde infeksiyon yeniden alevlenmekte ve jeneralizasyon ile ağır tablolar haline gelmektedir. Bu halin her tecrübeye tekrür etmemesi, organizmada artık kalmış olan bazı ufak infektan foküslerin spesifik tedavinin baskısından kurtulmak sureti ile yeniden inkişaf etmesinden olsa gerektir. Halbuki, evvelâ steroidlerin kesildiği hallerde bu baskı, kortikoid yardımı noksanına rağmen devam etmekte ve ekseriya infeksiyon yeniden ilerleyememektedir.

D — Kortikosteroidlerin iltihabın muhtelif safhalarına tesirine gelince :

a — Yerleşme safhasında, kortikosteroidler, bakterilerin savlet hassasını temin eden Hiyalüronidaz vesair gibi anzimlerin tesirini ortadan kaldırarak yayılmayı önlese gerektir. Bundan başka, ilk alârm sistemini kuvvetlendirdiği de akla çok yalmaktadır. Stres nazariyesi burada çok doğru olduğunu belli etmektedir.

b — İltihâbın eksüdatif ve proliferatif safhasında, fizyolojik dozdan yüksek steroidlerin anti eksüdatif ve antiproliferatif karakterde, küçük dozların ise, aksine olarak ters tesirli olduğunu belli etmektedir.

c — Fagositoz ve antikor teşekkülü safhasında, ilâcın tesiri yine doza bağlıdır, ve birbirinin aksi olmaktadır. Şöyle ki : Fizyolojik dozdan yüksek miktarlarda ilâç fagositozu ve antikor teşekkülünü nehyetmekte, aksine olarak fizyolojik dozlar, bu iki hâdiseyi tenbih etmektedirler.

d — Sikatrizasyon safhasında, steroidler, yine simetrik tesir göstermektedir. Ufak dozlar sikatrizasyonu kolaylaştırmakta, yani fibrositler ve taze kapillerin teşekkülünü tenbih etmektedir. Yüksek dozların tesiri ise aksi olmaktadır.

E — Bakteri egzotoksinlerine tesir bakımından bu ilâçlardan iyi bir sonuç umulmamalıdır.

F — Kortikosteroidlerin infeksiyonlardaki antipiretik hassası, bakterilerin ve nesihlerin parçalanmasından ileri gelen ara maddelerinin pirojen rol oynayıp, ateş yükseltici refleks uyarmasına mani olmasındandır, fikrindeyiz.

## V — KORTİKOSTEROİTLERİN İNFEKSİYON HASTALIKLARINDAKİ TATBİKAT SONUÇLARI VE DİSKÜSYONU :

Steroid hormonların Selye (49) nin "Stress" nazariyesinden sonra bizi ilgilendiren en mühim bir stres olan infeksiyonlardaki rolünü, bundan evvelki bahislerde incelemiş ve hayvan deneyleri ile de birçok özelliklerini belirtmeğe çalışmıştık. Keza daha evvel, 19 çeşit infeksiyon hastalığında, 132'si deney, 132'si şahit olmak üzere 264 vakada tatbikat yaptığımızı arzemişük. Burada, 4 sene süren klinik ve laboratuvar çalışmalarımızın sonuçlarını ve disküsyonunu göreceğiz. Klinik tatbikat, yukarıda arzedilen hayvan deneyleri sonuçları ve elimize geçirebildiğimiz literatür malûmatın ışığı altında yapılmıştır. Şimdi sırasıyle 19 çeşit infeksiyon hastalıklarında spesifik, veya buna yakın klâsik tedavi gören hastalarla, bu tedavilerde steroidleri ilâve ederek yaptığımız kombine tedavilerin sonuçlarını mukayese edeceğiz :

### I — Eritem Polimorf :

Beş hastada, ilâcın antiöksüdatif ve antiproliferatif tesirlerinden istifade etmek istedik. Bunun için de fizyolojik dozun üstü olan 40—50 mg. prednizon kullandık. Muhtelif etyolojili olan bu klinik tabloda sebep araştırıldıktan sonra, spesifik veya buna yakın klâsik tedavisiyle beraber steroidleri kullandık. Hemen ilâve etmeliyiz ki, infeksiyon hastalıkları içinde en iyi netice aldığımız hastalıklardan birisi de budur. Hastalığın devam müddeti spesifik tedavide ortalama 20 gün olduğu halde, kombine tedavide bu müddet ortalama 7 güne inmektedir. Salâh, yani orienlerin solması, akut infeksiyon belirtilerinin silinmesi, klâsik tedavide 12 gün iken, kombine tedavide ortalama 4 güne inmekte, bir müddet daha deride izlerini devam ettirdikten sonra (bir hafta kadar) hastalıktan eser kalmamaktadır, Organik lezyonların yanı sıra, sedimentasyon sür'ati azaltmakta, genel durum daha ikinci gün düzelmekte, hasta kendini rahat, ağrısız ve iyi hissetmektedir. Kortikosteroidlerin eritem tedavisinde kullanıldığına dair literatür malûmatı elimize geçmediğinden, bu hususta fazla bir mütalâada bulunamayacağız.

2 — **Erizema nodosum** : Polimorf eritimde söylenenler hemen aynı bu tabloda da vârittir. Yalnız, burada, gerek salâh ve gerek hastalık müddeti birkaç gün daha uzamaktadır. Meselâ salâh 5 gün, ortalama hastalık süresi ise 8 gündür. Şâhit gurupta ise bu rakamlar sırasıyle 24 ve 21 gündür. Her iki eritem, kombine tedaviye rağmen kolayca nüksetmektedir. Tedavi esnasında anjîn vesaire gibi bir infeksiyonun araya girmesi, ateşin yeniden hafifçe yükselmesine, lezyonların nüksetmesine sebep olmaktadır. Eritama nodozum 4'ü şahit olmak üzere 8 vakada denenmiştir.

3 — **Tüberküloz menenjit** : Kliniğimizde kombine tedavi görmüş olan 5 vaka, aynı yaş, cins ve prognoz taşıyan ve yalnız antitüberkülo tedaviye tâbi tutulmuş hastalarla mukayese edilmiştir. Antitüberkülo tedavi her iki grupta da İNH, PAS ve streptomisin kombine olarak tatbik edilmiştir. Prednizon vakasına göre 25 — 50 mg. dozunda kullanılmıştır. Klinik ve lâba;atıvar araştırmaları, ekseri vakada büyük bir fark göstermemiştir. Steroit verilen vakalarda genel durum, infeksiyon belirtileri, ağır vesaire gibi sübjektif ârâz hafiflemekte ve salâh birkaç gün daha kısalmaktadır. Tekrar kliniğimize yatan hastalar olmuşsa da ekseriya salâh sonunda hasta klinikten çıktığı için iyi bir takip mümkün olamamaktadır. Her iki grupta da vefiyat olmamıştır. Fazla eksüdasyon ve proliferasyonu önlediği (eğer fort doz verilirse) muhakkaktır. Lomber ponksiyon bulguları, kombine tedavi gören vakalarda salâhın şâhit guruba nazaran daha çabuk olduğuna işaret etmektedir.

4 — **Tüberküloz plörezisi** : Per oral verilen steroidlerin çabuk ve çok iyi tesir ettiklerine dair pek çok neşriyat vardır (38, 40, 41, 42, 50, 52, 53), Biz burada lokal tatbik ettiğimiz 2 vakayı, yalnız antitüberkülo tedaviye tabi tutulmuş aynı şarttaki diğer 2 vaka ile mukayese edeceğiz. Bu vakalarda steroidlerin lokal tatbikatı hydrocortisone'un sulu mahlülleriyle yapıldı. Plevra ponksiyonu ile biraz sıvı alındıktan sonra intra-plöral olarak 50 — 100 mg. lık hidrokortizon solüsyonu plevra içine tatbik edildi. Üç günde bir bu ameliye tekrarlanmak istendi. Fakat bir vakamızda ikinci tatbikatı yaptığımız zaman, eksüdanın 3/4 ünün rezorbe olduğunu gördük. İkinci vakamızda ise 3 tatbikattan sonra bu neticeyi aldık. Her iki vakada da 10 gün sonra hastalıktan hiç bir iz kalmadı. Kilo aldılar, tanınmayacak derecede sağlıklarına kavuştular. Literatürde de gerek plevraya ve gerek diğer eksüdatif iltihaplı boşluklara lokal tatbikatın güzel neticelerini (36, 37, 44) görmekteyiz.

5 — **Akciğer tüberkülozu** : Kliniğimizde yatmış olan akut seyirli, ek-südatif tipte 7 akciğer tüberkülozu vakasını 40 — 50 mg. kortikoit ile tedavi ettik. Spesifik tedavi edilen vakalara nazaran, daha çabuk ve daha kat'i neticeler elde edilmektedir. Kombine tedavide ortalama salâh günü 15, hastalık günü ise 22 gün olduğu halde, yalnız spesifik tedavide bu müddetler sı-

rasıyle 26 ve 46 gündür. Hiçbir vakamızda nüks ve vefiyat görülmemiştir. Literatürde bu hususta çok neşriyat vardır. (38, 40, 41, 52, 53).

**6 — Akut poliartiküler mafsalsomatizması :** Akut karditis ile seyreden veya etmeyen 20 vakamızda kombine tedaviyi, yalnız diğer klâsik tedaviye tâbi tutulmuş 20 vaka ile mukayese ettik. Vekasına göre dozu 30 — 60 mg olarak tâyin ettik. Eklem ve genel belirtiler klâsik olarak çok işlenmiş bir konudur. Yalnız şunu söylemeliyiz ki kombine tedavide salâh ortalama 3 gün, yatma müddeti 6 gün olduğu haldé bu müddetler klâsik tedavide sırasıyle 18 — 25 gündür. Fizik tedaviye ekseriya lüzum kalmamaktadır. Akut karditis vakalarında steroidlerin tesiri zikre şayandır. Erken vakalarda organik lezyonlar asla teşekkül etmemektedir. Geç kalmış vakalarda ekseriya yalnız mitralde lokalize lezyonlar teşekkül etmektedir.

**7 — Kabekulak orşiti :** Mahdut adetteki vakalarımıza rağmen orşit vakalarında işfa 1/3 nispetinde sür'atlenmektedir. 3 vekayı, klâsik tedavi görmüş aynı şarttaki diğer 3 vaka ile kıyasladık. İlâç dozu olarak 40 — 50 mg. prednizon verdik. Klâsik tedavide 5 güne kadar süren şife, kortikoidlerle 24 saata düşmektedir. Hemen ertesi günü hestanın ateşi düşmekte, ağrıları dinmekte, testislerdeki patolojik teblo kaybolmaktadır. Her üç vakamızda yaptığımız spermogramın tamamen normal bulunması, steriliteyi önlemesi bakımından kortikoid tedavisinin çok önemli olduğu kanaatını uyandırmaktadır. İleride daha fazla vakada yapmayı umduğumuz denemeler, kat'i sözü söyleyecektir.

**8 — Tetanos :** Her türlü ihtimam ve klâsik tedaviye dikkat ederek, ilâve olarak per oral veya parentral kortikoidler, heyvan tecrübelerimizde de gördüğümüz gibi hiç te iyi sonuç vermediler. Klâsik ve kombine tedavi olarak tetkik ettiğimiz 10 vakanın, maalesef hepsini kaybettik. Kombine tedaviye tâbi tuttuğumuz vakalardan üçü çok erken ele geçmiş ve elden gelen her türlü tedavi ve steroidler tatbik edilmişti. Biz doz olarak 50 — 60 mg Prednizon veya prednizolon kullandık.

**9 — Difteri :** Elimize geçen 8 boğaz defterisinden 4 üne kortikoid ilâve ettik. Doz 30 — 40 mg. idi, 8 vakada da vefiyat olmadı. Fakat her iki grupta da klinik ve lâboratuvar tetkikleri bakımından fark göremedik.

**10 — İnfeksiyöz hepatit :** Steroidlerin bu hastalıkta verdiği netice, ke-limenin tam mânasiyle şahanedir. Kolin, metionin ve vitaminlerden evvel aylarca süren, sonucu meçhul ve tehlikeli olan bu hastalık, yukarıda edi geçen ilâçlardan sonra ancak haftalara inebilmişti. Steroidlerden sonra ise, şifa gün mesolesi haline gelmiştir. Literatürde, birçok yazarlar steroidleri yalnız

vanım nepatit vakalarında kullanmayı tavsiye etmekte ve dozu 50 mg. dan fazla yükseltmemeyi tavsiye etmektedirler (31, 32, 33). Fakat bazı neşriyatta ise daha yüksek dozlar tavsiye edilmekte ve her vakada ilâçları kullanmayı ileri sürmektedirler (45). Biz, bilhassa bu son neşriyatı nazarı itibara aldık. Weissbecker, tedaviye 70 mg. dan başlamayı, her gün % 10 nispetinde doz düşerek 7 — 10 günlük bir hormon şoku tedavisi tavsiye etmektedir. Kür sonunda gittikçe artan miktarlarda ACTH ve mekle ilâcın zararlı tesirlerinin ortadan kalkacağını ifade etmektedir. Biz bu metodu kullandık. 16 kombine tedaviye tâbi tutulmuş hastayı, aynı miktar klâsik tedavi gören şâhit gurup ile mukayese ettik. Lâboratuvar ve klinik olarak şifa kombine tedavide ortalama 4 gün, klâsik tedavide ise, 18 gündür, Ortalama hastalık müddeti kombine tedavide 10 gün, diğerinde ise 25 gündür. Yukarıdaki neşriyatı tetkik edersek, 40 — 50 mg. prednizonla tedavi edilen vakalarda bu günler iki misline çıkmaktadır. Şu halde ilâç dozu ile şifa sür'ati orantılı görünmektedir. Karaciğerin fonksiyonlarını bozacak kadar eksüdatif ve proliferatif hâdiselerin bahis konusu olduğu bu hastalıkta, organı ne kadar çabuk baskı altından kurtarırsak o kadar iyi bir iş görmüş olacağız, fikrindeyiz. Steroitlerin anti — eksüdatif ve anti — proliferatif tesirlerinin fort doz kullanıldığı zaman husule geldiğini hayvan tecrübelerimiz göstermiştir. Binaenaleyh, dozun yükselmesiyle bu hassaların da kuvvetleneceği muhakkaktır. Weissbecker (45), birinci kürden sonra % 10 vakada nüks olabileceğini, fakat ikinci bir kürle bunun ortadan kaldırılacağını ifade etmektedir. Biz 16 vakada hiç bir nüks görmedik. Steroitlerin çok korkulan yan tesirleri (1, 2, 4, 54, 55, 56, 57), hiçbir vakamızda görülmedi. Kür sonunda ACTH verdiğimiz veya veremediğimiz vakalarda da yan tesir müşahede atmedik.

11 — Lepra reaksiyonları : Lepra reaksiyonları, muhtelif etyolojili (ilâç, infeksiyonun ilerleyici puseleri, şiddetli bakteriyoliz...), akut infeksiyöz tablolardır. Bu hastalıkta zaman zaman tezahür eden bu tabloların ekserisinde eksüdatif ve proliferatif hâdiseler, akut infeksiyöz belirtilere katılmaktadır (47). Bu reaksiyonlar, bazan hafif, bazan orta şiddette, bazan da ağır seyirli olmaktadır. Hafif ve orta şiddetteki vakalarda steroidlerden başka Antimoin mürekkepleri, total kan veya plazma nakilleri de çok iyi tesir ettiğinden steroid kullanmak zorunda değiliz. Ağır vakalarda ise steroidlerden başka kurtarıcı yoktur (47, 58, 59, 60), İlâç olarak, savaş kampanyalarında, Dünya Sağlık Teşkilâtı, 20 — 30 mg. Prednizon ile tedaviye başlamayı, yavaş ve tedrici olarak azaltıp idame dozu olan 2,5 — 5 mg. prednizonla tedaviye devam etmeyi ileri sürmektedir (61). Biz 8 ağır lapra reaksiyonu vakasını diğer tedavilere ilâveten 40 — 50 mg. prednizon ile tedavi ettik. Şâhit gurupta 15 gün olan salâh müddeti, kombine tedavide 5 güne düştü. Yeni lezyonların kaybolması, eskilerinin sükûnet bulması ve akut infeksiyon tablo-

sunun kaybolması ise, klâsik tedavide ortalama 25 gün sürdüğü halde steroid tedavi sayesinde 10 güne indi.

12 — Tifo : 20'si şahit olmak üzere, 40 vakada muhtelif doz steroidler denenmiştir. Fakat en uygun doz 20 — 40 mg. olarak tesbit edilmiştir. Hipererjik vakalarda 35 — 40 mg. iyi netice verdiği halde, şifanın geciktiği hallerde, daha ufak dozlar, yani 20 — 30 mg. daha aktif olmaktadır. Tigano ve arkadaşları (16), 30 — 40 mg. steroid verilen vakalarda kan proteinlerinin normaleştiğini, gama globulinin değişmediğini, veya biraz arttığını bildirmektedirler. Biz tifoda kan proteinlerini incelemedik, Fakat, 20 — 30 mg. steroid verdiğimiz vakalarda, aglütinasyon titrelerinin, daha yüksek dozlara nazaran daha çabuk yükseldiğini tesbit ettik. Literatürde Kloramfenikol ve steroid kombine tedavisine rağmen nükslerin görüldüğü bildirilmekte (29) ise de biz böyle bir hal müşahade etmedik. Yalnız kloramfenikol tedavisinde ortalama olarak ateş ve diğer infeksiyon belirtileri 8 günde kaybolduğu ve hastaların ortalama olarak 16 günde şifaya kavuştukları halde, bu müddetler, antibiyotik tedavisine steroid ilâvesiyle yarıya inmektedir. Hiçbir vakamızda vefiyat görmedik.

13 — Sepsisler : Kortikoidleri spesifik antibiyotiklere teşrik ettiğimiz, bir koli, 3 stafilokok ve bir streptokok sepsisi vakasından aldığımız sonuçları, yalnız spesifik tedaviye tâbi tutulmuş 5 aynı cins sepsis vakası ile mukayese ettik. Eksüdasyon ile seyreden vakalarda ve akut konjestif belirti verenlerde 40 — 50 mg., uzun süren ve organizmayı epüvize eden vakalarda ise 20—30 mg. prednizonu spesifik tedaviye ilâve etmeyi uygun bulduk ve umduğumuz sonuçları aldık. Kombine tedavi esnasında, bu genel infeksiyon tablolarında hastayı rahatsız eden bütün semptomlar bastırılmış, düşkünlük ortadan kalkmış, iştiha ve genel durum nispeten düzelmiştir. Hasta organizma bu yüzden daha mukavim hale gelmiş, çünkü dinlenmiştir. Steroid tedaviye, bilhassa uzun devam edilecekse, evvelâ oldukça kuvvetli dozdan (30 — 50 mg.) başlayıp sonra, yavaş ve tedrici olarak doz küçültülerek idâmc tedavisine (dozu vakasına göre 5 — 15 mg. prednizon) geçirilir. Bu methodla tedavide, klinik ve lâboratuvar (lökosit sayımı, sedimantasyon vesaire..) selâh başlayınca steroid dozu düşülür. Eğer bu doz kâfi gelmezse, bir evvelki doza geçilir. Yine salâh görülünce doz düşülerek nihayet hastayı şifaya kadar idare edecek eşik dozu tâyin edilmiş olur.

14 — Abartiküler romatizma : Bilhassa serozalarda eksüdasyonla seyredenlerde (plörezi, perikardit v.s...), yüksek doz steroidlerle, tüberküloz plörezisinde görülen sonuçlara yakın neticeler elde edilmektedir. Klâsik tedavi gören 2 vakaya karşılık bu tedaviye steroid ilâve edilmiş diğer 2 vakamızda



... 3 — 4 kere daha çabuk elde edilmektedir.

**15 — Serum hastalığı :** Antikor — antijen çarpışması mekanizmasına dayanan bu patolojik tabloda, kabaca ifade ettiğimiz mekanizmaya mâni olmakla, yani antikor teşekkülünü engellemekle hastalığı iyi etmek mümkündür. Bu amaca ulaşmak için, steroidleri fort doz vermek icapetmekte idi (hayvan deneyleri ve sonuçlarına bakınız), Bundan steroidlerin anti—enflamatuvar, anti—allerjik ve antiöksüdatif karakterleri serum hastalığının patogenezi, ilâcın doza göre değişen hassaları göz önüne alınarak, tatbikat yapıldı. En münasip doz olarak 40—50 mg. prednizon münasip görüldü. Yarısi şahit olan 10 vakamızdan, klâsik tedaviye steroid ilâve edilen 5 tanesinde, salâh 2, şifa 4 günde tamamlandığı halde, diğer klâsik metodlarla tedavi edilen 5 hastada ise salâh 6, şifa 10 günde görüldü.

**16 — Hipersensibilite halleri :** İlâç, besin ve serum gibi maddelere karşı fazla hassalıktan ileri gelen patolojik tablolarda, steroidler, diğer hiçbir ilâçla mukayese kabul etmiyecek kadar kuvvetli tesire maliktirler. 7' si şahit olan 14 muhtelif hipersensibilite vakaasında steroidler fizyolojik dozlarda (20—30 mg.) çok iyi tesir etmektedir. Hassasiyet yaratan ilâçları kullanmağa mecbur olduğumuz 3 vakada, bu ilâçların steroidlerle beraber vererek fazla hassasiyetin önüne geçmeğe muvaffak olduk.

**17 — Bronşial astma :** Son neşriyat (29, 38), steroidleri astma tedavisinde çok ileri bir kıymet olarak tavsif etmektedir. Bu yayınlara göre ilâç 25—60 mg. prednizon olarak doze edilmekte, yavaş yavaş azaltılarak idamə dozu olan 7,5 — 12,5 mg.'a düşülmesi tavsiye edilmektedir. Buna rağmen nüks olursa, dozun % 50 artırılması da ileri sürülüyor. İlâcın birdenbire kesilmesinin kontr—endike olduğu, % 3 vakada osteoporoz, vertebra kırığı ve mide bağırsak bozuklukları gibi yan tesirlerin görüldüğü ilâve ediliyor. Biz steroidleri 5'i şahit olan 10 vakada kullandık, İki vakada per oral 20—30 mg. prednizon, 3 vakada da serum fizyolojik içinde damardan ACTH kullandık. Kozal tedavi denemesi yapmadık. Nöbet tedavisi için bilhassa ACTH hastaya yardım etmektedir. Vaka adedimizin çok az olması, bu hususta bir mütalâa serdetmemize mâni olmaktadır.

**18 — Şok :** İnfeksiyon hastalıklarının seyri esnasında şoka giren 12 vakadan 6 sında, steroidleri kullandık. Bilhassa anüri, hipotansiyon ve bradikardi gösteren vakalarda diğer semptomatik kombine tedavilerle, yalnız bu sonuçlara nazaran daha yüz güldürücü sonuçlar aldık. Her türlü şok halinde (travmalar dahil) steroidlerin fevkalâde neticeler verdiği yayınlanmaktadır (43).

19 — **Ägranülositoz** : Son 4 sene zarfında kliniğimize yatan 3 agranülositoz vakasında steroidleri denedik. Bunlara şahit olarak kliniğimiz arşivinden 3 vaka seçtik. Agranülositoz patogenezisinde zararlı antikorların rolü göz önüne alınarak, bunları, hayvan deneylerimizin sonuçlarına uyarak nehyetmek gayesiyle çok kuvvetli doz ilâç kullandık (60—70 mg.) Şahit vakalara nazaran çok iyi netice almamıza rağmen, bu sonuçlar devamlı olmadı. Hastalarımızı takip etmek imkânını da bulamadığımız için kar'i neticeyi anlamak mümkün olmadı. Bu hastalıkta da ilâca uzun devam etmek icabettiği kanaatindeyiz.

Buraya kadar, kortikosteroidlerin infeksiyon hastalıkları kliniğinde yaptığımız tatbikatını gördük. Bu çalışmalarımızı ve sonuçlarını daha derli toplu ifade edebilmek için aşağıdaki tabloyu tertiplemeyi uygun bulduk,

Kortikosteroidlerin infeksiyon hastalıklarındaki sonuçlarını incelersek aşağıdaki kanaatlara vasıl olmamız mümkündür :

A — İnsandaki tatbikat sonuçları, hayvan deneylerinden elde edilen bulguları teyit etmektedir.

B — İnsanda steroidleri kullanabilmek için hastalığın teşhisi konmuş olmalıdır. Steroidler ile deneme tedavisi kontr—endikedir. Teşhisten maada, hastalığın patogenezi hakkında sağlam bilgiler edinmek icabeder. Ancak bunlardan sonradır ki, ilâcın dozu faydalı olacak şekilde tâyin edilebilir.

C — İnsanda, steroidler kullanılırken en çok korkulan cihet, zararlı yan tesirler ve sürrenal yetmezliğidir. Biz, tecrübelerimiz esnasında, ilâcı kesmek lüzumunu, veya ciddi tedbirler almak mecburiyetini (yüksek dozlar ve uzun devama rağmen), hissedecek hiçbir hal ile karşılaşmadık. Buna rağmen tedbiri bırakmamağa da dikkat ettik. Bunlar :

a — Yüksek dozlarla tedavi edilen vakaları mümkün olduğu kadar kısa devamlı tedaviye almak, tedavi sonunda birkaç gün ACTH kullanmak (İnfeksiyöz hepatit v.s... gibi).

b — Uzun devam mecburiyeti olan vakalarda (Lepra reaksiyonları, sepsisler, agranülositoz v.s...) ilâca lâzım olan yüksek dozla başladıktan ve infeksiyon belirtileri, klinik ve lâboratuvar bulguları ile hafifledikten sonra, tedricen doz azaltılarak, nihayet tesirli en ufak doz tesbit edilir. Eşik dozu denen bu miktar steroid ile tedaviye devam olunur. Böyle vakalarda dahi, zararlı tesirlerden şüphe edilen hallerde, ilâç kesilerek birkaç gün ACTH tedavisine geçilebilir. Sonra yine kesilen dozun bir üstünden devam edilir. Eşik

(Tabla : 10)

Hastalık Adı	Yak'a sayısı		Steroit Dozu (Prednizon)	Salâh (Gün)		Şifa (Gün)		Nüks	Mortalite
	Spes.	Komb.		Spes.	Komb.	Spes.	Komb.		
Eritem Polim.	5	5	40—50 mg.	12	4	20	7	Var	Yok
Er. Nodozum	4	4	40—50 mg.	24	5	21	8	Var	Yok
Menenjit Tbc.	5	5	40—50 mg.	22	18	?	?	Var	?
Plörezi Tbc.	2	2	Hydrocortisone (Lokal)	20	3	32	7	Yok	Yok
Akciğer Tbc.	7	7	40—50 mg.	26	15	46	22	Yok	Yok
Akut Pol. Romatizma	20	20	30—60 mg.	18	3	25	6	Yok	Yok
Kabakulak Orşiti	3	3	40—50 mg.	5	1	7	1	Yok	Yok
Tetanos	5	5	50—60 mg.	—	—	—	—	—	10
Difteri	4	4	30—40 mg.	7	7	11	9	Yok	Yok
İnfeksiyöz Hepatit	16	16	50—70 mg.	18	4	25	10	Yok	Yok
Lepra Reaksiyonu	8	8	40—50 mg.	15	5	25	10	Var	Yok
Tifo	20	20	20—40 mg.	8	4	16	7	Yok	Yok
Sepsis	5	5	20—50 mg.	21	12	29	15	Yok	Yok
Abartıklar Romatizma	2	2	40—50 mg.	18	4	22	7	Yok	Yok
Sarum Hastalığı	5	5	40—50 mg.	6	2	10	4	Yok	Yok
Hipersensibilite	7	7	20—30 mg.	—	—	—	—	Var	Yok
Bronşiel	5	5	20—30 mg. (ACTH)	—	—	—	—	Var	Yok
Astma	6	6	30—40 mg.	—	—	—	—	—	Yok
Şok	3	3	60—70 mg.	—	—	—	—	—	?
Agranülositoz	3	3	60—70 mg.	—	—	—	—	—	?
<b>Yekûn</b>	<b>132</b>	<b>132</b>							

Spes = Spesifik tedavi

Komb. = Kombine tedavi

dozu ile devam edilen vakalarda, Prieto (61) aylar ve hattâ senelerce tedavi edilen vakalarda bile zararlı hiçbir belirti görmediğini söyler.

c — ACTH tedavisi, steroid tedavisi yüzünden sürrenal korteksinin tembelleşip yetmezliğe gitmemesi için tavsiye edilmektedir. Biz hiçbir vakamızda böyle bir tehlike ile karşılaşmadık.

D — Şok tedavisinde steroid iyi bir yardımcıdır.

E — Steroid tedavisi esnasında, araya başka bir infeksiyon girerse, ateş biraz yükselmekte, lökosit sayısı artmakta, sedimantasyon sür'atlenmektedir. Bu süreneksiyon veya sekonder infeksiyon tedavi sonucu iyileşince klinik tablo yine eski halini almaktadır.

F — Steroid tedavisi esnasında, müşahede edilen iyiliğin, bu ilâcın bas-kısından mı, yoksa hakiki iyilikten mi olduğunu anlamak için, antibiyotige, devam etmek şartıyla ilâca bir kaç gün ara vermek faydalı olur, kanaatında-yız. Eğer ateş vesaire gibi infeksiyon belirtileri ilâcın anti—flojistik hassa-sından ileri geliyorsa, akut belirtiler yeniden görülmeğe başlar. Eğer hakiki iyileşme bahis konusu ise, bu belirtiler görülmez,

## VI — NETİCE VE KAR :

Kortikosteroidlerin infeksiyon ve infeksiyon hastalıklarındaki değerini, endikasyon, kontr - endikasyon, yan tesirleri ile farmakolojik hususiyetlerini incelemek için :

1 — Dört ana deneyde toplanan 8 gurup veya 12 küme'den müteşekkil hayvan deneyleri yapıldı. Tecrübe hayvanları, 260 kobaydan müteşekkildi.

2 — Kortikoitleri, hayvan deneylerinden alınan sonuçlar ve literatür bil-gilerinin yardımı ile, 19 çeşit infeksiyon hastalığında tatbik ettik. 4 sene sü-ren bu inceleme, yarısı şahit olmak üzere 264 vaka üzerinde yapıldı. Deneme gurubuuna, her hastalığın spesifik veya ona yakın oturmuş klâsik tedavisine ilâveten prednizon veya prednizolon cinsi kortikosteroidler verildi. Şâhit gu-rup, yalnız spesifik veya klâsik metodla tedavi edildi.

Şimdi bu deney ve tatbikat sonuçlarının esaslarını tebarüz ettirelim :

I — Hayvan deneylerinden elde edilen esaslar şunlardır :

A — Kortikosteroidler, spesifik tesirli bir ilâç olmayıp, hiçbir bakteriosta-tik veya antitoksik hassaya mâlik değildirler. Buna mukabil, yukarıdaki hassa-ları hâiz veya bunlara yakın tesirli tedavi vasıtaları ile beraber kullanıldıkları takdirde çok kıymetli bir yardımcıdırlar.

...sahalarında dozuna göre ayrı ayrı ve ekseriya birbirinin aksi olan tesirlere maliktir. İnfeksiyonların biolojik bir reaksiyonu olan iltihap hâdisesi karşısında, bu safhaları tanıyıp, istenilen maksada uygun doz tâyini yapılmalıdır. Meselâ eğer antikor tevlidini tenbih etmek isteniyorsa (torpid ve kronik devamlı infeksiyon hastalıklarında) doz ufak olmalı, buna mukabil zararlı antikorların inhibisyonu arzu ediliyorsa (Serum hastalığı, agranülositoz v.s.), aksine olarak fort doz steroid kullanılmalıdır. Ters doz tâyini, ekseriya ilâcın yan tesirlerine atfedilen fena sonuçlara sebebiyet verir.

C — Steroid hormonlar, daima, ya spesifik antibiotiklerle, veya spesifik tesire yakın semptomatik tedavi vasıtaları ile beraber kullanılmalıdır. Aksi halde infeksiyonun jeneralize olmasına sebebiyet vermiş oluruz. Kombine tedavide, daima steroidler evvelâ kesilmeli, antibiotikler daha bir müddet devam etmelidir. Evvelâ antibiotik kesilirse, organizmada kalmış ve steroidlerin anti—enflâmatuvar hassaları ardına saklanmış olan ufak infeksiyon foküsleri yeniden alevlenerek bazan öldürücü hâdiselere sebep olabilirler.

D — Deneylerimiz, lehte yayınlara rağmen, steroidlerin ekzotoksinlere tesirsiz olduğunu göstermiştir.

E — Steroidlerin anti—enflâmatuvar, anti—allerjik ve anti—anafilâktik tesirleri vardır. Ancak, antipiretik hassaları periferik bir mekanizmaya bağlıdır.

2 — Steroidlerin infeksiyon hastalıklarındaki tatbikat sonuçları incelenirse, aşağıdaki endikasyon ve kontr—endikasyonlar tebellür etmiş olur :

#### **Endikasyonları Şunlardır :**

A — Patojen etkeni ne olursa olsun, akut ve şiddetli endotoksik infeksiyonlarda

B — İyi tedaviye rağmen torpid ve uzayan infeksiyon hastalıklarında.

C — İltihabın morfolojik safhalarının hâkim olduğu hallerde.

D — Spesifik tesirli ilâçları olmayan bazı virüs hastalıklarında

E — Zararlı antikorların sebep olduğu patolojik tablolarında.

F — Şok, anafilâksi, hipersansibilite ve her türlü besin veya ilâç tahammülsüzlüklerinde.

Buna mukabil :

A — Tecrübe tedavisinde,

B — Yalnız başına kullanmak, veya spesifik tedavi ile kombine olarak verildikleri takdirde, antibiotiklerin evvelâ veya erken kesilmesi,

C — Teşhis ve patojeni bilinmeden yapılan kortikoterapi, kontr—endikedir.

Kortikosteroidler, infeksiyon hastalıkları tedavisinde yeni ve parlak ufuklar açmıştır. Bu ilâçlar sayesinde, birçok müşküller halledilmiş, kontr—endikasyonlar, endikasyon hâline gelmiştir.

Buna ilâveten, hasta ve ilâç iyi tanınır, dozu doğru ayarlanır. ve bazı ufak tedbirler elden bırakılmazsa, korkulan yan tesirler ortadan kalkar.

Her gün daha kullanışlı ve ucuz bir derivenin tedavi alanına girmesi, bu ilâçlara karşı olan çekimsizliği azaltacak, kortikosteroidler, İnfeksiyon Hastalıkları tedavisinde çok arzulanan kıymetli bir yardımcı olacaktır, kanısındayız.

## CORTICOSTEROIDES ET MALADIES INFECTIEUSES

Dr. Erem UTKU

Le but de ce travail est de préciser :

1 — Les effets des corticostéroïdes sur les 4 stades de l'inflammation.

2 — Les méthodes d'emploi, les effets secondaires, le dosage, et enfin, les indications et les contre-indications de ces hormones dans le traitement des maladies infectieuses.

Pour cela, nous avons fait :

1 — Les expériences fondamentales suivantes sur 260 animaux de laboratoire :

a — Essai d'infection.

b — Essai du traitement combiné, c'est-à-dire une corticothérapie accompagnée du traitement spécifique, ou considéré comme spécifique.

c — Pour bien préciser la technique du traitement combiné, nous avons fait deux autres essais :

— Dans le premier les corticostéroïdes ont été d'abord abandonnés, en continuant le traitement spécifique.

— Dans le deuxième, c'est d'abord le traitement spécifique qui a été abandonné,

d — Deux autres essais avaient pour but de rechercher les effets antitoxiques des corticostéroïdes. L'un a été fait à l'aide de la toxine diphtérique, l'autre à l'aide de la toxine tétanique.

e — Un dernier essai a été fait pour compléter l'effet antiphlogistique des stéroïdes. Il nous importait de connaître le mécanisme de l'effet antipyrétique de ces hormones.

Dans tous ces essais, nous avons employé une souche pathogène de staphylococcus aureus et des antibiotiques ou des médicaments chimiques très sensibles à cette souche. Comme dose de toxines, nous avons employé la quantité de celles-ci qui tue le cobaye en 2 à 4 jours. Comme matière

pyrogène, la solution de nitrophénol dosée a été employée. L'inoculation au germe a été faite par voie péritonéale ou sous-cutanée; celle des toxines a été faite à la partie supérieure de la patte postérieure.

Les résultats obtenus au cours de ces expériences sont les suivants :

1 — Dans l'épreuve-témoin 80 % des animaux sont morts. Tandis que dans 20 % des cobayes infectés l'organisme a pu annuler l'effet pathogène du microorganisme par ses propres moyens de défense.

2 — Les animaux soumis à un traitement spécifique, n'ont montré aucune mortalité.

3 — Dans l'essai du traitement combiné, nous n'avons pas observé de mortalité, mais, la phase de guérison était 3 fois plus courte que dans le traitement spécifique seul.

4 — Nous avons observé 20 % de mortalité pendant le traitement combiné, quand les corticoides ont été arrêtés, le traitement spécifique étant continué,

5 — Dans l'essai inverse, c'est-à-dire quand le traitement spécifique a été arrêté d'abord, nous avons observé 60 % de mortalité.

6 — L'essai de la corticothérapie seule nous a montré que, au début, les stéroïdes semblent donner de meilleurs résultats par leur effet antiphlogistique. Mais, quand l'organisme pathogène franchit le barrage de défense des stéroïdes, l'infection se généralise très facilement pour donner des formes graves septicémiques.

7 — Les effets des corticostéroïdes aux 4 stades de l'inflammation sont les suivants :

a — Dans la phase de perturbation, les hormones stéroïdes localisent l'infection en augmentant la résistance locale des tissus.

b — Dans la phase de maîtrise où les phénomènes d'exsudation et de prolifération dominent le tableau pathogène, les stéroïdes jouent des rôles inverses selon leur dosage. Les doses supérieures aux doses physiologiques ont des effets antiexsudatifs et antiprolifératifs. Tandis que les doses supérieures ont des effets inverses.

c — Dans la phase d'adaptation où la formation des anticorps et le phénomène de phagocytose dominent le tableau clinique, les corticostéroïde



jouent des rôles inverses comme précédemment. Les fortes doses ont des effets inhibiteurs, contrairement aux petites doses.

d — Dans la phase de cicatrisation, les faibles doses de ces hormones raccourcissent la cicatrisation, tandis que les fortes doses peuvent empêcher la formation des nouveaux capillaires et celle des fibroblastes; ils peuvent donc empêcher ou prolonger le temps de cicatrisation.

8 — Les corticostéroïdes n'ont aucun effet sur les exotoxines bactériennes.

9 — Le mécanisme de l'effet antipyrétique des corticostéroïdes est périphérique. Il nous semble qu'ils empêchent les produits pyrogènes d'exciter les fibres terminales sensibles des capillaires.

\* \* \*

A la lumière des essais dont nous venons d'exposer les résultats, nous avons appliqué un traitement combiné dans 19 sortes de maladies infectieuses et sur 264 cas dont la moitié servait comme groupe témoin.

Ces applications nous ont donné les résultats suivants :

a — Dans 9 cas d'érythème noueux et polymorphe, résultats excellents.

b — Dans 14 cas de différentes formes de tuberculose, bons résultats, surtout dans les formes aiguës et exsudatives.

c — Dans 22 cas de rhumatisme articulaire et abarticulaire, excellents résultats par application locale ou par ingestion.

d — Dans 17 cas d'hypersensibilité ou d'idiosyncrasie aux médicaments, sérums et d'asthme bronchique ..... la corticothérapie a donné aussi de bons résultats.

e — Dans 8 cas de réaction lèpreuse forte, 20 cas de fièvre typhoïde, 5 cas de sépticémie, 6 cas de choc, très bons résultats.

f — Dans les maladies à virus (19 cas) comme la parotidite épidémique (compiquée d'orchite), l'hépatite épidémique, nous avons obtenu d'admirables résultats.

g — Par contre, les résultats ont été décevants dans 12 cas de tétanos, de diphtérie et d'agranulocytose.

Pour terminer, nous nous permettons de proposer les conclusions suivantes :

A — Les corticostéroïdes ne sont pas des médicaments d'effet spéci-

fique. Ils ne sont pas bactériostatiques, bactériolytiques. Mais, ils peuvent aider et rendre de grands services quand ces hormones sont employées avec le traitement spécifique ou considéré comme tel. Ces bons résultats sont obtenus grâce à leur effet biologique dans les différentes phases de l'inflammation.

B — Leurs indications dans les maladies infectieuses sont :

1 — Toutes infections aiguës et endotoxiques,  
2 — Toutes infections d'allure torpide malgré un bon traitement spécifique.

3 — Toutes infections où les phénomènes morphologiques de l'inflammation dominent le tableau clinique,

4 — Certaines maladies à virus.

5 — Pour augmenter ou diminuer la vitesse de formation des anticorps.

6 — Dans les cas d'hypersensibilité, d'idiosyncrasie ou de choc.

C — Leurs contre-indications sont :

1 — Maladies infectieuses d'étiologie et de pathogénie inconnues.

2 — L'emploi de ces hormones seules, dans toutes les maladies infectieuses.

3 — D'abandonner le traitement spécifique en continuant la corticothérapie.

D — Nous nous permettons de dire que, pendant les quatre années de nos applications, nous n'avons pas observé d'effets secondaires qui nous aient obligés d'abandonner la corticothérapie. Toutefois, dans certains cas nous avons employé l'ACTH, pour la prophylaxie de l'insuffisance surrénalienne.

## L I T E R A T Ü R

- 1 — KANTEMİR İ. : Farmakoloji, Ankara Tıp Fakültesi yayınlarından, Ankara, 1960.
- 2 — ATASAĞUNGİL, M. : Steroit Hormonlar, 1960, Ankara.
- 3 — KENDALL, E. C. : Hormones of the adrenal cortex, Hormones in Health and disease 31, 1954.

- 4 — KULOGLU, S. : Endokrinoloji, Ankara Tıp Fakültesi yayınları, Ankara, 1961.
- 5 — DORFEMAN, R. : Androgens. Viley and Sons, Inc., New-York, 1956.
- 6 — LICHIWITZ, A. : Examen clinique et traitement d'un endocrinien. L'expansion scientifique Française, Paris.
- 7 — WILKINS, L. : The diagnosis and treatment of endocrine disorders in childhood and adolescence, Blackwell, Oxford, 1951.
- 8 — BODASKY, M. : Biochemistry of diseases, 1952.
- 9 — PÎNCUS, G. : Aspects du métabolisme des stéroïdes hormones, Masson et Cie, Paris, 1955.
- 10 — KLYNE, W. : Synthesis and metabolism of adrenocortical steroids. Ciba found-Coll. on endocr. J. And. A. Churchill Ltd. London, 1953.
- 11 — HEARD R. D. H—BLIGH, E. G. : Biogenesis of the sterols and steroid hormones. Rec. Prog. In Horm. Res. XII, 45, 1956.
- 12 — HEARD, R. H—JACOBS, R. : The application of C 14 to the study of the methabolism of the starols and steroid hormones Rec. Prog. in Horm. Ras. IX, 383, 1954.
- 13 — TOMKINS, G. M. : Enzymatic mechanisms of hormone methabolism. I—oxydation reduction of the steroid nucleus Rec. Prog. in Horm. Res. XII, 125, 1956.
- 14 — DORFMAN, R. I. : Methabolism of endrogens, estrogens and corticoid JAM, XXI/5, 679, 1956.
- 15 — SANDBERG, A. A. SLAUNWHITE, W. R. : The binding of steroids and steroid conjugates to human plasma proteins. Rec. Prog. In Horm. Res. XIII, 209, 1957.
- 16 — LANG, W: I. MED. KLİN. D. Univ. Munich, 2, 6, 330—341, 1961.
- 17 — DELMEZ, J. P.; ENGEL, E. : Contribution à l'étude du métabolisme hepatique des 17 — Hydroxycort icostéroïdes, Ann. d'endoc. 18/1, 47, 1957.
- 18 — LEVY, G. A. : Glucuronide metabolism. with special reference to the steroid hormone. Vite. and Horm., XIV, 268, 1956.
- 19 — SCHENKER, V., PÎNCUS, G. : The native and biogenesis of the adrenal secretory product. Rec. Prog., in Horm. Res. VI, 215, 1951.
- 20 — DESOURT, J, J. MICHARD, O. MANTEL : Les fonctions corticosurrénales au cours des hyperthyroïdies. Sem. Hop. Paris, 36, 6, 356—361, 1960.
- 21 — BOLLET, A. J. : Major undesirable side—effects from prednisolone and prednisone, JAMA, 158/6, 459, 1955.
- 22 — SPIES, T. D. : Prednisone and prednisolone as therapeutic agents. JAMA, 159/7, 645, 1955.
- 23 — FEINBERG, S. M., FEINBERG, A. R. : Methylprednisolone (Medrol), a report new anti inflammatory steroid, JAMA. 165/12, 1560, 1957.
- 24 — HART, F. D., GOLDING, J. R. : Triamcinolone, Lancet, 7045, 495, 1958.
- 25 — SPECIAL REPORT : Triamcinolone acetamide, Jama, 170/2, 194, 1959.
- 26 — SLATER, J. D. H., HEFFRON, P. F. : Clinical and metabolic effects of dexamethasone. Lancet, 7065, 173, 1959.
- 27 — LICHTWITZ, HOCOD, D. : Etude comparative de 100 malades, des effets de la dexaméthasone et des autres corticoïdes. Ann. D'endocr., 20/3, 365, 1959.

- 28 — FALK, W., NEEMAN, J. ROSENFELD, J. : The treatment of typhoid in children with corticosteroids and Chloramphenicol. *Harefuah (Isr.)* 58, 10, 309—312, 1960.
- 29 — HERXHEILMER, H. : Die corticosteroidtherapie beim Bronchialasthma. *Klin. Wschr.*, 39, 14, 722—724, 1961.
- 30 — LIVINGSTONE, J. L., PAGET DAVIES, J. : Steroids in the long—term treatment of asthma. *Lancet*, 7190, 1310—1314, 1961.
- 31 — SIEDE, W. : Therapie der akuten hepatitis. *Tagel. Praxis*, 2, 3, 390—393, 1961.
- 32 — MAINGUET, P., J. CAROLI : Etude statistique du traitement des hepatitis icterogènes aigues par la delta—hydrocortisone. *Sem. Hop. Paris*, 35, 1974, 1959.
- 33 — MARKOFF, N. : Therapy der virushepatitis und ihrer folgezustände. *Helvet Medic Acta* 28, 4.429—458, 1961.
- 34 — LANG, W. : Die therapy der Infektionskrankheiten mit cortison und seinen derivaten. *Internist* 2, 6, 330—341, 1961.
- 35 — ROYER, P., G. VERMÉIL : Problèmes particulières soulevés par la corticothérapie chez l'enfant. *Rev. Praticien*, 10, 29, 3221—3224, 1960.
- 36 — ANDERSEN, B. : *Tskr. Norske lægeforg.* 80, 23, 1152—1159, 1960.
- 37 — SEIFFERT, K. E., H. CONTZEN : Die lokale prednisontherapie in der chirurgie. *Zbl. Chir.*, 85, 3, 112—119, 1960.
- 38 — CAMP, C. G. DE : Die zusatzliche behandlung der tuberkulose mit kortikosteroiden. *Ärztl. Sammelbl.* 50, 9, 272—278, 1961.
- 39 — ALIX Y. ALYX, J., ALEMAN SAÍNZ : La asociation de prednison e los antibioticos en algunas formas de tuberculosis pulmonar. *Rev. Clin. Espan.* 80, 2, 75—81, 1961.
- 40 — KRUKOWSKA, H. : *Cruzica*, 27, 783, 1959.
- 41 — STANULOVIĆ, D. : *Med. Pregl. (Yougos.)* 12, 200, 1959.
- 42 — GAMBOA ACOSTA, R. : *Rev. Med. Hos. Cen. (Mex)*, 22, 2, 127—135, 1959.
- 43 — ECKMANN, L. : Ueber den Schock. *Zeshr. Ärztl. Fortbild.* 50, 4, 276—286, 1961.
- 44 — ALEGRE MARCET, C. : *Rev. Clin.*, 74, 32, 1959.
- 45 — WEISSBECKER : Cortisone et les maladies infectieuses, L'hormone, *Rev. Endoc. Organon*, 1958.
- 46 — UTKU, İ. E. : Memekotimizde Lepra şimioterapisi hakkında çalışmalar ve sonuçları, *Türk İj. Tec. Biyol. Derg.* XV, 3, 287, 1955.
- 47 — UTKU, İ. E. : *Lepa ve Modern Anlamı*, San Matbaası, 1961, Ankara.
- 48 — ONUL, B. : *İnfeksiyon hastalıkları*, Tıp Fakültesi yayını, 3. cü baskı, Ankara, 1962.
- 49 — SELYE, H. : "Stress", *Acta inc. Medical publisher*, Montreal, Canada, 1950.
- 50 — RUSSEW, R. : Corticosteroides et tuberculotsatiques. *L'inf. Med. Ciba*, No: 1, 1960.
- 51 — POZUOLO, V. : Los corticosteroidos en patologia digestiva. *Valn. Abril de 1961*, p. 35—61.
- 52 — SANEL, F. : Akciğer tüberkülozu tedavisinde kortikosteroidler, yeri ve değeri. *Tüberküloz ve Toraks*, Vol. 10, Ek sayı, 1962.

- 53 — ALTIÖK, H. : Tüberkülozda steroid tedavisi. Sağlık Dünyası, yıl 7, sayı 47—49, sahife 9, 1961.
- 54 — ANDERSSON, E. : Uskr. Læger., 123, 7, 223—226, 1961.
- 55 — BOCK, H. E. : Arch. Klin. exper. Derm. 213, 193—225, 1961.
- 56 — SEIDEL, K. : Kritisches zur kortikosteroidtherapie rheumatischer erkrankungen. Dtsch. Gest. Wes., 16, 21, 957—964, 1961.
- 57 — ANDERSSON, E., K. KJERULF : Adrenal cortical function during steroide therapy. Acta Med. Scand., 169, 5, 577—582, 1961.
- 58 — COCHRANE, R. G. : Leprosy in practice and thoory, 1959.
- 59 — PRIETO, G. : Rapport de mission Lutte ontilöpreuse en Turquie, O M S, 1961.
- 60 — CHAUSSINAND, R. : La lèpre. Ex. Sc. Fr. Paris, 1955.
- 61 — ORG. MOD. DE LA SANTE : Conferenc. Intorreg. Europe—Medit. Orient. sur la lèpre. WHO/Lep. Con. 2/11, 1961.

# ANKARADA İZOLE ETMİŞ OLDUĞUMUZ MICROCOCCUS PYOGENES VAR. AUREUSLARIN LYSOTYPLERİ, ANTİBİYOTİKLERE HASSASİYETLERİ EKZOTOKSİNLERİ VE AFİNİTELERİ ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Necmettin ALKIŞ

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

## Giriş :

Malûm olduğu üzere stafilokoklar gerek doğrudan doğruya hastalık amili olmalarıyla, gerekse diğerk enfeksiyon amilleriyle müşterek bulunuşu meselâ : (Streptokoklar, Coryn. diphteri, Mycobact. tüberkülosis gibi) ve bakteriyel gıda zehirlenmelerinden mesul oluşu gibi hastalık proçelerinde varlığı ilk tesbit edilen mikroplardan olmasına rağmen günümüzde halen bir problem olarak durmaktadır.

Penicillinin keşfi her ne kadar bakteriyolog ve tedavicilerin nazarlarını bu amilden bir müddet uzaklaştırmışsa da artık pek çok antibiotiklere rezistan oluşu (1) (2) (3) (8) (9) yeniden mesailerin teksifine sebep olmuştur. Bizde bu mesaimizde Ankarada izole etmiş olduğumuz Stafilokokkûs aureusların lisotiplerini antibiyotiklere hassasiyetlerini eksotoksin ve afinitelerini inceledik.

## Metod ve Materyal

Patojen Stafilokok diye şü kriteriyomlara cevap veren suşları kabul ettik (6) (7) (13).

- a) Altın sarısı renkte koloni,
- b) Sarıh hemoliz (Tavşan ve koyun kanında)
- c) Yedi saate kadar plasmayı koagüle edişii,
- d) Fosfatları parçalayışı,
- e) Mannite tesiri,
- f) Jelatin eritmesi (48 saate kadar)

Bilindiğı gibi Plasmakoagülaz testi için bir cc. 1/5 tavşan plazmasına 24 saatlik kültürden bir öze dolusu ilâve edilir. 7 saat 37 derece C. de müteakiben 20 saat oda derecesinde tutmak kâfidir. Müsbet halde plazma 3-7 saat

zarfında koagüle olur. Mannite tesir edişii keyfiyetine gelince : her zaman kat'î bir teşhis vasıtası değildir. Mannite pozitif olup diğeri kliteryumların menfi olduğu suş sayısı az değildir. Fosfatase testi % 0,01 cc. aminphenol-phetoleinphosphate ihtiva eden boyyona suş ekilir. 24 saat 37 derece C. de enkübe edilir. Sonra bir damla N soda mahlülünden damlatılır. Pozitif ise phenolphetoleinin açığa çıkmasıyla kırmızı renk husule gelir.

Bakteriyofajlarla tip tayini kısaca şöyle yapılır : (5) (8) (9) (12) (14) patojen olan staphilococcus aureus stamı kanlı jeloza tek koloni düşürülecek şekilde ekilir. (Bu suretle suş bir kere daha kontrol edilmiş olur.) Buradan bir öze ile gayet bol miktarda tripsin buyyona ekim yapılır. 5 saat kadar bir müddet 37 derece C. lik etüvde bırakılır. Müteakiben satırları etüvde iyice kurutulmuş ve 25 kareye ayrılmış olan Extrakt agar plaklarına, nihayetine bir lastik boru ilâve edilmiş olan pastör pipeti ile hava habbeciği ve ekilmemiş saha kalmıyacak şekilde yaygın ekim yapılır. Vasatın fazlası pipetle alınır. Petri kutularının kapakları açılarak 20 dakika kadar vasatın kurumaması beklenir. Maksat hasıl olduktan sonra takribe damlası 0,02 Ml. olan kapiller pipetle bir atlamak suretiyle RTD fajların ilk serisi ve müteakiben de 2. seri fajlar damlatılır. Bütün fajlar karelerdeki yerlerine damlatıldıktan sonra bu son faj damlası da kuruduktan sonra 30 derece C. lik etüvde bir gece bırakılır. ertesi sabah reaksiyon okunarak faj numaraları kaydedilir.

Değerlendirme şöyle yapılır :

1 — Eğer damlanın isabet ettiği yerde tam bir erime mevcut ise konfluen lysis denir.

2 — 50 ve daha yukarı miktarda faj delikleri varsa, kuvvetli lysis denir. (+ +) ile gösterilir.

3 — 20—50 faj deliği varsa orta kuvvetli lysis denir ve (+) ile gösterilir.

4 — Eğer 20 faj deliğinde az ise zayıf lysis denir ve (±) olarak gösterilir.

## B U L G U L A R

Testin kritiği şöyle yapılır :

Eğer 1/1000 sulandırılmanın RTD fajlarla müsbet netice alınırsa test bir defa da dilue pool fajlarla yapılarak tecrübeye nihayet verilir.

RTD ile menfi netice alınırsa ertesi günü pool fajlarla yapılmalıdır. Her ikisinde menfi olduğu hallerde ise tecrübe ertesi günü 1000 RTD ile tekrarlanır. Bu defa eğer poolerle ve pool fajlarla menfi netice alınırsa reaksiyon menfidir. NT denir.

Yukarıda arzedniş olduğumuz esaslar dahilinde yapmış olduğunuz me-  
saimiz neticesinde şu hususları tesbit etmiş bulunuyoruz.

1 — Klâsik malûmat her nekadardaki stafilokokküs aureusun patojen olduğunu gösteriyor ise de : 20 vak'ada stafilokokkus albus'un indikakatörlü man-  
ninin menfiliğine rağmen, Plâsmayı 7 saat zarfında koagüle edişi muhtelif  
antibiotiklere mukavemeti, bazı vak'alarda saf halde stafilokokkus albusun  
izolesi, Stafilokokküs aureuslar gibi çok aşağı nisbette de olsa fajlarla tiplen-  
dirilebilmesi saprofit bilinen bu ajanlar üzerinde durulması icap ettiğine işa-  
rettir. Keza Eksotoxin araştırmalarımızda en yüksek üniteli eksotoxin bir sta-  
filokokkus albus olan wood 46 suşundan alınmıştır. 7 Ü/cc.

2 — Koklardan otovaccin hazırlandığında ekseriyetle muvaffakiyetsiz-  
likle neticelenmektedir. Tesadüfen 15—20 stafikokus aureusun karıştırılma-  
siyle hazırlanan vacinde de bu hal varittir. Kanaatimizce aynı faj gruplarını  
ihtiva eden eşit miktarda emülsionlarının karıştırılmasıyla hazırlanmasında  
muvaffakiyet ihtimali en yüksek seviyeyi bulur.

Şüphe yokki staf. aureusun fajlarla tiplendirilmesi epidemiyolojik baki-  
mından büyük bir önem taşır. Bilhassa çocuk hastanelerinde doğum evle-  
rinde bu amile bağlı intan menşei ancak en emin olarak fajlarla tiplendiril-  
dikten sonra portörün hasta ile teması önlenerek tedaviden arzu edilen ne-  
tice alınabilir.

Eksotoxin araştırmalarımızda :

Tetkik etmiş olduğumuz stafilokokküs aureusların da 0-4 Ü/cc. de tesbit  
edebildik. Muayyen ünite veren stafilokokklar arasında lysotyp bakımından  
bir müşahebet yok şöyleki : CC. de I Ü. veren 209 protokol nolu suşun for-  
mülü 71.2, gruptan; buna mukabil 215 protokollü suşun faj formülü 1000  
RTD ile 52 A dır. Ve I cc. de 4Ü. eksotoksin ihtiva ediyor. Bu hal eksotok-  
sin elde edemediklerimizde de aynıdır. Buradaki birkaç misâli çoğaltmak  
kolaydır. Görülüyorki sabit ve muayyen bir esasa bağlamak mümkün de-  
ğildir. Diğer bir ifadeyle aynı lisogruptaki stafilokokküs aureusların ekso-  
toksin istihisâline uygun olabileceği veya aksi iddia edilemeyeceği kanaatin-  
deyiz.

Stafilokokküs aureusların muayyen regiolara karşı afinitelerini tetkik et-  
tiğimizde; bunu da otitis Mediadan, Burun-Boğaz ve diğer menşeli olmak



uzere uç gruba ayırarak tetkik ettiğimizde : bu üç grup arasında kat'i bir hudut çizmeye imkân yok. Yalnız diğer menşeli suşlardan 80 nolu fajın diğerlerinden daha fazla oluşu calibi dikkattir.

Keza gıda maddelerinden ayırdığımız stafilokokların lisotipleriyle eş-hastan ayrılanlar arasında bir fark görmedik. Her dört gruptada 6/75/54, 52/71, 52/75, 53/476/54/29 A, 75/74, tek faktör olarak da 6,75,52 ve 71 e ekseriyetle rastlanmakta.

Bebek, çocuk ve büyüklerden izole edilen stafilokokküs aureusların lisotiplerinin tetkikinde : her üç gruptaki şahısların (Grub yaştaki) Stafilokokküs aureuslarını muayyen gruplarda toplamak imkânı görülmedi. Gayrı mun-tazam seyretmekte.

Antibiotiklere hususiyle penisilin ve streptomisin'e karşı hassasiyetlerini tetkikinde : Dilüsyon metodu ile araştırmalarımızı yaptık. Penisilin için 0,4 Ü/cc., 0,8 Ü/cc., 1,6 Ü/cc. olarak çalıştık. Tetkik ettiğimiz suşların optimal dozda % 82 si rezistan bulunmuştur. I, grub yani 52 grubu veya bu gruptan faktör ihtiva eden suşlar diğer faj tablosu ihtiva edenlerden çok daha rezis-tans bulunmuştur. Bu nisbet Muvaffak Akman'ın faj gruplarına göre tasnif etmeksizin yapmış olduğu araştırma (I) ise % 66,3 dür. Bernhard Schmit lenk Volkerin (II) araştırmalarında ise % 90 dır.

52 grubu stafilokokklar keza diğer gruplardan daha rezistan bulunmuştur.

Streptomycine hassasiyet testinde ise durum şöyledir : Teste tâbi tuttuğumuz suşların % 36,1 rezistan bulunmuştur. Bura dada gene ilk sırayı 52 grubu işgal etmektedir. Bu grubun en mukavim suşları olarak 52/80 (10 suş), 52 (32 suş), 80/52/52 A/29/29 A (2 suş) 80/52/52 A/29/53/75/54/29 A (4 suş) bulunmuştur. En hassas olarak da 3B/3C/95/71 faj formülü ihtiva eden suşlar bulunmuştur. M. Akman'ın araştırmalarında (I) rezistanlık nis-beti % 27,3 dür. Bu nisbet T. Çetin ve arkadaşlarının araştırmalarında ise penicilline karşı % 78,6 ve % 22,4 nisbetinde de streptomycine mukavim bu-lunmuştur. (3) (4).

Schmidt Bernhard ve Len Volker'in (9) araştırmalarında ise : I. Grub % 86, 2. grup % 47,9 3. grubun ise % 83,8 nis betinde rezistan olduğu bildi-rilmektedir.

Liso grubu tayin edilecek olan suşun beş saatlik ekimi için her ne ka-dar tripsin buyyon ve reaksiyon için de Extractı agar tavsiye ediliyorsa da (5) (14), adi buyyon, adi jeloz kullanılarak da aynı neticeler alınabilir. Etüv hararetinin 28-32 C. olmasının bir zararı görülmemiştir. Şüphesizki bu hu-susta optimal derece30 dur.

Stafilokoküs aureusların faj durumlarına göre dağılımları şöyledir. ( , , )  
 1. Grup : 80, 79, 52 A52, 29 % 51,2 dir. Bu oranda olmakla beraber 3. grup  
 bazis satza mühim miktarda iştirak etmektedir (% 22 nisbetinde).

Faj formülleri ise şöyledir :

	Adet
29	6
52	60
80/52	13
52/52/6	2
52/29/6/75	4
52 A/71	1
52/52A/29/75/54/29 A	13
52/75	13
52/42 D	1
80/52A/52/29/53/76/54/29 A	10
52/29	3
52 A	10
52/55	4
52/6/54	1
52/6	1
52 A/52/29/53/75	4

2. Grup : 71/55, 3C, 3B, 3A, grubu : % 13,9 nisbetindedir. Kezalik bu grupta  
 3. grubla müşterek olarak % 6,3 nisbetinde 71 nolu fajı ihtiva et-  
 mektedir.

Faj formülleri ise şöyledir :

	Adet
71/55/ 3c/3B	7
71/3B	3
3C/3B/7	3
3C/3B	1
71/55	6
71	5
71/55/3C/3B/73/54	7
55	3
71/52/75	3
7 1/55/75	1
55/3A/75	1
71/53/3B/3A/7	1
55/3B	1

3. Grub 6,7; 42E, 47, 53, 54, 70, 73, 75, 77 grubu : memleketimizde hakim grub budur. Bizdeki stafilokokkus aureuslar'ın % 34,9 unu teşkil etmektedir.

Bu grubda :

	Adet
75/54	34
75	7
6	6
54	7
52/75/54	13
6/75/54	3
6/75	3
52/6/75/54	2
52/53/75/70/5	3
52/54	2
6/75/70/54	1
71/55/75	3
52/3B/75/54	1
52/75	1
53/47/6/54	2
53/75/54/6	3
52/53/47/75/70/54	2
52/71/75/54	3
52/55/75/54	2
52/77/75	1
73	1
47/75	1
71/55/3C/3B	1
52/71/5347/6/75/54	1
29/75/54	1
75/70	1

4. Grub : 42 D. vak'aların % 0,22 de 29A ile müşterek olarak bulunmaktadır.

Elimizde tiplendirilmeyen suş N1 adedi ise % 20 nisbetindedir. Bunlar penicillin'e % 59,7 ve Streptomycin'e ise % 21 nisbetinde rezistan bulunmuştur.

## Netice ve Özet :

Ankarada bebek, çocuk ve erginlerden izole edilen 363 Micrococcus pyeegos var. Aureusların İysetiplerini (Hacettepe çocuk hastanesinden izole edilen stafilokokus aureusların iysetipleri dahil edilmemiştir.) Penicilline ve Streptomycine hassasiyetlerini, eksotoksin ve affinitelerini inceledik.

A — tetkik ettiğimiz suşların 1 Ü/cc. de penicillin'e karşı % 82 si rezistan bulunmuştur. 1 grup yani 52 grubu veya bu gruptan faktör ihtiva eden suşlar diğer faj tablosu ihtiva edenlerden daha rezistan bulunmuştur. Streptomycin'e karşı durumu şöyledir.

Mevcut suşların % 36,1 i rezistan bulunmuştur. Keza ilk sırayı 52 grup işgal etmektedir. Bu grubun en mukavim suşları olarak da 52/80 (13 suş) 52 (60 suş), 80/52/52A/29/5375/54/29A (12 suş) bulunmuştur. Enhassas olarak da 3B/3C/55/71 faj formülü ihtiva eden suşlar bulunmuştur.

B — Stafilokoküs aureusların faj durumlarına göre dağılımları şöyledir :

I — Grup (80,79, 52A, 52, 29). Memleketimizde hakim grup bu gruptur. Tiplendirdiğimiz suşların % 51,2 sini teşkil etmektedir. III, grup bazissatza mühim miktarda iştirak etmektedir. İlk sırayı 52 (60 adet) 80/52 (13 adet), 52/75 (13 adet), 80/52A/52/29/53/75/54/29A (10 adet), 52A/52/29/75/54/29A (13 adet) olmak üzere işgal etmektedir.

II — Grup : 71, 55, 3B, 3C, 3A) % 13,9 nisbetindedir. Keza üç grupla müşterek olarak % 6, nisbetinde 71 nolu faj iştirak etmektedir. İlk sırayı 71/55/3C/3B (7 adet), 71/55/3C/3B/73/54 (7 adet), 71/55 (6 adet) 71 (5 adet) olarak işgal etmektedir.

III — Grup : (6, 7, 42E, 47, 53, 54, 70, 73, 75, 77). % 34,9 nisbetindedir. İlk sırayı 75/54 (35 adet), 52/75/54 (13 adet), 75 (7 adet) 6 (6 adet) 6/75/54 (3 adet), 6/75 (3 adet) olmak üzere teşkil ederler.

IV — Grup : (42D) ancak vak'aların % 0,22 sinde 29 A ile müşterek bulunmaktadı. Tiplendirilmeyen suş (NT) adedi ise mevcut suşların % 20 si nisbetindedir.

B — Bebek, çocuk ve erginlerden ayrılan stafilokokus aureuslar muayyen gruplar altında toplanılmadı, gayri muntazam seyretmekte.

[\*] Bu neticelere Hacettepe Çocuk Hastanesinden aldığımız suşların lysogrupları dahil edilmemiştir. Ayrı bir yazımızda münhasıran bir hastaneden izole edilen suşların lysogruplarına göre dağılımları neşredilecektir.

C — Stafilokokus aureusların muayyen regioları karşı affinitelerini incelediğimizde, bunda da sabit ve muayyen gruplaşmalar görmedik her gruba ait stafilokoklar herhangi bir regioda da bulunabiliyor.

D — Eksotoksin araştırmalarımızda da : muayyen bir gruptaki stafilokokların aureusun eksotoksin istihsaline uygun olabileceği veyahutta aksi iddia edilemez.

**Teşekkür :** Birer nümune lyofilise faj ve suş vermek lütfunda bulunan K. Rosendalé, suş göndermek suretiyle büyük yardımlarda bulunan sayın Prof. Dr. Sabahattin Payzın ve Hacettepe Çocuk Hastanesi Bakteriyoloğu Sayın Dr. Muvaffek Akman'a teşekkürler ederim.

## ZUR DIFFERENZIERUNG VON STAPHYLOKOKKEN

Necmettin ALKIŞ

Refik Saydam Zentral Hygiene Institut, Ankara/Türkei

1 — Aus diesen Befunden geht hervor, dass in Türkei die Staemme der Lysogruppe I sind haeufiger als anderen Lysogruppen.

Zweite Reihe gehoert der Lysogruppe III. (Tabelle I.).

### Die Verteilung der Staphylokokken Staemme auf die einzelnen Lysogruppen

	Anzahl	In Prozenten
Untersuchte Staemme	363	100
Bestimmbar	291	80
Lysogruppe I		51,2
Lysogruppe II		13,9
Lysogruppe III		34,9
Lysogruppe IV		0,22
Unbestimmbar	72	20

2 — Die Staemme sind Resistenz gegenüber Penicillin 82 % und Streptomycin 36,1 %.

Die Resistenzsten Staemmen sind : 52, 80/52, 80/52A/27/50/1, 50/1.

Die sensiblsten Staemme sind : 3B/3C/3A, 3B/3C/55/71.

3 — Bei Unseren Versuchen haben wir eine Beziehung zwischen Saeu-lingen und Erwachsenen Staphylokokken Phagenbilder nicht beobachtet.

4 — Wir haben eine Beziehung zwischen affinitael-Phagenbilder-Exo-toxin und Resistenzen nicht beobachtet.

## LİTERATÜR

- 1 — Akman, M., 1959, Hastahanemizde çocuklardan izole ettiğimiz stafilokok-  
ların antibiyotiklere hassasiyet durumları. Çocuk Sağ. Hast. Derg. 2,129.
- 2 — Banic, S., 1958, Dissoziation eines rezistenzten Stammes von Staphylococ-  
cus aureus in Kleinere und Grossere Kolonien mit Verschieden rezistenz  
gegen Penicillin, Znbil. Bakt. 171,1-2.
- 3 — Çetin, T., Şahsi görüşme.
- 4 — Çetin, T., Anđ, Ö., Töreci, K., 1960, 1958 ve 1959 senelerinde izole ettiği-  
miz 405 Bakteri suşunun Antibiyotiklere ve Furadantine hassasiyetlerinin  
denenmesi. İstanbul Üni. Tıp Fak. Mec. 23-1, 143-169.
- 5 — Pöhn, Ph., 1958, Zur Differenzierung von Staphylokokken, Zeitschr. Im-  
mün. frsch. 116, 92-107.
- 8 — Pöhn, Ph. H., 1955, Die Spezifitaet der Typenphagen für die einzelnen Sta-  
phylokokken-Gruppen, Znbil. Bakt. 164. 164.  
perte de Prophages ou par Lysogenisation. Znbil. Bakt. 171, 573.
- 6 — Haimann, L., 1955, Bakteriologie und Serologie, 82-89.
- 7 — Wahl, R., Fouaca J., 1958, Modificatons des "Types" de Staphyloques par
- 9 — Hausler, R., Pöhn, Ph. H., 1959, Beobachtungen über die Ausbreitung von  
Staphylokokken-Mastitiden in einer geburtshilfen Klinik, Deutsch. Med.  
Wsch. 17. 817-820.
- 10 — Bernhard, S., Volker, L., 1958, Antibiotica rezistenz und Phagenbild bei  
Pathogenen Staphylokokken, Znbil. Bakt. 171,8 590.
- 11 — Mátejovská, V., 1957, Bakteriophagen typlesierung Des Staphylokokkus  
aureus, Znbil. Bakt., 168, 553.
- 12 — Wleldführ, G., 1959, Medizinische Mikrobiologie, und Epidemiologie.
- 13 — Ortel, S., 1958, Die Phagentypen bei Penicillin empfindlichen, Penicillin  
rezistenzten Staphylokokken, Znbil. Bakt. 172,1-2,44.
- 14 — Jcssen, O., Faber, V., Rosendal, K., Eriksen, R. R., 1949, Some Properties  
of Staphylococcus aureus, Possibly related to Pathogenicity, Acta Path.  
Microbiol Scand. 47, 327.
- 15 — Atay, N., 1960, Muhtelif irococcus Pyogenes var. aureusların toxin durum-  
ları ve anatoxin hazırlanması, neşredilmemiş ihtisas tezl.

# CLOSTRIDIUM PERFRINGENS ALPHA TOKSİN PRODÜKSÜYONU

Vet. Bakt. Turgut TULGA

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

Genel Sekreteri

Aralıksız araştırmalara konu teşkil etmiş olan Clostridium perfringens alpha toksini husulünde yer alan faktörlerin tamamıyla aydınlanılmamış olması, bunların kontrol altına alınmasını engellemektedir. Karşılaşılan en büyük güçlük suşlar arasındaki toksijenisite farkından başka, ortamdaki şartların kullanılan suşa bağlı olarak büyük bir variabilite göstermesidir.

Suşu vasata ve diğer şartlara uydurmak, diğer bir deyimle toksin prodüksüyonu bakımından her hangi bir suş için optimal ortamı araştırmak ve tespit etmek uzun ve sürekli çalışmaları gerektirmektedir (1, 2). Sentetik ve yarı sentetik vasatlar bol bir üreme sağlamakla beraber toksin husulü bakımından her zaman elverişli sonuçlar vermemiştir (3, 4, 5).

Enstitümüzde Clostridium perfringens alpha toksini istihsalinde yakın zamanlara kadar glikozlu beygir eti buyyonu ve Vf buyyonu kullanılmaktaydı. Clostridium perfringens (Tip A) S107 suşuyla bu vasatlarda elde edilen toksinin farelerdeki öldürücü kudreti 100 M.L.D. bulunmuştur (5). Bu seviyede veya bunun altında toksisite gösteren bir toksinin antiijenisitesi çok düşük olduğundan, antitoksin karşısında değerlendirilmesi de güçleşmektedir (6).

Tarafımızdan bu suş ve bu vasatlarla hazırlanan toksin preparatları benzeri sonuçlar vermiş, toksinin antiijen değeri bakımından spesifik antitoksinle bağlanma kudretini in-vivo tâyin ve ifade eden L + ünitesi antitoksin prodüksüyonu için gerekli sınıra hiç bir zaman yaklaşmamıştır.

Adams ve Hendee (7) toksin teşekkülünde kamçılıyıcı bir faktör olarak pankreatik hazma tâbi tutulmuş kazein, Logan ve arkadaşları da yarı sentetik bir vasatta kazein-hidrolizat kullanmışlardır (2).

---

[\*] Bu çalışma, Enstitü İmmünoloji servisinde görevli bulunurken yapılmıştır.

Prévoit'ya göre Logan ve arkadaşlarının aldıkları sonuçlar genelde buyyonundan alınmakta olan sonuçlardan farksızdır (8). Son zamanlarda Olaru ve arkadaşları farklı şartlar altında hazırlanmış kazein-hidrolizat kullanarak yüksek kudrette toksin elde ettiklerini bildirmişlerdir (9).

Nagler, hayvan etlerinde *Cl. perfringens* alpha toksininin teşekkülünde rol oynayan bir faktörün bulunduğunu fakat bu faktörün sulu ekstraktlara geçmediğini ileri sürmüştür (10).

Rogers ve Knight at etinde *Cl. perfringens* S 107 suşunun alpha toksinini diğer bir deyimle lecithinase titraj seviyesini yükselten bir faktörün mevcudiyetini kabul etmişler, kısmen pürifiye edilmiş bu faktörün amino-sakkarit olabileceğini mümkün görmüşlerdir (11).

Biz de at eti ile, kazein de bulunan faktörleri bir araya getirmek amacıyla aşağıdaki çalışmayı yapmış bulunuyoruz.

### **Materyel ve Metod**

**Vasatın hazırlanması :** Yağlarından ayıklanmış bir kilo taze beygir eti kıymasına bir litre distile su katılır, emaye bir kap içinde bir gece maserasyon'a terkedilir (genel olarak 10 kiloluk miktarlarla çalıştık). Ertesi gün bir litre su ilâvesiyle iki litreye tamamlanır ve 40-50 derece arasında bir saat tutulduktan sonra pH 7,2-7,4 üzerinden ayarlanır, 10-15 dakika kaynatılır, üstte durulmuş olan et suyu başka bir kaba aktarılır. Dipteki kıyma tülbentten geçirilerek iyice sıkılır ve çıkan usare enfüzyonla karıştırılır.

Enfüzyonun pH sı 7,8-8,0 olarak tekrar ayarlanır ve kâğıttan süzülür. Hafif ateş üzerinde ısıtılan et suyuna % 3,5 nispetinde pankreatik dijessiyona tâbi tutulmuş kazein ilâve edilir. Burada denediğimiz kazein preparatının ticari adı N. Z. Case'dir (Sheffield Farms Co., New-York).

Enfüzyondan arta kalan kıyma beş litrelik Jena şişelerine 5-8 santimetre yükseklikte olmak üzere dağıtılır ve her şişeye hazırlanmış bulunan et suyundan 3500 cc. konur.

Şişeler serbest buharda yarım saat tutulduktan sonra 110 C. de bir saat süre ile sterilize edilir.

Otoklavın derecesi düşer düşmez, vasat henüz kaynama derecesinde iken şişeler dışarıya alınarak soğuk su havuzuna bırakılır. 40 santigrad dereceye kadar soğuduktan sonra her şişeye % 50 glikoz solüsyonundan son konsantrasyon % 0,6 olmak üzere yeteri miktarda ilâve edilir. Aşağıda anlatılan tarzda hazırlanmış tohum kültüründen derhal ekim yapılır.



**Tohum kültürünün hazırlanması :** Deneylerimizde Londra Lister Enstitüsünden tedârik ettiğimiz *Cl. perfringens* (Tip A) S 107 suşunu kullandık.

Suş, sığır eti ile hazırlanmış kıymalı buyyon ihtiva eden, ağız ateşte eritilerek kapatılmış tüplerde ve buzlukta saklanır. Stok kültürden, içinde aynı vasat bulunan tüplerde 24 saat ara ile iki pasaj ve ikinci pasajın 24 saatlik kültüründen yine aynı vasat ihtiva eden büyük tüplere (20 × 2,5 cm.) son pasaj yapılır. 34 derecede 6-7 saat enkübasyondan sonra her şeye bir tûb'ün tamamı Pastör pipetiyle ekilir.

Kültür kapları 34 C. de 11-12 saat süre ile üremeye terkedilir.

**Süzme ve fitraj :** Enkübasyon siresi sonunda etüvden çıkarılan kültür steril tülbentten geçirilerek kıyma parçalarından kurtarılır, nakliye toprağı ve filtre kâğıdıyla klarifiye edilir. Toksinin antijenisite bakımından özelliği farelerde damar içi yolla (17—20 gr.) ve standard antitoksin karşısında değerlendirilir (L + /2).

Toksiste yine farelerde tâyin ve tespit edilir.

Standard serum Kopenhag Devlet Serum Enstitüsünden sağlanmaktadır.

### **Sonuç**

Pankreatik dijessiyon'a tâbi tutulmuş kazein ilâve edilerek hazırlanan kıymalı beygir eti buyyonunda *Clostridium perfringens* (Tip A) S 107 suşuyla elde edilen klarifiye alpha toksininin spesifik antitoksin karşısındaki değeri bir santimetre küb'de 4—7 L + /2 arasında değişmiştir. Aynı toksin operasyonları 200-350 fare M.L.D. si arasında değişen birtoksiste göstermişlerdir.

Elde ettiğimiz bu sonuçlara göre kazeinden hazırlanan preparatlarla beygir eti kombinasyonu üzerinde farklı *Clostridium perfringens* suşlarıyla yapılacak araştırmalar ve bu araştırmaların ışığı altında tespit edilecek optimal şartlar, daha yüksek vasıfta *Cl. perfringens* alpha toksini elde edilmesini sağlayabilecektir.

## PRODUCTION OF CLOSTRIDIUM PERFRINGENS ALPHA TOXIN

**Turgut TULGA**

Refik Saydam Central Institute Of Hygiene  
Ankara, Turkey

In 1945, Adams and his co-workers described a simplified medium for the production of potent alpha toxin of *Clostridium perfringens* based on a pancreatic digest of casein.

Research in the last 12 years has shown that a nutrient media with a base of casein can be successfully used for cultivating bacteria and preparing various toxins.

To obtain *Clostridium perfringens* toxin in particular, Nagler, Rogers and Knight have shown that horse muscle contains toxin promoting-factors.

This report presents the results of work on preparing *Clostridium perfringens* alpha toxin in a nutrient medium composed of horse meat infusion and 3,5 per cent pancreatic digest of casein (N. Z. Case, Sheffield Farms Co., New-York).

% 0,6 per cent glucose was the carbohydrate used.

*Clostridium perfringens* strain No : S 107 of type A was used to prepare the toxin.

This medium was dispensed in 3,500 ml. quantities in the 5 liter Jena bottles. Each bottle contained a thick layer of muscle residue. They were sterilized 30 minutes in flowing steam and then one hour at 110 C.

At the time of inoculation glucose was added to the medium. The final pH of medium was 7,8-8,0.

A stock culture of *Clostridium perfringens* (Type A) strain S 107 was kept in sealed meat broth. Two serial 24 hours subcultures were made from this in small meat broth, then a subculture into a large meat broth (20 × 2,5 cm.).

After an incubation period of 6-7 hours at 34-35 C. the bottles of medium were inoculated by adding the whole of one large meat broth to each bottle.

Cultures were incubated 11-12 hours at 34-35 C.

Then they were clarified. The cleared toxin was assayed in mice with standard antitoxin at the L+ /2 level, and lethal effect on intravenous injection into mice.

The combining power units of clarified toxin varied between 4 to 7 L+ / 2 per ml. and toxicity varied between 200 to 350 mouse M.L.D.

## LİTERATÜR

- 1 — Roberts, J. E., 1957, Toxin production by clostridium perfringens, J. Bact., 74, 439-444.
- 2 — Logan, M. A., Tytell, A. A., Danielson, I. S., Griner, A. M., 1945 Production of Clostridium perfringens alpha toxin, J. Immunol., 51, 317-328.
- 3 — Boyd, M. J., Logan, M. A., Tytell, A. A., 1948, The Growth requirements of Clostridium perfringens (Welchii) BP6K, J. Biol. Chem., 174, 1013-1025.
- 4 — Murata, R., Yamada, T., Kameyama, S., 1958, Production of alpha toxin of Clostridium perfringens, III. The role of certain unidentified factors on the toxin production, Jap. J. med. Sci. Biol., 11, 427-442., Réf. (Bull. de Inst. Pasteur, 1960, 58, 2016).
- 5 — Gören, S., 1952, Clostridium perfringens alpha toksini üzerinde, Türk Hij. Tecr. Bıyol. Derg. 12. 130-137.
- 6 — Adams, M. H., Hendee, E. D., Pappenheimer, A. M., 1947, Factors involved in production of Clostridium welchii alpha toxin, J. Exp. Med., 85, 701-713.
- 7 — Adams, M. H., Hendee, E. D., 1945, Methods for the production of the alpha and theta toxins of Clostridium welchii, J. Immunol., 51, 249-256.
- 8 — Prévot, A. R., 1955, Biologie des Maladies dues aux Anaérobies. Collection de L'Institut Pasteur. Ed. Méd. Flammarion.
- 9 — Olaru, A., Bittner Zh., Teodorescu, G., Fychiu, S., 1960 Study of toxin formation by Clostridium perfringens in a medium produced by hydrolysis of casein and fishbone meal by protease from the Fungus Aspergillus terricola, J. Microbiol., Epidemiol., Immunobiol., 31, 85-89.
- 10 — Nagler, F., 1940, Experimentelle Untersuchungen über die Serologischen Eigenschaften des Fraenkelschen Gasbazillus, Ztschr. Immunitätsforsch., 97, 237-280.
- 11 — Rogers, H. J., Knight, B.C.G., 1946, The recognition of material present in horse muscle affecting the formation of alpha toxin by a strain of Clostridium welchii, Biochem. J., 40, 400.
- 12 — Heyning Van W. E., 1948, The Biochemistry of the gas gangrene toxins: Development of a medium suitable for the large scale production of the toxins of Clostridium Welchii, Bloch. J., 42, 127-130.

**ÇİÇEK AŞISI İSTİHSALİNDE KULLANILAN YENİ METOD**  
**VE**  
**AŞI TATBİKATINDA DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN HUSUSLAR [\*]**

**Dr. Elhan ÖZLUARDA**

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü, Virus Şubest Mütahassısı

1961 yılı ilkbaharından itibaren çiçek aşısını yeni bir metodla hazırlamaktayız. Danaların inokülasyondan evvel ve sonraki temizliği, tohum virus hazırlanması, mayanın ezimi, sulandırma mayii, sulandırma nisbeti, antibakteriyel ajan kullanılması, bekletme süreleri, aşının titrağı ve kontrolleri gibi birçok hususlarda az veya çok değişiklikler yapılmıştır. İngilterede Lister Enstitüsü tekniğini esas alarak tatbik etmekte olduğumuz yeni hazırlama metodu aşıya, kalite ve kantite bakımından birçok üstünlükler kazandırmıştır.

Hayvan menşeli çiçek aşısı esasında kontamine bir aşı olup, aynı zamanda muayyen miktarda canlı vaccinia virusu ihtiva etmesi gerektiğinden, istihsal esnasında, bir taraftan aşığı patojen bakterilerden ari olarak elde etmek ve ayrıca saprofit bakteri muhtevasını asgariye düşürmek, diğer taraftan canlı virus muhtevasına mümkün mertebe zarar vermemek başlıbaşına bir problem teşkil etmektedir.

Çiçek aşısını bakteri muhtevası bakımından standarda uygun hazırlayabilmek için, aşı hayvanının ve muhitinin temizliği, aşılama ve lenf toplama esnasında steriliteye itina edilmesi umumiyetle kâfi gelmemektedir. Bütün tedbirlere rağmen saprofit ve bazen patojen bakteri ihtiva eden aşığı standarda uygun hale getirebilmek için bir çok memleketlerde, gliserin, fenol, antibiyotikler veya roccal gibi bakterisid veya bakteriyostatik ajanlarla beraber, düşük hararete uzun süreli veya yüksek hararete kısa süreli bekletme usulüne başvurulmaktadır. Çiçek aşısını dana, koyun, buffalo gibi hayvanlardan elde eden hemen bütün memleketlerde bakterisid ajan olarak gliserin ve fenol kullanılmaktadır. Bununla beraber, aşının, virusa zarar vermeyecek surette, bakterisid ajanlarla ve bekletilmek suretiyle dahi

---

[\*] Bu makale neşredilmek üzere 30 Temmuz 1962 tarihinde alınmıştır.

bertaraf edilemeyecek şekilde kontamine olmaması için, aşı hayvanının temizliği ve aşılama esnasında steriliteye itina ön plânda gelmektedir (1,2).

Çiçek aşısı istihsalinde kullanılan eski metod birçok müellifler tarafından yayınlanmış ve klâsik kitaplara da geçmiştir (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9). Burada, son çiçek aşısı hazırlama tekniğimizi, bilhassa yenilik olan kısımlar ve üstünlüklerini belirterek izah etmek ve bu vesile ile, son kütleli aşılama esnasında yapılmış olan tatbik hataları ve bunların nahoş neticelerinin bizi teşvik etmesi üzerine, aşılama esnasında dikkat edilmesi gereken hususlara da bir kere daha temas etmek istiyoruz.

## MATERYEL VE METOD

### **Vaccinia virusu suşu :**

Merkep ve dana pasajları ile idame etmekte olduğumuz ve çiçek aşımızı hazırlamakta kullandığımız aşı virusu, çiçek aşısı istihsal mevzuunda çalışmış değerli ilim adamlarımızın bıraktıkları vesikalara nazaran, Paristeki bir Enstitüden getirilmiştir (10). İlk Telkikhane Müdürü Dr. Hüseyin Remzi ve ondan sonra Dr. Rifat Hüsamettin ve Dr. Kemal Muhtar zamanlarında, aşı virusu dana pasajları ile zayıfladıkça, tekrar tekrar Paristen yeni mayalar getirilerek suş tazeleniyordu (1892—1923). Dr. Şerafettin Mustafa, merkep pasajları yapmaya başlamasından, vazifeden ayrıldığı 1936 senesine kadar artık hariçten aşı virusu getirilmediğini ifade etmektedir. Merkep pasajları aşı virusunun elverişli bir şekilde idamesini sağladığından, zamanımıza kadar pasajları yapılmış ve yapılmakta olan aşı virusu suşunun menşinin Paristen getirilen vaccinia suşu olması kuvvetle muhtemeldir.

### **Aşı hayvanı :**

Halen aşı hayvanı olarak 1-1,5 yaşlarında, Çukurova cinsi, sarı tüylü danaları kullanmaktayız. Temizliği daha kolay olması dolayısı ile dişi danaları tercih etmekteyiz. Hayvanlar 2-3 hafta veteriner nezaretinde kalarak her türlü hastalıktan ari oldukları tesbit edildikten sonra aşıya alınmaktadır.

### **Aşılamadan evvelki temizlik :**

Aşılanacak dananın tüyleri ahırında kırpıldıktan sonra operasyon odasına getirilerek her tarafı sıcak sabunlu su ve fırça ile iyice yıkanır. Döner ameliyat masasına sol tarafı üzerine yatırılan hayvan tesbit edildikten sonra omuzdan kalçaya kadar sağ yanı ve karnı sıcak sbunlu su ve fırça ile yıka-

nır ve traş edilir. Traş edilmiş olan cilt tekrar sabunlu su ile yıkanır ve 1/10000 merthiolate'lı su ile durulanır, üzerine ether dökülür ve kuruması beklenir.

#### **Aşılama :**

Traş edilmiş ve temizlenmiş olan sahanın 8-10 cm. içerden sabit kalemle hudutları çizilir. Bu suretle, inokülasyon sahası ile kıllı deri sahası arasında bir emniyet şeridi bırakılmış olur ve lenf toplama esnasında bu şerit dahilinde hasıl olan püstüller alınmaz. Hudut çizgisi dahilindeki deri yüzeyi steril skarifikasyon aleti ile sağdan sola ve yukardan aşağı, kanatmamaya dikkat edilerek skarifiye edilir. Bu aşı çizgilerinin üzerine tohum olarak kullanılan vaccinia virus süspansiyonu iyice sürülür, kuruyana kadar beklenir. Hayvan döner ameliyat masasından indirilerek aşı sahalara steril kompreslerle örtülür ve tesbit edilir. Hayvan numaralandıktan sonra özel müşahede odasına götürülür.

#### **Tohum virus :**

Danaların aşılmasında kullanılan tohum virus, merkep veya birinci dana pasajından elde edilen lenfin, aşı istihsalinde kullanılan teknikle işlenmesi, bakteriyolojik ve zararsızlık kontrolleri yapıldıktan sonra titre edilerek virus muhtevası  $10^8$  PFU/ml. civarında olmak üzere ayarlanması suretiyle hazırlanır.

#### **Aşılı hayvanın bakımı :**

Dananın, aşılmasından, lenfin toplanacağı güne kadar geçen dört gün içindeki bakımı ve temizliği de çok önemlidir. Bu süre içinde hayvanın yatmaması, aşı sahalara kirletmemesi, muhitinin temizliği, gıdasının toz yapacak vasıfta olmaması dikkat edilecek hususlardır. Gece ve gündüz devamlı olarak bekletilen bekçiler, hayvanların altlarını kirletmez, etrafı bulaştırmayacak şekilde yıkayarak temizler ve kirlenen örtülerini steril bezlerle değiştirirler. Hayvanlar ayrı bölmelerde ve delikli müteharrik tahta zeminler üzerinde, başlarından bağlı olarak bulunurlar. Son zamanlarda, hayvanları pislikleri üzerine oturmaktan menetmek için, Malaya'da kullanılmakta olan asma (süspansiyon) usulünü tatbik başladık. Bu usulde, dana koltuk ve kasıkları altından geçen ve bölmenin iki yanındaki demirlere tesbit edilen birer bandla' ayaklarına basabilecek fakat oturmak istediği takdirde çökmiyerek asılı kalacak şekilde tesbit edilmiş oluyor. Bu durumda, bekçi tarafından zaman zaman altının temizlenmesi mümkün ve kâfidir.

Hayvan dört gün süre ile müşahedede tutulur ve derecesi alınır. Dördüncü gün aşılı saha üzerinde püstüller teşekkül etmiş ve muhteviyatlarının toplanmasına elverişli hale gelmiştir.

#### **Lenfin toplanması :**

Operasyon odasına getirilen dana döner masaya yatırılarak tesbit edilir. Aşılı saha ve muhiti sabunlu steril distile su ile ve steril bezle iyice yıkanır, merihioleatlı distile su ile durulanır ve ıslak steril bezle örtülerek derinin yumuşaması beklenir. Hayvan boğazı kesilmek suretiyle öldürülür ve kanının tamamen boşalması temin edilir. Derisi renksiz bir hal aldığı zaman, steril Volkmann kaşığı ile püstüller kazınarak steril ve darası alınmış kavanozlara konur. Tartıldıktan sonra dana numarası ve toplanan lenf miktarı kavanoz üzerindeki etikete kaydedilir. Lenf, işleneceği zamana kadar durmak üzere  $-20^{\circ}\text{C}$  Deep Freeze'e konur.

#### **Dananın post-mortem muayenesi :**

Lenfi alınmış olan dananın veteriner tarafından otopsi yapılır ve iç organlarından alınan parçalar bakteriyolojik muayeneye gönderilir. Veteriner ve Bakteriyoloji Şubeleri raporları dananın sıhhatli olduğunu teyid ettikten sonra bu danadan alınan lenf aşısı istihsalinde kullanılabilir.

#### **Lenfin işlenmesi :**

Lenfin ezilme ve homojen hale getirilmesinde elektrik motoru ile işleyen döner bıçaklı ezme alatını kullanmaktayız. Bu aletin özel kavanozlarına bir miktar sulandırıcı mayi ile konan lenfin virus muhtevası, döner bıçakla ezilme esnasında hasil olacak hararettten müteessir olabileceğinden, ezilme süresince (14.000 dd. ile 5 dakika) kavanozlar buz içinde tutulmaktadır.

İşlenmek üzere Deep Freeze'den çıkarılmış olan kavanoz, lenfin çözülmesi için bir müddet oda hararetinde bekletildikten sonra, 1 gr. lenf için 2 cc. nisbetinde steril sulandırıcı ile karıştırılarak ezme aletinin özel kavanozuna konur ve 5 dakika müddetle ezilmeye terk edilir.

#### **Sulandırma mayii :**

Sulandırıcı olarak, McIlvaine sodium phosphate + citric acid buffer (pH 7.2,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4=0.004\text{M}$ ) solüsyonunu kullanmaktayız. Bu suretle, aşıya dahil edilen ve nötral olmayabilen gliserin ve distile suyun pH sı, virusa

zarar vermeyecek şekilde ayarlanmış olmaktadır. Bu tampon mahlülüne, aşı ezme işleminde kullanılmak üzere %1 (W/V) nisbetinde fenol ilâve edilmektedir.

#### **Süzme ve santrifugasyon :**

Ezilen ve homojen bir süspansiyon haline gelen lenf, çift katlı steril tel süzgeçten süzülerek kaba maddelerden kurtarılır. Ayrıca, soğuk santrifüj-de 1600 dd. ile 5 dakika çevrilerek hem bir takım kontaminasyon bakterilerinden hem de süzmekle bertaraf edilememiş olan iri parçacıklardan temizlenmiş olur.

#### **Bekletme :**

Santrifüj godesinde üstte kalan kısım, üzerine dana numarası yazılmış steril şişelere nakledilir, karanlık ve oda hararetindeki (22°C) bir yere konularak fenolün bekterilere tesiri için 24-48 saat müddetle enkübasyona terk edilir.

#### **Gliserin ilâvesi :**

Enkübasyon süresi sonunda bu süspansiyona, 1 gr. lenfe 3 cc. hesabı ile steril gliserin ilâve edilir ve bakteriyolojik kontrol için okim yapıldıktan sonra, netice alınana kadar beklemek üzere buzluğa konur.

#### **Bakteriyolojik kontrol :**

Her danaya ait lenften hazırlanan aşı süspansiyonunun ayrı ayrı bakteriyolojik kontrolleri yapılır. Bunun için, 5-10 adet Karaciğerli buyyon ve 5-10 adet Dik jeloz vasatı tûbüne (10 dakika kaynar su banyosunda tutulduktan ve soğutulduktan sonra) 0.1 cc. aşı süspansiyonu ekilmek suretiyle anaerob bakteri muhtevası bakımından kültür yapılır. Aerob bakterileri tesbit için de, Eğri jeloz ve buyyon bulunan tüplere aşından 0.1-0.2 cc. ekilir. Bu tüpler 8 gün müddetle takip edilir, şüpheli üreme görülen tüplerden, zararsızlık tecrübesi için, kobaylara zerk yapılarak üreyen bakterilerin patojen olup olmadığı araştırılır.

#### **Zararsızlık tecrübesi :**

Her buyyon ve karaciğerli buyyon tûbünden ikişer kobaya, bacak adalesi içine 1 cc. zerkedilir ve kobaylar 8 gün müddetle müşahede altında tutulur. Bu müddet zarfında kobaylarda patolojik bir hal (zerk yerinde



enküasyon, nekroz, umumi düşkünlük gibi....) veya ölüm görülmeyişi takdirde, bu aşu süspansiyonu, hazırlanacak yeni seri çiçek aşısına dahil edilebilir.

#### **Ana aşu süspansiyonu hazırlanması :**

24-48 saatlik bekletme müddeti sonunda yapılan bakteriyolojik ve zararsızlık kontrollerinde, patojen bakteri ihtiva etmediği ve jerm adedinin çok yüksek olmadığı (dik jelozdaki koloni teşekkülüne göre) tesbit edilen ve deep freeze'de saklanmakta olan aşu süspansiyonlarının, miktarlarına göre, 8-10 tanesi bir araya toplanarak bundan tekrar aerob ve anaerob kültürler yapılır. Kanlı jeloz plaklarına ekim suretiyle hemolitik streptokok bakımından tetkik edilir ve aşının  $10^1$ —  $10^4$  dilüsyonlarının Petri kutularında jelozla çalkalama kültürleri yapılarak jerm adedi tesbit edilir. (Jerm adedi yüksek bulunan aşu, düşük hararete uzun süreli enkübasyona bırakılarak bir müddet sonra tekrar kontrol edilir.) Zararsızlık kontrolleri de iyi netice verdiği takdirde, bu ana aşu süspansiyonunun virus muhtevasını tesbit etmek üzere, tavuk embriyonu koriyo-allantoik zarı üzerinde pock sayımı metodu ile titrajı yapılır.

#### **Tavuk embriyonunda kudret testi :**

Dünya Sağlık Teşkilâtı'nca tertiplenen internasyonal çalışmalar, çiçek aşısının titrajında pock sayımı tekniğinin üstünlüğünü göstermiştir (8) ve bu metod, aşının standard kontrol usulleri arasında da tavsiye edilmektedir (2, 12). Tekniğin etraflıca tarifi evvelce yapılmış olduğundan (13, 14), burada tekrarına lüzum görmüyoruz. Esas olarak,  $10^6$ —  $10^7$  ekim dilüsyonlarının 10 ar adet 12-13 günlük tavuk embriyonu koriyo-allantoik zarına (0.1 cc.) inoküle edilerek, 48-52 saat enkübasyondan sonra toplanan zarlarda sayım yapıldığını zikredebiliriz. Ana aşu süspansiyonunun titresini  $10^8$  PFU/ml (cc. deki pock hasil edici ünite adedi) den yüksek bulunduğu takdirde aşu sulandırılır.

#### **Yeni bir seri aşının hazırlanması :**

Ana aşu süspansiyonu, cc. de en çok  $10^8$  PFU ihtiva edecek şekilde % 50 steril gliserin (McIlvaine tampon mahlülünde) ile bir veya birkaç misli sulandırılır. Bu suretle aşu son şeklini almıştır ve deep freeze'de muhafaza edilir.

### Yeni seri aşının son kontrolleri :

Son şeklini alan aşı üzerinde aerob ve anaerob bakteriyolojik ve zararsızlık kontrolleri tekrarlanır, jerm adedi sayılır ve ayrıca, 10 kobaya İ. M. 1 er cc. aşı zerkedilir. Aşının aynı teknikle titrajı da yapıldıktan sonra bütün bulgular uygun bulunduğu takdirde, Enstitümüz Kontrol Şubesi'ne nümune gönderilir. Kontrol Şubesi'nin raporu da aşının yeterli ve zararsız olduğunu teyid ettikten sonra aşı tevziye hazır hale gelmiş olur.

### Aşıdaki son nisbetler :

a) Lenf : Ana aşı süspansiyonunda 1/6 (W/V) nisbetinde sulanmış olan (1 gr. lenf için 2 cc. sulandırıcı ve 3 cc. gliserin) lenf, virus muhtevasının yüksekliğine göre 1-2 defa daha sulandırmada: sonra 1/12-1/18 e kadar düşebilmektedir. Lenfin virus bakımından zengin olabilmesini ve dolayısı ile fazla nisbette sulandırma imkânını veren hususlar şu şekilde hülâsa edilebilir :

1. Dananın aşılınması esnasında skarifikasyonların, epidermi harap etmeyecek şekilde sathi yapılması ve bu suretle fazla adette epiderm hücrelerinin enfekte olabilmesi,

2. Deri kanatılmadığından yara kabuklarının aşının safiyetini bozması,

3. Sulandırmada tampon mahlül kullanılması,

4. Aşının işlenmesi esnasında, muhitin, kaplırır. ve sulandırıcının soğutulmuş olması.

Bu suretle, meselâ 200 gr. lenften 1000-3000 cc. (takriben 50.000—150.000 doz) aşı hazırlanabilmektedir.

b) Fenol : Sulandırıcıya % 1 nisbetinde ilâve edilmiş olan fenolün, aşının sür'atli pürifikasyonunu temin etmekle beraber, virusa, kısa enkübasyon süresinde zarar vermediği müellifler tarafından tesbit edilmiştir (11). Fenol, sporlu aerob bakterilere ve B. tetani gibi anaeroblara tesir etmemekle beraber, bütün hemolitik streptokokları ve B. colileri öldürmekte, jerm adedini düşürmekte ve stafilokokların da daha tedricen azalmasını temin etmektedir. Fenol nisbeti ana aşı süspansiyonunda % 0,3 e, nihaî aşıda % 0,15—% 0,1 e kadar düşmektedir. Bir kısım fenol da aşısındaki proteinler tarafından bağlanmaktadır.

c) Gliserin : Aşıya gliserin % 50 nisbetinde ilâve edilmektedir.

ve, aşımada canlı organizmalar : Aşıdaki nihai jerm adedi cc. de 1000 den az ve canlı virus  $5 \times 10^7$ /cc. den yukarıdadır.

### **Aşının tevzi :**

Aşı deep freeze ( $-18^{\circ}\text{C}$ —  $-20^{\circ}\text{C}$ ) de muhafaza edilmekte ve ihtiyaca göre tevzi ve sevkedilmektedir. Tevzi, ultraviyole ile havası temizlenmiş ve güneş ışığı girmeyen serin bir odada yapılmaktadır. Aşıya, tevzi tarihinden itibaren, buzlukta saklanmak şartı ile 3 ay kullanma müddeti verilmektedir. Tevzi, 10 dozluk tüpler, veya 250 (5 cc.) ve 500 (10 cc.) dozluk şişelere yapılmaktadır. Etiketleri üzerine aşı seri numarası ve kullanma müddetleri kaydedilmektedir.

Yukarıda anlatılan usulle hazırlanan çiçek aşısı, prospektüsüne uygun şekilde muhafaza ve tatbik edildiği hallerde, yüksek nisbette müsbet reaksiyon vermekte ve komplikasyon görülmemektedir.

## **AŞI TATBİKATINDA DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN HUSUSLAR**

Bu hususları aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz :

**1 — Aşı talebi :** Gliserinli çiçek aşısı ısıya karşı çok hassas olup virus muhtevası çevre ısısının yükselmesine bağlı olarak süratle düşmektedir. Bu bakımdan, Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nden aşı talep edecek müesseseler, eğer aşığı  $0^{\circ}\text{C}$  altında muhafaza edecek imkânları yoksa, ihtiyaçları olan miktarı kısa fasıllarla azar azar istemelidirler. Hiç olmazsa adı buzlukta ( $4^{\circ}\text{C}$ - $10^{\circ}\text{C}$ ) saklanmayan bir aşı, etiketi üzerinde yazılı kullanma müddetinden çok daha evvel işe yaramaz bir hale gelecek ve bu aşı ile yapılan tatbikat iyi netice vermeyeceğinden tekrarına lüzum ve bu suretle zaman, enerji ve aşı sarfına sebep olunacaktır. Bilhassa yaz aylarında, muhafaza şartları iyi olmayan yerler, kısa bir süre içinde kullanabilecekleri miktarda aşı getirtmelidirler. Bu miktarın tayininde, geçen senelerin o aylarındaki sarfiyatın ortalaması yardımcı olabilir.

**2 — Aşığı muhafaza :** Aşı şişesi karanlıkta ve soğuk bir yerde (mümkünse  $0^{\circ}\text{C}$  altında) muhafaza edilmeli ve her kullanmadan sonra, şişede kalanın kirlenmemesine itina ve şişe açılır kapanırken sterilite kaidelerine riayet edilmelidir.

**3 — Aşı tekniği :** Aşı şişesi, içindeki aşı homojen bir hale gelinceye kadar çalkalanır. Aşı tüpte ise, yine aynı gaye ile, tüp iki ucundan birer

defa tutulup silkelendir. Aşı şişeden, steril bir rasteu. r... ile alınır. Aşılacak olanın sol kol deltoid adelesinin alt ucuna rastlayan deri sathına, kirli ise sabunlu bez veya eterle silinip kuruduktan sonra, pipet veya enjektör iğnesinin ucundan damlatmak sureti ile küçük bir aşı damlası konulur. Steril bir lanset veya iğne ile ve kanatmamaya dikkat edilerek, deriye, aşı damlası içinden, 0,5 cm. boyunda ve 0,5 cm. aralıkla iki paralel çizgi çizilir. Deri hafifçe gerilerek aşının epidermise nüfuzu sağlanır. 10 dakika kadar aşının kuruması beklendikten sonra elbise kolu indirilebilir. Aşı, estetik kaygılarla, derinin kolayca kirlenebilecek kısımlarına yapılmamalıdır.

**4 — Aşılana ile alakalı hususlar :** Cilt hastalığı olanlara, ateşli hastalara 4 aylıktan küçük hamileliklerde aşı yapılamıyacağı gibi, dermatitli şahısların yeni aşılanmış olanlarla temas etmemesi lazımdır. Sonuncu hal de aşı jeneralizasyonlarına sebep olmaktadır (15). Aşılana şahıs aşı yerini bağlayarak kapamamalı ve herhangi pis bir cisimle temas ettirmemelidir. Yara kabuğu ile oynanmamalı, kendi kendine düşmesi beklenmelidir.

Kuvvetli bir aşı ve doğru bir teknikle aşılanan bir şahısta, bağışıklık durumuna göre muhtelif şiddette reaksiyon meydana gelebilir :

a) Şahıs hayatında ilk defa aşılanıyorsa (primovaksinasyon) veya çok uzun bir zamandan beri aşılanmamışsa, 4. gün başlayan ve 8-10. gün azamiye varan bir reaksiyonla klasik çiçek aşısı lezyonu meydana gelir. Ateş ve aksiller adenit olabilir.

b) Şahsın kısmî bir bağışıklığı varsa (evvelce geçirilmiş çiçek veya aşidan) vaksinoid denen ve 3. gün başlayarak 7. gün azamiye varan reaksiyon meydana gelir. Bu reaksiyonun şiddeti primovaksinasyondan hafiftir ve umumiyetle vezikül safhasında kalır. Vaksinoid reaksiyon. azalmış olan bağışıklık seviyesini yükseltir.

c) Aşılamanın 2.-3. günü bariz olan ve ondan sonra kaybolan erken reaksiyon, muhakkak şahsın immün olduğuna delâlet etmez. Umumiyetle papüler olup bazen vezikül teşekkül edebilir. Bağışık şahıslarda meydana gelebildiği gibi, virusa hassas olan veya bağışıklığı azalmış olanlarda da hasıl olabilir. Bu bakımdan böyle reaksiyon veren şahısların, kuvvetli bir aşı ve doğru bir teknikle 15 gün—2 ay sonra tekrar aşılanmaları gerekir.

d) Hiç bir reaksiyon göstermeyen aşı şahsın ise behemahal kuvvetli bir aşı ile aşılanması lazımdır, çünkü bu, aşıda veya aşılama tekniğindeki hatayı gösterir.

Doğumdan sonra (4-6 aylık), ilk, orta, lise ve yüksek mektebe, askere veya dış seyahate giderken yaptırılan mecburi aşılamalardan başka, epidemi tehlikesi mevzu bahis olduğu zaman 3 senedenberi aşılanmamış (veya aşısı tutmamış) şahıslar aşılanmalıdır.

**5 — Aşı tatbikatında önemli bir husus da aşılanan şahısla alâkalı kayıtlardır.** Aşılanacak şahsın, evvelce en son ne zaman aşılanmış olduğu, aşısının tutup tutmemiş olduğu, icabederse aşı skarı aranarak, kaydedilmelidir. Aşılanana, aşıdan sonraki 4. ve 8. günler tekrar gelip eşi yerini muayene ettirmesi tenbih edilmeli veya aşı ev ev dolaşılarak yapılmışsa, yine ev ev dolaşarak aşılananların aşılarının tutup tutmadığı kontrol ve kaydedilmelidir. Şahsın aşılanmasında kullanılan aşının seri numaresi ve hangi şartlarda muhafaza edilmekte olduğu da ismi hizasındaki bir haneye işaret edilmelidir. Bu malûmat doğru olarak kaydedildiği takdirde, aşığı tatbik eden müesseselerce her ay sonunda Refik Saydam Hıfızısıhha Enstitüsüne gönderilmesi Bakanlıkça tamim edilen ve aşı ile beraber sevkolunan Çiçek aşısı tatbikat işleri doğru ve işe yarar bir şekilde doldurulabilir. Aşılı şahsın kontrolünde, jeneralize vaksiniya, veya lokal aşı yayılması, post-vaksinal ensefalit, egzema vaksinatum gibi haller aşı komplikasyonu olarak bildirilir. Aşı yerinde geniş yara, lenfanjit ve adenit aşılama tekniğindeki hatayı ve lüzumundan fazla skarifikasyon yapıldığını gösterir. Lokal aşı yayılması, şahsın eli ile aşığı etrafına bulaştırdığına olduğu kadar, lüzumundan fazla miktarda eşi kullanılarak bunun aşağı doğru aktığına da işaret edebilir.

Aşının tutmaması halinde şu hususlar düşünülebilir :

- 1 — Aşının iyi muhafaza edilmemiş olması,
- 2 — Şişenin iyi çalkalanmaması,
- 3 — Skarifikasyon çizgilerinin gereken derinlikte çizilmemesi veya kanatılması,
- 4 — Aşı damlasının hemen silinmesi,
- 5 — Şahsın bağışık olması,
- 6 — Şahsın refrakter olması.

Şu haller de komplikasyonlara sebep olabilir :

- 1 — Aşının temiz muhafaza edilmemesi,
- 2 — İyi çalkalanmadan kullanılmış aşı şişesinin dibindeki tortu ile aşı yapılması,

- 3 — Aşılama da kullanılan aletlerin kirli olması,
- 4 — Fazla adette skarifikasyon çizgisi yapılması ve kanatılması,
- 5 — Şahısta cilt hastalığı bulunması,
- 6 — Fazla miktarda aşı damlatılması,
- 7 — Şahsın aşılama esnasında hasta bulunması,
- 8 — Aşı yerinin temiz tutulmaması.

Aşığı tatbik eden müesseselerin ve şahısların yukarıdaki hususları nazarı itibare almaları, hem memleket sağlığı ve hem de ekonomisi bakımından faydalı olacaktır kanaatindeyiz.

## THE LATEST METHOD OF SMALLPOX VACCINE PRODUCTION IN TURKEY

**Dr. Elhan ÖZLUARDA**

Specialist in Virology Dept.,

Refik Saydam Central Institute of Hygiene

(Received for publication June 30, 1962)

Since the beginning of 1961 the technique used in the production of Smallpox vaccine has been changed. These changes were based on the methods of the Lister Institute, England. The differences are mainly in the preparation of the seed lot, the way of emulsifying the pulp, the kind of diluent, dilution rate, antibacterial agent used, incubation periods for eliminating bacteria, titration and the bacteriological controls of the vaccine. As the old method of preparing Smallpox vaccine in Turkey has been described previously in several publications (7, 8), we will only mention the main changes here.

The strain of vaccinia virus in use at the Refik Saydam Central Institute of Hygiene for Smallpox Vaccine production was obtained about 40 years ago from an Institute in Paris, France (10), when the Smallpox Vaccine Production Laboratory was in Istanbul. This virus strain has since been maintained by cutaneous passages on donkeys and calves, depending on the virulence of the virus, the vaccine used for human beings is the first or second passage on calf from seed virus obtained from the first passage on donkey

The main differences from the previous technique can be summed up as follows :

1. The seed lot is prepared and titrated in the same way as the vaccine for human use. It contains about  $10^8$  PFU/ml.

Scarification of the skin of calves is carried out with the greatest possible care to avoid bleeding.

2. The pulp is emulsified in an electric-mixer apparatus while the container is kept in the ice-bath.

3. The diluent which is used in the emulsifying process is the McIlvaine's sodium phosphate + citric acid buffer (pH 7.2,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.004M) containing 1 per cent (W/V) phenol (2 cc. to each gm of pulp).

4. After the emulsion has been passed through a sterile, two-fold wire-mesh sieve and centrifuged at 500 G for about 5 minutes, the supernatant fluid is incubated at  $22^\circ\text{C}$  for 48 hours, during which time the phenol greatly reduces the number of contaminating organisms.

5. After the incubation period glycerol is added to the emulsion (3 cc. to each gm of pulp), and then the product is tested bacteriologically and for safety. No gas-producing bacteria or hemolytic and anaerobic bacteria, coli, anthrax, tetani or any other pathogenic organisms are accepted. It must not contain non-pathogenic organisms in excessive number so that, after dilution, the final product shouldn't have more than 1000 viable organisms per ml.

6. Only vaccines in bulk stage which are not safe enough are subjected to "long term low temperature" incubation.

7. 8-12 products prepared from single harvests by the technique mentioned above, are used in making up one vaccine batch and then titrated by pock counting technique on the chorio-allantoic membranes of chick embryos. According to the titre this vaccine lot is diluted so that the number of pock forming units (PFU) in 1 ml. of the final vaccine lot shouldn't be less than  $5 \times 10^7$ .

8. The final dilution of pulp in finished vaccine is  $1/6$ — $1/18$ , according to the titre of vaccine in the bulk stage. The final concentrations of the glycerol and phenol are 50 % and 0.3—0.1 % respectively.

9. All bacteriological, safety and potency tests are repeated on the final batch before the required quantity of the vaccine is sent for control

by the bacteriological, safety tests and potency test by scarification on rabbit skin in the Control Department of the Institute. After confirmation of the safety and potency of the vaccine batch by the Control Laboratory, the vaccine is filled into its final containers.

## L I T E R A T U R E

- 1 — Requirements for Biological Substances, 1. General Requirements for Manufacturing Establishments and Control Laboratories.  
Wld Hlth Org. Tech. Rep. Ser. No. 178, 1959.
- 2 — Requirements for Biological Substances, 5. Requirements for Smallpox Vaccine.  
Wld Hlth Org. Tech. Rep. Ser. No. 180, 1959.
- 3 — Payzın, Sabahattin; Riketsiya ve Virus Hastalıkları, 1952.
- 4 — Onul, Behiç; Enfeksiyon Hastalıkları, 1956.
- 5 — Erzin, Niyazi; 1948, Çiçek Aşısı Revaksinasyonlarında Görülen Reaksiyonlar Türk Hij. Tec. Blol. Der. VIII, 88.
- 6 — Fişek, Nusret H.; 1951, Yeni Bir Ezme Aleti. Türk Hij. Tec. Blol. Der. XI, 277.
- 7 — Erzin, Niyazi; 1952, Türkiyede Çiçek (Smallpox and Smallpox Control in Turkey).  
Türk Hij. Tec. Blol. Der. XII, 138-143.
- 8 — Fişek, Nusret; The International Assay on Smallpox Vaccine (Draft Report) WHO/BS/546, 31 January 1962 (Expert Committee on Biological Standardization).
- 9 — Aşılar, Serumlar, Antijenler-Allergenler Ve Serolojik Teamüller, 1960.  
Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü Neşriyatı.
- 10 — Unver, Süheyl; 1948, Türkiyede Çiçek Aşısı ve Tarihi.
- 11 — McClean, Douglas; 1949, "Purification" of Vaccine Lymph.  
The Lancet, Sept. 10, p 476.
- 12 — Fişek, Nusret; Ertuğrul, Şerafet; 1957, Çiçek Aşılarının Standardizasyonu.  
Türk Hij. Tec. Blol. Der. XVII, 33.
- 13 — Kaplan, C., Belyavin, G.; 1957, The Titration of Vaccinia Virus by the Pock Counting Technique.  
Jour. of Hyg. Vol. 55, No. 4.
- 14 — Özlüarda, Elhan; 1959, Çiçek Aşısının Tavuk Embriyonu Koriyo-Allantolk Zarında Pok Sayımı Metodu ile Titraji.  
Türk Hij. Tec. Blol. Der. XIX, 59.
- 15 — Downie, Allan W.; 1959, Smallpox, Cowpox and Vaccinia.  
Viral and Rickettsial Infections of Man (Rivers and Horsfall), 685.



## HELA HÜCRELERİ KÜLTÜRÜNDE İNSAN BARSAK VİRUSLARININ HUSULE GETİRDİKLERİ GÖZE YOZLATGAN ETKİ

Doç. Dr. Nermin EGE

Ankara Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Enstitüsü

Barsak viruslarının maymun böbreği, amnion hücreleri doku kültürlerinde husule getirdikleri göze yozlatgan etki (G.Y.E.) evvelce tarif edilmiştir (1, 2). Barsak viruslarından, poliovirus tip 1,2,3, Coxsackie B<sub>1</sub>-B<sub>3</sub>, A9, ve ECHO tip 1-14 tesbit edilmiş ve hematoksinin eosin ile boyanmış preparatlarda müşterek özellik göstermişlerdir (1). Yalnız ECHO tip 10 virusu (Reovirus 1) diğer barsak viruslarından farklı G.Y.E. göstermektedir (3). Yeni olarak ECHO tip 15-24 viruslarının maymun böbreği ve Hela hücreleri doku kültüründe patolojik tesirleri incelenmiş ve ECHO tip 22 ve 23 viruslarının da farklı G.Y.E. husule getirdikleri tesbit edilmiştir (4).

### Materyel ve metodlar :

**Doku kültürü :** Lamelli tüplerde Hela hücreleri kültürü hazırlandı (5,6). Üretmek için kullanılan besi yeri, Earle solusyonu % 72, insan serumu, % 20, Laktalbumin hidrolizat % 5, bikarbonat % 4.4; antibiyotik, 100 U penisilin, 100 gama streptomisin /cc. Hücreler tabaka teşkil ettikten sonra, tampon solusyon ile üç defa yıkanarak tüplere muhafaza vasatı kondu, Earle % 90, sığır serumu, % 1, laktalbumin hidrolizat % 5, bikarbonat % 4.4, % 3, antibiyotik, 100 U penisilin, 100 gama Streptomisin/cc. Bu şekilde hazırlanan tüplere virus ekildi, tüpler mikroskopla incelendi. (resim 1, 2) Virus yozlaşımının başlangıç devresinde hücreler boyanarak preparatlar hazırlandı.

**Boyalı preparatların hazırlanması :** Boyamaya hazır tüplerin besiyerleri boşaltıldı, içine Bouin fiksatifli kondu. On dakika ile iki saat arası fiksasyona bırakıldı. Fiksatif boşaltıldıktan sonra fazla pikrik asidi gidermek için % 70 alkolle on dakika müddetle üç defa yıkandı. Alkolden kurtarmak için beş defa musluk suyundan geçirildi. Harris in hematoksinini ile beş dakika boyandı. Suda on defa yıkanarak boya kalıntılarını giderildi. Dokular mavileşinceye kadar amonyaklı suda bırakıldı. Su ile on defa yıkandı. Dokuların suyunun giderilmesi için üçer dakika sıra ile % 70, % 80, % 95 lik

alkollerden geçirildi. Eosin ile on dakika boyandı, ve 1000 defa yıkandıktan sonra alkol absolü de yirmi dakika bırakıldı.

Yine alkol absolüde bir defa yıkandıktan sonra, her seferin de üç defa tutularak üç defa ksilolde geçirildi. Ksilol kurumadan lama Kanada balsamı ile lamelin doku yüzü kapatıldı, ve 37° lik etüvde kurutuldu.

**İncelenen viruslar :** Aseptik menenjit vakalarından beyinomurilik sıvısı ve dışkıdan elde edilen ve tiplendirilen (7) Coxsackie B3, B5, ECHO tip 6, 9, 10 viruslarının Hela hücrelerinde G.Y.E. leri incelendi.

### **Sonuçlar :**

Barsak viruslarının maymun böbreği doku kültüründe husule getirdiği patolojik değişmeler başlıca şunlardır : Hücreler yuvarlaklaşır sitoplazmada asidofilik inklüzyon cisimcikleri meydana gelir, nukleusta eosinofilik iri granüller görülür. Bazan sitoplazmadaki asido filik cisimcik nukleusun çok yakınında olur ve ona katlanmış görünümünü verir. ECHO tip 10 virusu, bu virus sonradan reovirus 1 olarak adlandırıldı, farklı G.Y.E., sitoplazmada daha kesif büyük globuler eosinofilik cisim husule getirmektedir. İncelendiğimiz virusların Hela hücrelerinde husule getirdikleri G.Y.E. yukarda tarif edilen özelliklere uymaktadır. Ekilmemiş boyalı preparatların incelenmesinde bu patolojik değişmeler görülmemiştir (resim 3).

Coxsackie B3 virusu ekili preparatta (resim 4) sitoplazmada asidofilik inklüzyon cisimciği tesbit edilmiştir.

Coxsackie B5 virusu ekili preparatta (resim 5) çok çekirdekli dev hücrelerinde ve diğer hücrelerde sitoplazmada asidofilik inklüzyon cisimcikleri görülmektedir.

ECHO tip 6 virusu ekili preparatta (resim 6) sitoplazmadaki eosinofilik cisimcik nukleusa çok yakın, onu katlar durumdadır.

ECHO tip 9 virusu ekili preparatta (resim 7) sitoplazmada eosinofilik inklüzyon cisimciği daha büyüktür.

ECHO tip 10 virusu ekili preparatlarda (resim 8, 9) diğer virusların husule getirdikleri patolojik tesirden farklı olarak, normal hücrelerden daha büyük. sitoplazması kesif eosinofilik cisim ile kısmen dolmuş hücreler görülmektedir.

### **Münakaşa :**

Barsak viruslarının maymun böbreği ve Hela hücreleri doku kültürün-

bu özellikler genellikle ortak olarak müşterek özelliktedir. Yalnız ECHO tip 10 virüsü farklı patolojik tesir göstermiştir. Teşhiste ECHO tip 10 virüsü hariç diğerlerinin bu özelliklerinden istifade edilemez.

Yeni olarak incelenen ECHO tip 22 ve 23 virüsleri de farklı özellik göstermişler ve hücre nükleusu üzerinde tipik değişiklikler yapmışlardır. Enfeksiyonun seyri esnasında hücre zarı kalınlaşmış, nükleolus ve kromatin tedricen kaybolarak boş nükleuslar meydana gelmiştir (4).

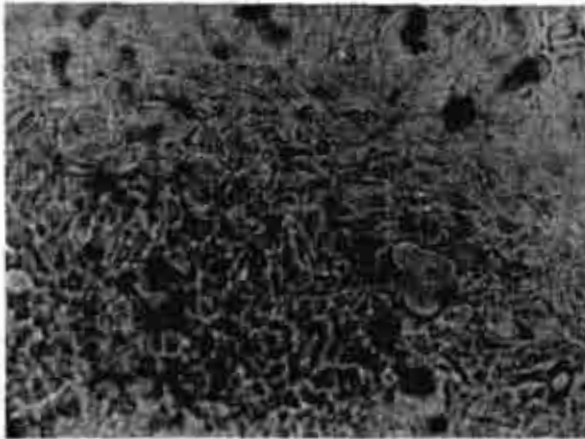
#### Özet :

HeLa hücreleri kültüründe bazı enterovirüslerin göze yozlatıcı etkileri incelendi. Denenen virüsler, Coxsackie B3, B5, ECHO tip 6, 9 ve 10 tesbit edilmiş ve hematoksinin eosin ile boyanmış preparatlarda karakteristik göze yozlatıcı etki gösterdiler.

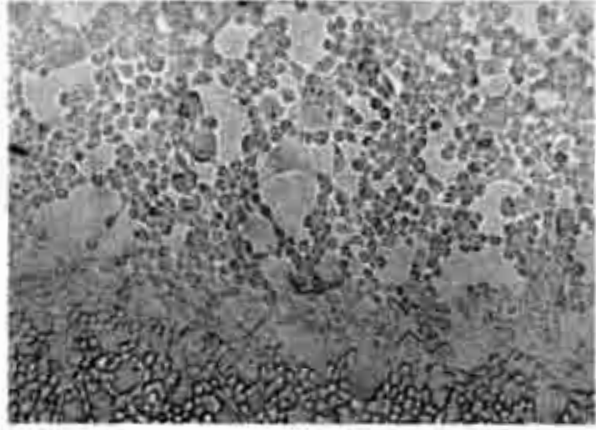
### CYTOPATHOGENIC EFFECT INDUCED BY HUMAN ENTERIC VIRUSES IN THE HE—LA CELL CULTURE

#### ( SUMMARY )

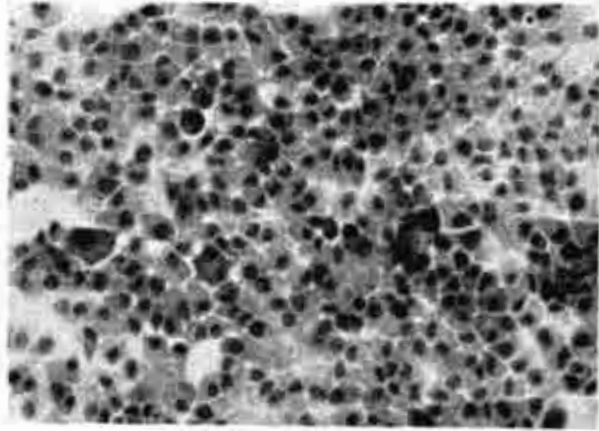
Cytopathology of some viruses has been investigated in HeLa cell culture. All the viruses studied, Coxsackie B3, B5, ECHO type 6,9 and 10 manifested characteristic cytopathic effect in fixed and stained preparations



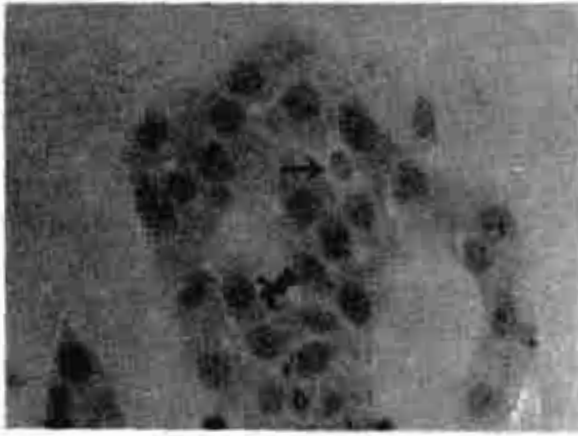
Resim 1. Normal HeLa hücreleri.  $\times 450$



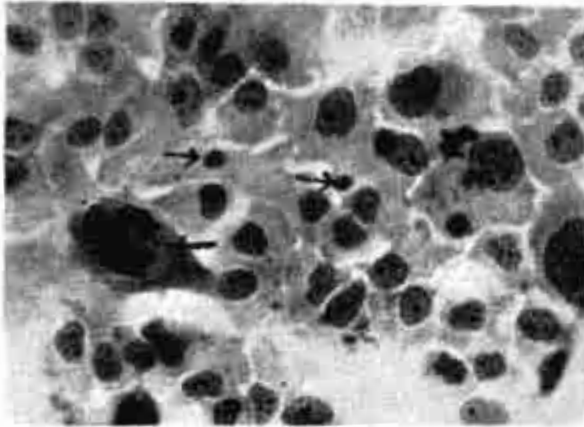
Resim 2. Coxsackie B grubu virusların HeLa hücreleri kültüründe husule getirdikleri göze yozlatan etki.  $\times 450$



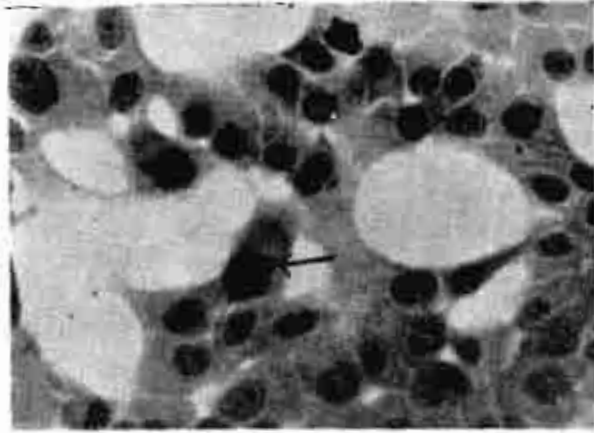
Resim 3. Normal HeLa hücreleri. Tesbit edilmiş ve Hematoksilin Eosin ile boyanmıştır.  $\times 450$



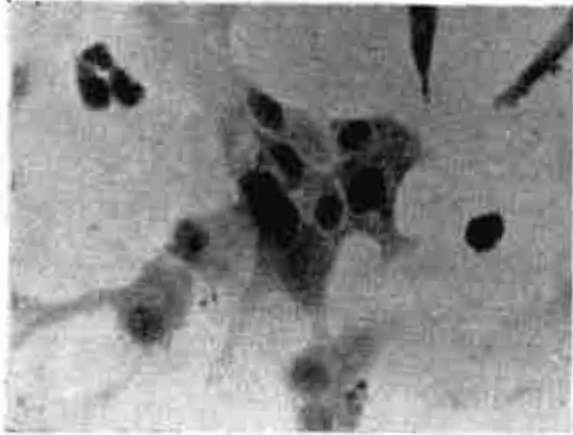
Resim 4. Coxsackie B3 virusu ekili HeLa hücrelerinde sitoplazmada asidofilik inklüzyon cisimciği. Hematoksilin eosin boyası.  $\times 600$



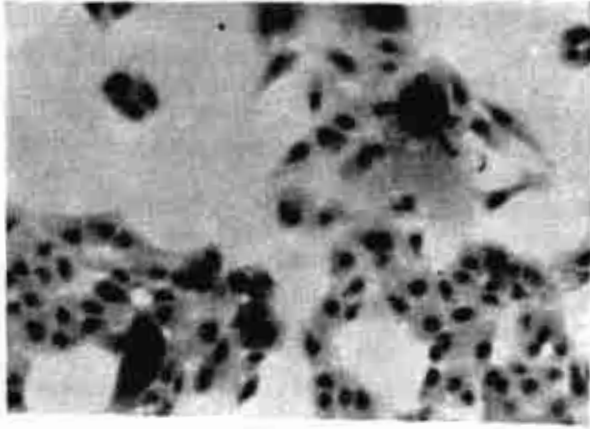
Resim 5. Coxsackie B5 virusu ekili HeLa hücrelerinde sitoplazmada asidofilik inklüzyon cisimcikleri. Hematoksilin Eosin boyası.  $\times 600$



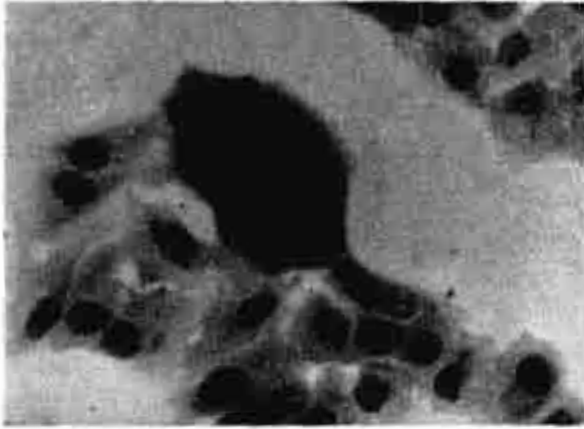
Resim 6. ECHO tip 6 virusu ekili HeLa hücrelerinde nukleusa çok yakın, sitoplazmada asidofilik inklüzyon cisimciği.  
Hematoksilin Eosin boyası.  $\times 600$



Resim 7. ECHO tip 9 virusu ekili HeLa hücrelerinde sitoplazmada asidofilik inklüzyon cisimciği. Hematoksilin Eosin boyası.  $\times 600$



Resim 8. ECHO tip 10 virusu ekili HeLa hücrelerinde büyük ve sitoplazmaları kesif asidofilik cisimle dolu hücreler.  
Hematoksilin Eosin boyası.  $\times 450$



Resim 9. ECHO tip 10 virusu ekili HeLa hücrelerinde sitoplazması kesif asidofilik cisimle dolu büyük hücre. Hematoksilin Eosin boyası.  $\times 600$

## L İ T E R A T Ü R

- 1 — Shaver, D. N., Barron, A. L., Karzon D. T., 1958 Cytopathology of Human Enteric Viruses in Tissue Culture. The Amer. J. of Path. 34, 943—958.
- 2 — Bernkropf, H., Rosin, A., 1957 Cytopathologic Changes in Tissue Cultures of Human Amniotic Cells Infected With Poliomyelitis, Coxsackie and Echo Viruses. Amer. J. of Path. 33, 1215—1227.
- 3 -- Drouhet, V. 1958 Sur Léffet Cytopathogène Du Virus ECHO 10 Ann. Inst. Pasteur, 95, 781—784.
- 4 — Shaver, D. N., Barron, A. L., Karzon, D. T. 1961 Distinctive Cytopathology of ECHO Viruses Types 22 and 23. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 106, 648—652.
- 5 -- Syverton, J. T., Mc Lean, D. M., De Silva, M. M. 1957 Outbreak of Aseptic Meningit is Caused by Coxsackie B<sub>3</sub> Virus. J. Amer., Med. Ass. 164, 2015—2019.
- 6 — Macrea, A. D. Tissue Culture Virus Reference Laboratory, Colindale. Kullanılan metodun teksir edilen kopyası.
- 7 — Ege, N. 1961 Ankara da Aseptik Menenjit Sendromlarının Etyolojik Ajanlarının HcLa Hücrelerinde Araştırılması. Türk Hij. ve Tec. Biol. Der. XX, 239—247.



## BOĞAZ FLORASININ ANTİBİYOTİKLERLE İLGİLİ DEĞİŞİKLİKLERİ

Doç. Dr. Melâhat ONUL

1955 den 1960 yılına kadar devam eden 5 senelik bir periyot içinde dünyanın her tarafından, Stafilokok infeksiyonlarının artmakta olduğunu bildiren yayınlar yapılmıştır. Kreşler, kadın doğum klinikleri ve cerrahi kliniklerinde stafilokok epidemileri çıkmış, penicillin'e resistans kazanmış olan suşlarla husule gelen infeksiyonların ve portörlüklerin tedavisi konusunda hekimlere zorluklar çıkarmıştır (1, 2, 3). Bizde de durum benzeri görünüştedir. Kliniğimize 15 yılda çeşitli 100 sepsis vak'ası yatmıştır. Bunlardan 35 i stafilokok sepsisidir ve dikkati çeken tarafı, 34 nün 1955 den sonraki yıllara ait olmasıdır. Bu durum 1961 yılına kadar aynı ciddiyetle devam etti ve haklı olarak bizde günün birinde bu bakterilere karşı eskisi gibi tamamen silâhsız kalabileceğimiz şüphe ve endişesini uyandırdı. 1961 yılında, Amerikada bir Infeksiyon Hastalıkları kliniğinde 6 sene zarfında muhtelif cins bakteri ve virus infeksiyonları sebebiyle yatırılarak tedavi gören 7240 vak'adan yapılan boğaz kültürleri ve bunlarda hâkim olan bakteri florasına ait bir istatistik yayınlandı (5). Florada sıra ile 1. derecede 941 adetle A grubu streptokoklar, 2. derecede 696 adetle Coagulase müsbet patojen stafilokoklar, 3. derecede 507 adetle pnömokoklar ve 4. derecede de 115 adetle hemofilus influenza basilleri gelmektedir. Müellif bu bakterilerin izole edildiği şahısların geçirmekte olduğu infeksiyonları veya bakterilerin sebep oldukları hastalıkları şöyle sıralamaktadır :

1 — A grubu streptokoklar daha ziyade boğaz ve kulak infeksiyonlarında, impetigo gibi deri infeksiyonlarında az olarak da pnömonili hastalarda,

2 — Koagulaz müsbet patojen stafilokoklar, teneffüs sistemi ile ilgili infeksiyonlar, farenjit ve otitlerde,

3 — Pnömokoklar alt solunum yolları infeksiyonlarında ve nadiren farenjit ve otitlerde,

4 — Hemofilus influenza basilleri ise genel olarak bu bakterinin sebep olduğu menenjit ve pnömonilerde tesbit edilmiştir.

Stafilokok portörleri ve epidemilerinin son yıllarda aldığı önem karşısında, biz de muayyen insan grupları arasında boğaz florasının tetkikini düşündük. Bu araştırma 473 kişi üzerinde yapılan lokal bir çalışmadır. Soğuk sebebiyle boğaz florasının zenginleştiği ve infeksiyonlarının arttığı kış

aylarında (1961—1962) yapılmıştır. Halen devam etmekte olan araştırmamızın ilk sonucudur.

### **Materyal ve Metot :**

1961—1962 yılının 3 kış ayında sağlam kimseler ve hastalardan ibaret 3 insan grubu seçtik.

1. Grup : Kliniğimizde muhtelif infeksiyonlar sebebiyle yatmakta olan 277 hastadan ibarettir.

2. Grup : Ankaranın fakir semtlerinden birinde bulunan bir ilkokulun muhtelif sınıflarından 102 öğrencinin teşkil ettiği kontrol grubudur.

3. Grup : Doktor, hemşire, hastabakıcı ve kliniğe devam eden tıp talebelerinden ibaret olan 94 kişilik hastane personeli grubu olmak üzere total olarak 473 şahısta kanlı besiyerlerine boğaz kültürü yapıldı. Florada hâkim olan bakteri suşları izole edildi. Bunların patojeniteleri araştırıldı. İzole edilen bakterilerin elde mevcut ve kullanılmakta olan antibiyotiklerle hassasiyet deneyleri yapıldı. Sonuçları + + + +, + + +, + +, +, + —, — olarak sınıflandırıldı, cetvellerde ise + + + + ve + + + hassas (H), + + az hassa (Az H), + — ve — resistan (R) olarak gösterildi.

### **Sonuçların münakaşası :**

Yukarıdaki cetvelde görülen sonuçlar bu zamana kadar yapılan benzeri yayınlara nazaran değişiklidir.

Bulgularımızı aşağıdaki maddelerle sıralıyarak özetleyebiliriz :

Araştırma Grupları	Vaka Adedi	Boğaz Kültürlerinde Hakim Olan Bakteri Floresesi		
		Koagülaz + Patojen Stephylococci	A Grubu B hemolytic Streptococci	Pneumococci
I. Grup Klinikte yatan hastalar	277	51	32	203
II. Grup Sağlam Kontrol Öğrenciler	102	24	10	9
III. Grup Hastane Personeli	94	25	15	75
Total Sayı	473	80	57	368

1 — Her üç grupta da, boğazın bakteri florasında stafilokok ve streptokoklar aleyhine bir değişme olmuştur. Floradaki stafilokok hâkimiyeti yerini pnömokoklara bırakmıştır. Bu durumu klinik görüşlerimiz de teyit etmekte olup (4), son yıllarda çeşitli stafilokokoksiler ve bunların sonucu olan sepsisler azalmaktadır.

Klinikte yatarak tedavi gören hastalarda (Grup 1), son yılların alışılmış bir buluşu olan yüksek stafilokok portörlüğüne rastlanmamıştır. Buna karşı olarak boğaz florasında 72.2 % oranında patojen pnömokok bulunmuştur.

Sağlam kontrol kültürlerinde de (Grup II) aynı sonuç alınmış olup floradaki pnömokok hâkimiyeti açık ve 88.2 % oranındadır.

Hastanelerde ve dışarıda görülen stafilokok endemileri ve sporadik infeksiyonlarından birinci derecede doktor, hemşire, hasta bakıcı ve tıp öğrencileri gibi hastane personeli portörlükte sorumlu tutulmaktadır (6). Bizim araştırmalarımızda bu nisbet çok düşük (25/94) olup, yine pnömokoklar hâkim (75/94) durumdadır.

2 — Her üç grupta da izole edilen stafilokokların ve diğer patojen bakterilerin antibiyotiklere karşı hassasiyet deneyleri yapılmıştır. Bunların birçok antibiyotikler karşısındaki durumlarına göre ortalama olarak yurdumuza en son ithal edilmiş antibiyotiklerden biri olan erythromycin'e olan hassa-

1. Grupun Antibiyogramı											
Antibiyotik	İzole Edilen Bakteri Cinsel, Antibiyotiğe Hassasiyet Miktar ve Derecesi										
	Staphylococcus Aureus (31)			Streptococcus Hemolyticus (12)				Pneumococcus (203)			
	P.	Az.	H.	P.	H.	Az.	H.	P.	B.	Az.	H.
Penicillin	0	4	18	23	5	4	131	46	26		
Streptomycin	1	5	25	1	7	25	10	28	165		
Tetramycin	20	7	4	15	10	7	81	62	60		
Erythromycin	19	8	4	23	4	5	121	51	29		
Tetracyclin	7	13	11	4	5	23	34	82	81		
Chloramphenicol	4	5	22	3	8	22	20	58	125		
Sigmaamycin	25	4	2	14	10	10	110	67	26		
Nystatin	7	6	18	4	7	21	65	58	80		
Kanamycin	12	7	12	2	3	27	13	30	160		
Sulfonamid	2	4	25	1	2	29	7	19	177		
Altafur	-	5	26	1	1	30	1	40	162		
Parodontin	3	7	21	2	4	26	4	39	160		

siyetleri dikkati çekicidir. Bunların dışında her üç grupta da bazı değişiklikler bulunmaktadır.

a) Hastalardan (Grup I) izole edilen bakteriler kullandığımız antibiotik ve kemoterapötiklerden sulfonamid, penicillin, ve chloramphenicol'e resistandır. Erythromycin, ve terramycin'e hassasiyet göstermektedir.

1). Grupun Antibiyogramı									
Antibiyotik	İzole Edilen Bakteri Cinsi, Antibiyotığa Hassasiyet Miktar ve Derecesi								
	Staphylococcus Aureus (24)			Streptococcus Hemolyticus (10)			Pneumococcus (90)		
	R.	Az P.	R.	B.	Az B.	R.	B.	Az B.	R.
Penicillin	19	5	-	8	3	1	81	7	2
Streptomycin	1	4	19	-	1	9	-	-	90
Terramycin	20	3	1	2	3	5	47	25	18
Erythromycin	17	5	2	5	5	-	75	13	2
Tetracycline	14	9	1	4	2	4	33	20	37
Chloramphenicol	-	4	20	-	1	9	2	4	84
Sigmamycin	18	3	3	4	4	2	53	17	20
Mystecillin	17	5	2	3	4	3	37	29	23
Kanamycin	2	6	16	-	-	10	-	3	87
Sulfonamid	3	2	19	-	1	9	4	6	80
Altatur	-	5	19	-	-	10	-	6	84
Furodentin	1	9	14	-	1	9	1	25	64

b) Kontrol grubu öğrenciler (Grup II), antibiotiklerle hiç temas etmemiş veya az temas etmiş kabul edilen şahıslardan ayrılan bakteriler henüz birçok antibiotiklere karşı hassasiyetini muhafaza etmektedir. Bunlar penicillin başta olmak üzere terramycin, erythromycin, sigmamycin, ve mystecillin'dir.

c) Hastane personelinin boğaz kültürleriyle yürütülen araştırmalarımız ise (Grup III) 1962 den evvelki klinik müşahedelerimiz ve bu hususta dünyanın her tarafından yapılan yayınların tersine bir sonuç vermiştir. 94 şahıstan yapılan boğaz kültüründe tespit edilen 25 patojen stafilokoktan 18 i penicillin'e hassas bulunmuştur. Bu grupta da 75/94 oran ile pnömokok hakimiyeti önde gelmektedir.

3 — Yapılan boğaz kültürleri sonucunda florada rastlanan patojen streptokok oranı I. Grupta stafilokoklara eşittir. Fakat II. ve III. grupta stafilo-

111. Grupla Antibiyogramı

Antibiyotik	İzole Edilen Bakteri Cinsi, Antibiyotige Hassaslıktaki Miktar ve Durumu								
	Staphylococcus aureus Sayı 25			Streptococcus hemolyticus Sayı 15			Pneumococcus Sayı 75		
	H.	Az H.	R.	H.	Az H.	R.	H.	Az H.	R.
Penicillin	16	1	6	9	4	2	56	13	6
Streptomycin	1	6	16	-	-	15	2	-	73
Tetracyclin	11	3	3	6	2	2	24	13	9
Erythromycin	16	6	1	14	1	-	66	3	6
Tetracyclin	11	7	7	5	3	7	20	15	39
Chloramphenicol	4	2	19	4	1	10	8	6	61
Sigamycin	12	-	5	6	5	4	45	10	13
Nystatin	-	2	23	9	3	3	32	10	33
Kanamylin	1	10	14	-	2	13	6	7	62
Sulfonamid	2	1	22	3	4	6	5	11	59
Altafur	-	2	23	1	3	11	6	10	50
Purodantin	1	10	14	1	3	11	10	22	50

koklara nazaran ortalama yarı orantıdadır. Bu bakteriler her üç grupta da birinci derecede penicillin, ikinci derecede erythromycin'e hassastırlar.

4 — Araştırmamızın en önemli bulduğumuz yönü ise, her üç grupta da pnömokok oranının çok yüksek oluşudur. Tetkik edilen 473 kişiden % 75,6 oranında bu bakteri bulunmuştur. Fakat pnömokoklar halen penicillin başta olmak üzere tetracyclin, chlortetracyclin ve cetvelde görüldüğü üzere geniş spektrumlu antibiyotiklerin bazı kombine preparatlarına hassastırlar. Buna karşılık çok kullanılan ve alışkanlık haline gelen penicillin-streptomycin kombinasyonunun artık hiçbir terapötik değeri kalmadığı invitro ve invivo deneylerden anlaşılmaktadır. Bu antibiyotiklerin laboratuvar deney ve araştırmalarına dayanılmadan gelişmiş güzel kullanılmaları tedavi alanında tamamen faydasız olmaktan başka bakterilerde husule getireceği resistans bakımından ileride zararlı olabilir. Nitekim bazı infeksiyonların spesifik ilacı olarak tanıdığımız antibiyotikler, bugün bizi invivo klinik tatbikatta ve invitro deneylerde şaşırtmakta ve sürprizli sonuçlar vermektedir. Antibiyogramı göre tatbik edilen tedavi şemasından alınan sonuçlar daima yüz güldürücü olmaktadır, Tifoda Chloramphenicol'un artık tesirsiz hale gelmiş olması ve ekseriya streptomycin kombinasyonundan iyi sonuçlar alınması (7) bu olayın güzel bir misâlidir.

## Sonuç :

Patolojide önemli bir yer tutan stafilokoklar, insanların deri ve mukosa floralarında daima bulunan bakterilerden biridir. Bunlar organizmanın direnci kırılan özel hallerinde, uygun buldukları giriş kapısından geçerek sistem dokularına yerleşip piyöjen infeksiyon sebebi olurlar. Penicillin'in keşfini takibeden 8-10 yıldan sonra, özellikle 1957—1959 yıllarında stafilokok infeksiyonları lokal epidemiler halini almıştır. Bu sıralarda konu hakkında birçok yayınlar yapılmıştır, fakat müteakip 2 yıldan beri vakaların tedricen azaldığı görülmektedir, buna paralel olarak bu konudaki yayınlar da azalmıştır. Halbuki buna karşılık stafilokoklarda mutad olarak kullanılan antibiyotiklere karşı resistans artmıştır; Bu şartlarda infeksiyonların daha şiddetlenmesini beklemek ve kabul etmek matematik bir kural olması icab eder fakat hakikatte ters bir olay ile karşılaşmıştır; Bunun izahını ise ancak bakteri antagonizması ile yapmak mümkün olacağı kanısındayız. Yaptığımız incelemelerde, boğaz florasında pnömokok üstünlüğünün tekrar kurulduğu görülmektedir. Evvelce antibiyotiklere çok hassas olan diplokoklar tekrar patoloji alanına çıkmaya başlamıştır. Bu hal ise evvelce başıboş kalmış olan stafilokokların flora hâkimiyeti sonunun işaretleridir. Stafilokok infeksiyonlarının azalmasını da florada çoğalan bakterilerin antagonist etkisine bağlıyoruz.

Devam etmekte olduğumuz bu çalışma yakın senelerde antibiyotiklere hassas diğer piyokokların patoloji sahasına birer problem olarak girecekleri kanısını uyandırmaktadır. Buna delil olarak 5-6 senedenberi nadir olan pnömokoksi vak'alarının artmış olması gösterilebilir. 1962 yılının son aylarında kliniğimizde 7 pnömokoksik pnömoni ve 2 adetde pnömokok menenjit'i yatırılıp tedavi edilmiştir. Vak'alardan izole edilen pnömokoklar da boğaz kültürlerinde olduğu gibi henüz penicillin'e hassastırlar. Müteakip araştırma ve bildirimlerimiz bu konudaki durumu izah edecektir.

## Özet :

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin tababette kullanılması patojen bakterilerde bazı değişiklikler doğurmuştur. Antibiyotikler karşısında mukosaların normal florası da değişmektedir. Boğazda önceleri stafilokokların hâkim olduğu bir devreden bahsedilirken bu gün bir pnömokok faikiyeti karşındayız. 1961—1962 yıllarının kış aylarında 3 grupta klâsifiye edilen 473 şahıstan boğaz kültürleri yapıldı. Bunlar :

- a) Muhtelif infeksiyonlar sebebiyle Klinikte yatan hastalar,
- b) Doktor, Hastabakıcı, Hemşire ve Tıp talebasi gibi Hastane personeli,

c) Okut Çocukları ve kahillerden ibaret sağlam kontrol şahıslarıdır.

Her üç grubun boğaz kültürlerinden izole edilen bakterilerden patojenite testleri ve antibiotik resistans muayeneleri yapılmıştır. Alınan sonuçları şöylece özetleyebiliriz :

1 — Her üç grupta bir pnömokok hâkimiyeti tesbit edilmiş,

2 — Bu grup bakterilerin henüz penicillin'e hassas oldukları bulunmuş,

3 — Klinik müşahadelerimiz de bu tecrübi sonuçları teyid etmiştir. 1962 yılının son aylarında Kliniğimizde 7 adet pnömokoksik pnömoni ve 2 adet de pnömokoksik menenjit yatırılarak tedavi edilmiştir. Bunlar da primer bir mihrak tesbit edilemeyip primer menenjit olarak kabul edilmiştir.

4 — Boğaz florasında elde edilen stafilokoklardan, hastalardan izole edilenlerde penicillin'e resistans kontrol grubunda hassasiyet özellikle Hastane personelinden izole edilenlerde şimdiye kadar olan yayınların tersine olarak penicillin hassasiyeti tesbit edilmiştir.

## S U M M A R Y

The use in medicine of wide-spectrume antibiotics has given particular results. The normal microbial flora of the mucosa is completely modified. changes with time.

As previously mentioned there was a period in wich staphylococcal infections were prevalent, that is now followed by predominant pneumococcal infections. During the winter months of 1961—1962 pharyngeal swabs were taken from the 473 persons, divided into 3 groups as follows :

a) Hospitalised patients suffering from various infectious diseases,

b) Hospital personnel : doctors, nurses, medical personel, medical students,

c) Control group—healthy persons, school children and adults.

The isolated microbes were tested each time as regards pathogenicity and resistance to antibiotics.

From the data obtained it results that :

1 — In all 3 groups pneumococci are predominant,

2 — This group of microbes is still sensitive to penicillin,

3 — The clinical experiments confirmed the experimental results. In the clinic at the last few months, there has been observed 2 cases of acute mic-

robial meningitis, and 7 cases of pneumonia all caused by pneumococci. The primary focus in the cases of meningitis could not be established. They were considered as primary meningitis.

4 — The antibiotic — sensitivity of the staphylococcus is different in all 3 groups. The staphylococcus from the patients are still resistant to penicillin, but the microbes, they were isolated from the healthy persons and especially from the hospital personal are showing a sensitivity against penicillin.

#### R E F E R E N S

- 1 — Shaffler, T. E., Silvester, R. F., Boldwin, J. F., Rhems, M. S. : J. Amer. Publ. Health 49, 990, 1957.
- 2 — Wysham, D. N.; New Eng. J. Med. : 257, 304, 1957.
- 3 — Nahmias, A. J., Godwin, J. T., Updyke, E. L., Hopkins, W. A. : J. A.M.A. : 1269, 174, 1960.
- 4 — Onul, M. : Kongre tebliği, III. International Congress of Infectious Pathology, Bukreş, 1962.
- 5 — Lepper, M. H.; The Medical Clinics of North America; 1671, 45, 6, 1961.
- 6 — Finland, M. : The Medical Clinics of North America, 1180, September, 1958.
- 7 — Onul, M. : Tıp Fakültesi Mecmuası (Ankara), 2, 1962.