

T. C.  
Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı  
Bölge Sağlık Merkezi Hıfzısıhha  
Enstitüsü

TÜRK  
HİJİYEN ve TECRÜBÎ  
BİYOLOJİ DERGİSİ

Cilt : XXVIII — Sayı : 3  
(1968)

1968 JOURNAL OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

1968 REVUE D'HYGIÈNE ET DE BIOLOGIE EXPERIMENTALE

1968 Zeitschrift für Hygiene und Experimentelle Biologie

TÜRK HİJ. VE TECR. BİYOL. DERG.

Vol. XXVIII — No. 3

GEKİSİM T.C. SAĞLIK VE SOSYAL YARDIM BAKANLIĞI

**ISSUED BY  
PUBLIÉ PAR  
HERAUSGEGEBEN VOM**

**REFİK SAYDAM MERKEZ HİFZISSİHHA ENSTITÜSÜ (ANKARA)**

**Senede Üç defa çıkar.**

**The Bulletin is issued three times a year.**

**Revue paraissent trois fois par an.**

**Die Zeitschrift erscheint dreimal Jährlich.**

## İÇİNDEKİLER

		Sayfa
1	<b>Dr. Azim ARI</b>	
	Çocuk İmmünoğlobulin Laboratuvarı Testleri	209
	Laboratory Diagnosis of Smallpox	218
2	<b>Dr. Elhan ÖZELARDA</b>	
	Çocuk Ağrı Enfeksiyonu	220
	Child Glanders - The Smallpox Vaccine Production in Turkey	235
3	<b>Dr. Azim ARI</b>	
	Çocuk Ağrısı Üzerine Bir Alanın Virüsü Üzerine Birlikte Çalışılan Enstitülerin (Hijyen Enstitüsü - Ankara - Türkiye)	238
4	<b>Dr. Elhan ÖZELARDA</b>	
	Çocuk Kızamıkçısı Üzerine Bir Yenidoğan Laboratuvarı Üzerine	244
	The Hong Kong Influenza and preliminary study of HI antibodies to its causal agent	259
5	<b>Dr. Azim ARI</b>	
	Çocuk Şişmanlık Hastalığı Üzerine Bir Yenidoğan Üzerine Çalışılan Enstitülerin (EŞT) Virüs Referans Laboratuvarları Üzerine Bir Rapor (18 - 20 Haziran 1984)	262
6	<b>Dr. Mesude AKTAN</b>	
	Çocuklarda Şişmanlık Hastalığı Üzerine Bir Yenidoğan Üzerine Çalışılan Enstitülerin (EŞT) Virüs Referans Laboratuvarları Üzerine Bir Rapor (18 - 20 Haziran 1984)	277
	<b>Dr. Uğur Tekin DİRİMCİ</b>	
	Şifheli ve iğneli antijenik preparatlar ve Cardiolipini antiop. Doç. Dr. Emrullahoğlu'nun	283

## ÇİÇEK HASTALIĞINDA LABORATUVAR TESHİSİ (\*)

Doç. Aznel ARL MPH

Devlet Sağlık Bakanlığı Hıfzıssıhha Kuruluşları  
Viroloji ve Virus Araştırma Şube Müdürü

Bütün ülkelerdeki hastalıklarda olduğu gibi çiçek- de, epidemik zamanlarında klinik belirtilere dayanarak teşhis koymak oldukça kolaydır. Buna nispeten, bir toplumda eradike edilmiş hastalıklarda hastalık pratikini kaybedeceği gibi asılanlar netice si toplumda teşekkül eden immünite, hastalığın klinikini ileri derecede etkiler ve onu tanımaya hale getirebilir. Bütün bu sebeplerle çiçek hastalığına laboratuvar teşhis, lüzumu hissedilene ve arınılan bir usul olmakta devam edecektir. Bunlara ilâveten, tıbbî ve iş seyahatlerinin çoğalmasının, insanların mesafe ve zaman mevluumunu değiştirmesi gibi sebepler, hastalığın and unuk olarak bulunduğu bölgelerden, uluslararası üst sertifikası alınmış olması ve idareyle asılanmış bölümlerini engellemi hastalığın zaman zaman yayılmasına mani olmamaktadır. Burada, asya çiğmeni, hastalığı nakleden şahsın esasen alınmış etkisiyonun kuloka süresi içerisinde bulunmakta olması nihiim rol oynamacağı gibi, yeterli olmayan bir antikor durumu, türüst bir etkisiyonun geçirilmesini önleyemeyerek, bir türüst ve gözden kaçırılacak vak'adan, hassas bir topluma, hastalığın yayılmasına kolayca olabileceği (ama akla gelebilmezdir. Bu itibarla, en küçük ihtimale bile olsa çiçek hastalığının düşümlüğü her vak'ada, laboratuvar imkânında olan faydalanılarak teşhisin doğrulanması lüzumludur. Bu hususlarda, bölgelerinde, hava ve deniz limanları çevresinde ve bilhassa müdahalelerde özel bir önem kazanır.

Konu, Virolojiyonun katkıya Tıbbi Kurumunun 250'ci yıldönümünde, 1968 yılında yayımlandı.

## LABORATUVAR TETKİKLERİ İÇİN LÜZÜMLÜ NÜMUNENİN SEÇİLMESİ, ALINMASI VE LABORATUVARA SEVKİ

**Nümunne alma :**

**Cilt lezyonlarından nümunne alınması :** Mikroskopik müayene ve virus izolasyonu için makül, papül veya vezikül tabanından Hagedorn iğnesi veya bir bistüri ucu ile kazınma yapılır. Lezyonu kanatmağa itina etmemelidir. Alınan kazıntı temiz bir lâm üzerine sürülür; kurumaya beklenir. En az, 5-6 lezyondan nümunne alınmalı ve birkaç lâma sürülmelidir. Lâmlar lâstik bant veya kartonla birbirleriyle temasları önlenerek yağlı veya mumlu kâğıtla sarılır; bir kutu içerisinde konarak laboratuvara sevke hazır hale getirilir. Çiçek hastalığının mevcudiyeti ihtimali düşünüldüğü ile beraber hasta gevresini ve tıbbi personeli derhal ve istisnasız olarak çiçek aşısı ile aşılamak lazımdır.

**Vezikül ve Püstül Sıvısının alınması :** Bu maksatla, en iyisi kapiller bir pipetten istifade etmektir; kapiller pipet bulunmayan halde, alınacak sıvı kalın bir tabaka halinde lâm üzerine sürülür ve kurutulur; sonra yukarıda belirtilen şekilde laboratuvara sevke hazırlanır. Laboratuvarda, lâm üzerinde kurumuş haldeki sıvı, az miktar tuzlu su ile yıkanarak bir tüpe alınır. Bu tuzlu su antijen olarak kullanılabileceği gibi virus kültürü yapılmasında ekim materyeli olarak da istifade edilebilir.

**Kan alınması :** Kan, hastalığın ilk bir - iki günlük içerisinde virus izolasyonu için alınıyorsa sıratlı olarak temin edilir; serolojik çalışmalar için 5 - 15'ci günlerde kan alınır. Serumda Kompleman Birleşmesi, Nötralizasyon veya Hemagglutinasyon - İnhibisyon antikorlarından biri veya diğeri aranabilir.

**Boğaz Çalkantı veya Sürüntüsü :** Nadir olarak, çiçek virus izolasyonu için ilk günlerde alınıp istifade edilebilir.

**Kurut :** Hastalığın ilerlemiş safhalarında lezyon kabuklarından istifade etmek düşünülmelidir. Her hastadan en az 6 kadar kabuk alınır ve ağzı burgu kapaklı veya sıkı lâstik mantarlı kavamaç tipi bir tüpe konarak sevke hazırlanır.

## NÜMUNELERİN LABORATUVARA GÖNDERİLMESİ

Çiçek hastalığı teşhisinde alınan ve laboratuvara gönderilecek olan bütün nümune-lerin, hastalığı kolayca yayabilecek bir vasıta olabileceğini düşünmek ve dolayısıyla gerekli tedbirleri almak icabeder. Bunun için, nümuneler iç içe en az 2-3 kaba konmalıdır. Hasta hakkındaki aşağıdaki bilgileri kapsayacak bir nümune kâğıdı pakete ilâve edilir ve paketin üzerine «**DIKKAT TEHLİKELİDİR, ÇİÇEK**» ibaresi yazılarak, en seri vasıta ile ve kısa yoldan laboratuvara gönderilmelidir. Bu arada laboratuvar telefon veya telgrafla nümunenin gönderildiğinden ve derhal aldirilmesini sağlanmasından haberdar edilmelidir. Nümunenin (termos içinde) soğuktan gönderilmesi tercih edilir. Fakat bu husus çiçekte şart da değildir.

### Hasta Hakkında Verilmesi İcap Eden Bilgiler:

İsmi ve yaşı

- Hastalığın kısa tarihçesi, başlama günü, döküntü durumu v.ş.

Nümunenin alındığı mahal ve tarih

Varsa, son çiçek aşılanma tarihi

Çiçek hastalığına maruz kalmış veya yakında çiçek aşıstı olumussa bu hususların belirtilmesi

Su eleği geçirilmişse veya buza maruz kalmışsa, bütün bu hususların yazılması saklıda özettlenebilir.

**CECİN TEŞHİSİNDE LABORATUVAR YETERLİKLERİ**  
 (Diagnostic Procedures for Viral - Rickettsial Dis., 1964) (den)

Kısaltmalar :

KB; Konyulardan birlakesme. HA; Hemagglutinasyon. KAZ; Kurantluktansyon. KAZ; Kurantluktansyon. ZAR, PR; Toksik R00 in d. HI; Hemagglutinasyon. mshisyon. NZ; Söfleleme

Hastalık safları	Altıncağı münimü eseli	Virusan teşhisi				Antikor Teşhisi Usulleri									
		Mikroskopik inceleme		Antijenik inceleme		III		NT		KB					
		Normal	Elektron	RB	HA	Asidi	Asista	Asit	Asiste	Asidi					
Dokümanlı-den evvel	Kan Sorum Pibi							+							
Dokümanlı sorul purul	Kan Sorum Pibi Ch kazantansyon Sarıbitt														
Vezikül	Kan Sorum Pibi														
Foqul	Kan Sorum Pibi														
Kırcık	Kan Sorum Kafak														

Tablodur, çiçek hastalığının laboratuvarı ve hastanelerle çalışmada kullanılacak örnekler ve bunlardan hangi testler ile çalışmada elde edilebileceği isaretle konmuştur.

Görüldüğü gibi bunlar :

1. Çiçek lezyon taban kazıtması ve diğer membran lezyonlarından hazırlanan örneklerin boyanarak mikroskopta inayenişle virus ökel cisimcikleri (virus elementary bodies) nin görülmesi ve gösterilmesi.
2. Veziküller sıvı ve kuru ekstraktlarında spesifik antijen inveniştirilmesini prosipitinin testiyile gösterilmesi.
3. Presipitif sulu kanda veya ekle lezyonlarında ekle antijeninin Kompleman Birleşmesi testiyile tesbiti.
4. Presipitif sıvıda kanda boğaz sürüntüsünde ve bütün ekle lezyonlarında inveniştirilme için nötralizasyon testi çiçek virusunun emulsiyonunda tavuk yumurta koruyuculuğu zarfında ve ökel kültürlerinde üretilmesi.
5. Nihayet hasta kanında.
  - a. Hemagglütinasyon - Inhibisyon (HI)
  - b. Nötralizasyon (N)
  - c. Kompleman Birleşmesi (KB)

Testlerinden birinin yarım ile çiçek virusunu has antijenlerin gösterilmesi şeklinde yapılabilir.

Aşağıda her bir testin yapılış tekniği özet edilmiştir.

#### Virus Parçıklarının Mikroskopla Gösterilmesi :

Lezyonlardan hazırlanan örneklerin testin çalıştırma sonra Giemsa'nın, Hertzberg veya Marsden tekniğinin bir değiştirilmesi olan Giemsa tekniğinden biri ile boyanır. Lâm çiçek vakasının erken lezyonlarından ve iyi bir şekilde hazırlansa preparatın yüzüne virus parçıkları görülür. Püstülösöz lezyonlardan hazırlanmış örneklerde lezyonunuzu görmek mümkün değildir. Çiçek aş ve ökel örneği lezyonlarında aynı manzarayı görmek mümkündür. Bu amaçla Varisella ve Herpes Simpleks lezyonlarından hazırlanan preparatlarda virus par-



tiküllerini görmek pratikte hemen hemen mümkün değildir. Bunlar küçük, güç boyanan ve nadiren görülebilecek bollukta bir arada bulunurlar.

Aşağıda boya tekniklerinden en basiti olan Gutstein'in tafsilâtını veriyoruz :

Hazırlanan lâmin üzerine metanol dökülür ve preparat 10-30 dakika bunun tesirine bırakılır. Bu arada metanolün çabuk uçmasını önlemek üzere, üzerine alkol ilâve edilir. Bu müddet sonunda lâmin distile su ile yıkanarak metanol uzaklaştırılır; arkasından, taze hazırlanarak eşit miktarda karıştırılmış % 1 lik sulu metil viole ve % 2 lik sulu sodyum bikarbonat solüsyonları filtre kâğıdından süzülerek preparat üzerine dökülür; 5 dakika müddetle ve bir kaç defa hafif ısıtmalarıla buhar çıkması sağlanarak preparat boyanır. Boya dökülür, lâmin distile veya akar musluk suyunda yıkanır ve filtre kâğıdı arasında kurutulur.

Preparat, immersion objektifle muayene edilir. Mikroskop sahalarında, 1-4 stafilokok büyüklüğünde sayılamıyacak kadar bol, koyu boyanmış partikülleri görülmesi tipik bir manzara arzeder. Çiçek aşısı virüsü ile hazırlanan ek preparat güzel bir kontrol vazifesi görür ve değerlendirmeyi kolaylaştırır.

Veziküller sıvıda virus partikül sayısı azdır. Püstüllerden hazırlanan preparatlar şaşırtıcı olup tatminkâr bir sonuç vermezler.

#### **Luminofloressans :**

Reagenler ve cihazın hazır ve el altında bulundurulması halinde, erken lezyonlardan hazırlanan lâmlarda virus partiküllerini gösterme bakımından bu metod sade ve kolaydır. İmmün tavşan serumu ile nümune preparatın hazırlanmasından sonra floressinle muamele edilmiş antitavşan serumun kullanılması ile hazırlanan indirekt metod, direkt metoda tercih edilir. Ancak, immünofloressin tekniğinin basit mikroskopik tekniğe nazaran bir üstünlüğü yoktur.

#### **Hastalığın İlk Günderinde Çiçek Antijeninin Gösterilmesi :**

**Jel Diffüzyon Tekniği :** Çiçek şüpheli bir hastanın cilt lezyonlarından kâfi miktarda nümune alınabilmişse presipitasyon tekniği işletilebilecek güzel bir usüldür. Bunun için bir - iki vezikül veya püs-

ml sıvıya veya tuzlu suda eklenerek (kardiyak böbrek katığı) yeter-  
Antiserum olarak laboratuvarı hayvan serumu veya koyulmuş has-  
ca serumunda istifade edilebilir.

Nöroal film üzerine, 1 mm kalınlıkta pH'si 7,2 olan tamponlu  
potasyum tuzlu suda (TTS) hazırlanmış ve içerisine % 0,01 transresal  
ilave edilmiş sıvı katılaşma % 1-1,5 agar dökülür. Bunun için, bir  
çanak ile nemli yakm kenarları üzerine diğer iki film konur; sonra  
aşağı katındaki agar film üzerine dökülür; nümaye, perspektsten yapı-  
lan diğer bir film jelozun üzerine kapatılır; perspekt film jeloz den-  
likten sonra katlayıcı diğer iki film kenarlar kaldırılır. 1 gün üzerine  
1 donan jelozda, herbiri 1 mm kalınlıkta ve birbirlerinden 5-6 mm me-  
safede 2 karta kaldırılarak çıkarılır hazırlanır.

Pozitif katığı sıvı sırt kalınlık; TTS'le ve hümesi tüplerde  
%100 parselen katığı hayanda ekilerek bundan 1-10 (W/V) sulan-  
manın yanı sıra ekstrakt hazırlanır, ekstrakt 37 C.45'de bir saat bek-  
letir. Sonra üstteki sıvı katığın olarak kullanılır.

İnaktif serum sıradaki bir enkazca veziküler veya püstüler sıvı  
veya kabuk ekstraktı 60-70 daki çıkarılarak damlatılır. Tübe çiçek ve-  
ya çiçek aşısı antijeni ilave edilmiş, ayrıca normal hayvan serumu ile  
antijeni karşılaştırmalıdır. Lâzı oda subinoküloz ve ritübeli bir ay-  
rı-ferde inaktifte edilir.

Kullanılan inaktif serum kovalenyle antijen ve antiserum et-  
kileleri arasında presipitum çirgisi ikinci saatten itibaren görünmeğe-  
başlar. Serum zayıf ise netliği 21 saat sonra olmaksızın uygun olur. Bir  
de deneyde Herpes Zoster antijeni ilave edilirse vakuum Herpes al-  
ması halinde hümeu, laboratuvar teyidi yapılıus olur.

**Kompleksin Birleşmesi :** Bu teknik, bilhassa Gümmüş vak'ında  
ile çiçek aşısı; ama bise, ezilmiş ve püstül sıvılarında geçişimde de  
etkilidir. Ancak testin komplekse inması 18-24 saatte en fazla  
teyidi ve netliği sağlanabilir olarak seçilebilir. Peste pozitif ve ne-  
gatif serumlar eklenmişli katıldıkları ve bir gece bekletime usulü toyer  
netli rixasını net teyidi etilebilir. Nümaye antijen olarak kullanılarak  
% 3-5 diluzyon tekniği teyidi edilen me-veddir.

**Virus İzolasyonu :** Çiçek hastalığının teşhisinde en hassas ve en  
çok dinat edilen laboratuvar metodu virus izolasyonudur denefatir.  
Eğer testlerin uygulanması halinde daha tam olarak etimoloji teyidi

mabiyetinde olarak izolasyon için ekimi yapılmamıştır. Çiçek virus izolasyonunda 12 günlük embriyonlu yumurta koriyoallantoik zarfı (KAZ) veya doku kültürlerinden istifade edilir. Nümuneye ekimden önce antihistotik (500 mg/ce penisilin ve 500mg ce streptomisin) ilâve edilir ve yarım ilâ bir saat kadar buzlukta bekletilir. Bu teknikte hastalığın her safhasında, lezyonlardan virus ayırmak mümkündür. Ağır seyirli vak'alarda hastalığın ilk 1 - 2'ci günlerinde hastanın kanından virus izole edilebileceği gibi ilk on gün içerisinde boğaz çalkantı suyu veya sürüntüsünden virüsü izole etmek mümkündür.

Tecrübeli bir laboratuvarcı, E. yumurta koriyoallantoik zarfında teşekkül eden lezyonlardan, serolojik bir identifikasyona gitmeden çiçek leşisi koyabilir. Tecrübeli insan veya mahmum hücreleri ile hazırlanmış doku kültürleri virus izolasyonunda KAZ tekniği yerine kullanılabilir. Burada virus üremesi, immünofloresan teknik, 24 saat sonunda Guarnieri cisimlerinin gösterilmesi veya tavuk alyuvarları ile hemadsorbsiyon ve nihayet 2 - 4'cü günlerde hücrelerde sitopatolojik değişiklik görünmesiyle anlaşılır; yine tecrübeli bir laboratuvarcı inklüzyon cisimlerinin karakteri veya hücre hareketinin tipinden teşhise varabilir.

Doku kültür veya KAZ'da üretilen bir virüsün kat'i identifikasyonu için klâsik metotların biri veya diğerinden istifade edilebilir. Bu maksatla, elde mevcut yüksek titrelî bir tavşan serumu ile ayrılan virüs, in vitro olarak KB, Jel difüzyon, H.I. testlerinden biri veya in vivo, embriyonlu yumurta ile doku kültürlerinde nötrleme testlerinden faydalanılarak identifiye edilmiş olur. Bu testler maalesef çiçekle, çiçek aşısı viruslarının ayırt etmeğe yetmez. Bu itibarla lezyonların hissiyetleri yanında, tereddüt edilen hallerde çiçek aşısı virüsünün 39 - 40 C derece ısıda üremesine mukabil çiçek virüsünün bu ısıda ürememesi özelliğinden istifade yoluna gidilir.

### **HASTALIĞIN İLERİ SAHALARINDA SEROLOJİK USULERLE ÇİÇEKTE TEŞHİS :**

Bu maksatla, hastanın kanında teşekkül etmiş antikorların çiçek veya çiçek aşısı virüs antijenlerinden biriyle mevcudiyetinin gösterilmesi esastır. Bu itibarla, mümkün olan hallerde hastadan çift serum alınır, veya sadece ikinci serumda antikor aranır; hastanın geçişinde çiçek ağlamasını bulunması, tek serumla elde edilecek pozitif bulgunun değerini biraz veya azaltır.

Verdauungszeit durch Verdauungsdauer, welche wiederum von Anzahl der Nahrungsteile, welche verdaut werden, und von Verdauungsart abhängt.

**Metabolismus** ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge. Er ist die Gesamtheit aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden.

**Komplexion** ist die Gesamtheit aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden.

**Protein** ist die Gesamtheit aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden.

**Verdauungszeit** ist die Gesamtheit aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden.

## INDEX

Die Verdauungszeit ist die Gesamtheit aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden. Er ist die Summe aller im Organismus vor sich gehenden chemischen Vorgänge, welche im Organismus stattfinden.

karşılığının klinik teşhis: doğuracağı ortam: uçağın mesafeleri kısaltılması ve uluslararası asi sertifikasına rağmen enfeksiyonun esasen kulağa süresinde olan bir vak'anın hastalığı endemik ülkelerden diğer bölgelere götürebilmesi gibi hususları kaçınılmaz boşluklar yaratılabileceği belirtilmiştir. Bu şartlar altında şüpheli her döküntülü hastalıkta laboratuvar teşhisini yardımından faydalanmak icap edecektir.

Nümmüne alıp gönderme, laboratuvarında el altında bulundurulması icap eden reagentler ve inoetme yerleri ile en seri ve yeni laboratuvar teknikleri tavsif edilmiştir.

Enstitümüz, Yardımluyla halk sağlığı bakımından önemli mikrobiyolojik hastalıkların teşhis fonksiyonunda merkez ve referens evsfinda çalışmalar yapmak sorumluluğunu taşımaya dolayısıyla, çağın erken laboratuvar teşhisi için gerekli ortamı hazırlanmış bulunduğunu belirtmek yerinde olur.

## LABORATORY DIAGNOSIS OF SMALLPOX

Dr. A. ARI, MPM.

### SUMMARY

In Turkish text, the necessity of the laboratory diagnosis of the smallpox infection has been described. While, the effect of continuous vaccination to the heard immunity and the changes of clinica manifestations in already vaccinated persons reminded. In many instances phisicim has lost his practice to recognise the presence of smallpox infection because of the unfrequency of the cases. On the other hand, air traffic and tourism are continuously incrising. Therefore, no country can be sure that smallpox is or shall be no longer present in their territories because of the vaccination programme or eradication of the disease years ago.

In spite of the presence of vaccination certificate the local outbreak of smallpox in England and in Germany in the near past, by the tourists or passangers who come from endemic area of smallpox is not forgotten. Therefore, a quick and reliable laboratory diagnosis of every smallpox suspected cases are considered necessary.

Under this circumstances, the necessity of laboratory methods and techniques to be used in every public health laboratories, especially in the cities where international air and sea traffic are important should be compulsory.

The samples to be taking and forwarding to the laboratory, the techniques to be used in the diagnosis of smallpox are all described with details, the table is summarising these knowledge.

Since this Institute being a central public health laboratory in Turkey, therefore it has been its responsibility to supply, arrange and set up standard technique in the diagnosis of smallpox infection as well as the other diseases which have been public health importance.

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

1. *Diagnostic procedures for Viral and Bacterial Diseases*. Fourth Edition. American Public Health Ass., 1964.
2. *Diagnostik der Miliarien u. Variola*. K. Schöler, 1964.

## ÇİÇEK AŞISI İSTİHSALI (\*)

Dr. Ethem ÖZLÜARDA

Büyük Saygıno, Merkez Hıfzısıhha Kurumu, Viroloji ve Virus Aşları  
Şifalı Müdahale Çiçek Aşısı Üretim Laboratuvarı Şefi

Çiçek aşısı, ilaçlarımıza *o-Ji* de "Vaccinum variolae", bağışık olmayan şahısları deri yolu ile enfekte etmeye yetecek konsantrasyondaki enfektiyöz vaccinia virusunun uygun boyutlarındaki süspansiyonudur (1). Bu aşının etkililiği, yalnız pasajların sonunda hüveye ettiği virus miktarı ile değil, deriye uygulanmış, andaki enfektiyöz deremini ile tayin edilir. Aşının saklanması, gönderilmesi ve uygulanmasında, yeterli deri yede ne-yat olan potensin zarar görmeyeceği şartların temin edilmesinde acıbeder (2)

### Vaccinia virus sınıfları :

Çiçek aşısı hazırlanmasında muhtelif menleketlerde farklı vaccinia virus sınıfları kullanılmakta ve çok azının etimii bilinmektedir. Bunuym hiçbirinin variola virusundan türemis olmasi matmenel değildir. Hordich ve ark. (1951) variola virusun tavşan, koyun ve dana larla yaptıkları seri pasajlarında hasırdı sınımanışlardır ve koyun ve keçide de belirli koşullar meydana getirilememişir. Bu hayvanlardan alınan virus, variola virusu özel karakterlerini saklamakta ve vaccinia virusu döndüğüne dair bir beheri göstermemektedir. Çiçek materyali hayvana deriden zerk edilmiş vakum, vaccinia virus ile basıl olana beher bir lokal lezyon meydana gelmiş, fakat vaccinia'nın aksine olarak, deride devamlı pasajlar yapılamamışta. Dumbell ve Hedson (1965) son zamanlarda variola virusun tavşan derisinde devamlı pasajların yapımayı başarmışlardır. Tavşan böhrek dokü

(\*) Variolasyonun beheri tarifi, astım 240, zikridinin semptomları tetlig edilmiştir (25 Ekim 1958)

1. The first step is to identify the problem. This involves understanding the current situation, identifying the key stakeholders, and determining the scope of the project. It is important to clearly define the problem and the goals of the project.

2. The second step is to develop a plan. This involves identifying the resources needed, determining the timeline, and identifying the risks. It is important to have a clear plan in place before starting the project.

3. The third step is to execute the plan. This involves implementing the plan and monitoring progress. It is important to stay on track and adjust the plan as needed.

4. The fourth step is to evaluate the results. This involves comparing the results to the goals and identifying areas for improvement. It is important to have a clear evaluation process in place.

5. The fifth step is to report the results. This involves communicating the results to the stakeholders and identifying the lessons learned. It is important to have a clear reporting process in place.



Çiçek aşısı istihsal eden laboratuvarlarını birçoğu tohum viruslarını, aşı hayvanı ile tavşan gibi küçük bir hayvanın derisinde alternatif olarak çoğaltmak suretiyle idame ettirmektedirler. Tohum kültürü, liofilizasyon veya 0 C' nin altında saklanmak suretiyle de uzun süre muhafaza edilebilir.

Çiçek aşısı istihsalinde kullanılan susların, revaksinasyonlarda devamlı olarak başarılı olduğu ve iyi kalitede bağışıklık verdiği, insanda yapılan çalışmalarla tesbit edilmelidir. Aşının verdiği bağışıklık, çiçek hastalığından korunması veya primovaksinasyondan bir yıl veya daha sonra yapılan revaksinasyona (Challenge) karşı hassasiyet gösterilmemesi ile sabit olur. İnsanda bu gerekçeleri karşılayan, insanda ve laboratuvar hayvanlarında daha az nörotropi gösteren, daha az deri nekrozu yapan, jeneralize vaksiniya'ya eğilimi daha az olan suslar tercih edilmelidir. Vaccinia susları ile laboratuvar hayvanları üzerinde yapılacak tecrübeler, saha tatbikatında ekilebilecek tohumun oranı ile laboratuvar bulguları arasında bir mukayese imkân verebilir.

Aşı virusumuzun immunizan kudreti, 2500 kişiye uygulanan uygulamadan bir yıl sonra yapılan revaksinasyonlardan (challenge) alınan sonuçlarla teyid edilmiştir (7). Daha evvel yapmış olduğumuz bir çalışma da, laboratuvarda yapılan titrajlardan alınan sonuçların, uygulamada alınan sonuçlarla paralel olduğunu göstermişti (8).

Aşı istihsalinde kullanılan vaccinia suşu, tavşan derisinde karakteristik veziküller erüpsiyon hasıl etmeli ve tavuk embriyon zarfında, her zaman, aynı karakteristik pek lezyonların meydana getirmelidir. Aşımızın kudretini tayin için İstihsal Laboratuvarımızda yaptığımız tavuk embriyonu koriyovallantik zarfında pek sayımı testi ve Enstitü Kontrol Şubesi'nde, tavşan derisinde skarifikasyon tekniği ile titraj metodu, aşımızın spesifisite kontrolü yerine de geçmektedir.

#### **Aşı istihsalinde kullanılan hayvanlar :**

Çiçek aşıları bütün dünyada çoğunlukla, hayvanların derisinde üretilmiş virustan hazırlanır. Vacciniavirus'la oktodermal inokülasyona hassas olan dana, genç su buffalosunu, köyünü, tavşanı, merkep ve diğer hayvanlardan herhangi biri, temin kolaylığı oranında bu gaye için kullanılabilir.



rusları, mycoplasma ve tavuklar için patojen olan diğer amillerden de arı olmasi arzuya sayandir.

Embriyolar uygun bir enkubasyon sirasinden sonra tahmini yuzde ile inokule edilirler; gerekli mutlaklik enkubasyondan sonra uygun materyel aseptik sartlarda toplami.

Tavuk embriyosunda hazirlanan asilarin birtakim avantajlari olmakla beraber, bu asilarin saha uygulamalarindaki muessiriyeti ve emniyeti hakkundaki ve hasil ettigi bagisikligin devami hususunda icigiler henuz mahduttur.

#### **Doku kulturuinde hazirlanan asilar :**

Bu gaye ile yabuz, hastaliksiz oldugu bilinen hayvanlardan alinmis primer doku kulturu bel kullanilir. Virus aseptik sartlarda iletir ve toplami. Kulturlere, istisnailu hicbir safhasinda insan crizidli materyel ilv. ilinmemelidir. Sterilite icin, gereken minimum konsantrasyonlarda uygun antibiyotikler kullanilabilir, fakat penisilin ve streptomisin kullanilmamalidir.

Doku kulturlerinde hazirlanan cicek asilari ile yapilacak arastirmalardan elde edilecek bilgiler, bu asinin muessiriyet ve emniyetinin nihai degerlendirilmesine imkan verecektir.

#### **Sivi ve kuru asilar :**

Sivi cicek asilari, diger canli asilar gibi, orta derecedeki atmosferik ıda bile surlatle bozulur ve gunes ıagından da mutecisir olur. C - 10°C arasinda saklanirsa bir hafta, daha yuksek ıslarda saklanirsa 24 saat sonra atilmalidir. Liyofilize edilmis asilar cok daha dayanikli, bunlar da kullanilacaklari zaman sulandırılırlar. Sulandırılıktan sonra bu asi da sivi asi kadar dayaniksizdir. Heriki asinin cicegin kontrolunda yeri vardir. Irtilati iyi ve sogukta saklama kolayliklari yeterli olan mutedil iklimli memleketlerde kudretli sivi asilarla gayet iyi sonuclar alinir. Sıcak iklimlerde ve irtibatın kotu oldugu yerlerde liyofilize edilmis cicek asisi kullanilmalidir; cunku kuru asinin dayanikliğı, tasınma ve saklanma hususundaki gucluklerini ciceginin bertaraf etmektedir.



## Memleketimizde çiçek aşısı istihsal tarihi :

Jenner'in çiçek aşısı bildirisinden üç yıl sonra, memleketimizde vaksinasyonu hakkındaki ilk yazı Dr. Mustafa Behçet tarafından 1807 yılında neşredilmiş ve 1811 yılında ilk dana aşısı istihsal tecrübeleri Şanizade Ataullah tarafından yapılmıştır. Memleketimizde çiçek aşısı 1845 yılında zorunlu kılınmış fakat 1890 - 1891 yıllarına kadar aşılamaya, yabancı memleketlerden getirilen materyelle yapılmıştır. Aşı yetmediği zamanlar, aşı çocukların lokal reaksiyonlarından alınan lenf ile diğer çocuklar aşılanırdı. 1890 yılından sonra İstanbulda Telkikhane açılmış ve Pasteur'ün talebesi olan Hüseyin Demzi tarafından daamlarda çiçek aşısı istihsaline başlanmıştır. Bu tarihten 1913 te Dr. Kemal Muhtar Özden'in Telkikhane Müdürlüğüne gelmesine kadar çiçek aşısı istihsal usullerinde önemli bir gelişme olmamıştır. Dr. Özden, aşılarda devamlı olarak buzlukta muhafazası ve tüplere aşı tevziinde ağız yerine Feliks aletinin kullanılmasını temin etmiştir. O tarihlerde, aşı virüsü devamlı pasajlarla zayıfladıkça Paris'ten yeni lenf getirilirdi. Aşı kontrol metodları da henüz gelişmemişti. 1923 yılında Telkikhane Müdürü olan Dr. Şerafeddin Mustafa, Müesseseye elektrikli bir buzluk temin etmiş, aşının zaman zaman merkezlerde pasajı usulünü ihdas etmiş, aşının bakteriyolojik ve kudret bakımından kontrolü usullerini geliştirmiştir. Aşı hayvanlarının seçilmesinde ve inokülasyonunda, temizlik ve sterilizasyon kaidelerine riayette zamanının en modern metodlarını titizlikle tatbik etmiştir. Çiçek aşısı konusundaki çalışmalarını anlattığı bir yazısında, bir paragrafta, ilk merkez pasajın ellerinde mevcut virüsle yaptığını, diğer bir yerde de, insan çiçeği virusunu merkezlere adapte ettiğini bildirmekte (4), ve heriki suşu da, Müessesenin Ankara'ya nakledildiği 1934 yılında, Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü'ne getirdiğini ifade etmektedir. Bununla beraber, yeni bilgilerin (3) ışığında, kullanmakta olduğumuz vaccinia virus suşunun orijininin, Dr. Şerafeddin Mustafa'nın bahsettiği variola menşeli virus olamayacağını kabul ediyoruz.

1922 yılında Dr. Refik Güran'ın tertip ettiği tüplere aşı tevzi aleti, ve 1951 yılında Dr. Nusret Fişek'in yaptırdığı aşı ezme aleti, çiçek aşısı istihsal metodlarında önemli gelişme safhalarını teşkil etmektedir (10).

1961 yılından itibaren çiçek aşısı istihsal metodlarında önemli değişiklikler yapılarak aşının özellikleri geliştirildi. Bu değişikliklerde,

çinaya Sağlık Teşkilâtı Ekspertler Kurulunun tavsiyesiyle ve İngiltere'deki Lieter Enstitüsü'nün asli işleme maddeleri esas tutuldu. Aşağıdaki laboratuvarlarımız, daha yüksek ve mütebaki çalışmalarını sürdürmekte bulunan aynılardan, dâhiyeleri maddesiyle yendi ve sırtaki temizliği, tozunu virüs hazırlanması, ayrı kendisine işlenmesi, sonra sonra madye, sulu madye, sabun, antibakteriyel ajan kullanılması, toz, etil alkol, sulu ve tuzlu, bazıları ultraj ve kimyasal maddeleri gibi toz maddelerde yendi ve sırtaki temizlik için, ayrıca kalite ve kuantite bakımından birçok ölçümlere kavuşturulmuştur.

### Bu gün kullanılmakta olan dâhiye asisi istihsal metodu şudur :

Hayvan maddesi için esas, esaslarla kontaminasyon yapıldığı, aynı zamanda antiseptik maddelerde emme yapılmış, virüs ibrahim etmesi, gerektirilen istihsal esnasında, bu taraftan kayırlı enfeksiyon bekletilmezken, aynı zamanda emme ve ayrıca saptırılabilir faktör maddesiyle asisiyle düştürmek, diğer taraftan aynı virüs maddelerin mükemmel şekilde katılmak suretiyle, mümkün olduğu kadar teskil etmektedir.

Çocuk asisi, bakteri maddesi bakımından standardı uygun olarak hazırlanmak için, hayvan ve mükemmel temizliği, üstün ve benzeri maddeleri esnasında steriliteye ihtiyaç edilmesi genellikle yeterince kalıktadır. Bütün bu maddeleri uygun ve uygun ve hâzen patojen bakteri veya virüs asisiyle steriliteyi elde etmek için, uygun hale getirilmek için, birçok mükemmelde glistim, toz, antiseptikler veya toz gibi bakteriyel veya bakteriyostatik ajanlarla beraber düşük sıcaklıkta uzun süreli olarak yüksek sıcaklıkta kesin sürüşü bekletme usulline basımını vermektedir. Çocuk asisi, daha, koyun, buldukları gibi hayvanlardan elde edilen her bir mükemmelde bakteri ve virüs asisiyle uygun olarak glistim ve toz kullanılmaktadır. Bununla beraber, aynı virüs zarfı vermektedir. Her bir bakteriyel ajanların mükemmel ve bekletme maddeleri de aynı taraftan elde edilerek, eğer kitle miktarını oluşturan için, aynı hayvanların temizliğine, üstüne ve tozlu esnasında steriliteye itina ile alınması gerekmektedir.

Ayrıca ve diğer pasajları de aynı zamanda olmaktadır ve çocuk asisi hazırlanırken kullanılacak olan virüsünün ayrıca yukarıda da belirttik gibi, mümkün olan vakitinde Fransızlar tarafından getirildiği olan asisi kendisi. Aşağıdaki olarak 1-2 yaşlarında çocukları için, aynı şekilde dâhiye kullanılmaktadır. Temizliği daha kolay ve

ması delilyatı ile dışı danstajı tercih etmekteyiz. Hayvanlar 2-3 hafta veteriner nezaretinde kalarak, her türlü hastalıktan arı oldukları tesbit edildikten sonra aşıya alınmaktadır.

Bazı memleketlerde yapılan tecrübelerin, koyun aşısının dana aşısına kadar aktif olduğunu göstermesi üzerine ve koyunlarda tüberküloz bulunmadığı, teniz tutulmaları kolay olduğu için, çiçek aşısı istihsalinde koyunlar kullanılmaktadır. Bu tercihi sebeplerini göz önünde alarak, memleketimizdeki koyun cinslerinin çiçek aşısı bakımından verimlerini araştırmak üzere, beş cins koyun üzerinde bir araştırma yaptık (11). Bu çalışma sonucunda, Merinos ve Kıvrık cins koyunların, dağlık, kızıl ve akkaraman cinslerine nazaran daha iyi vasıfta aşı verildiği anlaşıldı. Bununla beraber koyun aşılarında arzu ettiğimiz virüs tittosini elde edemedik. Dana aşısına nazaran bir üstünlük bulunmadığından koyunlarda çiçek aşısı istihsalı fikrinden vazgeçtik.

#### Danaların aşılması :

Bir gün önce tüyleri kırılmış olan danalar (haftada 6-8 dana telemektedir) aşılama günü operasyon odasına getirilerek, hastanaya kadar hertarafı sıcak su, sabun ve lırağ ile yıkanır. Döner ameliyat masasına sol tarafı üzerine yatırılan hayvan tesbit edildikten sonra, omuzdan kalçaya kadar sağ yarı ve karnı sabunlanarak tıraş edilir. Tıraş edildikten sonra ve etrafı, adı sabun yumuşak sabun ve etrafı sabunla her 5-6 dakika müddetle yıkanır ve steril distile su ile durulanır. Ağız sahası skarifiye dikeyek üzerine tohum virüs süspansiyonu sürülür, 10 dakika kadar bekledikten sonra ağız sahası steril kompreslerle örtülür ve danalar gözlem odasına nakledilirler. Burada aynı bölmelerde ve delikli tahta üzerinde dört gün süre ile müşahede kalmaları, 1922 yılında dana müşahede odasında yaptığımız olduğumuz tertibatla, danalar koltuk ve tezekkurleri altından geçirdi ve bölmelerin iki yanındaki demirlerle tesbit edilen diğer hantla, ayaklarına basabilecek fakat oturmak istediği zaman çıkamayip ağız kısımlarını tesbit edilmektedirler. Bu durumda, heke tarafından zaman zaman altın temizlenmesi mümkün olmakta ve کافی gelmektedir.

Dört günlük gözlem süresinde hergün danaların kompresleri değiştirilerek ile değiştirilir, idaraları ölçülür ve tabakalarına kaydedilir.

Damla ile asılanmasında kullanılan tohum virüs süspansiyonu, 0.1 cc'ye veya birinci damla pasajından elde edilen lenfün, ası istisnasız olarak kullanılan tekniikle işlenmesi suretiyle hazırlanır. Bakteriyolojik ve zararsızlık kontrolleri yapılır ve titresi tayin edilir. Virüs miktarı 10 PFU/ml veya daha yukarı olan virüs süspansiyonu tohum olarak kullanılır.

#### Ası lenfünün topllanması :

İnkübasyondan sonraki 1. gün ası salınma üzerinde pöstiller geçirilerek, beser akü ve operasyon odasının getirilen damlar döner masa ya yatırılarak teskit edilir. İnkübasyondaki yılanın metodu ile fakat bu sefer daha uzun sürelerle 110 ar dakikalık yılanır. Damlarını boşaltarak kesilerek öldürüldükten ve kolları akıtıldıktan sonra ası kolları steril şartlarda Volkmanın kısıkları ile toplunarak damla damla kavanozlara konur; lenf ağırlığı ve daha önemlisi hayvanlardan sonra 20 C'de depolama de saklanır.

Lenf alınması damanın veteriner tarafından tetkisi yapılır ve leşganlarından alınan parçalar bakteriyolojik muayeneye gönderilir. Veteriner ve bakteriyolojik muayene raporları damanın sağlıklı olduğunu teyit ettikten sonra, bu damlardan alınan lenfler ası izleniş için kullanılabilir.

#### Ası lenfünün işlenmesi :

Lenfünün özülmesi ve asının süspansiyon haline getirilmesinde, elektrik motoru ile işleyen döner beçekli zincir akti kullanılmaktadır. Bu zincir akti tüm kavanozları, asının işlenmesi sırasında tuz banyosuna göndere tutulabilmektedir.

İşlenmek üzere depolama yerinden çıkarılması olan ası lenfünün kavanozda lenfünün çözülmesi için her günde 1 C'de bırakılır. Glicerini ve veya kuru çok ası hazırlanacağına göre farklı işleme metodları kullanılır.

#### Glicerini ile ası lenfünün hazırlanması :

Her damaya 1 ml ası lenfünün ağırlığını ölçmesi halinde, 1.1 lenfünün için eden Mellerine sodium phosphate citric acid (pH 7.2) tampon çözeltisi ile 1.1 ml'lik bir miktar hemojenize edilmiş elde edilen



süspansiyon, çift katlı, steril tel süzgeçten süzülerek kaha deri parçaları ve diğer yabancı maddelerden kurtarılır. Ayrıca, santrifüjde 1500 dd ile 5 dakika çevrilerek, hem birtakım kontaminasyon bakterilerinden, hem de süzmekle bertaraf edilememiş olan iri parçacıklardan temizlenmiş olur. Elde edilen aşı süspansiyonunu, bir gece 22 C etfivde bekletilerek, fenolün kontaminasyon bakterilerine tesiri temin edilir. Ertesi gün aerob ve anaerob kültür vasatlarına okifen aşı buzlığa kaldırılır.

Bakteriyolojik kültür yapılan her tüpten, öreme görüldüğü zaman, ikişer kobaya adale içi 1 cc zerk yapılarak patojenite aranır. Ayrıca, doğrudan doğruya aşidan iki kobaya deriçi 0,5 cc zerkedilerek bütün kobaylar sekiz gün müddetle takip edilir. Bakteriyolojik kültürlerin kobaylarda herhangi bir patojen tesiri görülürse o aşı bir gece daha 22 C de bekletilerek ertesi gün kültürler tekrar edilir.

Aşının bakteriyolojik olarak zararsızlığı tesbit edildiği anda, buna, orijinal leuf ağırlığını her gramı için 3 cc olmak üzere, nötr ve steril gliserin ilâve edilir ve deep freeze'e kaldırılır.

Kontrolları tamamlanmış gliserinli aşıardan 8-10 fanesi bir araya toplanarak bir seri numarası verilir ve bunda bakteriyolojik ve zararsızlık kontrolları tekrar edilir. Aşının muhtelif dilüsyonlarının jelozda calkalama kültürleri yapılarak aşadaki saprofit bakteri sayısı tayin edilir.

Her seri aşısındaki virus miktarı, tavuk embriyomu koriyo - allantoik zarında pok sayımı metodu ile titre edilir (12,13).

Bakteriyolojik ve zararsızlık kontrolları tamamlanmış, jerm adedi 500 cc den az ve virus miktarı 10<sup>7</sup> PFU/ml civarında olan aşidan Eastiti Şubesi'ne numune gönderilir. Kontrol Şubesi'nden alınan ohumlu rapordan sonra aşı tevzi ve sevk edilir.

Gliserinli çiçek aşısı, 10 dozluk tüplere ve 150, 250, 500 dozluk steril şişelere, ultraviyole ışık tertibatı bulunan özel odada tevzi edilir. Aşılar buzlukta saklamak şartı ile iki ay kullanma müddeti verilmektedir. Oda ısısında bir gün kalmış gliserinli aşıların kullanılmaması icabeder.

1965 yılındanberi gliserinli çiçek aşılarını, frigolar icinde, her ilin Sağlık Müdürlüğüne, iki aylık ihtiyaç miktarlarında sevk etmekteyiz.

## Kırmı çilek asası hazırlanması :

Hillusosa steak idümlü tasımı ve soğukta muhafaza şartları iyi olmıyan memleketer için, kırmı çilek asasının gıseritüli asaya üstün-  
lüğü kabul edilmiştir. Kırmı çilek asasının en önemli avantajı stabili-  
tesidir. Gıseritüli asa 22 C de her gün içinde kudretini kaybetdiği hal-  
de, kırmı asi 37 C de daha haftalarca güresini muhafaza edebilmektedir.  
Kırmı çilek asası, - 10 C'de saklanması takdirde kudretini yıllar-  
ca muhafaza ettiği için, bir epidemiyolojideki bütün memleketerin il-  
kelerini koruyabilmek için en iy teşkilat mümkün kılınmaktadır.

Memleketimizde kırmı çilek asası istihsalına 1963 yılı içinde baş-  
lanmıştır. Aynı yıl içinde 2500 kişi üzerinde yapılan mikroyeseli bir  
çalışmanın 101 örnekle sonuçları üzerine 1965 yılı yazında asidik  
bölmü illere sevkinde başlanmıştır.

Kırmı çilek asası, gıseritüli asadan farklı bir şekilde ha-  
zırlanmaktadır. Kırmıya islemi esnasında virus miktarında azalma  
olmadığından enjünal süspansiyonun yüksek seviyede virus dilüva et-  
mesi gerekilmektedir. Bu yüksek seviyeyi azaltan işlenmesi sırasında  
mümkün olduğu kadar muhafaza etme için bazı yardımcı kimyasal  
maddelelerin istifade edilir. Asit banyolarından sonra lefifin korutulu-  
ruk virus süspansiyonunu belirli zamanda için en saklanılacak ortamda  
saklanır.

## 1.10 Ekstrakt hazırlanması :

Asitlenmiş ağulığın dokuz misli haciminde % 0.1 oranında formal-  
dilüva eden Mellyane (pH 7.3) tampon süspansiyonu ve miktarı kadar  
sodyum Asetat (1.5 tetrilbasit) eklenmektedir. Karışım ile birlikte  
9000 rpm'de bir kate içinde tutulan kaynaroda en düşük müddet  
300 dakika süreyle edilir; 500 rpm'de 1500 dakika süreyle, 1500-  
rpm'de 10 saat 22 C'de üyde bırakılarak formülün, asama bakteriyel  
aktivitesini aspartatı indirilmesi beklenir. Süzülürün süspansiyonunu  
kondur Asetat, asitli proteinlere bağlanarak santrifüjasyona esna-  
mıde çökeltiler ve kesitimi edilmiş olur. Bu sonuçta, presübiter tarafında  
çalışılması önemli olan formaldehid solüsyon katılarak asitli bakteriyel  
müddet bir kısmını elimine eden Asetat daha az formaldehid konsantrasyon-  
una ile ilgili olarak yararlı bir öneme olmaktadır.

15 - 16 saatlik inkübasyon sonunda bu  $\frac{1}{2}$  10 ekstrakt'ta bakteriyolojik kontrol, jerm sayımı ve virus titrajı yapılır. Kültürlerdeki şüpheli üremelerden kobaylara zerk edilerek patojenite aranır. Bakteriyolojik kontroller, zararsızlık tecrübeleri, jerm sayımları tatminkâr sonuç verirse ve titresi 10 PFU/ml civarında ise,  $\frac{1}{2}$  10 ekstrakt kurutulmaya hazırdır.

#### **E.B.S. (elementer cisimcik süspansiyonu) hazırlanması :**

$\frac{1}{2}$  10 ekstraktın titresi düşük bulunursa santrifügasyon yolu ile konsantre edilir. Bunun için,  $\frac{1}{2}$  10 ekstrakt 8000 dd ile 30 dakika çevrilir. Dipte paket haline gelen virus kitlesi,  $\frac{1}{2}$  10 ekstraktın titresine göre, orijinal hacmin 5 - 10 da biri kadar Mellin'se tampion solüsyonu ile, elektrikli mikserde 10 - 15 dakika homojenize edilir. Bu suretle elde edilen E. B. S. te bütün bakteriyolojik kontroller tekrar edilir. Sonuçlar ve titre uygun ise EBS kurutulmaya hazırdır. Bu virus süspansiyonu bir ay buzlukta saklanabilir. Kurutulacağı zaman buna, eşit hacimde,  $\frac{1}{2}$  10 pepton solüsyonu ilâve edilir.

#### **Kurutma işlemi :**

Kurutma primer ve sekonder olmak üzere iki safhada yapılır. Kurutulacak peptonlu virus süspansiyonu 0,25 - 0,3 cc miktarlarında ampüllere tezvi edilir. Ampüller, özel süpörlerinde primer kurutma makinesinin içine yerleştirilir. Burada aşı önce 2 - 3 dakika santrifüje edilir, vakum pompası çalıştırdıktan biraz sonra aşı denar ve kurutmaya başlar. 18 - 24 saat süren bu kurutma esnasında aşının su muhtevası  $\frac{1}{2}$  5 - 1 e iner. Primer makineden çıkarılan ampüller steril şartlarda pamuklanır ve sekonder makinenin manifoldlarına takılır. İkinci kurutma yine vakum altında, 18 - 24 saat devam eder. İkinci kurutma sonunda aşısındaki nem takriben  $\frac{1}{2}$  0,5 a inmektedir.

İkinci kurutma sonunda makineye azot gazı sevk edilir, ampüller atmosferik basınçtaki azot gazı ile dolduktan sonra, makine üzerinde, capraz alevli hamaçla kapatılır. Kapatma hatası olup olmadığını anlamak üzere ampüller tel sepet içinde, havası notarla besaltılabilen, su dolu bir desikatöre konur. Desikatörün havası önce çekilir, sonra tekrar verilir. İyi kapanmamış ampüllere su dolacağı için bunlar ayrılır ve atılır. Sağlam ampüllerden yeterli bir miktar bakteri-

yalnızlık kontrolü ve tıtraj aynı aydınlatma altına kalan kısım dışı ortamda muhafaza edilir.

Kuru asitlerin her bir miktarı, «fabrik» kontrolü için, 37 ve 125 °C de 6 saat bekletilir ve bu müddet sonunda tıtraj yapılır. Ayrıca, garanti müddetinden itibaren serim yapılan tıtrajda, bir saat boyunca «sabitlik» sağlandığı parafol olarak tıtraj edilir.

Kuru asitler yapılan bakteriyel çök ve tıtraj kontrolünü tamamlandıktan sonra, Enstitü Kontrol Subesinin numuneye gönderilir. Bu rakam önümüde rapor alındıktan sonra üst seviye hazırlama gelmektedir.

Kuru çökek asisim sterilizasyonunda kullanılan ortam, 5-10 oranında igüserim ihtiva eden Melvaine tampon solüsyondur, 0,25-0,5 cc miktarında, iki deneyi ampüllere konulmuş halde, üst ampüllü 250 ml tüplerde bulunmaktadır.

Her kuru çökek asisi ampülü için az 25 cc'ye kadar, 10 cc'ye kadar çökek asisi ihtiva eder.

Kuru çökek asisi mümkün olduğu halde, buzdolunda saklanmalıdır. Bununla beraber, 22 °C de 6 ay, 37 °C de 1 hafta kadar muhafaza eder. Ampül açıldığı ve sterilizlendiği zaman derhal kullanılmıdır; artan kısım 10 °C altındaki bir buzlukta saklandığı takdirde bir hafta müddetle kullanılabilir. Sterilizasyonu ise, buzlukta saklanmadığı halde 6 ay sürer.

### **Kuru çökek asisinin sterilizasyonu:**

Kuru çökek asisi ambalajının açma, bir ampül için, bir testere, bir steril cam pipet, sterilizasyon eriyiği ampülü ve prospektüs kullanılır. Kullanacağı zaman, kuru çökek asisi ampülü, üzerinde işaret ettiği hizasından kesilir. Steril bir pamuk veya gazlı bezle sarılarak kendir. Ampül, kuru kapıya ulaşıncaya kadar bir deliğe sokularak, sağa veya sola tutulabilir.

Sterilizasyon eriyiği ampülünün dört deney için 10 cc'ye kadar, içindeki sıvı bir deneye doğru silinir; diğer üç deneye sıvı asetonla çalkıllaştırılır. Silinmiş bir pamukla silinir. Bu üç kuru ve kuru asit ampülleri aynı gün seküler, deneye cidara temiz tutulur. Sterilizasyon eriyiği ampülünün her deneye kalan diğer üç kuru asit. Bu şekilde bütün sterilizasyon

ma ertiyiği, kuru aşı üzerine akar ve hafif bir fiskeleme ile kuru aşı  
'ın sıvı içinde reaktifasyonu olur.

Ampüllerin açılması ve sulandırma esnasında, kuru aşı maddesi-  
nin ve sulandırma ertiyiğinin zıyan olmamasına, dikkat edilmesi dikkat  
kati edilmelidir. Aksi takdirde, aşı, gerekenden az veya fazla sulandı-  
rılmış olduğundan, alınacak sonuç da normalden fazla bir reaksiyon  
veya aştan tutmaması şeklinde tezahür edebilir.

Aşıların esnasında ampül içindeki sulandırılmış çiçek aşısının iyi-  
ce homojen bir halde olmasına dikkat etmeli, değilse bir ikt fiske ile  
karışması temin edilmelidir.

Aşının uygulanmasında aynen yaş aşı için gerekli olan hususlara  
dikkat edilir. Primovaksinasyonlarda 5 mm boyunda bir, revaksinasyon-  
larda 7 mm aralıklı iki çizgi ile fazla skarifikasyon yapılmamalıdır.

Hazırladığımız kuru çiçek aşısı tathikata arz edilmeden evvel,  
2500 kişi üzerinde ve gırsertulu aşı ile paralel olarak, mukayeseli bir  
saha çalışması yaptık (10). Kuru aşı ile yapılan primovaksinasyonlar-  
da % 97, yaş aşı ile % 95 oranında olumlu sonuç alındı. 37 C de  
2-2,5 ay bekletilmiş kuru aşı ile % 92 oranında tutma elde edildiği  
halde, 37 C de sadece 11 gün kalmış yaş aşı ile bu oran % 28 ya  
dişti. Kuru aşının stabilitesi bu şekilde teyid edildikten sonra, 1966  
ilkbaharında sıcak iklimli 9 il'e birer miktar kuru aşı gönderilerek  
intibaları soruldu. Genellikle makbul bulundu.

İlk pilot uygulamadan bir yıl sonra aynı sahlalara revaksinasyon  
yapılarak aşının etkisitesi araştırıldı (11). Primovaksinasyon  
yapılan bir kontrol grubunun bulunduğu bu mukayeseli çalışma da  
aşının bağışıklık vermiş olduğunu gösterdi.

Dünya Sağlık Teşkilatı aracılığı ile Hollanda'da Nijks Enstitüsü-  
sünde kontrolü yapılan kuru çiçek aşımız hakkında olumlu rapor alınmıştır.

Halen kuru çiçek aşısı, sıcak iklimli ilerimizin yaz ayları ihtiyacı  
karşılatabilecek miktarda istihsal edilebilmektedir.

İstihsalı büyük emek ve masraflara malolan kuru ve gliserinli  
çiçek aşılarının tathikateolar tarafından da aynı itinaı görmesi, pros-  
pektüsüne uygun şekilde saldanması ve uygulanması en büyük dile-  
ğimizdir.

## BRIEF HISTORY OF THE SMALLPOX VACCINE PRODUCTION IN TURKEY

Dr. EBUH ÖZLUARDA

Specialist, Virology and Virus Vaccines Dept., B-666 Seydhan Central Institute  
of Hygiene, Chief of the Altered and Dried Smallpox Vaccine  
Production Laboratory

The history of smallpox vaccination in Turkey goes back to the 15th century. Though in some old Turkish books it was stated that the smallpox vaccine produced from cowpox and applied by the same method as used by Jenner existed in Anatolia in 1679, we do not have any written paper about this practice. However, there are enough data for that variolation carried out in Turkey was first described by the great physician Emmanuel Timoniüs in 1713. Four years after Timoniüs, Lady Mary Wortley Montagu, the wife of the British Ambassador to Turkey, introduced the method of variolation to the western countries.

Three years after the publication of Jenner's work, Dr. Mustafa Belçet was the first who wrote about vaccination (1801). First experiments on calf vaccine were done in 1811. In the 19th century vaccination has been compulsory and took place in our health organizations and regulations.

Until 1890 - 1891, the vaccination had been carried out with the material imported from foreign countries. When the material was not enough at any time, the vaccinators used to take pus from the local reaction of vaccinated children and apply it to other children for vaccination.

In 1890 - 1891 an Inoculation House was established in Istanbul and the vaccine prepared there was sent to all parts of the country. Until 1923, the material used as *zoid virus* had been imported from the Pasteur Institute, Paris. Since then, the vaccinia virus has been passed through donkeys after every second passage in calves.

In 1934 the Smallpox Vaccine Production Laboratory was transferred to the Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara, founded by the Ministry of Health and Social Assistance. The technique used for the production of smallpox vaccine has been improved year by year. At the present time, calves are used as a source of vaccine. Every year appr. 80 calves are inoculated for vaccine production. The vaccine lymph is homogenized in an electric mixer with Mellvaine phosphate-citric acid buffer (pH 7.2) containing 1 % phenol and after bacteriological controls equal amount of neutral glycerol is added. Virus titration is made by the pock counting technique on the chorio-allantoic membrane of chick embryos.

Every year 7 - 10 million doses of smallpox vaccine are distributed to the vaccination stations in the country.

Since 1965, the freeze dried smallpox vaccine is being produced and sent to the warmer regions of Turkey.

## L I T E R A T Ü R

- 1 - Wld Hlth Org. Techn. Rep. Ser., 1966, 323
- 2 - Wld Hlth Org. Techn. Rep. Ser., 1964, 285
- 3 - Downs, A.W., 1965, Poxvirus Group, Viral and Rickettsial Infections of Man, 932
- 4 - Ünver, S., 1948, Türkiye'de Çiçek Ağısı ve Tarihi, 130
- 5 - Özlüarda, E., Dorucu, Z., Arı, A., 1963, Memleketimizde 1962 yılında yapılan çiçeğe karşı kitle aşılaması ve elde edilen sonuçlar. Türk Hıj. Tec. Biol. Der., XXIII, 2, 179.
- 6 - Özlüarda, E., 1965, Memleketimizde kuru çiçek ağıst istisbalı ve yağ ağıst ile mukayeseli olarak yapılan uygulamadan alınan sonuçlar. Türk Hıj. Tec. Biol. Der., XXV, 2 - 3, 129.
- 7 - Özlüarda, E., 1967, Gliserinli ve kuru çiçek ağıstlarının etkinlikte kontrolü uygulaması. Türk Hıj. Tec. Biol. Der., XXII, 1, 5.

10. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
11. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
12. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
13. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
14. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
15. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
16. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
17. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
18. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
19. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).
20. K. Washio, *On the algebraic theory of the solutions of the differential equations of the second order*, *Proc. Jap. Soc. Ind. Chem.* XX, 3, 114 (1947).



**THE WORKS CARRIED OUT IN THE FIELD OF VIROLOGY  
BY REFIK SAYDAM CENTRAL INSTITUTE OF HYGIENE  
ANKARA - TURKEY**

**Dr. Azim ARI, MPH**

Director, Virology Dept.

**INTRODUCTION :**

Before presenting Viral and Rickettsial diagnostic activities in Refik Saydam Central Institute of Hygiene, I would like to give a brief history of Viral and Rickettsial vaccine production activities. However, these two functioning have been carried out simultaneously, because of the limited number of personnel and facilities available.

Afterwards, a chronological description of recent virological and serological studies will be given on Influenza, Q-Fever and Polio infection in the near past; finally, the present Viral Diagnostic Laboratory, its set up and activities will be described in some detail.

**BRIEF HISTORY ON THE PRODUCTION  
OF RABIES VACCINE :**

After the works of Pasteur and his colleagues on rabies and rabies vaccination, during the years of 1881 - 1888, Turkish delegates were one of the first scientific groups who visited Pasteur's Laboratory in Paris, in order to get acquainted with the new method of production of rabies vaccine and vaccination procedures. The group set up the first virus laboratory for the production of rabies vaccine in Istanbul, TURKEY, in 1890. Afterwards, the number of such laboratories extended in the country to five different localities with the collaboration of French scientists until the method of inactivated ra-

ness vaccine introduced. The live active and inactivated vaccines was produced in Refik Saydam, Central Institute of Hygiene from 1935 until 1950. From than on, Semple type inactivated rabies vaccine only has been produced and distributed to the decentralized rabies vaccination units throughout the country.

The method for production and control of vaccine were further improved in order to fulfil the minimum requirements recommended by W.H.O. in "Laboratory Techniques in Rabies". The diagnosis of rabies infection was first carried out by the same Institute and laboratory until 1950; then, Veterinary Bacteriological Laboratories and Rabies Institute in Istanbul took over this task. Isolation of specific agent in mice and microscopic examination of Negri bodies in pathologic specimens have been used to be the methods of choice. Recently, fluorescent-antibody technique has been studied for routine use in the Veterinary Laboratory in Etlik, ANKARA. An average number of specimens, mainly brain of dogs, studied are over 100 and 75% was found to be positive on average.

#### **BRIEF HISTORY OF THE SMALLPOX VACCINE PRODUCTION IN TURKEY :**

The history of smallpox vaccination in Turkey goes back to the 17th century. Though in some old Turkish books it was stated that the smallpox vaccine produced from cowpox and applied by the same method as used by Jenner, existed in Anatolia in 1679; we do not have any written documents about this practice. However, there are enough data for that variolation carried out in Turkey was first described by the great physician Fennanuel Timonius in 1713. Four years after Timonius, Lady Mary Wortley Montagu, the wife of the British Ambassador to Turkey, introduced the method of variolation to the western countries.

Three years after the publication of Jenner's work, Dr. Mustafa Behcet was the first who wrote about vaccination (1801). First experiments on calf vaccine were done in 1811. In the 19th century vaccination has been compulsory and took place in our health organizations and regulations.

Until 1890 - 1891, the vaccination had been carried out with the material imported from foreign countries. When the material was

not enough at any time, the vaccinators used to take pus from the local reaction of vaccinated children and apply it to other children for vaccination.

In 1890 - 1891, an inoculation House was established in Istanbul and the vaccine prepared there, was sent to all parts of the country. Until 1923, the material used as seed virus had been imported from the Pasteur Institute, Paris. Since then, the vaccinia virus has been passed through donkeys after every second passage in calves.

In 1934 the Smallpox Vaccine Production Laboratory was transferred to the Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara, founded by the Ministry of Health and Social Assistance. The technique used for the production of smallpox vaccine has been improved year by year. At the present time, calves are used as a source of vaccine. Every year approx. 80 calves are inoculated for vaccine production. The vaccine lymph is homogenized in an electric mixer with Mellvaine phosphate-citric acid buffer (pH 7.2) containing 1 % phenol and after bacteriological controls equal amounts of neutral glycerol is added. Virus titration is made by the pock counting technique on the chorion-allantoic membrane of chick embryos.

Every year 7 - 10 million doses of smallpox vaccine are distributed to the vaccination stations in the country.

Since 1965, the freeze dried smallpox vaccine are being produced and sent to the warmer regions of Turkey.

Paul technique was used in the diagnosis of smallpox infection for longtime. From 1955 on wards egg inoculation technic has been in routine use for the isolation of virus; in addition, hyperimmune serum prepared in rabbit has been ready for CF and gel diffusion and precipitation tests. Fortunately, Smallpox infection was not seen in Turkey for longtime. Vaccination procedure is in practice on compulsory basis. Because of the presence and potential danger the Smallpox infection in the neighbouring countries, mass vaccination campaign was also organized from time to time.

## BRIEF HISTORY ON THE EPIDEMIC TYPHUS VACCINE PRODUCTION AND THE DIAGNOSIS OF THE DISEASE :

The production of typhus vaccine was first considered after the vaccine was improved by Cox and his colleagues in 1928-30; in early 1930, the military and Civil Sanitation Institutes were unanimously engaged to produce Epidemic Typhus vaccine from-impregnated eggs. At the present time, this vaccine has still been produced on rather small scale for emergency use.

Having the experiences and facilities, the viral and rickettsial antigens prepared in owl-egg have usually been produced in our laboratory.

Weil-Felix test has been the method of choice in the laboratory diagnosis of the typhus fever infections. As it is well known, it is easy to do it in every bacteriological laboratory. We are fortunate to say that the epidemic typhus infection is absent for long time. What, as, Epidemic or Murine Typhus is rather rare of interest for the time being. We would like to prepare the specific rickettsial antigens of typhus fevers for OF test in a certain way very soon.

## FIRST VIRAL AND RICKETTSIAL STUDIES ON THE DIAGNOSIS OF INFLUENZA (Nagasaki Case) :

The extensive studies of Dr. Pyzdek, in 1940-42 has revealed the presence of Q-Fever infection in Tokyo. It was almost the same time that the National Diagnostic Laboratory for Influenza (National Influenza Center) was set up by Z. Becker with the cooperation and collaboration of the WHO. I remember myself, they and started to work in our small room and gradually it grew up and became the basic laboratory diagnosis of Viral and Rickettsial infections. In 1955, Influenza A<sub>1</sub> and B<sub>1</sub> antigens, in 1957, as Paratyphoid and Adeno A<sub>1</sub> antigens were prepared and administered to the patients. Serological diagnosis of the main respiratory virus and rickettsial diseases were first well improved since then.

In 1960, after the passage of an epidemic pneumonia the diagnosis of enterovirus infections were considered as it necessary. From Japan, the tissue culture method of virus isolation was used for isolation of virus and 48 sera from 1959 and 1960 were available

and studies have been carried out rather in small scale. The inadequacy of personals, room, equipments and all other facilities are among the main problems to be solved before any expending of viral diagnostic activities in the central Public Health laboratory and elsewhere.

The following table shows the slow increase of the number of routine virological analyses during the last 12 years :

**VIROLOGICAL ANALYSIS DURING LAST 12 YEARS IN  
REFIK SAYDAM INSTITUTE**

Years	Number of Serological tests	Number of Isolations	Others	Total
1956	347	—	1,237	1,584
1957	977	143	797	1,917
1958	3,327	168	1,196	4,691
1959	2,933	255	460	3,648
1960	3,461	247	1,484	5,192
1961	1,646	266	790	2,702
1962	1,409	130	597	2,136
1963	3,086	38	355	3,479
1964	4,078	45	383	4,506
1965	5,507	218	249	5,984
1966	4,186	369	653	5,208
1967	4,785	240	877	5,902

**FUTURE PROSPECT :**

In general, one can say that the importance of the laboratory findings in the routine diagnosis of the diseases and especially in solving public health problemmes are well understood by the administrative authorities in Turkey as well as in other countries. The result of this understanding, the expending of Central Public Health Laboratory, including Viral and Rickettsial diagnosis and referens work and preparation of reagents are in progress. In addition, according the plane, 4 regional P. H. Laboratories were completed and three others are in construction; the number of regional laboratories will be 15 altogether, in 1976.

Our target is first to improve the methods for laboratory diagnosis in the centre and then to take them to the regional laboratories in the near future. This will be done in the following stages: first the serological methods will be improved and extended and then, for isolation work, laboratory animals, embryonated eggs and tissue culture facilities will be taken to the Regional Laboratories. In this manner, the Regional Laboratories will be able to carry out diagnostic work on virus diseases in their environment, according to the facilities they will furnish.

#### Training the personnel of different educational level :

It is the fact that the medical doctors show very little interest in laboratory as a branch for specialization. Therefore, veterinarians and biologists specialized in bacteriology are considered high level personnel in medical microbiology, while laboratory branches are being tried to make more attractive for medical staff.

On the other hand, laboratory technicians are being trained in the Health Colleges and the graduates have already begun to work in the laboratories since 1960.

#### **INTERNATIONAL AND REGIONAL COLLABORATION :**

We are aware of the importance and advantages of the international and regional collaboration. We believe in the necessity and tremendous help of the training courses, seminars and other meetings held by W. H. O. and support the continuity of this kind activities.

However, we think that the mutual assistance in laboratory standards and reagents should be more extensive.

We take part in and support the regional collaboration on giving epidemiological information between the countries.

## HONG KONG GRIBİ VE ETKENİ İLE YAPTIĞIMIZ LABORATUVAR ÇALIŞMALARI ( 1 )

Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Refik Saydam Merkezi Hıfzıssıhha Enstitüsü, WHO Türkiye Ulusal İnfluenza  
Merkezi Müfettişinin

Dünya Sağlık Teşkilâtı (WHO) nun 2 Ağustos 1968 tarihli Haftalık Epidemiyolojik Kayıtlar bülteninde, birkaç satırla bildirilen şöyle bir haber vardı : « 14 Temmuz 1968 denberi Hong Kong'da süratle yayılan bir influenza salgını mevcuttur. Bütün yaş gurupları müteassir olmuştur. 83 adet A2 influenza virusu ayrı ayrı izole edilmiş ve Dünya İnfluenza Merkezi (WIC), Londra'ya gönderilmiştir. İlk testler müjfer bir antijenik değişiklik olmadığını göstermiştir. (1). Filhakika bu bölgede 1957 denberi en geniş epidemiyi meydana getiren ve ölüme sebep olmamakla beraber yaklaşık 500.000 kişiyi kısa zamanda enfekte eden virus, Hong Kong Üniversitesi'nde, WHO Ulusal İnfluenza Merkezi'nde Dr. W. K. Chang tarafından izole edilerek derhal jet uçağı ile Londradaki WHO Dünya İnfluenza Merkezi'ne gönderildi. Merkezin Direktörü Dr. Helen Pereira, bu suslara karşı ferretlerde hazırlanan antiseronlarla yaptığı müteakip testlerde, ilk kanaatin aksine, yeni varyantın, «yeni A2 influenza virus suslarından önemli derecede farklı olduğunu göstererek (2). Cenevre'deki WHO na, «WHO İnfluenza Acil Planı» nun harekete geçirilmesinin gerektiğini bildirdi. Bu plan gereğince, 55 memleketteki, WHO ile işbirliği yapan 80 Ulusal İnfluenza Merkezi yeni varyantın ortaya çıktığından haberdar edildi ve bu Merkezlerin, ayrı istisnai müesseselerinin, bu konu ile çalışmak isteyen diğer laboratuvarlarının bu susu WIC ve Amerikalılar Uluslararası İnfluenza Merkezi (ICVA) denen temin edebilecekleri bildirildi (21, 22). Aynı zamanda bütün Merkezlerden,

(1) 13 Şubat, 1968 de, Dünya Mikrobiyoloji Özetleri Bülteni'nde bildirilmiştir. Yayınlanmak üzere «J. Gen. Virol.» 1968 de çıkmıştır.

gözetimi yapıldığı uluslararası bağlamda denetimlere kontrol etimleri ve tedavilerine WHO'nun bildirimleri istendi. Tokyo'daki Ulusal Sağlık Enstitüsünde Dr. H. Fukuda, Hong Kong salgını karşı tedavileri araştırırken - inhibitörlerin etkili testleri ile antibiyotik araştırmaları yaptı; en geç salıncık hastası tek kişi Hong Kong'a sevrildiği bu varyanta karşı etkili ilaç bulunamadı. Londra, Columbia Virus Referans Laboratuvarında Dr. Margaret Pereira, etkili ilaç sevrilmemiş Hong Kong varyantına karşı olan antibiyotik seviyelerinin seviyesi A2 virusu salgınları olanları daha ileri seviyeye ulaştırılmamış olduğunu bildirdi. Bu amaçla diğer 6 Hong Kong'daki klinik testlere yollanılan yüksekliği A2 virusu salgınları olan mevcut hastalarının bu varyanta karşı tedavilerinin yapıldığı klinik verileri (21, 22). Her üç soraklık raporlarında her üç ameliyatla yapılarak sonuçların WHO'ya da bildirilmesi istendiği gibi, ayrıca Dr. Pereira, etkili A2 salgınları ile hastaların arasında tedaviler satılmaları için sorunlarını bildirdi. Hong Kong'ta bu karşı tedavilerdeki etkili ilaçların bu varyanta karşı karayaya tesiri için ilaçların araştırılması tavsiye edildi. İtalya'da 1967 Aralık ayında bakteriyel enfeksiyon testi ile araştırılan küçük bir grup olan olunan sorunlarla yapılan testler bulunmuştu. A2 Hong Kong BS varyantına karşı etkili tedavilerin bulunmadığına ilişkin olarak salgınların devam etmesi için sorunlarda yapılan soruşturma çalışmaları. Özellikle A2 Hong Kong I BS varyantı ile ilgili olarak etkili ilaç bulunmasını gösterdi (8). Fransa ve Hollanda'da yapılan test sonuçları çalışmalarında vakaların genelde grip hastalığı veya influenza ailesi ile araştırılan salgınların etkili sorunlarında A2 Hong Kong BS salgını karşı ameliyatla tedavilerinde ya da ilaçların etkili tedavilerde veya tedavilerde pek az etkili tedavi edilmeleri (23).

1968 Ağustos ayı başlarında Singapur'da influenza - bulaşıcı hastalık vakalarının ortaya çıkması ve bu vakaların çoğunun immüniteye ya da etkili ilaçlar kullanılmadığı, Dr. Lim Koh An tarafından Dr. Pereira'ya bildirildi (13, 24). Özellikle salgınları bildirenleri Singapur sorunları ile ilgili olarak A2 Hong Kong I BS'e benzediklerini ve ayrıca A2 varyantlarından da etkili ilaçlar ile tedavilerin yapıldığını bildirdi (4). Bu nedenle, en yakın olan Hong Kong'daki salgınların etkili ilaçları bildirdi.

Engele tarafından WHO'ya bildirilen çalışmalar da WHO'nun araştırması için salgınları - sonuçları bildirenler, A2 Hong Kong I BS varyantı Hong Kong BS salgınları ile tedavilerde etkili A2 salgınlarından etkili ilaçlar ile tedavilerde etkili tedavilerin bulunmadığını bildirdi.



beraber, Hong Kong'dan bu Merkezte gönderilmiş olan 5 suşun da WHO Referens Foliyalar A2 Antiserumu ile idantifiye edilebilmiş olması, ve yeni varyantlarla hazırlanan antiserumların evvelki A2 varyantlarına ilgi göstermesi, bu yeni suşun da A2 olarak sınıflandırılması gerektiğini gösteriyordu (4). Coleman ve ark. nin yaptıkları çalışmalar (29), Hong Kong varyantının nöraminidaz emziminin 1964 - 1967 suşları ile aynı olmakla beraber, hemaglütininalerinin evvelki A2 suşlarından önemli derecede farklılaşmış olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada, Hong Kong varyantı ile A - equine - 2 suşu arasında antijenik bir ilgi bulunmakla beraber, bunun epidemiyolojik rolünü gösteren bir delil henüz yoktur.

Daha sonra, 1967 - 68 mevsiminde influenza geçirmiş şahısların ve evvelki A2 virusları ile hazırlanmış aşılarla bağışıklanmış olanların çift serumlarında yapılan serolojik çalışmalar da bu yeni varyantın antijenik değişikliğini ve evvelce hastalık geçirmiş veya aşılanmış şahısların bu varyanta karşı bağışık sayılamayacağını gösterdi (5).

Ağustos ayında Filipinlerde çıkan influenza salgınında izole edilen suşların HCA de (6, 10), Taiwan-Taipei'de başlayan selim influenza salgınından elde edilen suşların Tokyo WHO Solunum Hastalıkları Referens Laboratuvarı'nda (6) ve Malaysia'da Kuala Lumpur'daki salgında izole edilen suşların WIC de tetkikleri sonucunda (8) bunların da antijenik olarak A2 Hong Kong/1/68 tipinde olduğu teyid edildi. Bu suretle salgını Hong Kong ve Singapur'dan sonra Filipinler, Taiwan ve Malaysia'ya da atlamış olduğu anlaşıldı.

Ağustosun ikinci yarısında Saigon'dan Washington'a gelen 11 gemi personeli hastalığı buraya taşıdılar ve amilin A2 Hong Kong/68 tipinde olduğu serolojik olarak teyid edildi (9). Eylül ayında Filipin, Taiwan ve Japonya'dan dönen yolcularla taşınan enfeksiyon, Hawai, Kaliforniya, Ohio, New Jersey (9, 11) gibi ABD nin diğer eyaletlerinde de salgınlara sebep oldu.

Ağustos ortalarında Londra'da 1,5 yaşındaki bir çocukta A2/Hong Kong 68 tipinde bir virus izole edildi, fakat enfeksiyonun kaynağı tesbit edilmedi (9). Eylül sonlarında da Surrey'de bir okulda, A2 Hong Kong/1/68 e antijenik yakınlığı olan bir virusla nfak bir salgın oldu (12). Aralık ayında ise İngiltere'nin müteaddit bölgelerinde A 2 Hong Kong varyantı ile meydana gelen sporadik vak'alar görüldü. Vak'aların kaynağı genellikle ABD nden gelen yolculardır.

Okak 1900 başında Midlandsta influenza bittim herke yayılan banyu-  
yılı gösterecekti (7, 25). Influenza pandemiyinden ölümler de arttı,  
salgın Aralık ayında Londra'ya gelene bir hafta ile Londra'ya da  
atılmasında (23).

Hindistan'da Ağustos - Eylül başında Madras'ta, Singa-  
pur'dan gelen gemilerden önce Eylül 15 Eylül'de Bombay'da (8,  
10) başlayın salgın amlerinin A2 Hong Kong (8) - adliye ve  
günlük W17 de (10, 11, 12) tesbit edildi.

Eylül başında İran'da başlayın influenza - salgın amlerinin de,  
WH de yarıları doneyler - A2 Hong Kong 68 yayılmasına banyu-  
yılı (10) ve salgın Ekim ayında sıfırla bittim ilkeye yayıldı  
(11). Tahran'a ve sonra bütün İran'a yayılan Hong Kong gelinim  
kaynağına, Tahran'da Eylül ortasında toplandı. Uluslararası Tropi-  
kal Tıp ve Sıtma Kongresi - me istinad eden ve Güney - Kıta Asya  
ve Batı Pasifik'ten gelen ilave ölümler tabii ölümlerle (19, 21)

Ağustos - Eylül başında da salgın Avustralya'da, Kuzey  
Yarıda da atıldı (10, 12).

Çerçözük - Doğu'dan geçerek ABİ - den gelen emperyalı hast-  
tabin salgın, komplikasyonları, ölümlerle nadir ölümlerle tabii  
mekteldi (6, 11).

Eylül ayında Taiwan'da Japonya'ya gelen gemiler arasında  
A2 Hong Kong 68 virusunun meydana gelen bir salgından (11)  
sonra, Ekim'de Tokyo'daki bir okulda ayca tip yayıldı vak'lar mey-  
dana çıktı (13). Daha sonra salgın Japonya'nın güney yarısındaki  
okullarda yayıldı (17, 19).

Ağustos'un ve Eylülün ilk haftasında Seyzen'deki influenza -  
virüsü hastalık salgınından (11) çok ölümler arasında (12) ölümler  
de A2 Hong Kong 1 68 tipine vak'lar ölümler W17 de tesbit edil-  
di (12). Eylülün ortasında Bangkok'ta görülen ilk bir Hong  
Kong gelin salgını (12) Ekim'de bütün yarıya yayılmasına yayıldı, his-  
tabin salgın salgın yolları (11) Almanya'da, İngiltere'de de de  
bir salgın da A2 Hong Kong 68 yayılmasına banyu- Eylül W17 de tes-  
bit edildi (17).

Ekim ayında Amerika'da Kuzey Kıta'da A2 Hong Kong  
68 yayılmasına banyu- salgın tesbit edildi (17).

Hong Kong'dan sonra ilk geniş salgın ABD de görüldü. Eylül'de Kaliforniya'nın bir kazasında başlayan influenza salgını üç hafta içinde halkın % 10 unu yayıldı. Klinik arazlar, boğaz yanması, bitkinlik, ateş, adale ağrıları, servikal adenopati olup 1-2 hafta sürüyordu. Kolorado ve Puerto Rico'da da Ekim ve Kasım ayında vak'alar süratle arttı ve bütün halka yayıldı (17, 18). New Jersey, Utah, Alaska, Illinois'te de A2 Hong Kong/68 ile vak'alar görüldü. Daha sonra Pensilvanya, güney Arizona, North Carolina, Washington eyaleti ve doğu Oregon'da da yayılmaya eğilimli lokal salgınlar oldu (17). ABD'deki bu salgınlar sonucunda, Aralık 1968 başında 122 şehirde pnömöni ve influenzadan ölümler epidemik eşikini aştı ve A2-Hong Kong 68 varyantı ile meydana gelen salgınlar hemen bütün eyaletlere yayıldı (18). Ocak 1968 başında 38 eyalette yaygın salgın, 5 eyalette bölgesel vak'a toplulukları ve 6 eyalette lokalize salgınlar mevcuttu. Bununla beraber bir taraftan salgının şiddeti azalmaktaydı (23). Salgın ABD de yavaş yavaş sönerken, epidemik süresince Avrupa'ya giden turistler ve askeri birlikler Hong Kong gribinin, İngiltere, İsveç, Batı Almanya ve İsviçre gibi Avrupa memleketlerinde yayılmasına kaynak teşkil etmişlerdir. Aralık 1968 sonunda ABD den gelen yolcularla salgın Arjantine de atlamıştır (23). ABD de Hong Kong gribinden sonra meydana gelen ölüm vak'alarının bazılarının ökeğlerinden influenza virusu üretilerek ölüm sebebinin viral pnömöni olabileceği gösterilmiştir (27).

Kasım ayında Hindistan'dan gelen enfekte bir şahısla Hong Kong gribi İsveç'e taşınmış oldu (16). Aile salgını olarak kalan bu ilk vak'alardan sonra ABD den gelen yolcuların sebep olduğu sporadik vak'a sayıları arttı ve hastalardan A2/Hong Kong 68 varyantı izole edildi (23).

Avrupa'da İngiltere ve İsveç'ten sonra Aralık ayında Hollanda'da Leiden'de ilk Hong Kong gribi vak'aları görüldü (19); daha sonra bütün memleketle süratle yayıldı. Birkaç ölüm vak'ası olmakla beraber hastalığın kliniği genellikle seldimdi (27). Aralık ayında İzlanda ve Romanya'da A2 Hong Kong 68 virusu ile sporadik vak'alar görüldü ve Ocak 1969 ayına kadar vak'a sayısı artmaya devam etti (7, 23). Batı Almanya'da da ABD den gelen erler hastalığı getirdiler. Kliniği seldim olan bu salgınlardan, Ocak ayı başına kadar halka yayılmadı (7).

– 1961 yılı Rusya'dan 5 Ocak 1961'de alınan bir kollektif hakere ile ilgili yazışma. Kazan merkezli vakaların Moskova ile bağlantısı. Dünya Asya'nın bazı bölgelerinde olan bu hastalığın olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Asya'da Hong Kong'da olduğu belirtilmiştir. Vakaların yaygınlaşmasını göstermiştir (23).

– Aynı yıl Kashima, Fukuoka'da bir yeti yeti dalganın olduğu bildirilmiştir. Influensa vakaları da bu yerlerde de görülmüştür. 12 Hong Kong'da 28 kişi (HİG) virüsü ile vaka olarak bildirilmiştir (27). Aynı zamanda Amerika'da virüs de deşifre edilmiş olarak 12 Hong Kong'da virüsü ile ilgili olarak bildirilmiştir. Influensa vakaları da yaygın olarak bildirilmiştir. Üstelik bir Los Angeles'te de virüsü deşifre edilmiştir (27).

– Hong Kong'da virüs ile ilgili olarak laboratuvar ortamında yapılan araştırmalar da yapılmıştır. WHO'na bağlı Grup Merkezi tarafından yapılan araştırmalar da virüsü deşifre edilmiştir. Ayrıca virüsün yaygınlaşmasını göstermiştir (27).

– 1967 yılı Temmuz ayında yapılan 16. Dünya Sağlık Konferansı'nda Kazan virüsü ile ilgili olarak virüsün keşfini gösteren grup virüsü yaygınlaşmasını sağlık ve ekonomisi üzerinde yaptığı zararlar konusunda alınarak, aynı yıl Eylül ayında yapılan WHO'nun bir konferansının kararı ile virüsü yaygınlaşmasını bir Dünya Grup Merkezi kurularının kararı verilmiştir. Dünya Grup Merkezi (WHO) tarafından Dr. C. H. Anderson'un önerisiyle, National Institute for Medical Research ve Kuruluru, Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika Ülkeleri, Influensa Merkezi (ICMA), Atlanta'da, Public Health Service tarafından kurulmuştur (25, 26). Dünya Grup Merkezi kurulduktan sonra virüsün yaygınlaşmasını kontrol etmek için de gerekli tedbirleri yapmak üzere konferansın 10. ve 11. maddesi üzerine, Sağlık Bakanları, Kuzey yarımküre Merkezi Dr. N. Hensley, Grup Merkezi olarak görevleri oldu.

Türkiye'de influensa hastası ile ilgili çalışmaların Hekim Sıyımı Al Tihanzishu İstanbul'da 1938 – 39 arasında hükümet için influensa salgını sırasında gerçekleştirilmiştir. Dr. S. Pavlov tarafından hazırlanan raporun sonunda izlenilen yerler, WE' merkezinde A tipii influensa varlığı olarak belirtilmiştir. Hekim Sıyım Al Tihanzishu İstanbul'da 1949 yılında Prof. Dr. Zülhü Beke tarafından kurulan olan Virus Araştırma Merkezi, bir araştıran WHO Türkiye Üstel İdari ve Merkezi olarak diğer görevleri, diğer taraftan gerek virüs ispatını istifasından dolayı, bu virüsün yaygınlaşmasını

lık ve virolojik teşhisleri konularında bugüne kadar faaliyetine devam etmektedir.

WHO Türkiye Ulusal Influenza Merkezi olarak her yıl hasta ve şahısları serumlarında influenza ve diğer akut virütik solunum hastalıkları konusunda yaptığımız serolojik ve virolojik çalışmaların sonuçlarını, Etik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü'nce yayımlanan "Türk Hijyen ve Tıbbi Biyoloji Dergisi"nde nesretmekte ve İngilizce bir özeti, bir raporla WHO ve WIC'ne bildirmekteyiz. Salgın dışı zamanlarda dahi bu çalışmalarımıza devam ettirmemiz ve sonuçların bildirmemiz bu Merkezlerle sıkı ilişkilerde sürdürülmektedir. Ayrıca, sıtış izolasyonu mümkün olduğu zaman, bir taraftan CP ve HI testleri ile virüsü tiplendirmeye çalışırken, diğer numuneyi de identifikasyon için WIC'ne göndermekteyiz.

Halen dünyada 55 memlekette 80 influenza merkezi mevcuttur. WIC'ne bağlı bu merkezlerin görevleri, kendi memleketlerindeki influenza - benzer vakaların serolojik ve virolojik teşhisini yapmak, izole edilen virus suşlarını tiplendirilmek üzere WIC'ne göndermek, zehis bir salgın vakasında lümm derhal WHO'na bildirmek, dünyanın diğer memleketlerinde çıkan salgın anıllı olan virüsü WIC'den temin ederek bunlarla serolojik ve epidemiyolojik araştırmalar yapmak. Influenza Ağı İstihsal Laboratuvarı'na asiya dahil edilmesi gereken virus suşunu vermek ve tavsiyelerde bulunmak; epidemî dışındaki zamanlarda normal şahısların kan serumlarında serolojik araştırmalar yaparak memlekette aktif olan virus tipini tayin etmek, diğer taraftan halkın muhtelif virus tiplerine karşı ihtiva ettikleri antikor seviyelerini, dolayısı ile bağışıklık durumunu tesbit etmektir.

Nitekim, Merkezimize muntazaman gönderilmekte olan WHO Weekly Epidemiological Record adlı bültenin 2 Ağustos 1968 tarihli sayısında Hong Kong'daki epidemî başlangıcından haberdar olduktan hemen sonra, WHO Virus Ünitesi, Cotevru'den gelen 16 Ağustos 1968 tarihli genelge ile, salgının Hong Kong'da takriben 500.000 kişiye yayılmış olduğunu, ölümlü olmadığını ve salgın etkeni olan suşun WIC'den temin edilebileceğini öğrendik. Elamize 20 Ağustos 1968'de gelen bu yazıyı alır almaz derhal WIC'de Dr. H. Pereira'ya yazarak Hong Kong suşunu ve o sıralarda bilhassa Okyanusya'da bazı bölgelerde salgın yapan ve tamamen ayrı bir antijenik özellik taşıyan A2 Tokyo/3 67 suşunu göndermelerini istedik. Hong Kong suşu liyofilize tok ampül halinde Eylül 1968'de elimize geçti ve derhal

embriyonda yumurtalara ekimne hazırlanmış A2 Hong Kong/1/68 serisi de ilk seri monovalan inaktif influenza aşısı Ekim ayı içinde hazırlandı. O tarihtenberi de aynı özellikli aşı serileri hazırlanmaya devam etmekteyiz. Merkezimize HCA den A2 Hong Kong 8/68 A2 Hong Kong 50/68 ve A2 Aichi 2/68 influenza virus suşları da gönderilmiş olmakla beraber, aşı ihtisafinde kullanılmakta olduğumuz A2 Hong Kong/1/68 suşu salgın etkeninin orijinal örneği olduğundan aşı sistemimizi değiştirmeye lüzum görmedik.

Bu seri salgından önce aşılarımızı dünyada bulunan olan influenza A ve B virus suşları ile, duruma göre monovalan veya polivalan olarak hazırlamakta idik. Büyük salgınlara eşgüdükla influenza virusu A tipi varyantları sebep olmakla beraber bazı yıllarda B tipi suşlar da epidemiler yapmaktadır. Son yıllarda B tipinde de A tipinde mütad haline gelen antijenik değişimler ve yeni varyantlar tesbit edilmiş ktedir. Zaman zaman da aynı müldekte her iki tipu sebep olduğu salgınlar aynı süre içinde görülebilmektedir.

#### Laboratuvar çalışmalarımız :

Yukarıda da bahsetmiş olduğumuz gibi WHO nun ve WHO nun tavsiye ettikleri serolojik ve epidemiyolojik çalışmaları, elimizde mevcut ve temin edebildiğimiz serumları ve reagentlerin inkiün verdiği oranda yapmak üzere, aşağıdaki şekilde planladık.

1 - 1967 - 68 kışında grip geçirmiş şahıslardan damar ve CF testi ile influenza A antikorları mevcudiyeti i şbit edilmiş güt ve tek serumlarda,

2 - 1967 - 68 kışında normal şahıslardan alınmış ve CF testi ile influenza A antikor ihtiva ettiği anlaşılmış serumlarda,

3 - Hong Kong gibi salgının çıktığı tarihleri sonra normal şahıslardan alınmış serumlarda (Eylül, Ekim - Kasım aylarında)

4 - - 1968 yılı baharında, biri Kediik Sayışım Merkez Hıfızsahibi Enstitüsü'nde hazırlanan, diğeri ithal mahd olan bir aşı ile aşılanmış şahıslardan, başka bir çalışma gayesi ile alınmış çift serumlarda

A2 Hong Kong 68 ve daha önceki bazı influenza suşlarına karşı antikor durumunu HI testi ile araştırmak.

Bu çalışmalarla varmak istediğimiz sonuçlar şunlardı :

1 - Halkımızda influenza A virusuna karşı mevcut bağışıklık durumunu,

2 - Bu bağışıklık seviyesinin kalite ve kantite itibarıyla yeni Hong Kong varyantına karşı koruyucu olup olmadığını,

3 - Temmuzda Hong Kong'de başlayan salgının Eylül - Kasım aylarına kadar yurdumuza gelmiş olup olmadığını,

4 - Mevcut yerli ve yabancı influenza virüsleri ile bağışıklanmış şahısların yeni varyanta karşı korunmuş olup olmayacağını veya ne derecede korunmuş olduğunu tesbit etmek.

Böyle bir çalışmaya, derde hazırlanmakta olduğumuz ve A2 Hong Kong/1/68 varyantını ültima eden memovaları asi ile bağışıklanmış kişiler üzerinde ve 1968 - 69 mevsiminde zihür edecek influenzaya - benzer vakalardan alınmış örneklerle de yapmayı düşünüyoruz.

Bu serolojik çalışmalar yanında, influenzaya - benzer mahdut vakalardan alınmış boğaz çalkantı maddeleri de embriyolu tavuk yumurtalarına ekilerek virüs izolasyonunu çalışıldı.

### Sonuçlar :

Yaptığımız serolojik çalışmalarından aldığımız sonuçlar Tablo 1 ve 2 de görülmektedir. Serumlardaki inhibitör titreleri aritmetik ve geometrik ortalamaları şeklinde gösterilmiştir. Embriyolu yumurtla karşı - allaktik seviyesinde üretilmiş A2 Hong Kong 1/68 virüsünü antijen olarak kullanmak suretiyle yaptığımız bu serolojik çalışmaların sonuçları WHO Virus Ünitesi, Geneva ve WIC Londra'ya gönderilmiştir. WHO Virus Ünitesi Şefi Dr. Chas. Cyekburn'dan aldığımız cevap, bulgularımızın, diğer laboratuvarların bulgularını teyid ettiğini ve bu çalışmaların kendileri için çok önemli olduğunu bildiriyordu (28).

Tablo 1 de, 1967 - 68 kış mevsiminde influenzaya - benzer hastalık geçirmiş, veya ilki influenza virüs açısından tiri ile açıklan-

bu zoonozun çok yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür.

Tablo 2'de (1977-1978) araştırılan Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür.

Tablo 2'de (1977-1978) araştırılan Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, Hong Kong'da bu zoonozun yaygınlaştığı ve beklenen etkilerde yavaş yavaş azalmaya başladığı görülmüştür.



Table 1 — CF testi ile influenza A antikorları test edilmiş çift serumlarda yapılan HI testinde A2/Hong Kong/7/68 ve diğer bazı influenza suslarına karşı bulunan antikor titreleri ortalamaları.

Table 1 — HI antibody response of the paired sera with complement fixing titres against influenza A soluble antigen, to A2/Hong Kong/7/68 and selected influenza strains.

GRUP GROUP	Grupdaki şahıs Sonder in Group	Antigen	Serum 1		Serum 2		1 kulu veya daha fazla titre yitkimesi) Lost titre serum (1 or more) Serum titres showing 4 fold drop (1 or more)
			Mean titre A.M. (G.M.)	G.M.	Mean titre A.M. (G.M.)	G.M.	
Klinik basitlik (1967 - 1968) Clinical illness	5	A2 England/12/64	186 > 751	80 > 1088	> 706 > 1088	> 320 > 976	30 60 46
		A2 Hong Kong/1/68	130	92	> 511	> 233	
		A2 England/12/64	147	127	431	254	33
A	9	A2 England/1/68	> 531	> 437	800	> 610	41
		A2 Hong Kong/1/68	> 124	104	333	187	22
		A2 England/12/64	223	120	> 480	> 330	58
Vaccines	12	A2 England/1/68	> 967	> 453	> 857	> 718	41
		A2 Hong Kong/1/68	170	113	270	205	9

A.M. — Arithmetik ortalaması; Geometric ortalaması; Geometric mean titres; *Arithmetic* mean titres; *Geometric* mean titres; *Arithmetic* mean titres; *Geometric* mean titres.

ASILAR

Vaccines 11

Note: Bu serumlar 1968 Ocak ve Şubat aylarında toplanmıştır. These sera had been collected in January and February 1968.

Table 2. CF testable influenza A antibodies in human sera sera from A2 Hong Kong 1/68 v. bazi influenza virus sushama Kars. HI antikorlar durumu.

Table 3. HI antibody response of the single sera with complement fixing titres against Influenza A soluble antigen, to A2 Hong Kong 1/68 and selected Influenza virus strains.

Group (n)	Group size sub- jects No. Age in years	Antigen	Total complement fixing titre (titre in 100)	
			A.M.	G.M.
Kars (n=10)	1	A2 Hong Kong 1/68	130	85
		Swedish 15/59	1640	765
		London 1/59	150	112
Kars (n=10)	2	A2 Hong Kong 1/68	205	204
		Swedish 15/59	535	755
		London 1/59	162	111
Kars (n=10)	3	A2 Hong Kong 1/68	210	100
		Swedish 15/59	334	807
		London 1/59	240	211
Kars (n=10)	4	A2 Hong Kong 1/68	168	56
		London 1/59	70	54

A.M. = Arithmetik ortalaması = Arithmetic mean; G.M. = Geometrik ortalaması = Geometric mean titres of the group.

Remarks: CF testable specimens were tested without previous testing for influenza A antibodies. \* = Antibody concentration  $5 \times 10^4$ .

Memleketimizde influenza ve benzeri hastalıkların (bakteri zoru) bulağından ve süpürü hastalıkların alıp gönderilen immünlerin çok miktarda oluşundan, yurtdışında çok sayıda ve kötü salgımla yurtdışında grip garmetğim, girdi bu kaynağın tesbit etme imkânlarına sahip değil. Hastalıkların bulağı ve bulağına gripal vakaların ad. b. epidemisi olduğunda yollardan fazla görünmemektedir.

Influenza virüsü Hong Kong varyantını etken olduğu bu salgının klinikünü sedim komplike olduğunu uadit ve mortalitesini çok

az olduğu bildirilmektedir. Bununla beraber memleketimizde yaygın hale gelerek sağlık ve ekonomimize zararlı olma temennisi edilebilir.

Influenza ağırları, bütün dünyada, kısa bir sürede küllüvî asıllama yapılabilecek miktarda hazırlanmaktadır, bu yüzden, yaşlı, kronik akciğer, kalp - damar ve böbrek hastahkları olanlarla hamile kadınlara öncelik tanılmaktadır. Daha sonra yaş miktarı arttıkça, sağlık, emiyet, ulaşım ve gıda ile ilgili personelin asıllamaları gerekmektedir.

## Ö Z E T V E S O N U Ç

1967 - 68 influenza mevsimini iki fazda mütalâa etmek gerekmektedir. Birinci faz, 1966 - 67 suslarına benzer A2 virus susunu mevcudiyeti ile vasıflandırılabilir. İkinci faz antijenik kompozisyonu evvelki A2 varyantlarından önemli derecede farklılaşmış A2 Hong Kong 68 susunun hâkim olduğu devredir.

1967 - 68 fazına ait dünyadaki ve Türkiyedeki durumu ve laboratuvar bulgularımıza Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi'nin evvelki sayısında (30) ki yazımızda bildirmiştik.

Hong Kong'dan kaynağını alan ikinci faz, A2 Hong Kong/68 virusu ile meydana gelmiş ve Temmuzun ikinci yarısında burada yarım milyon vak'ahık bir epidemiyeye sebep olmuştu. Bu virus Ağustos ayında Singapur'a, biraz sonra Malaysiya, Viet - Nam, Filipinler ve Taiwan'a eristi. Eylülde Madras, Bombay, Tayland ve Avustralya'nın kuzey bölgelerine vardı. İran'a, muhtemelen, Tahran'da toplanan Uluslararası Tropikal Tıp ve Sıtma Kongresi yüzünden atladı. Deniz ve hava yolları ile Japonya ve ABD ne taşındı ve bilhassa ABD de yaygın epidemilere sebep oldu. Ayrıca, ABD den ve Güney-doğu Asya'dan gelen yolcular hastalığı Avrupa'ya taşıdılar. Halen (Ocak 1969) Avrupa'nın birçok memleketlerinde A2/Hong Kong 68 varyantı ile meydana geldiği laboratuvarla tesbit edilen salgınlar hüküm sürmektedir.

Hong Kong salgınından ilk izole edilen sus Dr. W. K. Chang tarafından Dünya Influenza Merkezi (WIC) ne gönderilmiş ve burada A2 tipi olarak idantifiye edilmiştir. Bu bulgu Amerikalılar Uluslararası Influenza Merkezi (IICA) tarafından da teyid edilmiştir. 55 ülkedeki

salıh tıbbi influenza merkezleri salgınları detaylı bakanlar edilmiş ve y-  
ğı süzme immünite gönderilmiştir. Bu süre ile Ulusal Merkezlerin,  
yeni virüsleri ana iddiası yanında, hafif yeni varyantları karşı bağışık  
lık durumunu ve mevcut influenza aşılarının etkililiğini kontrol  
etmeleri de mümkün olmuştur. Bu Merkezler için birçoğu, yapıları  
serolojik çalışmalar sonucu, 2010-2011 yılları hastalık geçirenle-  
rin gerekse eski aşılarda kullanılmaları bu yeni varyantları karşı pek az  
bağışık olduğunu görmüşler ve Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO)  
bildirmişlerdir.

Türkiye Ulusal Influenza Merkezi (WHÖ olarak kabul) başında  
benim ettiğimiz A2/Hong Kong 1/85 virüsü ile bir taraftan yeni ha-  
zırlanmaya başladık, diğer taraftan WHO ve WIC'te yapılmış tay-  
yanı edilen serolojik çalışmaları elimizde mevcut serümlerim imkân  
verdiği oranda yaptık. Ablağımız sonuçları Tablo 1 ve 2'de gösterilmiş-  
tir. Bulgularımıza diğer merkezlerin bulgularını karşı ettiği, WHO  
ve WIC'ne gönderdiğimiz raporlara verdiğimiz cevapları bildirilmıştır (28).

Şönce olarak, gerek evvelce influenza geçirenlerin, gerekse evvel-  
ki influenza aşılı ile aşılanmamış olanların bu yeni varyantları karşı ba-  
ğışık sayılmayacakları düşünülmektedir.

Memleketimizde influenza ve benzeri hastalıkların önleni zorunlu  
olduğundan ve laboratuvarımıza sürekli hastalardan immünite al-  
tıp gönderilmiş olduğundan salgınları önlemeye girişmiş olduğumuzu ve yayıl-  
ma derecesini tesbit edemiyoruz.

Bu yazıya hazırlanmaya başladık sonra 10 Ocak 1969, Şubat ayın-  
da gribe benzer vak'alar çıkmıştır. Hastalıklar arazi gösteren Ankara  
Tıp Fakültesi Öğrenci Hastahaneleri Kliniği personellerinden alınarak la-  
boratuvarımıza gönderilen boğaz kültürlerinden birincisi mesle-  
miz ile virüs izolasyonu yapılmıştır. İkinci amiyotik pasajları son-  
ra yapılan Spontü testler, tıyık ve kolay kültürlerle ile de angilitinias-  
yon veren virüsün, A/Ank. 1 pasajından alınan sıvı antijen ala-  
nan kullanılmak suretiyle, öke im-virüs antijen ve antiserumlarla yap-  
tık HI testleri ile ifinalifikasyon entelenmesi yapılmıştır. Sonuçları aşağı-  
daki tabloda verilmiştir.

Antiserumlarıdaki H1 titresleri  
Antisera H1 titres

Antigen	Antiserumlarıdaki H1 titresleri			Normal at serumu horse serum
	A2 polyvalent	A2 England 1 68 B polyvalent	A2 B polyvalent	
A2/Turkey/1-69 (yeni izolasyon)	40	160	(+)	160
A2 Hong Kong 1-68	20	80	(+)	80
A2 England 12-64	1280	320	(+)	(+)
H-Singapore 3-64	(+)	(+)	320	(+)

Tabloda görüleceği üzere yeni virus, Hong Kong varyantına çok benzemekte ve hatta normal at serumunda bula kışı da antikor bulunmaktadır. İzole edilen bu ilk virus ve yapılan testlerden alınan sonuçlar Dünya İnfluenza Merkezi'ne gönderilmiş ve Dr. Pereira'dan, izole ettiğimiz virüsün Hong Kong varyantı ile aynı olduğunu bildiren mektup gelmiştir. Bu suretle, Hong Kong gribi salgınının memleketimize de girdiği ve yayılmakta olduğu teyid edilmiş bulunmaktadır.

İlk izolasyon ve yapılan testlerden alınan sonuçlar Dünya Sağlık Teşkilâtı, Virus Ünitesi'ne de bildirilmiş ve bu yazıya istinaden, Weekly Epidemiological Record dergisinin 1969 yıl 9. sayısında (sayfa 161) Türkiye'deki influenza durumunu bildiren bir özet çıkmıştır. Bu ilk virüsten sonra Şubat 1969 ayı içinde 10 yeni izolasyon daha yapılmıştır. Bunların bir kısmı Etmesgut'a bağlı bir bucaktan, bir kısmı da Gölükteki Pakistanlı asubaylardan alınarak gönderilen boğaz çalkantılarından izole edilmiştir. Bu virüslerin identifikasyon testlerinde, hastalığı geçiren ve virüs izole edilen şahıslardan alınan serumlar da kullanılacaktır.

## THE HONG KONG INFLUENZA AND PRELIMINARY STUDY OF HI ANTIBODIES TO ITS CAUSAL AGENT

Dr. Ethem OZLUARDA

Chief, Serology Central Institute of Hygiene, WHO National Influenza Centre

### SUMMARY :

As recommended by WHO and WIC with the circular of 14 August 1968 to all Influenza Centres and after receiving the Influenza A2 Hong Kong/1/68 virus strain from WIC, we carried out serological studies on the paired or single sera taken from a) persons who had had influenza A infection during the 1967-68 season, b) persons who had been vaccinated by one of two different inactivated influenza vaccines in January-February 1968, c) normal persons during 1967-68 season, and 1968 autumn months.

The results obtained from the HI tests made on these sera putting up them against the Hong Kong strain and some of the earlier strains of influenza A2 virus are presented in the Tables 1 and 2. The sera tested had been found to have antibodies to influenza virus A by CF test, with exception of one group in Table 2.

As can be seen from the Tables, our findings confirm the preliminary observations which other Influenza Centres have had. The antibody present in these sera is at a lower level than that for earlier strains of Virus A2. The inactivated influenza vaccines prepared with the earlier strains of Virus A2 have not much protective effect against the new Hong Kong variant of influenza virus.

The report of our findings had been sent to the WHO Virus Unit, Geneva, and WIC, London in the beginning of October 1968.

The first batch of the inactivated monovalent influenza vaccine containing Hong Kong variant had been prepared in October 1968.

As the notification of the influenza-like illnesses is not compulsory in this country and the throat washing specimens are rarely sent to our diagnostic laboratory, we still do not know whether there are outbreaks with the new strain of influenza virus somewhere. The sporadic cases do not seem more frequent at the moment (January 1969) than they were during previous years.

Note: After giving this paper for publication, eleven strain of influenza virus were isolated from throat washings taken from suspected cases of influenza. The first isolate was sent to the WIC and confirmed as indistinguishable from Hong Kong 68 variant. Preliminary identification tests made on the first isolate and results have been shown on the last page of turkish text. 10 more influenza A2 virus strains resembling A2-Henk Kong 68 variant have been isolated in February 1969.

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

- 1 - Weekly Epidemiological Record, 1968, No. 33, 367
- 2 - Ibid., 1968, No. 33, 411
- 3 - Ibid., 1968, No. 34, 421
- 4 - Ibid., 1968, No. 35, 448
- 5 - Ibid., 1968, No. 36, 456
- 6 - Ibid., 1968, No. 37, 467
- 7 - Ibid., 1969, No. 2, 48
- 8 - Ibid., 1968, No. 38, 482
- 9 - Ibid., 1968, No. 39, 493
- 10 - Ibid., 1968, No. 40, 512
- 11 - Ibid., 1968, No. 41, 522
- 12 - Ibid., 1968, No. 42, 537
- 13 - Ibid., 1968, No. 44, 569
- 14 - Ibid., 1968, No. 45, 575
- 15 - Ibid., 1968, No. 46, 587
- 16 - Ibid., 1968, No. 47, 608

27. Ibid., 1968, No. 18, 617.
28. Ibid., 1968, No. 10, 327.
29. Ibid., 1968, No. 10, 321-322.
30. Ibid., 1968, No. 1, 30-37.
31. WHO Chronicle, 1968, December, Vol. 12, No. 12.
32. WHO Virus Unit, Geneva, 1968, 20, 25, 26, 27, 28, 29.
33. WHO Virus Unit, Geneva, 1968, 20, 25, 26, 27, 28, 29.
34. Berke, Z., Bódi, O. (1956) Influenza epidemiai Magyarországon. Influenza Subgenusok és Virusok. *Orvosi Hetilap* (Hungary) **97**, 1169-1174.
35. Ibid., 1968, No. 10, 317.
36. WHO Virus Unit, Geneva, 1962, 20, 27, 28, 29, 30, 31.
37. *WHO Chronicle*, 1960, No. 4, 87.
38. Chakrabarti, A. (1968) *Flu: The Influenza Pandemic*.
39. Coleman, M. P., Lowrie, W. G., Peterson, H. L., Smith, G. F., Chung, W. C., 1968, The Hong Kong 92 Influenza A2 Variant, *Lancet*, II, 1284.
40. Ciftcioglu, K., 1968, 1967-1968 Magyarországon előforduló és Törökországban előforduló Influenza A2 Variantok. *Orvosi Hetilap* (Hungary) **109**, 1067-1070.
41. Ciftcioglu, K., 1967-1968 Influenza pandemics and Results of the Laboratory Studies. *Türk. Hek. Der. XXVIII*, 2, 128-134.



**DÜNYA SAĞLIK TEŞKİLATI**  
**(DST)'NİN PRAG'DA DÜZENLEDİĞİ**  
**MİLLİ VIRUS LABORATUVARLARI İLE DST VIRUS REFERENS**  
**LABORATUVARI MÜŞTEREK TOPLANTISI**

(18 - 29/Haziran 1968)

**Dr. Azmi AKI, MPH**

E-Ok Saydam Merkez Hıfızatıha Enstitüsü  
Viroloji ve Virus Anlatı Şube Müdürü

DST, Virus Hastalıkları Seksiyonumdan Dr. W. Ferreira'nın şahsen daveti ve Sağlık Bakanlığımızın tasvip ve tensibi ile 18 - 29 Haziran tarihleri arasında Prag'da toplanan DST Solunum Yolları Virus Referans Merkezi toplantılarına iştirak ettim.

Toplantıya, Doğu ve Güney Avrupa ülkeleri (Polonya, Macaristan, Romanya, Yugoslavya, Bulgaristan, İtalya, İspanya ve Portekiz) ile Kuzey Afrika'dan Habesistan ve Birleşik Arap Cumhuriyeti, Asya'dan Türkiye ve İran çağırılmışlardır.

Bir istisna ile bütün bu ülkelerde asgari bir virolojik çabasına seviyesinin sağlanmış olduğu dikkati çekmekle beraber ayrıca, burarlarda solunum yolları virus hastalıkları üzerinde çalışmaların bir hayli ileri seviyede yürütülmekte olduğu görülmüştür.

Bu sember, Dünya Sağlık Teşkilatı Münessilinin açış konuşmasında belirttiği gibi, aşağıdaki üç gayeyi gerçekleştirmek üzere tertiplenmiş bulunuyordu :

- 1- Çocuk popülasyonunun hastalık ve ölümlünde büyük rol oynayan, yetişkinlerde yıllık çalışma gün sayısını geniş ölçüde etkileyen ve azaltan teneffüs yolu virus hastalıklarında yeni bilgilerin gözden geçirilmesi ile, laboratuvar tekniğindeki gelişmelerin görülmesi, pratiğinin yapılması ve bu arada kiemen de olsa diğer konulara temas,

2. Bölgedeki virüslerin tanınmaları ile beraber hastaların gelişme imkanı ve kolaylığından kaynaklı enfeksiyon oranının azalmıştır.
3. DST Solunum Yolu Virüs Referans Laboratuvarı inkişafının tanınması ve bundan kaynaklı faydalanma.

Görüldüğü gibi, küresel düzeyde de bölgesel ve ulusal olarak virüs laboratuvarı geliştirilmesinin bir sonucu olarak, enfeksiyonların önlenmesi ile beraber gelişmelerin sağlanacağıdır. Buna benzer bir toplantı gelecek yıl aynı aylarda Güney Amerika Devletlerini kapsamak üzere At. kentinde gerçekleştirilmiştir.

Toplantıya evsahiplığı yapan Prag Epidemiyoloji ve Mikrobiyoloji Enstitüsünün kıymetli personeli ile beraber, İngiltere'den DST Uluslararası Solunum Yolu Virüs Referans Merkezi Direktörü ve Soğuk Algınlıkları Araştırma Merkezinden Dr. L. A. J. Tyrrell ve Amerika'dan - Milli Enfeksiyon Hastalıkları Merkezi - CDC'de Virüsyolojik Eğitim, Geliştirme ve İzleme Üyesi Dr. E. Kresh katılmışlardır.

Bu toplantıda ayrıca, solunum yolu virüslerinin bir kronolojik yapımıdır. Sonra bunların izolasyonları, identifikasyonları ve seleniyel verdiğimiz hastalıklar ve sendromları, özellikleri ile belirtilmiştir. Serolojik çalışmaların, evvelce zannedildiği gibi virüsik hastalıkların teşhisinde yalnız laboratuvarla bir miktar ifade etmedikleri görüşü belirtilmiş olduğu gibi, pahalı bir sistem olarak beraber virüs izolasyonu için uygun halk sağlığı tedbirleri almak bakımından bu önümüzde durulması ve tavsiye edilmiştir.

Toplantıya ilişkin olan her bimseler konuyla ilgili olarak geldiği raporda, genel memleketindeki gelişmeleri özetlemiştir. Yurtumuzda bu konuda yapılacak ve yapılmış tasarımları geliştirmeye, önümüzdeki buzuların uygunluğunu izlemeye, çalışmaların sonuna ek olarak başlamaktadır.

Engele, dünya, Hırvatistan'da hem de Halk Sağlığı Testleri Laboratuvarları ve bu konuda çalışmaları olan virüsler dahil virüs testleri laboratuvarı çalışmalarına başlamış olduğu, birçok kurumun akademik, maddiyat, yetersizliği; Mevcut testler, Avrupa ve Paris-Kölnde merkezleri, bir merkezde ve oldukça geniş çalışmalarını gördüğü görülmüştür. Dr. Vayr, Çekoslovakya, Mısır'dan, Romanya, Yugoslavya ve Güneybatıda virüs testleri laboratuvarlarının oluşturulması ve geliştirilmesi için

götürüldüğü, solunum yolu teşhis laboratuvarlarının ayrı bir ünite olarak çalıştıkları müşahade edilmiştir.

Aşağıda, çok yönlü olan seminer programının kısaca analizi yapılarak, teneffüs yolu virus hastalıklarının bir tarif ve tavsifi yapılacaktır.

#### Teneffüs Yolu Viruslarının Sınıflandırılması :

İnsanda hastalık yapan solunum yolu virusları, başlıca aşağıdaki kriterlere göre sıralanır :

1. Nükleik asit tipi
2. Bünye simetrisi
3. Lipid muhtevası

Miksoviruslar :

Influenza A  
" B  
" C

Paramiksoviruslar :

Parainfluenza 1, 2, 3 ve 4  
Respiratori Sinsitial (R. S.)  
(kuşların enfeksiöz - bronşit  
(AIB) virusları

Adenoviruslar :

(31 tip)

Pikornaviruslar :

Enteroviruslar

Polio'lar 3 tip  
Koksaki A'lar 24 tip  
Koksaki B'ler 6 tip  
ECHO'lar 32 tip

İfinoviruslar

M tipi  
H tipi  
O tipi

Herpes viruslar :

Bunların dışında, solunum yolu etkenleri arasında başta mikoplazmalar olmak üzere psittakoz grubunu viruslar ve riketsizlerden Q-Humması sayılabilir.

Yine bu toplantıda bu virüslere ait yeni laboratuvar teknikleri geliştirilmeğe çalışılırken mikrometodların faydaları üzerinde durulmuştur.

Hakikaten mikrometodlar iki önemli özellik taşımaktadır. Biraz pratik kazanımla tek bir tekniyi evvelce yapabildiğinin 2-4 katı verimli olabilmekte, ayrıca ve daha önemlisi, çok pahalı ve güçlüğüle temin edilebilen viral reagentlerden ortalama 2-4 defa fazla faydalanılabilmektedir. Yalnız testlerde klasik metoda nazaran serum titreleri bir kat düşük bulunmaktadır. Bu mahzur, testin sağladığı avantajlar yanında bahiskonusu edilmeyecek niteliktedir.

### **Biofizik Özellikleri :**

İnsanda hastalık yapan solunum yolu virüslerinin taslağı özelliklerinin kısa bir tanıtımı yapılırken bunları bir arada topluyoruz: tablolar yazıya eklenmiştir.

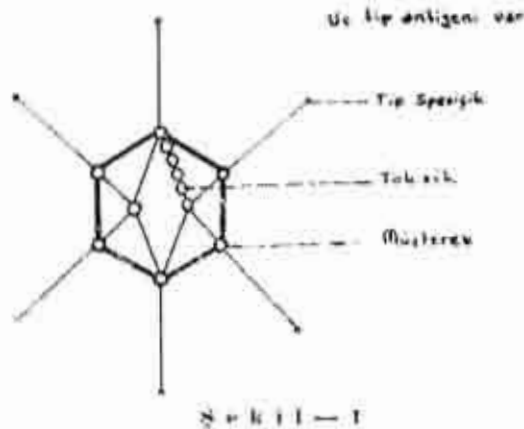
Yukarıda bir nebze sıralanan bu virüslere ait biofizik özellikler, değişik üreme ve çevre şartlarında değişmezler. Bu itibarla, bu özelliklere dayanan tarif ve tanımlar bir devamlılık göstermeleri itibarıyla kısaca arz edilecektir.

Mikso ve Paramikso virüsler, iç yapıları bakımından helezonî bir simetri göstermeleri ile kübik simetri gösteren adeno ve pikorna virüslerinden ayrılırlar. Negatif fosfotungstet boyama tekniği ile elektron mikroskopik çalışmalar yapıldığında, mikso ve paramikso virüslerin iç yapılarında «coiled inner helix» ve çevrede bir kılıf olduğu projeksiyonla gösterilmiştir. Diğer metodlarla yapılan müteakip çalışmalar, helezon iç yapının ribonükleik asit (RNA) den teşekkül ettiğini teyit etmiştir. Buna mukabil adenovirüsler 20 satırlı ikozahedron şeklinde olduktan başka bunların köşelerinden ekvilateral üçgenler çıkar. Satır 252 küçük ünite (capsomers) ile kaplıdır. Her üçgen satırın kenarları boyunca 6'sar kapsomer sıralanır; dış köşelerde 5'er kapsomer bir araya gelmesine mukabil diğerlerinde 6 sı bir araya gelmiştir.

Diğer taraftan pikornavirüsler, satırlarında 32 kapsomer ihtiva eden trikontahedron yapıdadırlar. Adenovirüsler iç yapılarında deoksiniükleik asit (DNA) ihtiva etmeleriyle mikso, paramikso ve pi-

kornavirüslerden ayrılır. Virüs partikül büyüklüğü ve kılıfın lipid muhtevası bu 1 grup virüsü ayırmada diğer mühim kriteriyunlardır.

DNA virüsleri arasında, ribonükleik asitli lezon kutru miksiyoceları paramiksoviruslardan ayırır. Miksovirusların lelezon yapısı kutru (9 milimikron) olmasına mukabil paramiksoviruslarda bu ölçünün iki katı olarak (18 milimikron) hesaplanmıştır.



Adenovirusların, 20 Yüzepli İkozahedron Yapı Şeması

Pikernavirüslerin iki adı tıpi olan enteroviruslarla, rinoviruslar düşük pH'a dayanıklılıkları ile birbirinden kolaylıkla ayrılabilirler. Nitekim pH 3 de enteroviruslar canlı kaldıkları halde rinoviruslar kısıca ortamda tamamen tefef olurlar. Ayrıca rinoviruslar enteroviruslardan daha yüksek bir -calcium chloride- densitesine sahiptirler.

### Serolojik Reaksiyonlar ve Virus Antijen Özellikleri :

Solunum yolları virus-sus ve tipleri, çeşitli serolojik reaksiyonlarla ayırdedilebilir. Virus partikül yüzeyindeki antijenlerin suş ve tipe haslık göstermeleri, bunlar arasında sayılabilir.

Bunlardan yalnız adenovirusların heksam kapsomeri K.F. testiyile grupı spesifik reaksiyon vermesiyle özellik gösterir.

Bazı yeni çalışmalar, enterovirus veya rinovirusların serbest kapsomerlerinin, bunların virus yüzeyinde toplu bulunmaları halinde nazaran çok daha güçlü serolojik reaksiyon verdiklerini göstermiştir.

Paramiksoviruslarda iç RNA antijen ve yüzey antijenleri tipik olarak bulunmaz. Buna mukabil influenza viruslarında iç antijen (M<sub>1</sub>) has, sâlih antijenleri ise sınırlı özellik arz etmişlerdir.

### **Biolojik Özellikleri :**

Table 1'de gösterilen sınıflandırmaya sınırlı, bu virüslere ait biyolojik karakterleri tamamen tanımlanmadan yapılmıştır.

Genel olarak dört temel tablo ile sınıflandırılan biyolojik özellikler ayrı ayrı ele alınmayarak tanımlanmada yardımcı olmuştur. Örneğin, adenovirüsler pikornavirüslerden virus ölçülerine göre hücre içerisindeki yeri bakımından ayrı buldukları gibi, bunlar hücre dışında da bulunan ü-likel RNA virüslerinden de ayrılırlar. Fakat hücre dışına ydama getirilen inkluzion cisimlerinin yeri ve tipi, influenza B, paramiksovirus virüsler, RS virüsü, adenovirüs ve enterovirüslerde ayrı ayrı ele alınarak faktör olarak değerlendirilen unsurlardır. Hemadsorbsiyon özelliği daha ziyade miksoviruslar, RS virüsü hariç paramiksovirus virüslerinde ayrı bir özellik olarak rol oynar.

Bu dört grupta virüslerden bazıları alyuvarları hemaglutine ederler. Hemaglutinasyon olayları pikornavirüs, miksovirus ve paramiksoviruslarda değişiktir. Pikorna, mikso ve paramikso virüslerde hemaglutinasyon olayı, bizzat virüs partikülünün bir fonksiyonudur. Buna mukabil adenovirüslerde bu fonksiyon virus partikülü tarafından meydana getirilmeden önce, enfekte hücre tarafından fazladan imal edilen ve virus partikülüyle ilişkisi olmayan virus kapsidinin sub ünitesi tarafından da husule getirilebilir. Pikornavirüslerin alyuvarlara tutunmasında, virus çevresindeki protein kabağın sülfidril grubu rol oynar. Bazı hallerde bu reaksiyon 47°C'da, alyuvar reseptörlerinde bir değişime olmadan meydana gelir; olay bu itibarla reverzibl bir karakterde olup virus partikülleri serbest kalabilirler. Miksovirus ve paramiksoviruslar alyuvar reseptörünün mikoproteinlerine yapışırlar; bu esnada virus nüroaminidazı, N-asetil-nöraminik asidin serbestleşmesini meydana verir. Nöraminidaz virus partikülünün bir parçasıdır ve enzimatik karakterindedir. Bu enzimatik gelişim, virüsün alyuvardan ayrılmasını sağlar. Diğer taraftan adenovirus 1, 2, 4, ve 15 tipleri tarafından enfekte edilen hücre antijenik bakımdan spesifik reseptör modifiye eden bir enzim meydana getirir; bu enzim, virus partikülünden tamamen ayrı olup nöraminik asit üzerine tesiri yoktur.

Bebe hemsterlere enjekte edildiklerinde solunum yolu virüslerinin yalın adenolar, tümör meydana getirmeleriyle virolojide önemli yeni bir konuya dikkatleri çekmiştir.

### **Hassas Hayvan Türleri ve Virüs İzolasyonu :**

Bu grup virüslerde birçok bulaşık özellikler henüz tamamen inanamamaktadır denilebilir. Bu arada, yeni virüs variantları, laboratuvar pasajları sırasında ayrılmakta, seçilmektedir. Hassas hayvan türleri konusunda henüz kat'i sonuçlar alınmamıştır. Büyük hayvan ve doku türleri laboratuvar sularını üretmekle beraber orijinal sulara hassas bulunmaktadır. Nitekim virüs popülasyonu içindeki variantlar veya mutasyon uğrayanlar, anormal kültür şartları içerisinde yeni üretme şartlarında ve dokularda üreyebilmektedirler.

Orijinal tabii suların üretilmesinde faydalanılan en önemli doku ve hayvan türleri bir tabloda özetlenmiştir.

Üretim şartları özellikle RS virüslerinde hususiyetler ister. Bunlar arasında :

1. pH'ı 6,8 - 7,2) arasında bulundurmak,
2. Tüpleri döndürmek ve
3. Farklı hatır derecesinin 32 - 34 C'ye ayarlanması sayılabilir.

Bazı hallerde orijinal virüsün UK'de üremesi esnasında hüsnü gelmesi beklenen sitopatolojik değışiklik (SPD) görülmediğinden üreme farkedilemez. Paramfluenza virüslerinde olduğu gibi; bunun varlığı, kobay alınyarlarının enfekte hücreler tarafından adsorbsiyonu ile kolayca gösterilir.

### **Yeni Tesbit Edilen Virüsler :**

Yeni çalışmalar, burada üzerinde durulmayan herpes grubu virüslerinden başka 5'el bir grup virüslerin insanda soğuk algınlığı tipinde hastalık yaptıklarını göstermektedir. Bu virüsler, takriben 160 mükemmel büyüklükte, RNA ihtiva eden ve etere hassas özellikler göstermişlerdir. Bu grup virüsler, kuşların enfeksiyöz bronşiti (IBV) ve farelerin hepatit (MHV) virüslerini izlenmektedirler. Hazırlanan





M. pneumoniae, eskiden atipik pnömoni adı altında seyreden pnömonilerin etkenidir. İnanca inapparan vak'ılardan aşkar pnömonilere kadar çeşitli klinik tabloları sebebiyet verir. Çoğunlukla yetişkin ve orta yaş hastalığı olarak görülür; mevsim değışı olmamakla beraber yaz sonu ve kış aylarında daha çok görülür. İnfluenzada olduğu gibi ani patlaklara rastlanmaz; aile içinde, toplu yaşayan gruplarında yavaş yayılan bir karakterde görülür. Etken, hastaların solunum yollarında 2 ay kadar bulunmakta devam eder.

Hastaların kullandığı M. pneumoniae üremesini inhibe eden antikorlar teşekkül eder ve bu antikorları yeni enfeksiyonlara karşı bir dereceye kadar koruyucu vasıfta oldukları bilinmiştir.

### **Organ Kültürü : (OK)**

Organ kültür tekniğı, embriyotik organların canlılığını devam ettirmek için geliştirilmiş bir teknik olmakla beraber, yetişkin veya embriyotik dokuların belli bir gelişme safhasını takip ve yine belli bir hizmetli yürütme durumlarını takip etme bakımından kullanılmaktadır. Solunum yolu virüslerinin hemen hepsi solunum yolu epitelyumlarında çoğalı; hatta bunlardan bir kısmı özellikle bu hücrelerde ürer. Bunları doku kültüründe üretemeyiz. Nitekim, insanın solunum yolu hastalık etkeni virüsünün organ kültürlerinde üretmek mümkün olmuştur. Kusların enfeksiöz bronşit virüsünün çoğı (A-İB) ancak OK'de üretilebilmiş olduğu gibi tanınan rinovirüsünün çoğı bu suretle üretilmiştir. Solunum yolu hastalıklarında tanımlanan burun yantısı, boğaz sürüntüsü gibi numunelerin OK'ne ekilmesi ile üretilen rinovirüsler sanıradan DK'ye üretilmeğı gösterebilmektedir.

İngün kullanılan OK tekniğı, Hoover tarafından geliştirilmiştir. Bu maksatla küçük plâstik petri kutularının iç zeminini yer yer histüri nev ile derinleştirir. Taze trakea veya burun içi epitelyumunu ilahva eden organ, birkaç mm'lik küçük kareler halinde, keskin histüri yardımı ile kesilir. Bu parçaları, petri kutusundaki gizliye sıdıklar üstüne konur. Üzerlerine % 0.2 bovin albuminli 199 veya Eagle besi vasından 1 : 1 cc, organ parçasını üreterek kadar ilâve edilir. Besi yerinin pH'sı düşük konsantrasyonda % 0.01 veya % 5 CO<sub>2</sub> ve hava karışımı ile ayarlanır. Petri kutuları 33-37°C'de etüvlerde saklanır. Arada arada kontrolde saklanmalıdır.

Hücre alınmadığı takdirde (1) de (a) ile (2) de (a) 100 defa bir süre bir mikroskopta görülebileceği ve gösterilebilir.

Organ kültürü tekniği, virus üremesinde yeni enfeksiyonların bir genleşme yolu olabilir. Yalnız bir göçle ilgili her buldu-bulmuş virus taşıyıcıları (virologistler) ile ilgili olarak.

Yapılarda yitirildikleri konulara ilave olarak (a) ile ilgili bazı teknik problemler de değerlendirilmiştir. Ancak inşaatlarda başka subtropikal ülkelerde polio enfeksiyonunun önlenmesi için ayrı kontrol altına alınması için etkenleri üzerinde durulmuş, kabakulakta gelişimi önlemeye başlanmıştır: ve kızamıkçık virusunun üretilmesi ile spesifik bir serum geliştirilmesi ve özellikle zayıf ve/veya kabakulaklarında gelişimi önlemeye ilişkin tedavilerin geliştirilmesi ile hastalığı önlemek için gerekli tedavilerin geliştirilmesi ve hastalığı önlemek için gerekli tedavilerin geliştirilmesi sayılabilir.

Ayrıca, virüsler ve diğer büyük bir devrim aşması gibi bir ürünlerin ve diğer bir enfeksiyon devriminden sonra yine aynı ve diğer enfeksiyonların hastalığına. Yalnızca bu adalarından Kuru adasından Dr. C. Haykiss ve arkadaşları tarafından 1957 yılından itibaren enfeksiyon, hasta ve maskemasi üzerinde kısaca durulmuştur. Bu hastalığı etkeni olanı önlemek için ve/veya aynı organizm sindirilebilir ve/veya enfeksiyon (1-2 yıllık bir süre); enfeksiyon sonra insanlardakine benzer bir progresif enfeksiyon ve/veya aynı enfeksiyon etkeni hastalığı yapmaktadır. Önemli olarak bu son konu üzerinde ayrı bir yazımda değinilecektir.

## L İ T E R A T Ü R

1. WHO Scientific Group on Respiratory Viruses (Geneva) 14 October 1967.  
Report to the Executive Council.  
Quarantary Report of Viral Diseases.  
July - September 1967.  
Prepared by Dr. Virus Diseases Unit, WHO.
2. G.P.S. W.S. and P. Tucker, 1967, WHO Collaborative Study on the Serological Diagnosis of Rubella.  
Intl. J. Hyg. Appl. 37, 79-86.

4. Tyrrell, D.A.J. Respiratory Viruses. Meeting on Joint Activities of WHO Virus Reference Centres and National Virus Laboratories, Prague, 18 - 29 June 1968.
5. Strauss, J. M.D., K.Sc., Rubella (German Measles, Three-day Measles, Rubella). Meeting on Joint Activities of WHO Virus Reference Centers and National Virus Laboratories, Prague, 18 - 29 June 1968.
6. Sobeslavsky, O. Mycoplasmas and their role in Human Pathology. Meeting on Joint Activities of WHO Virus Reference Centres and National Virus Laboratories, Prague, 18 - 29 June 1968.
7. Posek, J. Problems in the Laboratory Diagnosis of Enterovirus Infections. Meeting on Joint Activities of WHO Virus Reference Centres and National Virus Laboratories, Prague, 18 - 29 June 1968.

# LYOFİLİZE EDİLEN KÜLTÜRLERİN 12 YIL SONRA CANLI KALAN BAKTERİ SAYILARININ YÜZDE NİSBETLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMA

Dr. Mesude AKTAN

Ezeliik Saydam Metotları Hakkında Enstitüsü  
Sınıf Kolektiyon Laboratuvarı, S.44

Sırt yıllarda bakterilerin lyofilizasyonu ve kurutma sus halinde saklanması yaygın olarak kullanılmaktadır.

Yıllarca önce Robert Koch (1878), Kitasato (1889) ve Germain (1897) bazı bakterilerin ölümlerini birlikte kurutuldukları takdirde hayatiyetlerini muhafaza edeceklerini bildirmişlerdir (10).

Heim (1905) kurutulmuş mikroorganizmaların kurutulma işleminde albenin ilave eden bir madde kullanıldığı takdirde uzun zaman emulliklerini muhafaza edeceklerini işaret etmiştir (6).

Ungerman (10) mühtelif bakterileri deskatörde kurutulmuş muhafaza etme yönünden bir çok deneme yapmıştır. Swift (1) bakterilerin kurutulma aşımını denkleştirme ile koruma edilme şartları arasındaki uzun zaman muhafaza edileceğini bildirmiştir. Nihayt Flusdorf'un (1975) çalışmaları bu sorundaki bir çok dondurularak kurutma usulünün bir çok laboratuvarla rutin bir işlemlerde uygulanabileceğini göstermiştir (11).

Schönig (1919) da dondurularak kurutulmuş *Salmonella* kültürlerini 10 sene patojenitesini muhafaza ettiğini bildirmiştir (13). Thodes (1978) de lyofilize edilerek saklanan, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Pasteurella*, *Salmonella* ve *Pseudomonas* kültürlerini 10 sene canlı kaldıklarını bildirmiştir (12).

Bakterilerin dondurularak kurutulmaları sırasında harabiyeti veya kurutmadan sonra geçen süre içinde kantitatif olarak azalması-  
nın sebepleri ve nisbetleri üzerinde çeşitli fikirler vardır.

Bazı araştırmacılar ani dondurma ile yavaş dondurmanın bakterinin canlı kalma müddeti üzerine tesiri olacağını, bir kısım yazarlar da kurutulmuş suslarda, geçen zamanın canlı kalma üzerine etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Quevillon (1960) dondurularak kurutma esnasında bakterilerin bir kısmının öldüğünü bildirmektedir. (11). Hörter (1958) yavaş ve cabuk donmanın bakterinin uzun zaman canlı kalması üzerinde çok müessir olduğuna dair tecrübeler yapmış (7). Aynı araştırmacı (1960) da liyofilize edilen bakterilerle bir ay, altı ay ve iki sene sonra canlı kalan bakteri sayısının yüzde nisbeti üzerindeki denemelerini yayımlamıştır (8).

Biz de liyofilize edilen bakterilerde 12 sene sonra canlı kalmanın yüzde nisbeti üzerinde bir deneme yaparak, kantitatif azalmada ne gibi faktörlerin etkili olabileceğini inceledik.

#### **MATERIAL ve METOD :**

Materyel olarak koleksiyonumuzda mevcut suslardan, 1955 senesinde kurutulmuş bulunan 104 susu bu denemede kullandık. Bu susları iki senede bir olarak canlılıklarını kontrol ediyorduk, nihayet 12 nci senede (1967) bunların %'de nisbetleri üzerinde bir araştırma yaptık.

Elimizdeki suslar aşağıda açıklanan tekniğe göre liyofilize edilmişti : Liyofilizasyon cihazımız küçük ve basit bir alettir. Emülsiyon mayi olarak kaynağı alınmış ve santrifüj edilerek tamamen yağ çıkarılmış süt kullanılmıştır. Steril olarak birleştirilen bu süt ile 24 - 48 saatlik mikrop kültürlerini besif bir emülsiyon yapıp 0.1 - 0.2 ml olarak küçük vacuü tüplere koyuyorduk. Laboratuvarımızda karbondioksit gazı ile hazırladığımız kuru buzu alkol ile karıştırarak derin dondurma altında 30 - 40 olduğu sırada bu küçük tüpleri bu karışım içerisinde koyarak hürden donduruyorduk. Bir kaç saniye içerisinde cihazı yerleştirilerek yüksek vakumda bırakılıyordu. Genel olarak 5 - 6 saat içerisinde kurutma sona eriyordu. Kurutulmuş bu küçük tüpler sonradan büyük tüplere geçirilerek etiketlendikten sonra uygun koşullarda böylece hazırlanıp saklanıyorduk. Kurutulan tüplerden

de 24 saatte bir tüp açılarak kontrol ekimleri yapıyor. Kontrollarda bakterinin canlı kalma yüzde nisbeti tesbit ediliyordu. Bu kuru süzgeç oda derecesinde ve karanlıkta uzun süreler muhafaza ediliyorlar ve iki senede bir kontrol ekimleri yapılarak canlılığını tesbit ediliyordu. Bu bakterilerin canlı kalma yüzde nisbetlerini incelemek için, seri halinde on iki sene evvel kurduğumuz tüplerimizi açtık.  $10^{-8}$  -  $10^{-9}$  dilisyonlarından 0.1 ml. petrilev. ekilerek 24 saat sonra koloni sayımı yaptık. İhsik listede netes-ler yüzde nisbetleri izminde yazılmıştır. (Çevre 1).

## NETİCE VE MÜNAKASA

Liyofilize edilerek saklanan bu bakterinin 12 sene sonra yapılan koloni sayımlarında canlı kalma yüzde nisbetleri, şöylece izlenmiştir: 24 süzgeç % 100, 22 süzgeç % 90, 18 süzgeç % 59 den fazla, 3 süzgeç % 70 auli bulunmuştur. 1948 senesinde başka bir arkantıs tarafından liyofilize edilen (*erythrobacterium diploeris* PW 8) omakuz sene geçene bulunmasına rağmen kontrolümüzde % 95 canlı bulunmuştur. Yurtlarda bildirilen bu süzgeçler başka % evet, süzgeç ile â nteroplazma süzgeçinde sudan üreme kontrolünü yapıldı. Koloni sayımı yapılmadı. Bu süzgeç kendi vasfalarında on iki sene sonra gayet iyi bir üreme gösterdiler. (Table 2) Quevillon M. (11) 1960 da yaptığı bu çalışmada, bakterilerde liyofilizasyonu müteakip mikrosoganizmlerin belirli bir kısmının harap olduğunu söylemiştir. Biz ise yaptığımız bu tecrübeler bakterilerin liyofilizasyonu müteakip fazla bir harabiyet göstermediği ve liyofilizasyondan sonra geçen zıttan itibaren de germ adedinin belli bir kısmının harap olduğu kısmına varlık.

Yine bazı araştırmalar (1958) ani dondurma ile yavaş dondurmanın bakterilerin canlı kalma nisbetleri üzerinde müessir olacağını, ve her bakteriyi a yine göre tutama değışikleşğini ileri sürmüşlerdir (7).

Yaptığımız bu çalışmada bu konuda da teyid eder bir netice alamadık, çünkü ve yavaş dondurmanın mübellî bakterilerin canlı kalma nisbeti üzerinde müessir olmasını kanıtlayamadık. Kanıtlanmasayofilizasyondan sonra bakterilerin uzun zaman canlı kalmasını ve liyofilizasyon esnasında geçen zamanda germ adedinin harabiyetinin % de mübellî üzerinde müessir olan *schopler* liyofilizasyondan evvel  $10^{-8}$  liyofilizasyon sırasında yapılan teknik hatılardan ileri gelmektedir. Bu teknik hatılar ne kadar müessir olursa bakterinin canlı kal-

ma müddeti de o nisbette azalmaktadır. Dikkat edilmesi lâzım gelen noktaları şöyle hülfâsa edebiliriz :

- a) Kurutulacak bakterilerin üreme noktasının fazlasında ol-  
ması,
- b) Lyofilize edilecek bakterinin çok kesil bir emülsiyonunun  
yapılması,
- c) Emülsiyon mayının alınmadığı a zengin olması,
- d) Emülsiyonun öze çıkarak donmasını,
- e) Lyofilizasyonda tüp üstün tutmaya ve vakümlü bulunması,
- f) Kuruyan ampülde taze bir ortam altında saklanması,
- g) Kararıltıkta ve serin bir yerde muhafaza edilmesi.

Bütün bu hususlar eksiksiz olarak tatbik edilmedi takdirde, lyofilize edilen kültürler, gerisi adedinde fazla bir kayıp vermeden uzun za-  
man hayatîyetlerini muhafaza edebilirler. Zaman faktörü, lyofilize  
bakteride gerimin harabiyeti üzerine az bir tesir yapar. Laboratu-  
varımızda cereyan eden bir olay bu konudaki aynı etmiştir. Ku-  
rutma cihazımızda zulme eden bir arıza dolayısıyla laboratuvarımız-  
da tamir edilmiş eski tip ve büyük bir Leybold lyofilizasyon cihazın-  
da kurduğumuz susların, 24 saat, 15 gün ve bir ay sonra üreme  
kontrolları yapılmıştı. Hepsisi gayet iyi üreme göstermelerine rağmen,  
bu tüplerden bir sene sonra yaptığımız ekimlerde hiç bir üreme olma-  
dı. Sonradan bunun sebebini araştırdığımız zaman Leybold cihazının  
arızasının iyice tamir edilememesi dolayısıyla lyofilize edilen tüplerde  
rutabet nisbetinin % 0,5 den daha düşük bir seviyede kaldığı anlaşı-  
ldı. Kurutulan bu kültürlerde rutabetin muayyen noktada olmaması  
bakterinin bir an evvel harabî olmasına müveccip olmaktadır.

Notice olarak, lyofilizasyon esnasında veya lyofilizasyondan  
evvel ve sonra yukarıda belirttiğimiz maddelerden herhangi biri eksik  
olursa, bakterinin canlı kalma müddeti üzerinde mübin etke  
yapmaktadır.

Kanâatinizesi, lyofilizasyon tekniği azerinde, dünya sağlık tes-  
kilatının diğer ağı ve serimlar da uyguladığı gibi bir standardizasyon  
metodu uygulanmış, bu gün pratikte saevlenen gelen tıbbîlerde bir  
çoğu aradan kaldırılmış.

## ÖZET :

Liyofilize edilerek karantüktü oda derecesinde saktanan 91 bakterinin, 12 sene sonra kültürleri yapılarak canlı kalan germ adedinin % nisbeti üzerinde bir kontrol yapılmıştır. Kontrolardan sonra 91 bakteriden 20 sinin % 100, 53 bakterinin % 90, 18 bakterinin % 80 ve 4 bakteride % 70 oranında canlı kaldığı görülmüştür. Bundan başka 5 clostridium ve 5 Mycoplasma (PPLO) kültürünün de sadece birine kontrolu yapılmış, bu suşların da çok iyi üredikleri görülmüştür.

## TABLO : 1

Liyofilize edilen kültürlerin 12 yıl sonra canlı kalan Bakteri sayılarının yüzde nisbetleri

Bakteri Suşları :	Bakterilerin lyofilizasyon- dan 24 saat çevre yüzde nisbeti (1955)	Bakterilerin lyofilizasyon- dan 12 sene sonra yüzde nisbeti (1967)
<i>Salmonella typhimurium</i>	% 100	% 100
<i>typhi murium</i> (Hreschani)	"	% 100
<i>typhi</i>	"	% 30
<i>entitiff</i>	"	% 98
<i>ab. equi</i>	"	% 80
<i>he. demey</i>	"	% 100
<i>cholera suis</i>	"	% 80
<i>newport</i>	"	% 100
<i>typhi</i> (O. 4)	"	% 100
<i>gize</i>	"	% 100
<i>london</i>	"	% 98
<i>disseminat</i>	"	% 90



Bakteri Sısları :	Bakterilerin liyofilizasyon- dan 24 saat evvel yüzde nisbeti (1955)	Bakterilerin liyofilizasyon- dan 12 sene- sürün yüzde nisbeti (1967)
- bertta	+	% 99
- lomalinida	-	% 97,5
- pensecala	-	% 100
- stanley	-	% 99
- paratyphi A.	+	% 100
- paratyphi B.	+	% 100
- paratyphi C.	+	% 99
<i>Shigella flexneri</i>	+	% 98
"   "   194	+	% 100
"   "   212	+	% 100
"   "   typ 4	+	% 95
"   "   " 6	+	% 94
"   "   " 5	+	% 90
"   "   " 3	+	% 94
"   "   " 5	+	% 99
"   "   " 1	+	% 96
"   "   " 7	+	% 97
- dysenteriae	+	% 90
"   "   181	+	% 96
"   "   typ 4	+	% 89
"   "   " 3	+	% 88
"   "   " 5	+	% 95
"   "   180	+	% 90

Bakteri Suları :	Bakterilerin lyofilizasyon- dan 24 saat evvel yüzde nisbeti (1955)	Bakterilerin Eyofilizasyon- dan 24 saat evvel yüzde nisbeti (1955)
<i>Escherichia coli</i> bordet	100	97
<i>communior</i>	100	99
O B	100	100
lysine	100	98
davis	100	99
<i>Yerobacter aerogenes</i>	100	85
eloaca	100	95
<i>Staphylococcus albus</i>	100	100
tud	100	100
london	100	99
antrens 209	100	99
citrus	100	100
<i>Enterococcus</i>	100	75
<i>Sarcina lutea</i>	100	98
<i>Micrococcus flavus</i>	100	99
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 394	100	80
<i>aeruginosa</i> 199	100	90
<i>aeruginosa</i> A	100	85
<i>Bacillus subtilis</i>	100	100
<i>aerens</i> 9916	100	99
<i>pumilis</i> 8211	100	95
<i>anthracis</i>	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1001	100	95
Gr. 1521-11	100	94
602	100	89
<i>ozonae</i>	100	99
<i>Serratia marcescens</i> 553	100	99
<i>Serratia marcescens</i> 173	100	93

Bakteri Sıstları :	Bakterilerin liyofilizasyon- dan 12 sene sonra yüzde nisbeti (1967)	Bakterilerin liyofilizasyon- dan 12 sene sonra yüzde nisbeti (1967)
<i>Bordetella pertussis</i> 18323	100	90
" " 40103	100	89
<i>Brucella abortus</i> St. 99	100	80
" <i>melitensis</i>	100	92
" <i>suis</i>	100	75
<i>Pastourella septica</i> 8391	100	98
" <i>pseudotuberculosis</i> A	100	85
" <i>tularensis</i> B. 38-6223	100	81
" <i>pestis</i> (Akçakale)	100	88
<i>Streptococcus faecalis</i> 5436	100	94
" <i>agalactiae</i> 55118	100	98
" <i>salivarius</i> 55126	100	89
" <i>lactis</i> 403	100	100
" <i>pyrogenes</i> 409	100	99
" gr. K.	100	100
" gr. C.	100	95
" gr. G.	100	98
<i>Diplococcus pneumoniae</i> typ 1	100	90
" " typ 3	100	88
<i>Vibrio cholera</i> ogawa	100	92
" " inaba	100	87
<i>Corynebacterium pyogenes</i> yerli	100	100
" <i>hoffmani</i>	100	99
" <i>pseudodiphtheriae</i>	100	98
" <i>diphtheriae</i> P. W. S.	100	95
<i>Neisseriae intracollularis</i> 52139	100	88
" <i>meningitidis</i> 30 B 68	100	85
" <i>gonorrhoeae</i> 8240	100	78
" <i>catarrhalis</i> 3623	100	94
" <i>sicca</i> 4872	100	98
" <i>flawescens</i> 52181	100	93

## TABLO : II

Diyofilizasyondan 12 sene sonra, *Mycoplasma*  
*Clostridium* kültürlerinin üremelerini  
gösteren cedvel

1955 de liyofilize edilen suşlar	Liyofilizasyondan 12 sene sonra canlılık kontrolları (1967)
<i>Clostridium tetani</i>	+
" <i>histolyticum</i>	+
" <i>botulinum</i>	+
" <i>septicum</i>	+
" <i>perfringens</i>	+
PPLO R. D. 168	+
PPLO laidlew	+
PPLO Doğumevi 15	+
PPLO Doğumevi 5	+
PPLO agalactia N. S.	+

## S U M M A R Y

The percentage of the survival rate of the lyophilised 94 cultures, stored in a dark place at the room temperature were tested 12 years after freeze-drying. Out of 94 cultures 20 were found 100 %, 53 more than 90 %, 18 more than 80 % and 3 more than 70 % survived (Table 1).

Furthermore 5 strains of clostridium and 5 strains of mycoplasma cultures which were freeze-dried in 1955 found viable perfectly (Table 2).

## L I T E R A T U R

- 1 Birnboim Dikomeit. 1927. *Zent. f. Bakteriologie* 101 - 290
- 2 Klier, W.J., Thomas, R.A., and Steffen, G.J., 1935, *J. Immun.* 28 - 433
- 3 Pieber H. 1898. *Zachr. Hyg.* 29 - 74
- 4 Plaudorf, F.W., and Mudd, S. 1925, *J. Immun.* 29 - 389
- 5 Gütchik, S., 1953, *Vet. Hok. Derg.* 23 - 506
- 6 Hetta, L., 1900. *Zachr. Hyg.* 50 - 123
- 7 Härtel, R., 1958, *Zent. f. Bakteriologie* 171 - 526
- 8 Härtel, R., 1960, *Zent. f. Bakteriologie* 178 - 364
- 9 Klömp, W., 1952. *Zachr. Hyg.* 133 - 180
- 10 Otten, L., 1930. *Zent. f. Bakteriologie* 116 - 190
- 11 Quivilun, J.C., Benoit, M., Tansot 1960, *Revue Canadienne Biol.* 122-456
- 12 Rhoades, H.E., 1958, *Amer. J. Vet. Res.* 19 - 765
- 13 Schomug, H.W., Dale, C.N., Mott 1949, *Amer. J. Vet. Res.* 10 - 755

## L I T E R A T U R

- 1 — Bruno Dikowitz. 1927, *Zent. f. Bakteriologie* 101-200
- 2 — Glaser, W.J., Thomas, R.A., and Stoffen, G.J., 1935, *J. Immun.* 28-433
- 3 — Fieber, H., 1898, *Zsch. Hyg.* 29-74
- 4 — Flesdorf, F.W., (mit Mudd, S., 1935, *J. Immun.* 29-388
- 5 — Gütliok, S., 1853, *Vet. Hek. Derg.* 23-506
- 6 — Heim, J., 1905, *Zsch. Hyg.* 50-123
- 7 — Hörter, H., 1958, *Zent. f. Bakteriologie* 171-326
- 8 — Hörter, H., 1960, *Zent. f. Bakteriologie* 178-364
- 9 — Klöbe, W., 1952, *Zsch. Hyg.* 133-189
- 10 — Ottou, L., 1930, *Zent. f. Bakteriologie* 116-199
- 11 — Quilley, J.C., Benoit, M., Tanssot, 1966, *Revue Canadienne Biol.* (22-495)
- 12 — Rhoades, H.F., 1958, *Amer. J. Vet. Res.* 19-765
- 13 — Schoning, H.W., Dale, C.N., Mell, 1949, *Amer. J. Vet. Res.* 19-765

vermemesinden ötürü, Reiter antijeni ile yapılan serolojik teamüller, cardiolipinli Kolmer teamülüne göre daha spesifik gibi görünmektedir (22).

### e -- Patojen Treponema Pallidum: Has Antijen.

Sifilitik hastaların kan serumlarında mevcut spesifik antikorları meydana çıkarmak için bazı treponemaların venetik maddelerini antijen olarak kullanmak, şüphe yok ki en güvenli yoludur. Bu maksatla Treponema pallidum in-vivo olarak tavşan testisine nakil edilip üretilir. Enfeksiyon organ çıkarılır, sonra fraksiyone olarak saattifüje (dibek, treponemalar mümkün olduğu kadar doku hücrelerinden ayrılır. Hazırlanması oldukça inçelik ve dikkat isteyen bu süs-ransiyon, hasta serumu muvacehesinde aglutinasyon veya kompleman birleşmesi reaksiyonları için antijen olarak kullanılabilir (10, 17). Ancak, daha önce de belirttiğimiz gibi etkin tecrübelerde bu süs-ransiyonu antijen olarak kullanılması hem külfetli ve hem de miktar yönünden çoğu zaman maksada yeterli olmaması nedeniyle, spesifik değeri yüksek olan Nelson - Mayer, adherence disparition ve immünofluorescent mikroskopu gibi referans deneylerinde kullanılmaktadır (4, 9, 11, 12, 20, 21). Nitekim Enstitümüzde bu yolla hazırlanan antijen, on yıldan bu yana T.P.I. (Nelson - Mayer) testi için uygulanabilmektedir (19, 20).

Kompleman birleşmesi ve flokülasyonu teamülleri için iki yıl evveline kadar Enstitümüz Seroloji Laboratuvarında, Wassermann'ın bapten karakterindeki antijeni ve Kahn antijeni kullanılmakta iken (3), Dünya Sağlık Teskilatı Biyolojik Standardlar Komitesinin tavsiyesine uygun şekilde, bu teamül ve antijenleri mukayeseli çalışmalar sonunda yavaş yavaş terkettik ve iki yıldan bu yana kompleman birleşmesi teamülü için Kolmerin pürifiye cardiolipinli antijenini ve flokülasyonu teamülü için de V.D.R.I. antijenini ve reaksiyonunu uygulamaya başladık (19).

Açık adı ile Diphosphatidylglycerol olan cardiolipin Pangborn tarafından saf olarak elde edildikten sonra, gerek Kolmer ve gerekse VDRI reaksiyonlarında kullanılan antijenler de terkip, spesifik ve pansitit özellikleri yönünden her geçen gün biraz daha gün ışığına kavuştü. Böylece, cardiolipin, lecithin ve cholesterolinin muayyen ölçüleri, alkalik çözeltisi yapılarak mühtelif firmalar tarafından antijen olarak piyasaya çıkarıldı. Yalnız şurasını hemen belirtelim ki, al-

en son olarak Pangların kapı adak edilen antijen özelliği gösteren maddesi saf fosfolipid olarak elde etti ve bu maddeye Cardiolipin adı verildi (13, 14, 15, 16). Treponemaların dışında bir antijen kullanarak gerçekleştirilen bu tarzdaki serolojik sifiliz teşhisine bazı otürler hakiki bir immünolojik fenomene gözü ile bakmadılar. Bu yüzden hasta serumundaki spesifik maddeye «Reagin» adını verdiler. Onlara göre immünoloji fenomeniyle bir antijeni kendine ait antikorla birleşmesi veya reaksiyon vermesi söz konusu idi. Aslında, burada reagine denen maddede treponemaların lipid karakterdeki antijenine karşı organizmanın husule getirmiş olduğu «antilipidik antikor» dan başka bir şey değildir. İmmünolojide buna benzeyen reaksiyonlara oldukça sık rastlanmaktadır. Nitekim çapraz bağışıklık denen fenomeni de diğer nedenleri yönünden buradaki olaya çok benzemektedir. Aynı spesifik karakterli taşıyan antijenik maddeler, değişik mikroorganizmada bulunabilmekte ve birine karşı husule gelen immünite maddesi, diğer mikroorganizma ile de serolojik reaksiyon verebilmektedir. Mikroorganizmalar için bahis konusu olabilen bu hadise, antijen karakterindeki hayvansal veya bitkisel doku maddeleri için de bahis konusudur. Korssinin antijen denilen madde, heterojenik türdeki bu tip antijenler için güzel bir örnektir. Heterojenik antijenler, serodiyagnostik yönden yapılabilmekte olan reaksiyonların spesifik değeri üzerine gölge düşürmüştü olmalarına rağmen sifilitik reaksiyonları tesbit maksadıyla uygulanmakta olan flokülasyon ve kompleman birleşmesi yöntemleri gerek sensitivite ve gerek spesifisite yönünden oldukça yüksek bir değer taşımaktadır.

#### 6-- Non-patojen Treponema Grubu ile Müsterek Protein Karakterinde Antijen :

Treponema pallidumun komşu grupta bazı non-patojen treponemalar, özellikle Reiter susu, treponema pallidum ile müsterek protein tabiatında antijen taşımaktadır. Reiter susunun in-vitro üretilmesi, bu suştan kültür süspansiyonunun ve antijen özelliğindeki protein ekstraktlarının imaline ve dolayısıyla sifilizli şahsın serumunda mevcut antiproteik tabiatteki antikorların, çapraz reaksiyonla tesbit ve tayin edilebilmesine imkan vermektedir (2, 22). Bu antijenle, serodiyagnostikte bugün için kompleman birleşmesi reaksiyonu uygulanmaktadır. Leptospiroz, botrelioz gibi vak'alarda müsbet reaksiyon



kal çözeltisi içinde adı geçen maddelerin zamanla degrade olması nedeniyle, üzerlerinde yazılı titrelerin piyasada kalış süresine göre değişebileceği ve bilhassa Kolmer antijeninde, antikomplementer özellik gösterilebileceği yaptığımız tecrübelerle tesbit edildi.

Antijenin Enstitümüzde prodüksiyon yolundaki mukayeseli hazırlık çalışmalarını iki yıl sürdü. Literatür tetkikinde, Paris Pasteur Enstitüsünden M. Faure ve mesai arkadaşlarının cardiolipin ve lecithine prodüksiyon metodu, ekstraksiyon ve purifikasyon titizliği yönünden ilgi çekici görüldü (5, 6, 7, 8). Bir ay süre ile yanlarında çalışmak fırsatını bulduğum bu değerli araştırmacılara gösterdikleri yakın ilgiden ötürü sükran hislerimi burada kaydetmeyi bizzat bilirim.

### Cardiolipin'in Elde Edilişi.

Cardiolipin veya Fransızların deyimiyle Cardiolipide, kalp adalsından elde edilen bir Phospholipid'dir. Saf olarak elde edilmesi için başvurulan muhtelif ekstraksiyon metodları yanında (13), M. Faure ve arkadaşlarının ortaya koyduğu sür'atli perkolasyon metodu (7) diğerlerine göre daha pratik ve elde edilen cardiolipinin safiyeti yönünden daha çok itimada sayan görülmektedir. Metod, sentrifüj ameliyeleri dışında, soğuk olaya ihtiyaç göstermemektedir. Aneak, harekete, pH değişimlerine ve bilhassa oksidasyona frajil olan cardiolipinin degradasyonunu önlemek amacıyla, yağlarından temizlenmiş süğür kalbi, hayvandan alınır alınmaz sür'atle kıyma haline getirilmekte ve gene aynı sür'at ve titizlikle lyofilize edilmektedir. Lyofilize kalp tozundan cardiolipin'in elde edilmesine kadar geçen süre içinde prodüksiyon tekniği birbirini takip eden beş safha arzeder :

1 — Perkolasyon : Burada kalp tozu bir perkolatör içinde, eşit miktarda éther - methanol karışımında bir gece hirakılır. Kalp tozunda mevcut bütün gliseritlerin, éthere - méthylique solusyon içine geçmesi sağlanır. Ertesi gün süzünü, bir balena damla damla aktarılarak, ikinci safha ameliyesi için dekantasyon ampülüne konur.

2 — Fosfatidik asit ve esterlerin Baryum fosfatidat haline getirilmesi : Dekantasyon ampülündeki éthere - méthylique solusyon 2/2 lik baryum klorür ile muamele edilerek iki faza ayrılır. Lipidlerin dışındaki maddeleri ihtiva eden hydro - méthylique faz atılarak, lipidlerin ve bu arada baryum fosfatidat'ın bulunduğu éther fazı bir

santrifüj tübüne aktarılır. Bundan sonraki bütün ameliye bu tüp içinde cereyan eder.

3 — Gliseridlerin eliminasyonu : Bu safhada, ilip multiveiyatı méthanolle presipite edilerek, önce suyu alınır. Ameliye méthanolün çittikçe azalan miktarlarıyla üç kere tekrarlanır. Böylece, lécithine méthanol fazında kalır ve atılır. Müteakiben, presipite için üç defa ağuk ve sonra iki defa sıcak asetonla nünamelle edilerek asetonlu sıyın gliseridler uzaklaştırılır.

4 — Baryum tuzu halindeki cardiolipin'in jürtilüsyonu : Baryum tuzları étherde eritilerek ve méthanolle presipite edilerek saflaştırılır. Méthanolün éthere göre çittikçe azalan miktarlarıyla ve 1 l, 1 2, 1 3 ve 1,5 oranlarına uyularak ameliye yedi kere tekrarlanır ve her defasında presipite, santrifügasyondan sonra tüpte bırakılıp sürenajın mayı atılır. Étherde eritildiği zaman sarı jelatine görünümlü olan cardiolipin'in baryum tuzu, saflaştırma ameliyesi ilerledikçe renksizleşir ve méthanol ile çöktüldüğü zaman kompakt bir kütle haline geçer.

5 — Baryum tuzunun, sodyum tuzu haline çevrilmesi : Bu ameliyede, étherdeki baryum tuzu, acide chlorhydrique 19 vol. méthanol + 1 vol. H<sub>2</sub>O ve 2 Na el ilavesiyle önce acide phosphatidique ve bilâhare sodyum tuzu haline çevrilir. Birbirini takip eden üç santrifügasyon ameliyesinden sonra, éther fazı éthyl alcoolde eritilerek, soude alcoolique ile sür'atle nötralize edilir. Karbonboksit gazı altında ve vakum yapılarak éther'i ve alcool fazları uçurulur, ve böylece istenen konsantrasyonda cardiolipinin éthanoldeki solüsyonu elde edilmiş olur. + 4°C da 48 saat bırakılarak, filtre kâğıdı ile süzülür. Volümünü ve birim volümdeki cardiolipin miktarı tayin edilir. Müteakiben Fiske - Subbarow metodu ile fosfor, Kjeldahl metodu ile azot ve Rosenmund Kuhnheim metodu ile iyot indisi ölçülür. Bu metodlar ile bulunan rakamlar şu hudutlar içinde olmalıdır: P 4,1 - 1,2 %; N = 0,03, iyot indisi : 116 - 125. Kimyasal ve kromatografik kontrolleri idealle uygun cardiolipinden antiijen hazırlanabilir.

### Lécithin'in Etile Elitisi.

Her ne kadar bazı araştırmacılar, antiijen için yumurtta lécithin'i yerine sentetik kristalize lécithin kullanılabileceğini ileri sürmüşlerse de, sentetik lécithin'in yumurtadan elde edilene göre daha az hassas olduğunu diğer bazı etürler tarafından tesbit edilmiştir (1, 6, 18). Güven

verici ve ekonomik olması da göz önünde bulundurularak, Pasteur Enstitüsünde olduğu gibi biz de lécithini yumurta sarısından elde etmekteyiz.

Lécithine elde edilisindeki teknik metod da, cardiolipinde olduğu gibi muhtelif safbalar gösterir (5).

1 - Ekstraksiyon : 1 ölçü yumurta sarısı, 3 ölçü 95° alcoholle karıştırılarak santrifüje edilir. Sürajan mayi bir balona aktarılır. Presipite sıcak alkolle karıştırılıp, soğutulur. Tekrar santrifüje edilerek sürajan mayi gene aynı balona aktarılır. Presipite, bir üçüncü defa tekrar sıcak alcoholle yıkanarak sürajan mayi gene aynı balona aktarılıp, balon bir gece - 4 C da beklemek üzere buz dolanına yerleştirilir. Bu suretle lipidler protein fraksiyonundan ayrılmış olur.

2 - Cadmium chlorure ile çökeltme ve chlorocadmique kompleksin saflaştırılması : Ertesi gün soğuk alkolik solüsyon filtre kâğıdından süzülür ve presipitasyon kesilinceye kadar  $\frac{1}{2}$  50 cadmium chlorure ilâve edilir. Çökelti dipte kolayca toplanır, üstteki mayi dekantere edilerek alınır. Çökelti dört ayrı santrifüj tübünde alkolle iki defa yıkanır. 1 vol. étherde eritilir. 1/10 vol. su ilâvesiyle şekillendirilir, yeniden 1 vol. alcohol ilâve edilerek santrifüje edilir ve tamamen çöktürülür. Pürifikasyon ameliyesi iki defa tekrar edilir.

3 - Cadmium chlorure'ün eliminasyonu, lipid dışı maddelerin temizlenmesi : 1 vol. éther ve çok cüz'î su içinde eritilmiş presipite üzerine sür'atle  $\frac{1}{2}$  10 Hcl ihtiva eden 1 vol. méthanol ilâve edilir, karıştırılır. Hemen sonra 2 vol. soğuk  $\frac{1}{2}$  2 Na cl katılır, karıştırılır. Sür'atle santrifüje edilerek alttaki hydro-alcoolique faz aspire edilir. Éther fazına 1/2 vol. daha éther ilâve edilir. Sonra 1 vol. méthanol Hcl sür'atle katılarak karıştırılır. Tekrar 2 vol.  $\frac{1}{2}$  2 Na cl ilâvesiyle, santrifügasyon ameliyesi tekrarlanır. Bir önceki éther fazına 1 vol. méthyl alcohol ve 2 vol. soğuk  $\frac{1}{2}$  2 Na cl katmak suretiyle yeniden santrifüje edilir ve böylece çok konsantre bir üçüncü éther fazı elde edilmiş olur. Bu fazdaki lécithine 3 vol. aceton ilâve edilerek çökeltilir.

4 - Etherde erimeyen maddelerin eliminasyonu : Çökelti birbirini takip eden üç aceton muamelesiyle déshydraté edilir. Sonra tekrar étherde eritilerek yeniden aceton'la çökeltilir. En son presipite 1 vol. éther içinde eritilir ve bir gece buz dolanında 0 C da bekletilir.

Ertesi gün soğukta santrifüje edilerek étherde erimeyen fraksiyon elimine edilir. İki defa daha anhydre éther ile yıkanır.

5 — Non-choleynique lipidlerin alumine ile adsorpsiyonu . Bir ün-  
ceki éther solüsyonu 30 C da, vakum ve karbondioksit altında bu-  
narlaştırılır ve bakiye: lécithin 3 vol. absolü alkolde eritilir. Filtre kâ-  
ğıdından süzülür, Kuru ekstresi tayin edilir. Dilüsyonu 1 : 5 olacak  
şekilde absolü alkolle sulandırılır. Kuru ekstre miktarına göre, özel  
metodla tayin edilmiş alumine kolonundan alkolik solüsyon süzülür.  
Eöylece solüsyonun pH sı stabilize edilmiş ve eriyik içindeki non-cho-  
leynique lipidler bertaraf edilmiş olur. Nihai solüsyondaki kuru ekstre  
1 cc de 30 - 35 mg olmalı, buna göre tayin edilmiş kimyasal terkip şu  
hudutlar içinde bulunmalıdır : P 3,86 % , N 1,73 % , ivot indisi : 63.

Kromatografi ile safiyet tecrübesi de yapıldıktan sonra elde et-  
tiğimiz lécithine yukarki kimyasal değerlere uygun ise antijen hazırlan-  
masında kullanılabilir.

Kolmer antijeninde cardiolipin miktarı 0,2 mg cc, lécithine 1  
mg/cc, cholestérol 1 mg cc olmalı, VDRL antijeninde ise cardioli-  
pin 0,5 mg/cc, lécithine 2,5 mg/cc, cholestérol 9 mg cc bulunmalıdır.  
Bu miktarlara göre, antijen hazırlarken önce cholestérol (Merck  
W71) uygun miktarda absolü alceol içinde ve sıcakta eritilir. Soğu-  
tulduktan sonra, nispetler göz önünde bulundurularak, cardiolipin ve  
lécithine uygun ölçülerde katılır ve gene absolü alceol ile istenen volü-  
me tamamlanır. Antijenler elde edildikten sonra titresi tayin edilir,  
standard antijen ve standard müsbet ve menfi serumlarla mukaye-  
seli serolojik kontrolleri yapılır.

### Résumé

Comparé à la sérologie des autres maladies infectieuses, la sé-  
rologie de la syphilis se présente sous une forme particulière. Dans  
la pratique, on fait le plus souvent appel à des préparations antigé-  
niques obtenues à partir de produits autres que le tréponème pathogène,  
mais qui contiennent un ou des antigènes communs avec ce dernier :  
tréponèmes non pathogènes, organes d'animaux.

Au cours de ces dernières années, la sérologie de la syphilis a  
été l'objet de perfectionnement important : Amélioration et simplifi-

ation des techniques sérologiques, remplacement des antigènes par des préparations normalisées à base de cardiolipide.

Pour la préparation du cardiolipide et de la lécithine, nous utilisons des méthodes du Laboratoire de Biochimie des Antigènes de l'Institut Pasteur de Paris dont les techniques ont été exprimées en détail dans le texte.

#### L I T É R A T U R E

1. Haer E. 1953 *J. Amer. Chem. Soc.* 75, 621.
2. Becker J.H. 1958 *Brit. J. Vener. Dis.*
3. Berkun T. 1955 *Türk Hij. Tec. Bio. Der.* XV, 328.
4. Dagnet G.L. 1956 *Bull. W.H.O.* 14, 303.
5. Faure M. 1956 *Bull. Soc. Chim. Biol.* 7-8, 503.
6. Faure M., La Vaisière C. 1956 *Bull. O.M.S.* 14, 577.
7. Faure M., Morelec C. 1958 *Ann. Ins. Past.* 95, 180.
8. Faure M., Morelec C. 1963 *Ann. Ins. Past.* 104, 246.
9. Günezoğlu E., Aksoy N. 1968 *Hucettepe Bull.* 1, 29.
10. Magnuson H.J., McLeod Ch. *Bull. W.H.O.* 14, 289.
11. Nielsen H.A., Otav Ids. 1962 *WHO VDT Seru* 102.
12. Nielsen H.A., Reyn A. 1956 *Bull. W.H.O.* 14, 263.
13. Pangborn M.C. 1941 *J. Biol. Chem.* 137, 345.
14. Pangborn M.C. 1942 *J. Biol. Chem.* 143, 247.
15. Pangborn M.C. 1944 *J. Biol. Chem.* 153, 344.
16. Pangborn M.C. 1955 *WHO Monograph, Series No. 6*.
17. Rein R. Charles 1956 *Bull. W.H.O.* 14, 193.
18. Reyn A. 1956 *Bull. W.H.O.* 14, 567.
19. Tuna I. 1967 *Türk Hij. Tec. Bio. Der.* XXVII, 18.
20. Utku E. 1957 *Türk Hij. Tec. Bio. Der.* XVII, 67.
21. Fribourg D., Niel G. 1962 *Ann. Ins. Past.* 102, 616.
22. Kjellander J., Silvers O. 1959 *Acta Pat. Mic. Scand.* 47, 373.

**TÜRK HAYVAN VE TECRUBİ BİYOLOJİ DERGİSİ**

**Vol : 28 (1968)**

**YAZAR İNDEKSİ**

**(AUTHOR INDEX)**

Aktan, M.	30, 273
Altınkurt, O.	114, 136
Ay, A.	87, 107, 209, 238, 262
Ayay, O.	71
Baysal, F.	139, 152
Dirimci, O. T.	283
Ezkebek, C.	186, 193
Kiper, M.	67, 71
M. Ötvençi, A.	195, 202
Önal, V.	76, 83
Öner, E.	57, 65, 162, 168
Özluğarda, E.	169, 184, 220, 235, 244, 259
Özülç, B.	154, 159
Tuna, İ.	6, 18
Yalçındağ, O. N.	57, 65, 162, 168

# TÜRK HİJYEN ve TECRÜBİ BİYOLOJİ DERGİSİ

Vol : 28

1968

## KONU İNDEKSİ

Antikiyetlere mukavemetleri, Osteomyelit ve Artrit vakalarında izlenilen bakterilerin .....	76
Azet (Bazık) atomu taşıyan ilaçların mikrokristaloskopik ve kimyevi identifikasyonları .....	57
Benzyldimethyl — (2 — Phenoxyethyl) — Ammonium — 3 Hydroxy — Naphthoat'ın yeni kolorimetrik tâyin metodları .....	154
Çiçek Aşısı istihşâli .....	220
Çiçek hastalığında laboratuvar teşhisi .....	209
Dextroproxyphen hydrochlorid'in pyramidon, cafein, Dinil kombinasyonunu havi preparatta teşhis ve miktar tâyini .....	71
Hong Kong gribi ve etkeni ile yaptığımız laboratuvar çabemaları .....	244
İnfluenza ve İnflicenzaya — Benzer hastalıklar durumu, 1967 — 1968 mevsiminde Dünyada ve Türkiye'de, ve laboratuvar bulgularımız .....	169
Kimoterapi, virüs enfeksiyonlarının spesifik tedavisi ...	85
Laboratuvar Hizmetleri, SANEPİD ve Hastane, bölgelerarası gezici semineri, Sovyetler Birliğinde DST'ca tertiplenen .....	97

Leptospirozisler ve Yurdumuzda insan Leptospirozisleri üzerinde yapılan çalışmalar .....	30
Liyofilize edilen kültürlerin 12 yıl sonra canlı kalan bak- teri sayılarının yüzde nispetleri üzerinde araştırmalar .....	273
3 N - Methyl — ( * — Methyl — † — phenyl) — 4 — isopropyl Norantipirin, in Pyramidon, cafein, fenasetin farmasötik kombinasyonunda teşhis ve kantitatif tayıni .....	67
Narkotik analjeziklerin ve Nalorphine'in sıçan kap basun- cu üzerine etkileri .....	
Refik Saydam Merkez Hıfızssaha Enstitüsü 1967 yılı ca- hulmaları .....	6
Sitiliz serolojisinde antijenik prensipler ve Cardiohipnii antijenlerin hazırlanış tekniği .....	283
Streptomycin'in düz adale üzerinde spazmolitik, anti- spazmodik etkisi .....	114
Theophylline türevlerinin identifikasyon ve dozajları ...	162
Trypanosoma equiperdum enfeksiyonuna karşı kaplumba- ğaların direnç ve parazitin bazı biyolojik özellikleri .....	195
Virus, Milli virus laboratuvarları ile DST virus referens- laboratuvarları müsterek toplantısı, Prag (18-20/Haz. 1968) .....	262
Virology, The works carried out in the field of Virology by Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara, Turkey .....	238
Dr. Rifik Olgun emekliye ayrıldı .....	5
Dr. Menteseđli'nu kaybettik .....	111
Enstitü yayımları .....	106



**TÜRK HİJYEN ve TECRÜBİ BİYOLOJİ DERGİSİ**

Vol : 28

1968

**SUBJECT INDEX**

Atomes d'Azote basique, identification microcrystalloscopique et chimique .....	65
Bephenium Hydroxy Naphthoate, new colorimetric methods for the determination of .....	159
Drug — Resistance of the different microorganisms isolated from the cases of osteomyelitis and arthritis .....	83
Influenza Season, 1967 - 1968, and results of the laboratory studies .....	184
The «Hong Koug Influenza» and preliminary study of HI antibodies to its casual agent .....	259
Narcotic analgesics and Nalorphine, effects of, on the rat blood pressure .....	152
Smallpox, laboratory diagnosis of .....	218
Smallpox vaccine, brief history of the smallpox vaccine production in Turkey .....	235
Streptomycine, L'effet spasmolytique et antispasmodique de la streptomycine sur les muscles lisse .....	136
Théohylline, identification et dosage des dérivés du .....	168
Trypanosoma equiperdum infection, resistance of tortoises .....	202
Virology, works carried out in the field of Virology by Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara .....	239
Vivax infection, protracted incubation period in Vivax infection in Turkey .....	193
Yearly activities of the Refik Saydam Central Institute of Hygiene in 1967 .....	18
	295