

T. C.  
Sağlık ve Sosyal Yardım Vekâleti  
Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha  
Enstitüsü

TÜRK  
İJİYEN ve TECRÜBÎ  
BİYOLOJİ DERGİSİ

Cilt : XIII — Sayı : II  
( 1953 )

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

•

REVUE TURQUE D'HYGIENE ET DE BIOLOGIE EXPERIMENTALE

•

TÜRKISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

Vol. : XIII — No : II

Ankara, 1953

Published by

Publié par

Herausgegeben von

**REFİK SAYDAM MERKEZ HİFZISSİHHA ENSTITUSU (Ankara)**

tarafından neşredilmiştir.

## I Ç I N D E K I L E R

	Sayfa
1. Dr. Abdülkadir Çilesiz için . . . . .	133
2. Prof. Dr. Zühdi BERKE : Bazı antibiyotikler ve semoterapötik maddelerin, bilhassa quinine'in ve nitromin'in enflüenza virüs tiplerine tesiri hakkında laboratuvar deneyleri <i>Sensitivity of different types and subtypes of Influenza virus to some antibiotics and chemotherapeutics, especially quinine and nitromin. . . . .</i>	134 159
3. Remziye S. HISAR : Babink köklerinden yalocı ve lillürlü bir cismin teoridi hakkında . . . . . <i>Note sur l'isolement d'un composé cristallisé très vésicant à partir des racines de babini . . . . .</i>	163 170
4. Dr. Necmettin AKYAY ve Dr. Sabahattin PAYZIN : Salmonella Enteritidis Gaertner basillinin Ornithodoros Lahorensis ke- melerinde tahlii olarak bulunuşu . . . . . <i>Infection naturelle de la Salmonelle Enteritidis Gaertner aux Ornitho- dorus Lahorensis . . . . .</i>	174 176
5. Dr. Kemal ÖZSAN : Şarkî Karadeniz bölgesinde Nekator taraması . . . . . <i>Enquête coprologique sur la Necatoriose dans la région cotière orien- tale de la Mer Noire . . . . .</i>	178 180
6. Dr. K. ÖZSAN, S. PAYZIN ve EKMEN : Isonikotinic asid-hidrazidin B.C.G. ve muhtelif bakteriler üzerinde etkisi <i>The effect of isonicotinic acide hydrazid on different bacteria and B.C.G. . . . .</i>	184 186
7. Sadık GÖREN : Refik Saydam Merkez Hifzussihha Enstitüsünde hazırlanan konsantre ve pürifiye difteri antitoksini . . . . . <i>Sur l'antitoxine diphtérique concentrée et purifiée préparée à l'Institut d'Hygiène Refik Saydam . . . . .</i>	188 199
8. Dr. Niyazi ERZİN : Postvakinal B.C.G. alerjisi . . . . . <i>Observations sur B.C.G. vaccination, postvaccinal allergy and local reac- tions . . . . .</i>	200 206
9. Cavide ATTILÄ : Deviasyon yolu ile Türkiye hayvanlarında Q. Humması bakımından araştırmalar . . . . .	208



*Dr. AbdulKadir Gilani*  
1960 — 1964

## ABDÜLKADİR İÇİN

Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü, 22 Ağustos 1953 günü çok değerli mütehasıslarından Dr. Abdülkadir Çilesiz'i ebedi olarak kaybetmiş bulunuyor.

Abdülkadir Çilesiz'i tanıyanlar, onun çok hassas ruhlu, uzak yakın tanıdığı herkesin yardımına koşan, iyilik seven ve her bakımdan yetişmiş ve tertemiz bir insan olduğunu bilirler.

O, Gerek Enstitü'de bulunduğu uzun yıllar ve gerekse daha önce vazife gördüğü müesseselerde, ilmi her şeyin üstünde tutar ve şahsi menfaatlerini daima geriye bırakırdı.

Abdülkadir, bizler için telâfisi gayri kabil bir kayıptır.

Acırlı ölümünü, bildirmekle derin teessür duymaktayız.

Enstitü Müdürü

**Dr. Niyazi ERZİN**

## RAHMETLINİN KISA HAL TERCÜMESİ

Dr. Abdülkadir Çilesiz 1893 yılında Edirne'de doğmuştur. İlk tahsilini Edirne'de, Lise tahsilini de Mercan idadisinde yaptıktan sonra 1918 senesinde İstanbul Tıp Fakültesinden diploma almıştır.

Bakteriyoloji ihtisasını İstanbul Bakteriyolojihanesinde bitirdikten sonra tahsilini ikmal için 1926 yılında Sağlık Vekâleti tarafından Paris'te Pasteur Enstitüsüne gönderilmiştir.

Paris'ten dönünce İstanbul Bakteriyolojihanesinde bir sene daha çalışmış, bilâhare Sivas Nümune Hastanesi Bakteriyoloji ve İntaniye Şefliğine tayin edilmiştir. 1929 da Ankara Bakteriyolojihanesine Mütehasıs sıfatıyla alınmış ve 1932 de İstanbul Bakteriyolojihanesine nakledilmiştir. Bilâhare Ankara Merkez Hıfzıssıhha Müessesesine Kuduz Mütehasısı olarak getirilen merhum Dr. Abdülkadir Çilesiz vefatına kadar bu vazifede büyük feragat, tedâkârlık ve liyakatle çalışmış ve binlerce kişinin derdini şefkatle dinleyerek tedavilerine koşmuştur.

Gerek Bakteriyoloji ve gerekse Kuduz sahasında kıymetli tetkikleri ve neşriyatı bulunan Dr. Çilesiz'in ölümü Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü için büyük bir ziyadır.

## BAZI ANTİBİYOTİKLER VE ŞEMOTERAPÖTİK MADDELERİN, BİLHASSA QUININE'İN VE NITROMİN'İN ENFLÜENZA VİRÜS TIPLERİNE TESİRİ HAKKINDA LÂBORATUVAR DENEYLERİ

Prof. Dr. Zübüfî BERKE

Ulusal Sağlıkta Bakteriyoloji Enstitüsü, Virüs Şubesi

Aureomycin ve Terramycin'in Kuduz Virüsüne tesirini tetkik ederken bu antibiyotiklerin enflüenza virüsü tiplerine in vitro ve in vivo tesitlerini de tecrübe etmeyi ele almış buluyordum. O zaman elimizde bu iki antibiyotik'in kapsül içinde ağızdan alınan şekli vardı ve bunlarla çalışmak mümkün zorluklar arz ediyordu.

Kuduz virüsüne ait tecrübelerin neticeleri önce kısaca dördüncü Türk Mikrobiyoloji Kongresinde (1) tebliğ ve asıl mesai bu dergide (2) neşredilmiştir. Kuduz virüsüne ait mesaimiz ile ilgilenen American Cyanamid Company New York N.Y. adlı Müessesenin Lederle Laboratory Division şubesi, her şişede 100 mg. antibiyotik bulunan "Aureomycin Hydrochloride Intravenous" etiketli ve verid için zerke hazır şekli, Chas. Pfizer co. Inc. New York Müessesesinin her şişede 500 mg. antibiyotik bulunan "Crystalline Terramycin Hydrochloride Intravenous" etiketli verid içi zerke için hazırlanmış şekli gönderilmiştir. Bu iki müessesenin göndermek lütfunda buldukları bu antibiyotikler kuduz virüsü üzerinde çalışmalarının devamını sağlamış ve aynı zamanda enflüenza virüs tipleri üzerinde tecrübeler yapmaya da imkân vermiştir. Enflüenza virüsü üzerindeki tecrübelerle ait bu yazıya başlarken bu iki Müesseseye teşekkürlerimi sunarım.

Bundan evvel bu dergide enflüenza üzerinde neşrettiğim bir yazıda (3) antibiyotiklerin bu virüs üzerine mühim bir tesiri olmamakla beraber, enflüenzada ölüm sebebinin bilhassa bakteri menşeli ihtilâl instanları olduğuna işaret ederek, grip salgınlarında antibiyotiklerin hastalara verilmesinin kıymetini ve bu salgının seyrettiği zamanlarda hattâ daha evvel memlekette bol miktarda antibiyotik bulundurulmasının lüzumlu bir ihtiyat tedbiri olduğunu ileri sürmüştüm. Bu neşriyatımdan sonra grip virüsüne bazı antibiyotiklerin tesirini denemeğe devam ederken aynı zamanda, eskidenberi yukarı teneffüs yollarımız gripal enfeksiyon adı verilen hastalıklarında, bronchitis, bronchopneumonia, pneumonia'da hastalara verilmesi mutâk olan Quinine'i, buna muvazi olarak Atebrin'i, aşî ve serumların muhafazasında 1/10.000 nisbetinde kullandığımız Mesthio-late de soude, bundan başka Trypaflavine, Rivanol, gibi bazı maddeleri, Chloramphenicol, Polymyxin, Nydrazid'i de tecrübeye aldım. O zaman antibiyotiklerin enflüenza virüsüne tesiri hakkında yapılmış geniş klinik müşahedeler, lâboratuvar tecrübeleri üzerinde neşriyata tesadüf etmemiştim. Bugün bu hastahğa antibiyotiklerin müessir olup olmadığına dair ancak bir kaç hastadan ibaret mahdut bazı klinik müşahedeler ve lâboratuvar tecrübelerine ait neşriyat görülmektedir.

Chester S. Keeper (4) hastalıkları antibiyotiklerden Terramycin'in tesiri bakımından 3 grup içine toplamıştır : (1) Terramycin'in müessir olduğu hastalıklar, (2) Terramycin'e kısmen hassas olan ve üzerinde inceleme yapılmasına lüzum görülen hastalıklar, (3) Terramycin'in müessir olmadığı hastalıklar.

Bu üç gruba alınmış olan hastalıklar ve mikroplar hakkında tafsilâta girmiyorum. Bazı bakteri hastalıkları ile burun, ağız ve boğazda yayılan, teneffüs cihazının ithalât intanlarını yapan bakterilerin mühim bir kısmı, Rickettsia intanları, Rickettsia'ya benzeyen bazı virüslerin meydana getirdikleri hastalıklar, Granuloma Inguinale, Lymphogranuloma Venereum, İntani Mononükleozis ve Virüs Pneumonia birinci gruba konmuştur.

Epidemik enflüenza ikinci gruba konmuş ve üzerlerinde Terramycin ile tecrübeler yapılmış ve menfi netice alınmış olan hastalıklar (kabakulak, kızamık, su çiçeği, herpes simplex, bir çok herpes zoster vak'aları) üçüncü gruba konmuştur.

Terramycin ve Aureomycin'i yapan müesseseler tarafından bu antibiyotiklerin bir çok bakteri nevilerine öldürücü tesir yaptıkları, Rickettsia intanlarında ve yukarıda üçüncü grupta yazılı hastalıklarda sifa verici neticeler alındığı bildirilmektedir. Bundan başka bu konu üzerinde laboratuvar ve kliniklerde denemeler yapanların müsbet bulgularına ait neşriyata tesadül edilmektedir.

Pfizer Müessesesi neşriyatında Terramycin'in enflüenza virüsü üzerine klinik bakımından bir tesiri olduğu henüz meydana çıkarılmamış olmakla beraber, az sayıda gripili hasta gruplarında bu antibiyotiğin alınmasını müteakip 24-48 saat içinde arazların selâh bulunduğu ve ateşin sür'atle düştüğü bildirilmektedir.

Bundan başka, yine aynı Müessese tarafından, teneffüs cihazının bakterilerden ileri gelen intanlarında Terramycin verildiği zaman balgamda bakterilerin azaldığı ve hastaların süratle selâha doğru gittiği ve bu sebepten bu cihazın bakteri intanlarında bu antibiyotiğin kullanılması tavsiye edilmektedir.

Lederle Müessesesi de Aureomycin için aynı tarzda müessir olduğu ve teneffüs cihazının bakteri menşeli intanlarında olduğu gibi enflüenza vak'alarında da istifade edilmesini tavsiye etmektedir.

Her iki antibiyotiğin virüs pnömonisinde çok müessir oldukları ve hastalara verilmesini müteakip 24 saatte hararetin normale düştüğü ve bu hastalıkta çok kıymetli bir deva olduğu bildirilmiştir (5).

Terramycin ile ilk tecrübelerimi yaptıktan sonra elde etmiş olduğum eserde Quilligan ve Francis ve mesai arkadaşları (6) tarafından yapılmış olan tecrübelerde, önce rüseymlere toksik doza yakın miktarda verilmiş olan Terramycin'in muayyen bir zaman sonra zerkedilen enflüenza virüsünün üremesine mani olduğunu, lakin bu virüs ile enfekte edilmiş farelerde bu antibiyotiğin virüs intanının seyrine müessir olmadığını görmüş oldukları bildirilmiştir.

Daha sonra Kass, Barnes, Finland (7) muhtelif miktarlarda Terramycin Hydrochloride bulunmak üzere enflüenza A (PR<sub>1</sub>) virüs suyu ile rüseyimli tavuk yumurtalarında tecrübe yapmışlardır. Bu araştırmacılar tecrübelerinde şiddetli asit reaksiyonlu (pH=3.6 ö—pH=3.8) Terramycin mahlülleriyle yapılmış antibiyotik mahlülü— virüs dilüsyonu karmalarıyla çalışmış olduklarından bu kadar yüksek pH kesafetindeki antibiyotik mahlülünün rüseyimlerin korio-allantonik kise suyunun pH kesafetini ağırca bozdüğundan rüseyimler hemen ölmüş bulunuyorlardı. Bundan başka pH=3.8 kesafetinde olan bir mühit virüsü bes dakika zarfında inaktif bir hale getirmiş oluyordu. Daha sonra antibiyotik mahlülünü normal Hydroxyde de sodium mahlülü ile nötralize ederek muhtelif kesafette virüs dilüsyonları ile birlikte zerke edilmiş rüseyimlerde 2, 4, 6, 24 saat sonra 20 mg. Terramycin zerkinin virüsün üremesine, hemagglutination yapılabilmesine, intan husule getirebilme kudretine müesir olmadığını görmüşlerdir. Bununla beraber, bu araştırmacılar deri altı yahut per os olarak verilmiş olan yüksek doz Terramycin'in enflüenza virüsü ile enfekte edilmiş farelerde ne terapötik ve ne de profilaktik tecrübelerde ölüm zamanı ve ölüm nisbeti üzerine bir tesirini görmemişlerdir.

Bundan başka boğaz çalkantı sularında enflüenza virüsü izole edilmiş beş hastayı Terramycin ile tedaviye almışlar ve bu hastalardan dördünde bu antibiyotik verilmesini müteakip hararetin normale düştüğü ve arazların hafiflediği ve beşinci hastada ise şifanın tedrici olarak meydana geldiğini görmüşler, lakin bu neticenin Terramycin'in enflüenza için müesir bir ilaç olduğuna işaret olarak kabul edilemeyeceğini de ilâve etmişlerdir.

Gripal enfeksiyon adı verilen yukarı teneffüs yollarının nezeli hastalıklarında, teneffüs cihazının ihtilâat intanlarında Terramycin ve Aureomycin verilmesini müteakip hastalarda salâh görüldüğünün, Rickettsiaların husule getirdikleri hastalıklarda ve Rickettsia'ya benzeyen virüslerin sebep oldukları intanlarda ve bilhassa virüs pnömouzinde çok müesir bir tedavi vasıtası olduğunun bildirilmiş olması beni bu antibiyotiklerin enflüenza virüsüne öldürücü tesiri olup olmadığını in vitro ve in vivo yollardan kontrol yapmağımıza tevik edici olmuştur. Çalışmalarında daha başlangıçta da belirttiğim gibi verid içme zerke mahsus hazır Terramycin ve Aureomycin kullandığım için bu antibiyotiklerle yaptığım mahlüllerin pH kesafetini düzeltmeye lüzum yoktu. Antibiyotik mahlülleri ve virüs dilüsyonları için tuzlu su ve buyyonlu tuzlu sular kullanılıyor ve antibiyotik ve virüs dilüsyonları karmalarının pH kesafeti ne virüsü ve ne de rüseyimi öldürmeyecek bir seviyede bulunuyordu. Bu sebepten tecrübelerden alınan neticelerin doğrudan doğruya antibiyotiklerin tesirinden ileri geldiğini kabul etmek icap eder.

### **Terramycin Hydrochloride ile birinci tecrübe :**

İlk tecrübe 5/11/1951 de yapılmıştır. Bu tecrübeye bir şişede 500 mg. Terramycin Hydrochloride ve 450 mg. sodium glycinate bulunan bir toz karması kullanılmıştır.



### 1 — Terramycin mahlülü :

Kapalı ve steril olan antibiyotik şişesine 5,0 cc. buyyonlu tuzlu su konur ve iyice karıştırılırsa sarı ve şeffaf bir mahlül meydana gelir. Bu mahlülün her 1,0 cc. miktarında 100 mg. Terramycin vardır.

### 2 — Virüs dilüsyonu :

Enflüenza B (Lee) virüsü ile buyyonlu tuzlu suda 1/50 nisbetinde bir virüs dilüsyonu yapıldı.

### 3 — Terramycin mahlülü + virüs dilüsyonu karması :

20 cc. hacminde steril kalın cidarlı 3 santrifüj tüpü alındı. Birinci tüpe 3,0 cc., ikinci ve üçüncü tüpün her birine 2 cc. virüs dilüsyonu kondu. Birinci tüpe steril pipetle Terramycin mahlülünden 1 cc. kondu ve karıştırıldı. Bu karmadan 2,0 cc. alarak ikinci tüpteki dilüsyona karıştırıldı ve bundan da 2 cc. alarak üçüncü tüpteki virüs dilüsyonuna kondu iyice karıştırıldı.

### 4 — Ekme :

Her üç tüp oda hararetinde karanlıkta 2 saat bırakıldı ve sonra her tüpten 12 günlük canlı rüşeyimli tavuk yumurtalarının korio-allantoik kisesine 0,3 cc. zerkedildi. Yumurtalar 48 saat 36 C. derecede ve bir gece 4 C. derecede bırakıldıktan sonra usulüne göre açılarak her rüşeymin amnio-allantoik kise suyu ayrı steril tüplere alındı.

### 5 — Yumurtaların muayenesi :

Yumurtalar 36 C derecede etüvde iken 24 ve 48 inci saatte muayene edilmiş, canlı ve ölü olanlar üzerlerine işaret edilmiştir. Bu muayenede birinci santrifüj tüpündeki antibiyotik ve virüs dilüsyonu karmasından ekilmiş olan yumurtaların hepsinde ikinci tüpten ekilmiş olan yumurtaların üçünde rüşeymler ölmüş ve üçüncü tüpten ekilmiş olan yumurtaların rüşeymleri canlı görülmüştür.

### 6 — Hemagglutination testi :

Amnio-allantoik sulardan yapılmış olan hemagglutination testi, birinci gruptaki 4 a.a. su ile menfi, ikinci gruptaki a.a. sudan üçü ile menfi ve birisi ile 1/80, üçüncü gruptaki a.a. sulardan ikisi 1/320, birisi 1/80 ve birisi de 1/40 nisbetindeki dilüsyona kadar müsbet reaksiyon vermiştir.

### Neticenin incelenmesi :

Virüs dilüsyonu ve Terramycin mahlülü karmalarından birinci santrifüj tüpünde 50 mg., ikinci tüpte 25 mg., üçüncü tüpte 12,5 mg. Terramycin Hydrochloride enflüenza virüsü ile oda hararetinde iki saat temasta kalmışlardır.

Her rüseyime zerkedilmiş olan 0,3 cc. virüs ve antibiyotik karışımında birinci gruptaki rüseyimlerin almış oldukları tahminen 8,3 mg. Terramycin'in umumî rüseyimleri öldürdüğü, ikinci gruptaki rüseyimlerin almış oldukları tahminen 4,16 mg. Terramycin'in rüseyimleri hepsini ödürmediği ve üçüncü gruptakilere isabet eden tahminen 2,5 mg. Terramycin'in ise rüseyimleri öldürmediği görülmüştür.

#### **Tecrübe neticesi hakkında karar :**

Tahminen 8,3 mg. Terramycin almış olan rüseyimlerin zerkin 24 üncü saatinde ölmüş bulunmaları, 2,5 mg. almış olanların ölmemeleri ve yine tahminen 4,16 mg. almış olanların ise bir kısmının canlı kalmış olması, hemagglutination testinin ölü rüseyimlerin a.a. sularıyla menfi ve canlı rüseyimlerin sularıyla muhtelif nisbetlerde müsbet reaksiyon görülmesi hallerine göre ve hemagglutination testinin rüseyim sularında virüs bulunup bulunmadığını gösteren bir miyar olmasına dayanarak, antibiyotigin rüseyimi öldürdüğü ve enflüenza virüsünün hassas canlı vücutta yaşadığı ve ürettiği hesabı alınarak, ölü rüseyimlerde bu virüsün çoğalamadığı, az miktarda (12,5 mg.) Terramycin'in de iki saatte virüsü öldürmediğine kanaat getirdim ve tecrübeyi muhtelif istikametlerde tekrarlamaya lüzum gördüm.

#### **İkinci tecrübe :**

**Teknik :** Sureti umumiyede daha evvel yapılmış olan tecrübeye olduğu gibidir. Burada, ayrılan kısımlarla netice bildirilecektir.

**1 — Terramycin mahlülü :** 500 mg. Terramycin Hydrochloride + 450 mg. sodium Glycinate katması bulunan şişeye 10,0 cc. buyyonlu tuzlu su koymak suretiyle yapılmıştır.

**2 — Virüs dilüsyonu :** Enstitüde izole etmiş bulunduğum enflüenza A-Prime, Subtype L virüsü suyu ile 1:50 nisbetinde bir dilüsyon hazırlanmıştır.

**3 — Virüs dilüsyonu + Terramycin mahlülü karması :** 20 cc. hacminde steril santrifüj tüpleri alınmış, üzerlerine sıra numaraları yazılmış, her bir tüpe birinciden itibaren 3,0 cc., 2,5 cc., 2,0 cc., 1,5 cc., 1,0 cc., 0,5 cc., 0,25 cc. Terramycin mahlülü taksim edilmiş, birinci tüpten başkasının su hacmi buyyonlu tuzlu su koymak suretiyle 3,0 cc. ye tamamlanmıştır. Tüpler iyice sallandıktan sonra her birine 2,0 cc. virüs dilüsyonu konmuş, tüp sporu elde dikkatlice sallanmış ve oda hararetinde 3 saat bırakılmıştır.

**4 — Rüseyimlere ekme ve a.a. suyu toplama :** Bundan evvelki tecrübeye olduğu gibidir.

**5 — Rüseyimlerin durumu :** Birinci grupta bulunan rüseyimlerden üçü ölmüş ve biri canlı kalmış ve üçüncü grupta bir rüseyim ölü bulunmuştur.

**6 — Hemagglütination testi :** Ölü rüşeymlerin a.a. sularıyla menfi ve canlı bulunmuş rüşeymlerden ikinci ve üçüncü gruptakilerin a.a. sularıyla en son 1/320 ve diğer gruptakilerin sularıyla 1/640 dilüsyonlarda müsbet reaksiyon görülmüştür.

**Neticenin incelenmesi :** Bu tecrübeye tüplerde sıra ile tahminen 150, 125, 100, 75, 50, 25 mg. Terramycin Hydrochloride, enflüenza virüsü ile (enflüenza A-prime, subtype L'nin tahminen % 0.8 dilüsyonu) üç saat temasta kalmıştır. Birinci tüpten birinci gruptaki rüşeymlerin korio-allantonik kisesine zerke edilmiş olan 0.3 cc. karmada bulunan tahminen 8.3 mg. Terramycin'in bu gruptaki rüşeymlerin dörtte üçünü öldürdüğü, bu ölü rüşeymlerin a.a. sularıyla yapılmış olan hemagglütination testinin menfi reaksiyon ve canlı kalmış olan bir rüşeym suyu ile 1/640 nisbetindeki dilüsyonda müsbet reaksiyon verdiği görülmüştür.

**Tecrübenin neticesi hakkındaki karar :** Bu tecrübeye birinci grupta bulunan yumurta rüşeymlerine tahminen 8.3 mg. Terramycin Hydrochloride'in öldürücü tesir yaptığı, daha aşağı miktarların öldürmediği, lakin bu antibiyotığın tahminen 150 mg. miktarının bu enflüenza virüs soyunu üç saat in vitro temasta bir zarar vermediği görülmüş ve bu neticenin bundan evvelki tecrübe neticelerini teyit ettiği anlaşılmıştır.

Bundan sonra Terramycin'in yalnız olarak rüşeyme öldürücü miktarını ve Terramycin'in Aureomycin ile birlikte olduğu halde enflüenza virüsü üzerine tesiri tecrübe etmek istedim. İki numaralı tecrübeyi yaparken buna muvazi olarak Aureomycin ile de tecrübe yapmışım. Bunun için önce Aureomycin ile ve bunun arkasından her iki antibiyotik karmasının enflüenza virüsüne tesirini öğrenme bakımından yaptığım tecrübe neticelerini veriyorum.

### **Aureomycin Hydrochloride ile tecrübe**

Bu tecrübeye verit içi zerke mahsus Crystalline Aureomycin Hydrochloride kullanılmıştır.

#### **1 — Aureomycin mahlülü :**

Şişelerde 100 mg. miktarda verit içi zerke hazır bulunan billüri antibiyotik 2.0 cc. buyyonlu tuzlu su içinde eritildi. Üç şişede bulunan antibiyotik mahlülü 20 cc. hacimde bir steril santrifüj tübüne alındı.

#### **2 — Virüs dilüsyonu :**

Enstitüde gripili hastaların boğaz çalkantı suyundan izole edilmiş olan virüs (enflüenza A-Prime subtype L) buyyonlu tuzlu su ile 1/50 nisbetinde bir dilüsyon hazırlandı.

#### **3 — Virüs ve Aureomycin karması :**

Altı steril santrifüj tübü alındı, üzerlerine sıra numaraları yazıldı. Tüplere birinciden itibaren 3.0 cc., 2.5 cc., 2.0 cc., 1.5 cc., 1.0 cc., 0.5 cc., Aureomycin mahlülü

kondu. Birinci tüpten başka diğer tüplere buyyonlu tuzlu su koymak suretiyle her tüpteki mayı hacmi 3.0 cc. ye tamamlandı ve iyice karıştırıldı. Bundan sonra her tüpe 2.0 cc. yeni hazırlanmış virüs dilüsyonu ilâve edildi. Sporu sallayarak virüs ve antibiyotik iyice karıştırıldı. Bu karma üç saat karanlıkta oda hararetinde bırakıldı.

#### 4 — Rüşeymli yumurtaları ekme ve a.a. suları toplama :

Dundun evvelki ve Terramycin ile yapılmış tecrübeye olduğu gibidir.

#### 5 — Rüşeymlerin durumu :

Birinci ve üçüncü gruba ait birer yumurtanın rüşeymi virüs zerkini müteakip ölmüş ve altı grupta bulunan diğer 28 yumurtanın rüşeymleri canlı bulunmuştur.

#### 6 — Hemagglutination testi :

Bu test canlı rüşeymlerin amnio-allantoik suları ile 1/640 nisbetindeki dilüsyonlara kadar (daha ileri dilüsyonlar yapılmamış) müsbet ve ölü rüşeymlerin suları ile menfi reaksiyon vermiştir.

#### Neticenin incelenmesi :

Birinci tüpten (5.0 cc. mayı içinde virüs + 150 mg. Aureomycin) ekilmiş olan 2 yumurta rüşeyminden dördünün canlı kalması ve bunların suyu ile yapılmış olan hemagglutination testinin 1/640 dilüsyonlarda kuvvetli müsbet reaksiyon vermesi bu rüşeymlerde virüsün üremiş olduğunun delilidir. Diğer beş tüpten (antibiyotik mahlülü + virüs dilüsyonu karması) ekilmiş olanlarla yalnız virüs dilüsyonu zerkedilmiş olan yumurta rüşeymi sularının da aynı seviyede müsbet reaksiyon vermişler ve bu suretle altı muhtelif karmadan ekilmiş ve canlı kalmış olan rüşeymlerle yalnız virüs zerkedilmiş olanlar arasında kayda değer bir fark görülmemiştir.

#### Tecrübenin neticesi hakkında karar :

Birinci tüpteki Aureomycin mahlülü — virüs dilüsyonu karmasının 0.3 cc. miktarı içindeki 9 mg. Aureomycin'in rüşeymleri öldürmemesi ve bu canlı rüşeymlerin a.a. mayileriyle yapılmış hemagglutination testinin müsbet zühur etmesi, bu rüşeymlerde enflüenza virüsünün üremiş olduğunun delilidir. Bu neticeye göre in vitro olarak 150 mg. Aureomycin hydrochloride'in enflüenza virüsünü oda hararetinde üç saatte öldürmemiş olduğunu kabul etmek zaruridir. Bundan başka bu netice Terramycin ile yapılmış tecrübe neticeleriyle mukayese edilecek olursa Aureomycin Hydrochloride'in rüşeymler için Terramycin Hydrochloride'den nisbeten daha az toksik olduğu görülür.

#### Aureomycin ve Terramycin karması ile tecrübe

Bu tecrübe için önce Aureomycin ve Terramycin'in ayrı ayrı birer mahlülleri hazırlanmış, sonra bu iki mahlül ile aynı miktar antibiyotik ihtiva etmek üzere bir karma

yapılmıştır. Bu katmadan önce yukarıda Terramycin ve Aureomycin ile olduğu gibi ve aynı virüs ile tecrübeye devam olunmuştur.

#### **Netice :**

Bu iki antibiyotik beraber olduğu halde enflüenza virüsü üzerine tesir bakımından yapılmış olan tecrübeye alınmış olan netice ile bu iki antibiyotik ile ayrı ayrı yapılmış olan tecrübe neticeleri arasında kayde değer bir fark görülmemiştir.

#### **Enflüenza virüsünü yüksek doz Terramycin ile temasa getirmek ve sonra antibiyotik miktarını azaltarak rüçeyme zerketme suretile tecrübe**

#### **Teknik :**

##### **1 — Terramycin mahlülü :**

İçerisinde verit için zerke mahsus 500 mg. Crystalline Terramycin Hydrochloride + 450 mg. sodium glycinate bulunan şişede, her 1,0 cc. buyyonlu tuzlu suda 80 mg. antibiyotik bulunmak üzere bir temel mahlül hazırlanır. Bu tecrübe için lâzım olan iki şişenin her birine 0,25 cc. buyyonlu tuzlu su konur. Şişeler bir kaç defa çalkanırsa şeffaf sarı bir mahlül meydana gelir. Bu iki şişedeki mahlül steril santrifüj tüpüne toplanır.

##### **2 — Terramycin mahlülü dilüsyonları :**

Steril beş santrifüj tüpü alınır. Çerlerine sıra numarası ve bir de (a) harfi yazılır. İkinci tüpe 1,05 cc., üçüncü, dördüncü ve beşinci tüplerin her birine 4,0 cc., buyyonlu tuzlu su konur. Temel mahlülden birinci ve üçüncü tüpe 4,0 cc., ikinci tüpe 3,0 cc. konur. Üçüncü tüpteki mahlül pipetle çekip bırakmak ve tüpü sallamak suretiyle iyice karıştırılır. Bundan 4,0 cc. alınır, dördüncü tüpe konur ve karıştırılır. Bundan da 4,0 cc. beşinci tüpe konur. Bu suretle tüplerde sıra ile 4,0 cc. içinde 320, 240, 160, 80, 40 mg. Terramycin bulunmak üzere beş muhtelif Terramycin mahlülü yapılmış olur.

##### **3 — Virüs dilüsyonu :**

Bu tecrübeye enflüenza A PR<sub>1</sub> virüs soyunun buyyonlu tuzlu suda 1/50 nisbetinde hazırlanmış dilüsyonu kullanılmıştır.

##### **4 — Antibiyotik ve virüs karması :**

Her birinde 4,0 cc. hacimde beş muhtelif Terramycin mahlülü bulunan tüplere virüs dilüsyonundan 0,1 cc. konur. Tüpler iyice sallanarak virüs ve antibiyotik karıştırılır. Bu suretle muhtelif miktarlarda Terramycin bulunan tüplerin hepsinde tahminen

1/400 nisbetinde virüs dilüsyonu bulunmuş olur. Virüs ve antibiyotik karması bulunan tüpler karanlıkta oda hararetinde iki saat bırakılır. Bu zaman zarfında tüpleri bir kaç defa sallamalıdır.

### 5 — Ekme :

12 günlük canlı rüşeymler tavuk yumurtaları her birinde beş yumurta bulunmak üzere beş grup halinde yumurta süporlarına yerleştirilir ve üzerleri yazılır.

Beş steril santrifüj tüpü alınır her birine sıra numarası ve bir de (b) harfi yazılır. Her tüpe 4.0 cc. buyyonlu tuzlu su konur. (a) işaretli santrifüj tüplerinden ayrı ayrı steril pipetlerle 1.0 cc. alarak aynı numaradaki (b) işaretli tüplere konur ve karıştırılır. Bu suretle oda hararetinde iki saat kalmış olan virüs — antibiyotik karmalarından buyyonlu tuzlu su ile 1 : 5 nisbetinde sulandırılarak ikinci bir karma sırası hazırlanmış olur.

Her dilüsyondan önce sulandırılmış (b) ve sonra sulandırılmamış (a) tüpünden beşer yumurtanın rüşeyminin korio-allantoik kisesine 0.25 cc. zerkedilir. Telkih edilmiş yumurtalar bundan evvelki tecrübelerde olduğu gibi iki gün 36 C. derecelik etüvde bırakılır ve 24, 48 inci saatlerde muayene edilerek canlı veya ölü oldukları işaret edilir. Yumurtalar bir gece 4 C. derecede bulundurulduktan sonra açılır. Her yumurtanın rüşeym suyu ayrı ayrı steril tüplere alınır. Her sudan hemagglutination testi yapılır.

### Rüşeymlerin durumu :

Birinci gruptaki (a) işaretli (sulandırılmadan ekilmiş ve her rüşeyme 20 mg. Terramycin verilmiş) beş yumurtanın rüşeymleri 24 üncü saatte ölü, (b) işaretli (1 : 5 nisbetinde sulandırılmış ve rüşeyme 4 mg. Terramycin verilmiş) beş yumurtanın rüşeymlerinden yalnız biri ölü diğerleri canlı görülmüştür.

İkinci gruptaki (a) işaretli (sulandırmadan ekilmiş) yumurtalardan dördünün rüşeymi 24 üncü saatte ölmüş ve biri şüpheli görülmüş, (b) işaretli (1 : 5 nisbetinde sulandırılmış) beş yumurtanın rüşeymleri canlı bulunmuştur.

Üçüncü grubun (a) işaretli (sulandırılmadan ekilmiş) yumurtalarından ikisi ölü, üçü canlı ve (b) işaretli (1 : 5 nisbetinde sulandırılarak ekilmiş) biri ölü ve diğerleri canlı görülmüştür.

Dördüncü ve beşinci grubun (a) işaretli (sulandırmadan ekilmiş yumurtalarından evvelkinde bir, ikincisinde üç ölü ve diğerleri canlı, (b) işaretli (1 : 5 nisbetinde sulandırılarak ekilmiş) olanların hepsinin canlı oldukları görülmüştür.

Bu 50 rüşeymin ölü olanlarının suları bulantık sarı veya esmer renkte, tortulu, miktarları az, canlı olanlarda ise renksiz şeffaf ve miktarları da tahminen 10-12 cc. bulunmuştur.

### Hemagglutination testi :

Birinci grupta (a) işaretli (sulandırılmamış) karmadan ekilmiş ve 24 üncü saatte ölü bulunmuş rüşeymlerin sularından hemagglutination testi menfi ve aynı grubun (b) işaretli (sulandırılmış) karmasından ekilmiş, lakin ölmemiş olan rüşeymlerin sularında aynı test 1/640 nisbetindeki dilüsyonlarda (daha ileri dilüsyonlar yapılmamıştır) müsbet, diğer gruplardaki rüşeymlerin suları ile yapılmış olan hemagglutination testinde canlı olanlarda müsbet ve ölü olanlarda menfi reaksiyon görülmüştür.

### Neticelerin incelenmesi :

1 — Birinci ve ikinci gruplarda sulandırılmamış olan antibiyotik — virüs karmasının zerke­dilmiş olduğu rüşeymlerin ölmeleri ve sulandırılmış olanların ölmemeleri rüşeymlere zerke­dilmiş olan 0,25 cc. hacim içinde bulunan 20 mg. Terramycin Hydrochloride'in rüşeyme toksik tesir yaptığı 1 : 5 nisbetinde sulandırıldıktan sonra ekilmiş olanlara isabet eden aynı antibiyotik'in 4 mg. miktarının artık rüşeyme zarar vermediğini gösterir.

2 — Birinci grubun (a) işaretli yumurtalarının sularında hemagglutination testi­nin menfi reaksiyon vermesine bakarak doğruca in-vitro olarak iki saat zarfında virüsün antibiyotik tesiri ile telef olduğu ve bundan dolayı bu karmadan ekilmiş olan rüşeymlerde virüs üremesi görülmeyeceği zannedilebilirdi. Lâkin aksine olarak, birinci tüpe iki virüs ve antibiyotik karması 1 : 5 nisbetinde sulandırılarak —yani antibiyotik rüşeym için zararsız bir doza düşürülerek— ekilmiş olan rüşeymlerin sularıyla yapılmış olan hemagglutination testinin neticeleri durumu aydınlatmıştır. Bu netice birinci grubun (a) işaretli yumurtalarının amnio-allantoik sularıyla hemagglutination testinin menfi reaksiyon vermesi rüşeymlerin antibiyotik tesiriyle erken ölmüş ve bu ölü rüşeymlerde enflüenza virüsünün ürememiş olmasına, ikincilerde yani sulandırılmış karmadan ekilmiş olan rüşeymlerin sularında hemagglutination testinin müsbet reaksiyon vermesi, sulandırılarak miktarca azaltılarak zerke­dilmiş karmadaki antibiyotik'in rüşeymi öldürmeğe kâfi gelmediğinden, canlı kalan rüşeymlerde virüsün üremiş olmasına, bu da 1,0 cc. katmada 80 mg. Terramycin'in virüsü oda hararetinde iki saat beraber kaldıkları halde öldürmemiş olduğuna delâlet eder.

Bu tecrübeye muvazi olarak bir kontrol tecrübesi yapılmıştır. Şöyle ki, birinci grubun (b) işaretli ve birinci karmanın 1 : 5 nisbetinde sulandırılmayından ekilmiş olan yumurtaların ve hemagglutination testinin müsbet zuhur ettiği rüşeym suları karmasından 1/400 nisbetinde yapılmış dilüsyondan 12 günlük rüşeyimli beşer yumurtanın korio-allantoik kisesine 0,25 cc. zerke­dilmiş ve bu rüşeymler 48 saatte canlı kalmış ve suları manzara, miktarca normal bulunmuş ve bunlarla yapılmış hemagglutination testi de 1/640 dilüsyona kadar müsbet zuhur etmiştir. Bu da virüsün sulandırılmış karmada telef olmamış olduğunun kat'î bir delilidir.

### **Neticeler hakkında karar :**

Bu neticelere göre Terramycin Hydrochloride ve enflüenza A PR<sub>1</sub> virüs tipi ile yapılmış olan in vitro ve in vivo tecrübelerde yukarıda bildirilen miktarlarda ve bilhassa 4,0 cc. may: içinde en yüksek doz olan 320 mg. Terramycin'in 1/400 nisbetinde bulunan enflüenza virüsünü iki saatte öldürmediğine hükmetmiş oluyoruz.

Bu tecrübelerle muvazî olarak, aynı miktarlarda yalnız antibiyotik kullanmak suretiyle tecrübe yapılmış ve antibiyotik'in toksik, zararlı ve zararsız olan miktarları tesbit edilmiş, alınan netice virüs + antibiyotik karması ile yapılmış olan tecrübelerden alınan neticelere uygun bulunmuştur.

### **Terramycin Hydrochloride'in enflüenza virüsü tiplerine karşı koruyucu tesiri olup olmadığını tecrübe**

#### **Teknik :**

Biraz yukarıda muhtelif dozlarda antibiyotik mahlülü - virüs dilüsyonu karması ile yapıldığı gibidir. Antibiyotik mahlülü, bu mahlülün muhtelif dilüsyonları ve virüs dilüsyonu da aynı tarzda ayrı ayrı hazırlanmış, yalnız karma yapılmamıştır.

Önce, 12 günlük canlı rüşeyimli tavuk yumurtalarının korio-allantoik kisesine beş muhtelif dilüsyonun her birinden 0,25 cc. zerkedilmiştir. Birinci gruptaki beş rüşeym 20 mg., diğer gruplardaki beşer rüşeyme sıra ile 15, 10, 5, 2,5 mg. antibiyotik verilmiştir.

Yumurtalar bir saat etüvde 36 C. derecede bırakılmış ve sonra buyyonlu tuzlu suda 1/400 nisbetinde hazırlanmış enflüenza A PR<sub>1</sub> virüs dilüsyonunda 0,25 cc. zerkedilmiş ve tekrar 36 C. derecelik etüve konmuştur.

Tecrübenin bundan sonraki seyri, virüs + antibiyotik karması ile yapılmış olandaki gibi devam etmiştir.

#### **Netice :**

Burada her beş gruptaki rüşeymlerin muayenesinde canlı ve ölü görülenerin nisbeti, ölü ve canlı rüşeymlerin sularının manzara ve miktarları, hemagglutination testi hususlarında alınmış olan netice ile bundan evvelki Terramycin - virüs karması ile yapılan tecrübedeki grupların (a) işaretli yumurtalarının (sulandırmadan ekilmiş) rüşeymlerinde görülmüş ve rüşeym sularıyla yapılmış hemagglutination testinden alınmış neticeler arasında beraberlik müşahade edilmiştir. Daha başka bir ifade ile aynı miktar antibiyotik'i virüs dilüsyonu ile karma yapmak, iki saat oda hararetinde bırakmak ve sonra ekme suretiyle alınan netice ile, önce antibiyotik mahlüllerinin aynı miktarını zerkedip bir saat sonra aynı miktar virüs dilüsyonu vermekle alınan netice arasında esaslı bir fark görülmemiştir. Bu suretle benim tecrübelerimde Quilligan ve arkadaşla-



rının tasavvurlarının aksine olarak Terramycin Hydrochloride'in enflüenza virüs tipine karşı koruyucu bir tesiri olmadığına kanaat getirmiş bulunuyorum.

### **Epidemik enflüenza ve Gripal enfeksiyon denilen hastalıklarda Aureomycin ve Terramycin'in tesiri**

Epidemik enflüenzaya musabiyeti virüs izole etmekle tesbit edilmiş hastalarla, gripal enfeksiyon adı verilen teneffüs cihazı hastalıkları musaplarına yukarıda tecrübeye aldığım antibiyotiklerden vermek suretiyle bir klinik tecrübe ve müşahedesi de yapmak istedim. R. S. M. Hif. Enstitüsünün böyle bir tecrübeye müsait intaniye kliniği olmadığından bu tecrübenin yapılması mümkün olamamıştır. Lâkin muhtelif şiddette gripal enfeksiyon levhası arzeden hastalara firmaları tarafından Enstitüye tecrübe maksadıyla gönderilmiş olan Aureomycin'in ve Terramycin'in 250 mg. lık kapsüllerinden günde 2 x 3 hattâ üç defa birer adet vermek suretiyle bu iki antibiyotik'in tesiri takip edilmiştir. Hususiyle Enstitü müstahdemini arasında gripal enfeksiyon levhası arzeden hastalara Enstitü Müdürü Dr. Niyazi Erzin ile birlikte bu antibiyotikleri ve bilhassa Terramycin'i lüzumuna göre 1-3 gün verdik. Antibiyotik verdiğimiz bu hastalarda hastalık arazının hafiflediğini, ateşin düştüğünü, normal halin sür'atle avdet ettiğini gördük. Bu tarzda tedavi görmüş olanlar, işlerinden 1-2 günden fazla uzak kalmamışlar, hastalığı kısa gecirmiş olan bu hastalar arasında bir müddet daha balgam çıkaran, öksüren, zafiyet ve durgunluk hissedenlere de rastlanmamıştır.

Bir defa gripal enfeksiyon başlamış, bu antibiyotiklerden biri verilmemiş olan hastaların mühim bir kısmında hastalığın kronik olarak devam ettiği, balgam itrahının ve öksürüğün durmadığı bu gibi şahıslarda iş randımanının düğmüş olduğu görülmüştür.

Bu müşahedeler, Aureomycin ve Terramycin'in enflüenza virüsüne öldürücü bir tesiri olmamakla beraber 1-4 gün gibi kısa seyirli olan epidemik enflüenza musaplarına verilmesinin, bu virüs intanıma refakat eden ve bu intanı şiddetlendiren, bazan ölüme nihayetlenen ihtilâtları meydana getiren bakterilerin tahrip edilmelerine sebep olmaları dolayısıyla bu epidemide olduğu gibi umum gripal enfeksiyon adı verilen hastalıklarda verilmesinin ihtilâtları önleyeceği ve grip epidemilerinde de ölüm sayısını çok düşüreceği ümit edilebilir.

### **Diğer Antibiyotiklerin enflüenza virüsüne tesiri hakkında tecrübeler**

#### **Polymyxin B Sulfate ile tecrübe :**

Bu tecrübede Polymyxin M sulfate steril 200,000 Units equivalent to 20 mg. polymyxin B standart for topical use only etiketli antibiyotik kullanılmıştır (6). Tecrübe tekniği iki evvelki antibiyotiklerle olduğu gibidir. 3,0 cc. antibiyotik + virüs (enflüenza A-Prime subtype L) karması içinde bulunan 0,0025 gr. polymyxin B sulfate iki saat zaman içinde oda hararetinde bu virüsü öldürmeğe kâfi gelmemiştir. Bu karmasının 0,3 cc. miktarının ihtiva ettiği 0,00025 gr. polymyxin de rüşeymleri öldürmemiştir.

### **Chloramphenicol ile tecrübe :**

Tecrübeye 250 mg. lık iki kapsul muhtevisini bir tüpe koymak ve bunu 5,0 cc. buyyonlu tuzlu suda eritmek suretiyle temel mahlûlden başlanmış ve bu tüpten bir misli sulandırarak, dört muhtelif Chloromycetin mahlûlü hazırlanmış ve her birine 1/100 nisbetindeki enflüenza virüsü dilüsyonundan 0,1 cc. ilâve edilmiş ve bundan sonra Terramycin ile olduğu gibi devam edilmiştir.

### **Netice :**

Her dört grupta rüşeymler canlı kalmış, rüşeymlerin sularıyla yapılmış olan hemagglutination testi de müsbet reaksiyon vermiş olduğundan bu antibiyotik'in bu tecrübe şartları dahilinde enflüenza virüsünü öldürmediği öğrenilmiştir.

### **Nydrazid ile tecrübe :**

Bir tüpe her birinde 100 mg. nydrazid bulunan dört tablet ve 4,0 cc. buyyonlu tuzlu su koymak suretiyle her bir cc. içinde 100 mg. nydrazid bulunan bir temel mahlûl hazırlanmıştır. Diğer dört tüpün her birine 2,0 cc. buyyonlu tuzlu su konmuş ve temel mahlûl ile bir misli sulandırarak 1 cc. içinde sıra ile 100, 50, 25, 12,5, 6,25 mg. nydrazid bulunan beş muhtelif mahlûl yapılmıştır. Her tüpe 1/100 nisbetinde virüs dilüsyonu bulunmak üzere enflüenza virüsü konmuştur. Bundan sonra tecrübeye Terramycin ile olduğu gibi devam edilmiştir.

### **Netice :**

Rüşeymlerin muayenelerinde ölmedikleri ve bunların sularıyla yapılmış olan hemagglutination testinin müsbet reaksiyon verdiği görülmüş ve bu neticeye göre nydrazid'in bu tecrübe şartları dahilinde enflüenza virüsünü öldürmediği anlaşılmıştır.

### **Bazı şemoterapötik maddelerin (Merthiolate de soude, Rivanol, Trypaflavine, Atebrin, Quinine) enflüenza virüsüne tesiri hakkında tecrübeler**

#### **Merthiolate de soude ile tecrübe :**

Aşilar ve serumlara bahusus grip aşısına muhafaza maksadiyle 1/10.000 nisbetinde koymakta bulunduğumuz Merthiolate de soude'un grip virüs tipleri üzerine tesirini tecrübe etmek için önce bu maddenin tuzlu suda 1/100 nisbetinde bir mahlûlünü hazırladım. Bu temel mahlûl ile tecrübeye başladım. 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1000, 1/2000, 1/4000, 1/8000, 1/16.000 nisbetindeki mahlûllerde 1/200 nisbetinde virüs bulunmak üzere enflüenza virüsü koydum. Bu karma iki saat oda hararetinde kaldıktan sonra ilk beş tüpteki karma 1/2000 ve 1/4000 nisbetinde Merthiolate ihtiva edecek surette sulandırılmıştır. Her tüpten 4 adet 12 günlük canlı rüşeyimli tavuk yumurtalarına iki sıra halinde (sulandırılmış ve sulandırılmamış) olarak ekilmiş ve tecrübeye sureti umumiyede Terramycin ile olduğu gibi devam edilmiştir.

### Netice :

Merthiolate de soude'un muhtelif nisbetteki mahlûllerıyla virüs dilüsyonu karmalarından 1/1000 e kadar olanların sulandırılmamışlarından ekilenlerin hepsi ve 1/1000 dilüsyondan ekilenlerin 3-4 dü ve 1/2000 dilüsyonlardan birer rüşeym ölmüş oldukları ve bu ilk beş dilüsyondan 1/2000 ve 1/4000 nisbetinde Merthiolate kalacak surette sulandırıldıktan sonra ve 1/2000, daha yukarı karmalardan sulandırılmadan ekilmiş olan yumurtaların rüşeymleri başka bir sebebe bağlanan bir kaç müstesna, hepsi canlı kalmışlardır.

Ölü rüşeymlerin sularıyla yapılmış hemagglutination testinin menfi ve canlı kalmış olanlarda müsbet reaksiyon müşahede edilmiştir. Yalnız 1/2000 Merthiolate mahlûlü + virüs dilüsyonu karmasından zerkedilmiş rüşeymlerin sularıyla yapılmış olan hemagglutination testinde aşağı dilüsyonlarda müsbet, ileri dilüsyonlarda menfi görülmesi rüşeymin 1/2000 Merthiolate mahlûlü - virüs dilüsyonu karmasında bir müddet yaşadığı ve bu kısa zaman zarfında virüsün biraz üreyebilmiş olduğu ve rüşeym öldükten sonra virüs üretmesinin durmuş bulunduğu ve bu sebepten ancak ileri dilüsyonlarda müsbet reaksiyon görüldüğü tarzında izah edilebilir.

Canlı kalmış rüşeymlerin a.a. sularıyla yapılmış olan hemagglutination testinin müsbet görülmüş olması 1/100, 1/200, 1/400, 1/600, 1/1000 nisbetindeki Merthiolate de soude mahlûlü - 1/200 virüs dilüsyonu karmasında virüsün iki saat zarfında telef olmadığına delâlet eder. Bu neticeye göre 120,000 nisbetinde kadar Merthiolate de soude bulunan buyyonda stafilokok (*Staphylococcus aureus*) üremediği halde, aynı maddenin 1/100 gibi kesif mahlûlleri enflüenza virüsünü öldürmediği anlaşılmıştır.

Rivanol ve Trypaflavine ile yapılmış tecrübelerde 1/2000 nisbetindeki mahlûllerinin grip virüsü soylarını öldürmedikleri görülmüştür.

### Atebrin ile tecrübe :

Chorhydrate de quinine tecrübesinde olduğu gibi ve ona muvazî olarak aynı şartlarda tecrübe yapılmış, birinci grupta 1,0 cc. atebrin mahlûlü + virüs dilüsyonu karmasında bulunan 50 mg. atebrin'in enflüenza A PR<sub>1</sub> virüs soylarını oda hararetinde iki saatte öldürmediği, bu karma 1 : 5 nisbetinde sulandırıldıktan sonra ekilmiş olan 0,3 cc. sulu karmadaki 0,03 gr. atebrin'in de rüşeymi öldürmediği anlaşılmıştır.

### Chlorhydrate de Quinine'in enflüenza virüsüne tesiri hakkında tecrübe

Bu tecrübede, Sağlık Vekâletinin Kinin ve Komprimehane Müdürlüğü laboratuvarlarında memleket ihtiyacı için sarfedilmek üzere hazırlanmakta olan kinin ampulleri kullanılmıştır. 2,0 cc. hacminde olan bu ampullerin etiketinde 1,0 gr. chlorhydrate de Quinine - 0,60 gr. urethan ihtiva ettiği yazılıdır.

### **Tecrübe tekniği :**

5 adet steril 20 cc. hacminde santrifüj tüplerinin her birine 2.0 cc. steril fizyolojik tuzlu su konmuş üzerleri numaralanmıştır. Birinci tüpe 2.0 cc. lik bir kinin ampülü boşaltılmış, iyice karıştırılmış ve 4.0 cc. mayide 1.0 gr. kinin ihtiva eden bir mahlül elde edilmiştir. Birinci tüpten 2.0 cc. miktar alıp ikinci tüpe konmuş, iyice karıştırıldıktan sonra 2.0 cc. alıp üçüncü tüpe konmuş, aynı tarzda dördüncü ve beşinci tüpe kadar gidilmiş, bir misli sulandırılmış kinin mahlülleri meydana gelmiştir.

### **Kinin mahlülü + virüs karması :**

Üzerleri numaralanmış beş steril tüp alınır. Her bir tüpe daha evvel yapılmış olan aynı numaralı kinin mahlülünden 1.0 cc. konur. Her mahlül için ayrı pipet kullanılmıdır. Her tüpe buyyonlu tuzlu suda 1/100 nisbetinde hazırlanmış virüs dilüsyonu (enflüenza A-prime subtype L) konur. Tüplerin muhteviyatı hafif çalkalamak suretiyle iyice karıştırılır. Bu kinin mahlülü + virüs dilüsyonu karması oda hazaretinde karaulıkta iki saat bırakılır.

### **Ekme :**

Kinin mahlülü + virüs dilüsyonu karması bulunan her tüpten dörder adet 12 günlük canlı rüşeyimli tavuk yumurtalarının korio-allatoik kisesine 0.3 cc. zerkedilmiş, 36 C. derecelik etüve konmuş, 48 saat sonra canlı veya ölü oldukları muayene ve her yumurta üzerine işaret edildikten sonra umum yumurtalar bir gece 4 C. derecede bırakılmıştır. Her yumurta usulüne göre açılmış ve rüşeym suları ayrı ayrı steril tüplere alınmış ve her birinden bakteri bakımından sterilite kontrolü yapılmıştır.

### **Rüşeymlerin durumu :**

36 C. derecelik etüvede 48 saat kalmış olan yumurtaların muayenelerinde 1, 2, 3 üncü gruptaki rüşeymlerin hepsinin, dördüncü gruptakilerin 3-4 nün ve beşinci gruptakilerden de birisinin öldüğü ve üçünün canlı kalchığı görülmüştür.

### **Rüşeym sularının durumu :**

İlk üç gruptaki rüşeym sularının manzarası bulanık koyu sarı kırmızı renkte görülmüş, her birinde tahminen 3.0 cc. su bulunmuştur. Dördüncü grupta bulunan ve 48 inci saatte canlı bulunmuş olan rüşeymlerin suları, hafif mat şeffaf ve renksiz ve beşinci grupta bulunan üç canlı rüşeymin sularının renksiz şeffaf, ölü bulunmuş olan ise esmer kırmızı mat manzarada görülmüştür.

### **Rüşeym sularıyla Hemagglutination testi :**

İlk dört gruba ait rüşeymlerin sularıyla yapılmış olan hemagglutination testi tamamen menfi beşinci grubun canlı görülmüş olan üç rüşeyminden ikisinin suyu 1/640 di-

lasyonu kadar müsbet ve üçüncüsünün ve ölü olan dördüncü rüşeymin suları menfi reaksiyon vermiştir.

#### **Kinin + virüs karmalarındaki kinin miktarı :**

Beş tüpteki 2.0 cc. kinin + virüs karmasında sıra ile birinciden itibaren 0,25, 0,125, 0,06, 0,03, 0,015 gr. kinin ve hepsinde aynı miktarda 1/200 nisbetinde virüs dilüsyonu vardır. Her rüşeyme zerke edilmiş olan 0,3 cc. karma içinde ise yine sıra ile birinciden itibaren 0,0375, 0,01875, 0,009375, 0,0046875, 0,0023435 gr. dir.

#### **Rüşeymlerin ölmelerinin ve canlı kalmalarının incelenmesi :**

1, 2, 3 üncü gruptaki rüşeymlerin hepsinin 0,3 cc. karma içinde bulunan ve yukarıda bildirilen miktardaki kinin tesiriyle zerki müteakip ölmüşlerdir. Dördüncü gruptaki rüşeymlere isabet eden miktar, üçüncü gruptakilerin yarısı olan 0,0046875 gr. dir. Bu miktar rüşeymleri öldürmeğe kâfi gelmemiştir. Rüşeym sularının miktarlarının azlığı, manzaraları ve bunlarda hemagglutination testinin menfi oluşu rüşeymlerin erken öldüklerinin delilidir. Şayet rüşeymler bir müddet yaşamış olsalardı, bu rüşeymlerin sularında, rüşeymlerin canlı kaldıkları zamanın fazlalığı ile mütenasip olmak üzere virüs üremiş olması icap ederdi. Bu takdirde hemagglutination testi de virüs üremesi nisbetinde müsbet reaksiyon verirdi.

Dördüncü gruptaki rüşeymlerin canlı olanlarının sularının renksiz, şeffaf olmalarıyle miktarlarının fazlalığına bakılırsa bu canlı rüşeymlerde enflüenza virüsü üreme zemini ve imkânı bulunduğu halde ürememiş olması, hemagglutination testinin menfi görülmesiyle sabittir. Bu duruma göre dördüncü tüpteki kinin + virüs karmasındaki kinin miktarının virüsü öldürmüş olduğuna işaret olarak kabul etmek zaruridir. Kinin virüsü öldürmemiş olsaydı canlı olan rüşeyimde virüsün üremesi lâzım gelirdi.

Beşinci gruptaki rüşeymlerden birisi başka bir sebepten erken ölmüştür. Canlı kalmış olan ve suları şeffaf, renksiz ve miktarları normal üç rüşeymden ikisinde hemagglutination testinin 1/640 dilüsyonlarda müsbet görülmesi bu sularda virüsün ürettiği ve birinde ise bu testin menfi oluşu bunda virüsün ürememiş olmasına ihtimal verilebilir.

#### **Netice :**

Dördüncü gruba ait tüpte bulunan 0,03 gr. kininin 1/200 nisbetinde bulunan 2.0 cc. mayideki enflüenza virüsünü öldürmeğe kâfi geldiği, lakin bu karmadan zerke edilen 0,3 cc. mayide bulunan 0,0046 gr. kininin rüşeymi öldürmediği, beşinci tüpte bulunan karmasının 0,3 cc. miktarında bir evvelkinin yarısı olan 0,0025 gr. kininin rüşeymi öldürmemiş olması tabii idi. lakin bu beşinci tüpteki karmada bulunan 0,015 gr. kininin 1/200 nisbetinde bulunan 2.0 cc. sudaki enflüenza virüsünü kısmen öldürmüş olduğu hükmedilebilir.

Bu tecrübeye muvazî olarak daha sulü virüs dilüsyonu ekilmiş pek çok yumurtalarda virüs üremiş ve bu yumurtaların rüşeym suları ile yapılmış hemagglutination testi yüksek dilüsyonlarda müsbet reaksiyon vermiştir.

Yukarıdaki tecrübe, altı muhtelif kinin mahlülü ve virüs dilüsyonu karmasını oda hararetinde iki saat bırakmak ve sonra rüşeymlere zerke edilen kinin miktarını azaltmak için sulandırarak yumurtalara vermek suretiyle tekrarlanmıştır.

Birinci grup kinin = virüs karmasında 2,0 cc. su içinde 1/100 nisbetindeki virüs dilüsyonu iki saat 0,25 gr. (1,0 cc. de 0,125 gr.) kinin tesiri altında kalmış, 1 : 8 nisbetinde sulandırıldıktan sonra 0,3 cc. içinde 0,0046 gr. kinin zerke edilmiş olduğundan rüşeymler bu miktara dayanamamışlardır.

İkinci gruptaki karmada yarı miktarda kinin bulunduğundan 1:8 nisbetinde sulandırıldıktan sonra zerke edilen 0,0023 gr. kinin rüşeymleri 4/5 nisbetinde öldürmüş ve üçüncü gruptaki rüşeymler ise 0,0011 gr. kinin almışlar ve bu miktar rüşeymlerin 1/5 inin birinci günde, 2 5 nin 48 inci saatte öldükleri, diğer iki rüşeymin 48 inci saatte canlı buldukları 4 rüşeymin bir günden fazlasına yaşadıkları görülmüştür.

Dördüncü gruptaki kinin = virüs karmasında 2,0 cc. su içinde 1/100 nisbetinde bulunan virüs iki saat 0,3125 gr. kinin tesiri altında kalmış, bu defa 1 : 4 nisbetinde sulandırılmış olduğundan her rüşeyme 0,00115 gr. kinin zerke edilmiş, rüşeymlerin yalnız biri ölmüş diğerleri canlı kalmıştır.

Beşinci grupta kinin dördüncü nazaran bir misli sulandırılmış halde 2,0 cc. deki virüsler 0,00156 gr. kinin tesiri altında kalmış ve bu karma bir misli sulandırıldıktan sonra 0,3 cc. miktar su (0,00078 gr.) zerke edilmiş olan rüşeymler ölmemiş, bunların suları şeffaf, renksiz ve miktarca da tahminen 10,0 cc. bulunmuştur.

Altıncı gruptaki rüşeymlerin hepsi 24 üncü saatte canlı ve 48 inci saatte yalnız biri ölü, dördü canlı görülmüş ve hepsinin suları şeffaf, renksiz ve miktarları da 10-12 cc. arasında bulunmuştur.

#### **Hemagglutination testi :**

İlk beş gruptaki 25 yumurtanın amnio-allantoik sularıyla yapılmış olan hemagglutination testi 1/10—1/640 dilüsyonlara kadar (daha ileri dilüsyonlar yapılmamış) menfi reaksiyon ve altıncı gruptaki yumurtanın amnio-allantoik suları 1/640 dilüsyonlara kadar müsbet reaksiyon vermiştir.

#### **Neticenin incelenmesi :**

Birinci gruptaki rüşeymlerin hepsinin, ikinci grupta bulunan dört rüşeym daha ilk günde kinin tesiriyle ölmüş olduklarından virüsün çoğalacak bir zemin ve muhit bulunmamış olduğu kabul edilebilir. İkinici grupta 48 inci saatte canlı kalmış olan rüşeymin şeffaf, renksiz ve miktarca normal bulunan suyunda hemagglutination testinde menfi reaksiyon görülmesi, virüs için muvafık bir üreme vasatı olan canlı rüşeyimde çoğalmaması, daha evvel virüsün ölmüş olduğuna delâlet eder.

Üçüncü grupta, 24 üncü saatte dört rüşeym, dördüncü grupta 4, 5 ve beşinci grupta umum rüşeymler 48 inci saatte bile canlı buldukları halde bunların a.a. sulariyle yapılmış olan hemagglutination testinin menfi reaksiyon vermesi virüsün daha evvel ölmüş ve bu sebepten rüşeyimde ürememiş olduğuna hükmedilir.

Altıncı grupta 48 inci saatte canlı kalmış olan umum rüşeymlerin şeffaf ve renksiz olan a.a. sulariyle yapılmış olan hemagglutination testi 1/640 dilüsyonlarda müsbet reaksiyon vermiş olduğundan bunlarda virüsün üredigine, daha evvel in vitro quinine — virüs karmasında virüsün iki saatte ölmemiş olduğuna hükmedilir.

Kontrol olarak yalnız 1/400 virüs dilüsyonundan ekilmiş olan rüşeymlerde kuvvetli virüs üremesi görülmüştür.

### **Netice hakkında karar :**

Bu tecrübeye Chlorhydrate de quinine virüs ile oda hararetinde iki saat temasta bulundurulduktan sonra sulandırılarak quinine miktarı rüşeyme zarar vermeyecek bir miktara düşürülmüş ve sonra ekilmiş olduğundan, quinine'in rüşeyme zarar veren ve öldürücü tesir yapan miktarı ile in vitro olarak enflüenza virüs tiplerinin öldürücü dozu tesbit edilmiştir. Bu tecrübe şartları dahilinde 2,0 cc. 1/100 virüs dilüsyonunda 0,03125 gr. quinine (1 cc. de 0,01565 gr.) ve hatıra yine 2 cc. 1/100 virüs dilüsyonunda 0,01565 gr. quinine (1 cc. de 0,0078 gr.) in enflüenza virüs tiplerini kat'i surette öldürdüğü ve 0,0046 gr. quinine'in rüşeymi % 100 ve 0,00230 gr. in % 80 nini öldürdüğü, 0,0011 gr. in de zararlı olduğu ve % 20 nisbetinde öldürdüğü, 0,0005775 gr. in öldürmediği görülmüştür. Hülâsa edilecek olursa, bu netice 1,0 cc. miktarda 0,0078 gr. Chlorhydrate de quinine bulunan bir vasatta enflüenza virüs soylarının telef olacaklarını göstermektedir.

Bu tecrübe bir evvelki tecrübeyi kontrol etmek ve kinin mahhüllerini daha başka bir nisbette hazırlayarak daha evvel bulunmuş olan ve virüsü öldüren ve öldürmeyen rakamları tasdik ve bunlar arasındaki rakamı da öğrenmek maksadıyla yapılmış ve bir birine muvazi iki sıra halinde takip edilmiştir. Birinci gruptaki kinin mahhülü ve virüs dilüsyonu karmasının her bir cc. miktarında 0,05 gr., ikincide 0,025, üçüncüde 0,0125, dördüncü grupta 0,00625 quinine ve her grupta 1/100 virüs dilüsyonu bulunmuştur.

Quinine mahhülü — virüs dilüsyonu karmaları iki saat oda hararetinde kaldıktan sonra birinci grup 1/10, diğer üç grup 1/5 nisbetinde sulandırıldıktan sonra her yu-murtaya 0,3 cc. zerkedilmiştir. Bu tecrübenin diğer teknik kısımları aynen yukarıda yazıldığı gibi tatbik edilmiştir.

### **Netice :**

#### **Rüşeymlerin durumu :**

Birinci sıra dört gruptaki rüşeymlerden birinci ve dördüncü gruptan birer rüşeym, ikinci sıra dört grubun birincisinde bir rüşeym ölü, a.a. suları esmerimsi şeffaf, miktar-



ları az, diğer rüşeymler canlı ve suları da şeffaf renksiz veya hafif mat, miktarları 8-12 cc. arasında bulunmuştur.

#### **Hemagglutination testi :**

İki sıranın ilk üç grubunun rüşeymlerinin a.a. sularıyla yapılmış olan bu test tamamen menfi ve her iki dördüncü grubun sularıyla müsbet reaksiyon vermiştir.

#### **Neticenin incelenmesi :**

İki sıra halinde yapılmış bu tecrübeye birinci grupta 1,0 cc. karmada bulunan 0,2 gr. quinine 1 : 10 nisbetinde sulandırıldıktan sonra ekilmiş olan 0,3 cc. karmadaki 0,0015 gr. quinine'in rüşeymi öldürmediği, ikinci grupta 1 cc. karmada bulunan 0,1 gr. quinine 1 : 5 nisbetinde sulandırıldıktan sonra rüşeyme zerkedilmiş olan 0,3 cc. karmadaki yine 0,0015 gr. quinine'in de aynı neticeyi verdiği görülmüş ve her iki grup bir birini kontrol etmiştir. Üçüncü gruptaki rüşeymlere bir misli daha az olarak 0,00075 gr. quinine zerkedilmiştir. Burada da rüşeymler ölmemiştir. Bir misli daha az quinine zerkedilmiş olan dördüncü gruptaki rüşeymlerden birisi bir artıştan ölmüş lakin diğerleri canlı görülmüştür.

Her iki sıradaki dört grupta rüşeymler canlı buldukları halde, hemagglutination testinin ilk üç gruptaki rüşeymlerin sularıyla menfi ve her iki dördüncü grupta müsbet reaksiyon görülmesi ilk üç çift karmadaki quinine miktarlarının virüsü öldürdüğüne, dördüncü karmadaki quinine miktarının virüsü öldürmeğe kâfi gelmediğine delâlet eder.

#### **Netice hakkında karar :**

Bu tecrübe neticelerinin tetkikinde, üçüncü grupta 1 cc. karma içinde bulunan 0,0125 gr. chlorhydrate quinine'in enflüenza A PR. virüsü soyunu öldürdüğü, dördüncü grupta 1 cc. karma içindeki 0,00625 gr. quinine'in aynı virüsü öldürmeğe kâfi gelmediği görülmüştür. Bu neticeye göre bir evvelki tecrübeye bir cc. karmada 0,0078 gr. quinine'in enflüenza virüsünü öldürdüğü görüldüğü halde bu son tecrübeye 0,00625 gr. miktarın öldürmediği görülmekle enflüenza virüsüne toksik tesir eden miktar meydana çıkarılmış ve bir evvelki tecrübeye bulunmuş olan rakkamda kontrol ve tasdik edilmiştir.

Bu son tecrübeye hemaggl. testinin menfi olduğu üçüncü grubun a.a. sularının karmalarının buyyonlu tuzlu su dilüsyonundan 5 adet 12 günlük canlı rüşeyimli tavuk yumurtalarının korio-allantoik kisesine 0,3 cc. zerketmek suretiyle yukarıda olduğu gibi tecrübeye devam edilmiş, bu rüşeymlerin a.a. sularıyla yapılmış olan hemagl. testi menfi reaksiyon, yani çift sıra tecrübenin dördüncü grubunun rüşeymlerinin a.a. sularının karması dilüsyonu ile aynı tarzda kültür yapılmış ve bu yumruta rüşeymlerinden alınmış olan a.a. suların hemaggl. testi menfi reaksiyon vermiştir. Bu netice gruptaki rüşeym sularında virüs bulunmadığına ve dördüncü gruptaki rüşeym sularında virüsün canlı bulunduğuna ve bu suretle üç numaralı karmada virüsün ölmüş ve dördüncü karmada ölmemiş olduğuna delâlet eder.



## Ö Z E T

1 — Crystalline Terramycin Hydrochloride'in in vitro ve in vivo olarak enflüenza virüsüne öldürücü tesiri olup olmadığı :

Verit içi zerke mahsus olan Terramycin Hydrochloride - 450 mg. sodium glycinate karması billüri toz ile tüplerde sıra ile her dört cc. buyyonlu tuzlu suda 320, 240, 160, 80, 40 mg. bulunmak üzere beş muhtelif mahlül hazırlanmış, her tüpe 1/50 nisbetinde yapılmış olan enflüenza A PR<sub>8</sub> virüs soyu dilüsyonundan 0,1 cc. konmuş, oda hararetinde iki saat bırakılmıştır. (a) serisi olarak işaret edilmiş bu tüplerin her birinden 1 : 5 nisbetinde sulandırarak (b) serisi yapılmış, her iki serinin her tüpünden 4-5 adet rüşeymli yumurtaların korio-allautoik kisesine zerkedilmiştir.

(a) serinin birinciden itibaren sıra ile 5 tüpten beş grup beşer rüşeyme 20 mg., 15, 10, 5, 2,5 Terramycin verilmiştir. (b) serisinin birinci grubunda rüşeymler 4 mg. diğerleri sıra ile birer misli az olmak üzere antibiyotik almışlardır.

(a) serisinin birinci ve ikinci grubundaki rüşeymlerin hepsi, üçüncü gruptakilerin ikisi ölmüş diğer iki grupta ölü ve canlı rüşeymler bulunmuştur. (b) serisinin birinci grubunda bir ölü, diğer dört grupta ancak iki rüşeym ölü diğerleri canlı bulunmuştur.

Hemagglutination testi ölü rüşeymlerde menfi, canlı rüşeymlerde müsbet reaksiyon vermiştir.

(a) serisindeki rüşeymlerin a.a. sularıyla yapılmış olan hemagglutination testinin menfi reaksiyon vermesi, rüşeymlerin 0,25 cc. karma içinde 20 mg. antibiyotik tesiriyle erken ölmüş ve bu rüşeymlerde enflüenza virüsünün ürememiş olmasına,

(b) serisindeki rüşeymlerin a.a. sularında hemagglutination testinin müsbet reaksiyon vermesi, sulandırarak miktarca azaltularak zerkedilmiş 0,25 cc. içindeki 4 mg. antibiyotik'in rüşeymleri öldürmeğe kâfi gelmediğinden canlı rüşeymlerde virüsün ürememiş olmasına delâlet eder.

Bu neticelere göre Terramycin Hydrochloride ve enflüenza A PR<sub>8</sub> virüs tipi ile yapılmış in vitro ve in vivo tecrübelerde, yukarıda bildirilen miktarlarda ve bilhassa 4,0 cc. karma içinde bu tecrübeye kullanılmış en yüksek doz olan 320 mg. Terramycin'in 1/400 nisbetinde bir dilüsyon halinde bulunan bu virüsü oda hararetinde iki saatte öldürmemiş olduğu öğrenilmiştir.

2 — Terramycin Hydrochloride'in enflüenza virüsü tiplerine karşı koruyucu tesiri olup olmadığı :

Rüşeymli yumurtalar beşer yumurtalık beş gruba ayrılmıştır. Beş muhtelif antibiyotik mahlülünden sıra ile her gruba 20, 15, 10, 5, 2,5 mg. isabet etmek üzere 0,25 cc. zerkedilmiştir. Yumurtalar bir saat 36 C. derecede bekletildikten sonra her birine buyyonlu tuzlu suda 1/400 nisbetinde yapılmış enflüenza A PR<sub>8</sub> virüs dilüsyonundan 0,25 cc. zerkedilmiş etüve konmuştur.

Bu tecrübeye her beş gruptaki rüşeymlerin muayenesinde canlı ve ölü görülenlerin nisbeti, ölü ve canlı rüşeymlerin sularının manzara ve miktarları, hemagglutination testi hususlarında alınmış olan neticeleri ile bundan evvelki Terramycin + enflüenza virüsü karmasıyla yapılmış olan tecrübeye (a) serisi (sulandırılmadan ekilmiş) yumurta rüşeymlerinin durumları, rüşeym sularıyla yapılmış hemagglutination testinden alınmış neticeler arasında beraberlik müşahade edilmiş ve bu suretle bu antibiyotığın enflüenza virüsü tiplerine karşı koruyucu bir tesiri olmadığı görülmüştür.

Sureti umumiyede 0,3 cc. suda bulunan 8,3 mg. Terramycinin rüşeymlere zararlı, 10 mg. dan yukarısının öldürücü, 5 mg. den aşağı miktarların toksik görülmediği öğrenilmiştir.

### 3 — Aureomycin ile tecrübe :

Verit içi zerke mahsus Aureomycin Hydrochloride ile 1,0 cc. buyyonlu tuzlu suda 50 mg. antibiyotik bulunmak üzere bir temel mahlül ve bundan birer misli sulandırmak suretiyle beş mahlül daha hazırlanmıştır. Bundan sonra Terramycin ile olduğu gibi lakin yalnız sulandırılmamış (a) serisi halinde tecrübeye devam olunmuştur.

Bu tecrübeye birinci ve üçüncü gruptan birer rüşeym karma zerki müteakip ölmüş ve diğer 28 rüşeym 48 inci saatte canlı görülmüşlerdir. Bu canlı rüşeymlerin a.a. sularıyla yapılmış hemagglutination testi müsbet reaksiyon vermiştir. Bu netice ile yalnız virüs dilüsyonu zerkedilmiş olanların a.a. sularıyla alınmış netice arasında bir fark görülmemiştir.

Bu neticelere göre in vitro olarak 3,0 cc. karma içinde bulunan 150 mg. Aureomycin'in enflüenza virüsünü oda hararetinde üç saatte öldürmemiş olduğu ve birinci tüpteki antibiyotik mahlülü + virüs dilüsyonu karmasının rüşeyme zerkedilmiş olan 0,3 cc. miktarı içindeki 15 mg. Aureomycin'in rüşeymler için toksik olmadığı görülmüştür.

Aureomycin ve Terramycin tecrübe neticeleri mukayese edildikleri zaman Aureomycin'in rüşeymler için daha az toksik olduğu müşahade edilmiştir.

### 4 — Aureomycin ve Terramycin karması ile tecrübe :

Bu iki antibiyotik ile aynı nisbette olmak üzere birer mahlül yapılmış ve müsavi miktarlarda karıştırılmış ve bu karmadan aynen Aureomycin ve Terramycin ile ayrı ayrı olduğu gibi tecrübeye devam olunmuştur. Bu tecrübeden alınmış olan netice her iki antibiyotik ile ayrı ayrı yapılmış olan tecrübelerden alınmış olan neticeler arasında bir fark görülmemiştir.

### 5 — Gripal enfeksiyon adı verilen hastalıklarda bu iki antibiyotığın tesiri :

Gripal enfeksiyon levhası arzeden hastalarda bu antibiyotiklerin verilmesini müteakip günde, hastalık ârazlarının hafiflemeğe başladığı, ateşin düştüğü, normal halin

sür'atle avdet ettiği, bu şahısların 1-2 gün hattâ 3 günden fazla işlerinden uzak kalmadıkları, bunlar arasında balgam çıkaran, öksüren, zafiyet ve durgunluk hissedenlere pek rastlanmamış; bu tarzda tedavi görmemiş olanların mühim bir kısmında hastalığın kronik olarak devam ettiği, balgam itrafinın ve öksürüğün durmadığı, bu gibi şahıslarda iş randımanının da düştüğü müşahede edilmiştir (N. Erzin — Z. Berke).

6 — Polymyxin B sulfate'in enflüenza virüsüne tesir etmediği görülmüştür.

7 — Chloramphenicol ile tecrübe :

Aureomycin ve Terramycin ile olduğu gibi bu antibiyotik ile yapılmış tecrübelerde 1 cc. antibiyotik mahlülü — virüs dilüsyonu içinde bulunan 100 mg. Chloramphenicol'un oda hararetinde iki saatte enflüenza virüsünü öldürmediği görülmüştür.

8 — Nydrazid ile tecrübe :

Chloramphenicol ile olduğu gibi tecrübe yapılmış ve bu antibiyotığın de aynı tecrübe şartları altında aynı miktarlarda enflüenza virüsüne müessir olmadığı anlaşılmıştır.

9 — Merthiolate de soude ile tecrübe :

Bu maddenin de enflüenza virüsüne müessir olmadığı görülmüştür.

10 — Rivanol, Trypallavin'in 1:2000 nisbetindeki mahlülleri ve 1 cc. atebirin mahlülü — enflüenza A PR. virüsü tipi karışımındaki 50 mg. atebirin oda hararetinde iki saatte enflüenza virüsünü öldürmemiştir.

11 — Chlorhydrate de quinine ile tecrübe :

Yukarıda bildirilen tecrübe şartları altında 2,0 cc. 1:100 virüs dilüsyonundaki 0,03135 quinine (1,0 cc. de 0,01565) hatta 2,0 cc. 1:100 virüs dilüsyonundaki 0,01565 quinine (1,0 cc. de 0,0078 gr.) in enflüenza virüs tiplerini kat'i surette öldürdükleri, başka bir tecrübeye 1,0 cc. karma içindeki 0,00625 gr. quinine'in aynı virüsü tamamiyle öldürmeğe kâfi gelmediği görülmekle enflüenza virüs tiplerine karşı tesir eden miktarın son iki rakam arasında olduğu anlaşılmıştır.

**Bu tecrübelerden çıkarılan pratik netice :**

1,0 cc. hacim su içinde bulunan 0,08 gr. Terramycin ve aureomycin'in enflüenza virüsü soylarına oda hararetinde iki saatte öldürmediği halde, aynı hacim su içinde bulunan 0,0078 gr. Chlorhydrate de quinine'in bu virüs soylarına öldürücü tesir yaptığı muhtelif nisbetlerde yapılmış olan mükerrer tecrübelerde görülmüştür. Bu neticeye göre epidemik enflüenzada sırf virüs üzerine öldürücü tesir bakımından antibiyotiklerin bir kıymeti görülmemektedir. Lâkin antibiyotiklere mukabil quinine'in bu iki antibiyotikten on misli daha az miktarda bile öldürücü tesir yaptığına göre Chlorhydrate de quinine'e epidemik enflüenzada daha faydalı bir semoterapötik madde olarak bakılabilir.

Eskidenberi teneffüs cihazı hastalıklarında tedavi maksadı ile quinine verilmekte bulunmuştur. Quinine kolay imtisas olunan ve çabuk vücudu terkeden ve kısmen vücutta tahrip edilen ve kısmen de muhtelif nesicelerde biriken bir semoterapötik maddedir. Bu madde karaciğerden başka dımağ, kalb, böbrek ve akciğerlerde birikmesi ve eseri miktarda tükürük ile itrah olunması (10) dolayısıyla bu konu üzerinde ayrı bir önem taşıdığı ve kabili istifade olduğu kanaatindeyim. Quinine ile tatlı gargaralar tertip ederek ağızdaki enflüenza virüsünü imkân nisbetinde azaltılmak hattâ tamamen öldürmek ve bu suretle ökaütük, aksırık ile çıkan damlacıklarla virüsün yayılmasını başkalarına intikalini önlemek, tablette, şeklinde verildiği takdirde virüsün akciğer, kalb ve dımağda üremesini, toksik tesir yapmasını önlemek de kabül olabilir.

Antibiyotiklerin ve bilhassa burada tecrübeye aldığım Auteomycin ve Terramycin'in teneffüs cihazında yaşayan bakterilerin pek çoğuna muessir olması dolayısıyla, epidemik enflüenzada başlıca ölüm sebebi olan ihtilâl intanlarını önlemek bakımından ve Chlorhydrate de quinine'in de enflüenza virüsüne zararlı olmasına dayanarak epidemik enflüenza musabablarına quinine ile antibiyotikler beraber verildiği takdirde birbirlerinin tesirlerini ikmal etme bakımından çok faydalı olacağı kanaatindeyim.

#### **Nitromine ile tecrübe :**

##### **Giriş :**

Bu madde kimyada bir methyl-bis-(B-chloroethyl) aminoxyd-hydrochlorid'dir. Japonya'da Osaka şehrinde, Josphitomi Pharm. Ind. Ltd. adlı bir müessese tarafından istihşal edilmektedir. Nitromin suda çabuk erir, renksiz, kokusuz, beyaz kristaller veya toz halindedir. Fabrikadan 50 mg. lık ampullerde kuru ve steril olarak istifadeye çıkarılmaktadır. Bir kilo fare için elli öldürücü dozun (LD 50) 75-125 mg. arasında olduğu bildirilmiştir. Normal nesic üzerine toksik, hattâ tahriş edici tesiri olmadığı ve ancak anormal neoplastik nesicte seçici bir tarzda birleşerek bu nesicin hücrelerinin inkasama mani olduğu tebarüz ettirilmiştir. Bunun için kanser tedavisinde bu maddenin % 20 glikoz mahlülü veya fizyolojik tuzlu su içinde yapılmış mahlüllerinin veridicine zerk suretiyle kullanılması tavsiye edilmiştir. Bu semoterapötik madde hakkında kuduz virüsü üzerinde yazdığım bir yazıda daha fazla malûmat verilmiştir (14) Kanser tedavisinde tavsiye edilmiş olan bu maddenin viruslar üzerinde öldürücü tesiri olup olmadığını tecrübe etmek istedim.

Ankara Tıp Fakültesi Farmakoloji Doçenti Dr. İzzet Kantemir, kanserli hastalara tatbik etmek üzere getirtmiş olduğu Nitrominden bana da tecrübelerim için iki ampul vermek lütfunda bulunmuştur. Daha sonraki bu ve başka tecrübelerim için çok miktarda göndermek lütfunda bulunmuş olan yukarıda adı geçen fabrikaya ve sayın müzâkâdağını Dr. İ. Kantemir'e bu lütuflarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

## **Teknik :**

### **1 — Nitromin mahlülü :**

Önce içerisinde 50 mg. nitromin bulunan ampule 2 cc. fizyolojik tuzlu su konur. Nitromin hemen erir. Nitrominli tuzlu su pipetle steril bir tübe alınır. Bu tarzda yeni tuzlu su ile bir kaç defa tekrar edilir, ampul muhtevisi ile santrifüj tübünde 10 cc. steril fizyolojik tuzlu suda bir mahlül hazırlanır.

### **2 — Virüs + nitromin karması :**

20 cc. hacminde üç steril santrifüj tüpü alınır. Birinci tüpe 2 cc.; ikinciyeye 1,5 cc.; üçüncüye 1,0 cc. nitromin mahlülü konur, sonra birinci tüpe 1/10 nisbetinde hazırlanmış virüs dilüsyonundan 0,1 cc.; ikinci ve üçüncü tüpe sıra ile 1/100 virüs dilüsyonundan 1,5 cc. ve 1,0 cc. ilâve edilir. Bu tarzda hazırlanmış olan üç tüpteki karmada virüs (virüslü amnio-allantoik su dilüsyonu) tahminen 1/200 nisbetinde ve nitromin maddesi de her 1,0 cc. karma içinde birinci tüpte 5 mg.; ikinci tüpte 2,5 mg.; üçüncü tüpte 1,25 mg. bulunur.

## **Ekme :**

Virüs ve nitromin karmaları iki saat oda hararetinde ve karanlıkta bırakıldıktan sonra tüpten beş adet on iki günlük tavuk rüşeymlerinin koriyo-allantoik boşluğuna 0,25 cc. zerkedilmiş ve 36 C. derecelik etüvde 48 saat bırakılmıştır. Yumurtalar 48 inci saatte muayene edilmiş, birinci ve üçüncü gurupta birer rüşeym ölmüş ve diğer on üç yumurtanın rüşeymleri canlı bulunmuştur.

Kontrol olarak bir gurup yumurtaya yalnız nitromin mahlülü (her rüşeyme 0,625 mg. nitromin) ve diğer bir guruptaki yumurtalara da yalnız 1/200 virüs dilüsyonu zerk edilmiştir. Yalnız nitromin zerkedilmiş olan gurupta bir rüşeym ölmüş, diğerleri canlı kalmışlardır.

Yumurtalar bir gece firijiderde bırakıldıktan sonra açılmış, a.a. suları ayrı ayrı tüplere alınmış ve her birisi ile hemagglutination testi yapılmıştır. Rüşeym suları renksiz veya hafif sarı renkte, biraz mat manzarada ve miktarları da normal veya normale yakın, ölü olanlarda ise esmer sarı renkte ve miktarları tahminen 4 cc. bulunmuştur.

Karmalardan zerkedilmiş ve yalnız nitromin mahlülü verilmiş olan rüşeymlerin hepsinin suları ile yapılmış hemaggl. testinde, umum tüplerde menfi ve yalnız virüs zerk edilmiş rüşeym sularında 1/600 ve daha yukarı dilüsyonlarda müsbet reaksiyon görülmüştür.

## **Netice :**

Yukarıda bildirilen üç muhtelif karmadan ekilmiş olan yumurtalarda rüşeymlerin canlı kalmaları (birinci ve üçüncü guruptan birer rüşeymin ölümü başka bir sebebe bağ-

lanabilir.) halin-de hemaggl. testinin menfi reaksiyon vermesi, bu karmalardaki nitromin'in iki saatte enflüenza virüsünü öldürdüğü, kanaatini vermiş. 1,25 mg. nitromin'in rüşeymi öldürmediği görülmüştür.

Daha sonra yapılmış olan tecrübelerde 0.312 100 nâbetinde Nitromin Hydrochloride bulunan karmalarda bu maddenin enflüenza virusunu bir saatte öldürdüğü görülmüştür.

Bu tecrübeden çıkarılan pratik netice :

1 cc. karma içinde bulunan 1,25 mg. nitromin'in enflüenza virüsüne öldürücü tesir yaptığını göre, bu maddenin 1/1000 mahhülleriyle yapılacak gargaralarla boğazdaki grip virüsünü zararsız bir hale getirmek mümkün olabilecektir. Bundan başka, bu maddenin insan için tedavi dozunun verid içi yolu ile 1 mg. olduğu ve kanser tedavisinde günde sabah ve akşam olmak üzere ikidefa 30—50 mg. zerk edilebileceği, damara zarar vermediği tesbit edilmiş olduğuna göre de, enflüenzada ve bilhassa viremis halinde, kanda bulunan enflüenza virüsünü öldürmek mümkün olacağını, bakteri ihtilâllarını önleyen antibiyotikler ve quinine yanında bu maddenin de kullanılabileceğini ve en ziyade toksik, öldürücü enflüenza virüsü soyunun meydana getirdiği grip vak'alarında virüsün zararsız bir hale getirilebileceğini ve bu suretle enflüenza intanmdan ölüm vak'alarının önlenilebileceğini ümit etmekte olduğumdan, grip epidemilerinde hastalar üzerinde tecrübe edilmesini şayanı tavsiye bulurum.

- 1 — Berke, Z., ve Çibotz, A., Mikrobiyoloji Dergisi, Cilt IV, No. 1-2, 1951
- 2 — Berke, Z., ve Çibotz, A., Türk İlyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, Cilt 10, Sayı 3, 1959.
- 2 — Berke, Zühdi, 1959/51, Influenza epidemisi münasabıyla Influenza solizantının ve virusu üzümme nispeti bir bakış. Türk İlyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi 1951, cilt 1, sayı 2.
- 4 — Cheever S. Keefe, Annals of the New York Academy of Sciences, Volume 33, Art. 2, Pages 221-460.
- 5 — Terramycin in the treatment of Primary Atypical Pneumonia, by Jule Kinseland Jr. and George W. Malcher, Annals of the New York Academy of Sciences, 1950 page 417.
- 6 — The action of Terramycin on the growth of strain of Influenza, Herpes simplex, and Rabies in chick embryos and mice, by I.J. Quilligan, Jr., Thomas Francis, Jr., Richard J. Rowe, Dimitrios, G. Traggis, John D. Adcock, and Hilda Kurtz, Annals of the New York Academy of Sciences, 15/9/1950, page 497-412.
- 7 — Terramycin in influenza viral infections, by Edward H. Kass, Mildred W. Barnes, and Maxwell Pittland, Annals of the New York Academy of Sciences 1950, page 412-423.
- 8 — Berke, Z., ve Gökem, S., Türk İlyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, Cilt 10, sayı 1, 1959.
- 9 — Antibiotics derived from Bacillus Polymyces, Annals of the New York Academy of Sciences Volume 51, Art. 5, Pages 853-1000.
- 10 — Soliman, Ferid, A Manual of Pharmacology and its Applications to Therapeutics and Toxicology 1949, Seventh Edition, Page 516.
- 11 — Akif Muhtar, Tedavi dersleri.
- 12 — The Journal of the Modern Drug Encyclopedia, July 1950.
- 13 — Quatrième Journée de Thérapeutique Clinique, Octobre 1949.
- 14 — Berke, Zühdi, Aseptomiyeli, Terramycin, Nitromin Hidroklorid'la hastalar virüsü enfeksiyon testleri. Türk İlyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi Volume 10, Sayı 2, 1959.

**SENSITIVITY OF DIFFERENT TYPES AND SUBTYPES  
OF INFLUENZA VIRUS TO SOME ANTIBIOTICS AND  
CHEMOTHERAPEUTICS ESPECIALLY  
QUININE AND NITROMIN**

**Prof. Dr. M. Zühdi BERKE**  
Laboratory of Virology

Refil Seryim Central Institute of Research, Ankara

**TECHNICAL**

Solutions of different antibiotics and chemotherapeutics have been prepared in broth and saline mixture. Different dilutions of them have been mixed with virus suspension with has been to be studied. After incubating 2-3 hours at room temperature, 0.25-0.3 ml. of mixture has been inoculated into allantoic cavity of 12 days old chick embryo to check whether virus has been destroyed or not. 4-5 eggs have been used for each dilution. 4-5 eggs have also been inoculated with the same amount of antibiotics or chemotherapeutics to control its toxicity.

Inoculated eggs have been incubated at 36 C. for 48 hours. After keeping the eggs in refrigerator (4 C.) overnight, allantoic fluids of each embryo has been withdrawn separately and examined with hemagglutination test as described before.

**EXPERIMENTAL**

*A. Assays with Antibiotics :*

1) The effect of Terramycin on influenza virus: The content of a vial of Terramycin hydrochloride for intravenous injection which contains 500 mgrs. of Terramycin hydrochloride and 450 mgrs. of Sodium glycinate has been diluted with broth and saline mixture to contain 80 mgrs. of Terramycin hydrochloride per milliliter. Dilutions containing 320, 240, 160, 80, 40 mgrs. of terramycin hydrochloride per four milliliters have been prepared from this stock solution of terramycin hydrochloride. 0.1 ml. of 1:50 dilution of Influenza virus (Type A PR-8) has been added into each tube. This is the first set of the mixtures of terramycin hydrochloride and virus. The second set has been prepared diluting each mixture of the first set one to five just before inoculating into the eggs. Each mixture has been inoculated into 4-5 eggs.

Results : All embryos which are inoculated with the first and second dilutions of the first set of mixtures (20 and 15 mgrs. of Terramycin hydrochloride per dose respectively) died. Two of five embryos which are inoculated with the third dilution of the first set of mixtures (10 mgrs. of Terramycin hydrochloride per dose), some of the embryos receiving the last dilutions were dead. The embryo of 2-3 eggs out of 25 which are inoculated with the second set of virus and terramycin mixture are dead.



Dead embryos contain very little allantoic fluid which is turbid and brownish. The fluid of alive is colorless, transparent, and 10-12 ml. The fluid of dead embryos gave no hemagglutination. The titer of hemagglutination with the fluid of alive embryos was 1/640 which is the final tested dilution.

It has been observed that 10 mgrs. of Terramycin hydrochloride per egg is toxic for embryo. Although hemagglutination test did not show the presence of virus in the amnio-allantoic fluid of embryos receiving the first dilution of the first set of mixture, it is not due to destruction of virus by Terramycin but it is due to the early death of embryo. In fact the embryos which has been received the first dilution of the second set, namely one fifth dilution of the first dilution of the first set of mixtures, survived and hemagglutination test demonstrated presence of virus in amnio-allantoic fluid.

This experiment demonstrates that even 80 mgrs. of Terramycin hydrochloride per milliliter cannot destroy Influenza A virus (PR-8) within two hours at room temperature.

2. Assays on preventive action of Terramycin — 20, 15, 10, 5, and 2.5 mgrs. of Terramycin hydrochloride have been injected into five groups of eggs. After incubating the eggs for one hour at 36 C., 0.25 ml. of 1/400 dilution of virus (PR-8) was inoculated into eggs.

The number of dead embryo, the appearance of allantoic fluid, and the results of hemagglutination tests are the same as above experiment therefore, it may be concluded that Terramycin does not inhibit the growth of Influenza virus as well.

The results of our other experiments demonstrated that 0.3 ml. of Terramycin hydrochloride solution containing 8.5 mgrs. of Terramycin hydrochloride is harmful for embryo. If its amount is less than 5 mgrs. per egg, it does not kill the embryo.

3. Assays with Aureomycin — Crystalline aureomycin hydrochloride for intravenous injection has been used in this experiment. 100 mgrs. of it has been dissolved in 2 ml. of broth and saline mixture. Two fold dilutions from 1:2 (25 mgrs. per ml.) to 1:32 (1.56 mgrs. per mml.) has been set up. They are mixed with virus. The mixtures have been inoculated into chick embryo and amnio-allantoic fluids have been harvested as described above.

All embryo, except two of them which died just before inoculation, were alive at the end of 48 hours. Hemagglutination test with the amnio-allantoic fluid of alive embryos was positive and the titre of virus which is obtained by inoculating aureomycin and virus mixture and the same amount of virus alone have not been different.

According to the results of this experiments, 150 mgrs. of Aureomycin hydrochloride in 3 ml. of mixture could not destroy the virus within three hours; Aureomycin is less toxic than Terramycin because 0.3 ml. of the first dilution of the for-



mer which contains 15 mgrs. of Aureomycin hydrochloride, did not kill the embryo, but 8.3 mgrs. of Terramycin did it.

4. Assays with Aureomycin and Terramycin mixture — Solutions containing equal amount of Terramycin and Aureomycin have been prepared and their effects have been tested as described before. There was no difference between the results of this experiment and the previous ones.

5. Some observations on the effect of Terramycin and Aureomycin on gripal infections. — Some of the patients suffering from minor respiratory illness and gripal infections have been treated with either Terramycin or Aureomycin, which are supplied us by Pfizer and Lederle Companies. Usual dose was 250 mgrs. or 500 mgrs. three times a day. Fever became normal within the first 24 hours. Coughing and prostration disappeared. They resumed their work within 48 hours.

A group of patients has not been treated with these drugs and kept as control. Coughing and expectoration has lasted for several days and prostration was very marked. They could not work efficiently as well.

6. Assays with Polymyxin B Sulfate — After incubating the mixture of 3.0 ml. of antibiotic solution, which contains 0.0025 gr. of Polymyxin B Sulfate, and virus for two hours in room temperature, eggs are inoculated. All embryos survived and allantoic fluid hemagglutinated chicken red blood cells. This indicates that 0.00025 gr. of Polymyxin B Sulfate is not toxic for embryo and it does not destroy the virus.

7. Assays with Chloramphenicol. — A solution of Chloramphenicol containing 100 mgrs. per milliliter has been prepared. Two fold dilutions from 1/2 to 1/8 have been set up. Experiment has been carried out as it is done in Terramycin experiment.

All embryos were alive and amnio-allantoic fluids gave positive hemagglutination test. This indicates that Chloramphenicol is not toxic for embryo and it does not destroy Influenza virus in our experimental condition.

8. Assays with Nydrakit — Experiment has been carried out as described in the paragraph of assays with Chloramphenicol. It was observed that it does not destroy Influenza virus.

#### *B. Assays with some Chemotherapeutics and Antiseptics :*

1. Assay with Sodium merthiolate — One per cent stock solution of Sodium merthiolate has been prepared. Eight different dilutions of it have been made. All embryos which are injected with the mixture of virus and 1/100 to 1/1000 of sodium merthiolate, are killed. Three fourth of embryos receiving 1/2000 solution of sodium merthiolate died. One embryo died among the ones inoculated with

1:2000 dilution. Embryos receiving more dilute solution of sodium merthiolate than 1:2000 survived. The mixtures of virus and 1:100 to 1:1000 solution of sodium merthiolate have been diluted to contain 0.025-0.05 per cent sodium merthiolate after two hours of incubation. All embryos receiving these diluted mixtures survived as well.

Amnio-allantoic fluids of all alive embryos gave positive hemagglutination test. It means that even one per cent solution of sodium merthiolate does not destroy the virus, although 1:20000 solution of it inhibited the growth of *Staphylococcus aureus*.

2. Assays with Rivanol and Trypaflavin — 1:2000 solution of Rivanol and Trypaflavin have been tested. Neither of them destroyed the influenza virus within two hours.

3. Assay with Atebrine — 0.05 gr. of Atebrine per milliliter did not destroy influenza virus within two hours at room temperature.

4. Assay with Quinine hydrochloride Stock solution containing 1 gr. of Quinine Hydrochloride and 0.6 gr. of urethane in four milliliter has been prepared. Two fold dilutions from 1:2 to 1/64 have been prepared. Allantoic fluid has been added to these solutions to contain 1/100 virus. Details of the technic of experiment is as described in the experiment with Terramycin. After incubating two hours at room temperature, the first three solutions has been diluted 8 times, the fourth one 4 times, the fifth one twice. The sixth one has not been diluted. Eggs are inoculated with 0.3 ml. of all these solutions.

All embryos in the first group (0.0046 gr. of quinine hydrochloride per egg), four of five embryos in the second group (0.0023 gr. of quinine chloride per egg), and one of the five embryos in both third and fourth group (0.00115 gr. quinine per egg) died. All embryos in the fifth and sixth group survived. The appearance of fluids of dead and alive embryos look like the fluids obtained in the experiment with Terramycin.

Hemagglutination tests with fluids of dead and alive embryos in the first five-groups were negative. It was positive in the sixth group.

This experiment demonstrates that 0.78 per cent solution of quinine hydrochloride destroys the virus. In one of our experiments, it has been observed that 0.625 per cent solution of quinine hydrochloride does not destroy the virus; so it was understood that the least amount of quinine hydrochloride to destroy the virus is between these two limits.

## CONCLUSION and DISCUSSION

Although 3. per cent of Terramycin and Aureomycin solution do not destroy the influenza virus at the end of two hours of incubation at room temperature, 0.78 per cent quinine hydrochloride solution destroys it. This indicates that new antibiotics

are not effective on Influenza but quinine might be a drug of value in the treatment of epidemic Influenza. It should be mentioned that it is an old practice to give quinine in the treatment of diseases of the respiratory system. Accumulation of quinine in the liver, lungs, and brain and excretion of it through saliva has a special importance. To prepare gargarisms from tasteless derivative of quinine and use them may prevent droplet infection destroying the virus in the mouth and throat of patients.

Since Terramycin and Aureomycin are very effective on bacteria of the respiratory tract and death from Influenza is mostly due to secondary infection, the combination of quinine with either Terramycin or Aureomycin will be helpful in the treatment of Influenza.

#### *The Effect of Nitromin on the Influenza Virus:*

1 — The stock solution of Nitromin — The content of one ampoule, which contains 50 mg. of Nitromin is dissolved in 10 cc. of steril physiological saline and kept in a glass tube.

2 — How to prepare the mixture of virus and Nitromin solution — The stock solution of Nitromin is distributed into three glass tubes, as 2 cc., 1.5 cc., and 1.0 cc., and then 0.1 of 1/10 of Influenza virus (Type A PR-8) is added to the first glass tube, 1.5 ml. of 1/100 to the second and 1.0 of 1/100 to the third. Thus these three mixtures contain about 1/200 Influenza virus and each tube contains 5 mg., 2.5 mg. and 1.25 mg. of Nitromin.

Inoculation of the chick embryo — From each mixture 0.25 cc. is inoculated to a group of 5-12 days old chick embryos. The following technic is absolutely the same as in the experiment with antibiotics and drugs. As control a groupe of five embryos are injected with 0.625 mg. of Nitromin and another group only with Influenza virus dilution of 1/200.

At the examination of the eggs after 48 hours one embryo each of the first and third group and one embryo only of the Nitromin control group had died, all the other embryos were alive.

The a.a. fluids of all living embryos were colorless or light yellowish and a little mat and the quantity of them was normal or nearly normal. The a.a. fluids of the embryos which died were yellowish brown and about 4 cc.

Hemagglutination tests in all tubes of the a.a. fluids of the three groups and those of the Nitromin group were negative. But the hemagglutination tests with a.a. fluids of the virus control group was positive in 1/640 dilution and more.

Result — The negative reactions of the hemagglutination tests with all a.a. fluid of the groups showed that during two hours 1.25 mg. of Nitromin had killed

the Influenza virus type (A PR-8) in 2 cc. of a virus dilution of 1:200; but 0.625 mg. of Nitromin did not kill the embryos. In the experiment the death of the three embryos can also have occurred from another cause.

### CONCLUSION

The result of the experiments has shown, that the Influenza virus Typ A (PR-8) in the dilution of 1/200 has been destroyed in 2 cc. of the mixture of 1.25 mg. of Nitromin. This indicates that in cases of Influenza epidemics gargarizm with a solution of Nitromin of 1:1000 will be able to inactivate the Influenza virus in the throat; and thus the possibility of a dissemination of epidemics can be diminished. As Nitromin is used intravenously for the treatment of Carcinoma (1 mg. per 1 kg. body weight, that is 30-50 mg. two times daily) without making any damage to the walls of the veins, and during Influenza epidemics in cases of viremia intravenous injections of Nitromin solution would be able to inactivate the Influenza virus in the circulating blood and tissues. I am sure that during Influenza epidemics in cases of infection with very toxic strains of the virus the addition of Nitromin to Quinine and antibiotics would be of great help to prevent the high Influenza mortality. Therefore I recommend to try the treatment with Nitromin in cases of Influenza epidemics.

I am provided generously with Terramycin, Aureomycin, Nitromin Hydrochloride by Pfizer Co. Inc. New York and Lederle Laboratories Division, American Cyanamid Co. New York and Takeda Pharm. Ind. Ltd., Osaka, Japan respectively. I appreciate very much their kind cooperation.

---

## BABINK KÖKLERİNDEN YAKICI VE BILLÖRİ BİR CİSMİN TECRİDİ HAKKINDA

Remziye S. HİSAR

Tıbbi Mikropolojik Enstitüsü

### Giriş :

Bu satırların muharririye, Ankara Refik Saydam Enstitüsü Farmakodinami Şubesi Şefi vekili olarak çalıştığı 1942 senesi başlangıcında, Silvan Cumhuriyet Müddeiummiliğinden, harici görünüşü kök boyaya benzeyen ve Enstitünün Kimya Şubesi tarafından da Rubia Tinctoria teşhisi konulan Babink veya Babini adında kök parçaları nümunesi gönderilmişti. Nümuneye ilişik yazıda verilen izahata göre o civar halkı bu kökten bir miktar doğup ıslatarak dört saat müddetle cilde tatbik etmekte ve husule gelen mor renkli cürük manzarasındaki lekeyi döğülme iddiasıyla hastaları hakkında iftira vasıtası olarak kullanmakta imişler. Bu sebeple savcılık bu köklerin incelenmesini ve ihtiva ettiği boyanın sıhhat bakımından zararlı olup olmadığının tetkikini istemekte idi.

Elimizde mevcut literatürde Babink hakkında bir bilgiye tesadüf edemediğimizden kök nümunesinin ilmi adını öğrenmek için botanikçilere müracaat edilmiş fakat nebatın tam bir nümunesi gönderilmedikçe teşhisin mümkün olamayacağı cevabının alınması üzerine o zaman Yüksek Ziraat Enstitüsüne yazılarak bir miktar kök boya rica etmiş ve "Nebati lif ve boya maddeleri araştırma Enstitüsü"nden gönderilen Rubia Tinctoria nümuneleri ile Silvan'dan gönderilen Babink köklerinin mukayeseli olarak fizyolojik ve kimyevi incelemeleri yapılmıştır. Muharririn vazifesini İstanbul'a naklederek Enstitüden ayrılması üzerine Kimya bakımından derinleştiği istediği bir kısım araştırmalar tamamlanmamış olmakla beraber, aşağıda görüleceği gibi fizyolojik ve kimyevi bakımlardan bazı kayda değer neticeler elde edilmiştir.

### Babink köklerinin yakıcı tesiri :

Bu kökün cilt üzerindeki tesirini tetkik için tüyleri düzürülmüş tavşan üzerinde sarıh bir netice alınamadığından kendi kolumuz üzerinde şu iki tecrübe yapılmıştır: 1) 3 gr. kök kabaca döğülerek biraz su ile ıslatılmış ve bir tülbent ile kolumuza bağlanmıştır. Tatbik sahi 6×9 cm., temas müddeti bir buçuk saattir. 2) 0,5 gr. kök, tatbik sahi 5×2,5 cm., temas müddeti yarım saat. Aşağıda yalnız birinci tecrübede ki fizyolojik tesirin muhtelif safhaları tafsilatle verilmiştir. İkinci tecrübeye hâdisenin umumî seyri değişmemekte yalnız miktarın ve temas müddetinin azlığı dolayısıyla tesirin şiddeti hafiflemektedir.

**Yakıcı tesirin tarifi** — Babink kökünün tathikinden bir kaç dakika sonra deri üzerinde evvelâ bir iğnelenme, sonra bir yanma hissi duyulmakta ve bu his gittikçe artarak tahammülü güç bir acı halini almaktadır. Bir buçuk saat sonra konulan kök tabakası kaldırılınca ciltte koyu mor bir lekenin hasıl olduğu görülmüştür. Babink parçalarının ciltten kaldırılmasından sonra da acı bütün şiddetiyle devam etmiş ve ne su ile yapılan pansımanlar ne de oxyde de zincle klasik pomadların tathiki acıyı ve yanma hisşini hiç bir şekilde hafifletememiştir. Lekenin bulunduğu yerdeki sıcaklık âdeta boya maddesiyle dokuların unsurları arasında exothermique bir reaksiyon husule geldiği ve bu reaksiyonun sathıdan içerilere doğru yavaş yavaş ilerlediği hissini vermekte idi. Üçüncü



gün lekenin üstü, içleri mayı dolu keseciklerle (hüvaysallarla) örtüldü. Lekedeki mevzii sıcaklık ve ıztırap hissi daima had şeklini muhafaza ediyordu. Yandaki fotoğraf iç taraftaki küçük leke ile bütün kolun dışını kaplayıp taşan büyük lekenin bir kısmını göstermektedir. (Tecrübenin dördüncü günü). Beşinci gün kesecikler (vesicules) sönmeye başlayarak yerine bir kabuk teşekkül etmiş ve bu da sekizinci gün çatlıyarak, pul pul düşmeğe başlamış ve nihayet onuncu gün kabuğun yerinde taze ve pembe bir cilt meydana çıkmıştır. Bu pembelik hava ile temas edince cabucak esmerleşmiş ve bu es-

mer leke ancak bir sene sonra tamamıyla zail olmuştur. Yukarıda söylediklerimizden anlaşılıyor ki boyanın cilt üzerindeki tesiri derince bir yanık şeklinde olmuştur. Kullanılan kök miktarını ve cilde tatbik müddetini azaltıp çoğaltarak, bu tesirin çürük manzarasında mor bir leke ile, su dolu kesecikleri ve kabuk bağlayan safhası ile az çok derin yanıklara benzeyen yaralar açabileceği böylece tespit edilmiştir.

### **Kök boyası (Rubia Tinctoria) ile yapılan tecrübeler :**

Babink ile aynı şartlarda cilde tatbik edilen bu kök ile de evvelâ bir iğnelenme hissi duyulmakta ise de geçici olan bu tesiri ne mevzîl bir yanma, ne de ızdırap veren bir yanık yarası takip etmemektedir. Kök boyanın ciltte bıraktığı leke kırmızımsı pembe ve 24 saat sonra kendiliğinden zail olmaktadır. Demek oluyor ki, Babink kökünün cilt üzerindeki tesiri hariç görünüşü kendisine benzeyen Rubia tinctoriadan çok farklıdır ve mukayese edilemeyecek kadar şiddetlidir. Babını bir boya maddesi gibi değil, bir vesicant olarak tesir etmektedir.

### **Babink'in yakıcı prensibinin tecridi :**

Bu tecridi yapabilmek için kök numunesine çeşitli ekstraksiyon usulleri tatbik edilmiştir. En iyi neticeyi veren teknik şudur : 100 gr. kabaca döğülmüş Babink kökleri, asırlendirilmiş su ile (% 2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), aşağıya doğru bir soğutucuya bağlı iki litrelik bir balonda kaynatılmıştır. Damıtma mahsulü (Takriben 700 cc.) açık sarı renkte ve hafifçe şiridir. Daha distilasyon esnasında soğutucu tüpün içerisinde ve ağzında iğneler şeklinde güzel turuncu billürler tavazzu etmiştir. Damıtma mahsulü kloroformla tüketilip tefrik edilen kloroformlu tabaka buharlaştırılınca, damıtma esnasında soğutucu tüpte tavazzu eden billürlerin aynı manzarasında güzel turuncu bir cisim elde edilmiştir. Verim : 100 gr. Babink için 50 mgr. dır.

### **Tecrid edilen billürlerin vasıfları :**

Turuncu renkte iğneler, 72—75° de ayrışmadan eriyor. Suda az münhal, Eter, benzen ve asetonda münhal, kloroformda çok münhal. Sudaki açık sarı, hafifçe şirî mahlül bir damla amonyak veya kalevi ile acık vişne rengi vermekte ve bu renk H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile yeşil sarıya dönmektedir. Bu da Babinkteki boya maddesinin Rubia Tinctoria'nın boya maddesi olan alizarinden farklı bulunduğunu göstermektedir. Alizarin amonyakla esmer akaju, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile de nohut sarısı bir renk verir.

### **Billürlerin cilde tesiri :**

Tecrid edilen turuncu billürlardan 5 mgr. iletilip 1,8 cm. çapında bir daire şeklinde cilde tatbik edilmiştir. Bir kaç dakika sonra billürler cilt tarafından mas olunmuş ve yerinde koyu sarı bir leke kalmıştır. Beş saat sonra lekede evvelâ bir iğnelenme, sonra bir yanma hissi duyulmuş ve bu hararet ve ızdırap bütün gece devam ettikten sonra, ertesi gün leke tamamıyla morarmış ve tıpkı bir tazyik veya çarpma neticesinde

hususla gelen bir çürük manzarası almıştır. Bundan sonraki günler, bizzat Babink kökü ile ciltte müşahede ettiğimiz ve yukarıda anlattığımız yakıcı tesirin bütün safhaları, yani mayı dolu keseciklerin teşekkülü, mevzil yanma ve had ıztırap hissi, kabuklanma, kabuğun çatlaması ve düşmesi ve nihayet onuncu gün havada esmerleşen pembe ve taze cildin görünmesi keyfiyeti tıpkı kökün tatbikinde gördüğümüz safhaları takip ederek seyretmiştir. Yalnız esmer leke bu defa bir ay sonra kaybolmuştur. Bu da kullanılan miktarın çok küçük olmasına atfedilebilir. Billürlerin cilt üzerindeki bu tahriş ve yakıcı tesiri, tecrid edilen maddenin Babink köklerindeki yakıcı (vésicant) prensibi olduğunu ispat etmektedir.

#### **Bazı Babink ekstraktlarının beyaz fareler üzerindeki farmakolojik tesirleri :**

Köklerin müessir cevherinin tecridi maksadıyla tatbik ettiğimiz muhtelif ekstraksiyon metodlarıyla elde ettiğimiz mahsullerin beyaz fareler üzerinde biyolojik tetkikleri de yapılmıştır. Bunlardan bir kaç neticeyi aşağıda kaydediyoruz :

a) Petrol eteri hülâsası : 20 mgr. 0.5 cc. zeytin yağında inhilâl, 15 gramlık fareye zerk: hayvanda umumî bir durgunluk ve zaman zaman sırcamalar ve vücutta sarsılmalarla tezahür eden toksik tesir. Ertesi sabah ölü bulundu.

b) Tecrid edilen turuncu billürler, 2,5 mgr. 0.5 cc., zeytin yağında 17 gramlık fareye zerk, 7 saat müşahede : 5 dakika sonra başlayan bir tenebbüh halî, 15 dakika sonra umumî bir durgunluk, bir saat sonra gözler kapanıyor, bir uyku halî, 3 saat sonra yürümede güçlük, 7 saat sonra aynı hal, ertesı gün ölüm. Otopside bağırsaklar hemen tamamıyla erimiş, karaciğer ve böbrekler salim. Kalp sert ve küçülmüş.

Demek oluyor ki, Babink cevheri dahilen bir muharriş olarak ve aynı zamanda kalp üzerine de müessir görünen bir tesire maliktir.

#### **Neticelerin tefsiri :**

Haricen kök boyaya benzeyen Babink kökleri Rubia Tinctoria'dan bazı makroskopik vasıflarla da ayrılıklar gösterdiği gibi boya maddesi olarak tecrid edilen billürî cisim de kök boyanın cevheri olan alizarin'den kimyevî ve fizyolojik karakterleriyle tamamen farklı bulunmaktadır. Babinkden tecrid ettiğimiz billürlerin kimyevî bünyesine gelince, bu hususta etraflı araştırmalar yapmak istemiş isek de Enstitüden ayrıldıktan sonra bir daha bu mevzua dönmek fırsatını bulamadığımızdan çizdiğimiz çalışma plânını tatbik etmekteğimiz mümkün olamamıştır. Yalnız şu noktaları tebarüz ettirmekteğimiz mümkündür :

a) Tecrid edilen bu billürlerin yeni bir cisim olup olmadığını anlamak için, Babink'in imî adının botanikçiler tarafından tespiti ile alâkalı literatürde, terkiibinde, vasıflarını yukarıda kaydettiğimiz billürî birleşimin kayıtlı olup olmadığı tespit edilebilir. Mamafih biz, tanınmış farmakodinami eserlerinin (vésicant) lar kısmında karakteri Babink'ten tecrid ettiğimiz billürlara benzeyen bir birleşige tesadüf edemedik. Şimdilik



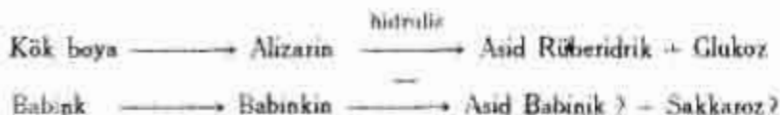
geçici olarak "Babink" in adını verdiğimiz bu billürî cismin bir hétéroside olduğunu düşünmekteyiz. Hakikaten cilt ve dokularda husule gelen yakıcı tesir, bir heterosidin tedricî hidrolizi ile izah edilebilir. İnsan vücudunun harareti ve dokulardaki bazı maddelerin tesiriyle yavaş yavaş vukua gelen bu hidroliz neticesinde, madde, kendisini teşkil eden şekerli cisim ile yakıcı tesirden mesul olan aglukon kısmına ayrılmaktadır. Bu aglukonun bir asid olması mümkündür ve tahriş ve vésication tesirini de yavaş bir hidrolizin neticesinde bu asidin tedricen açığa çıkmasıyla izahı kabildir. Bizi bu faraziye-ye sevkeden sebepler şunlardır :

1) Babink'in petrol eterindeki ekstresi cilt üzerinde tesirsizdir. Heterosidler de umumiyetle petrol eterinde erimezler.

2) Babink'in Otto-Stas metoduyla yaptığımız incelemelerde eter-asid kısmından elde edilen reçinenin sudaki mahlûlü amonyaklı billürların verdiği açık vişne rengini vermiştir. Umumiyetle heterosidler, Stas-Otto tekniğinin eter-asid kısmında bulunurlar.

3) Yine bu metoddaki tasfiyeler sırasında şeffaf, prizmatik billürlar şeklinde bir madde tecrid edilmiştir. Bu cismin sudaki mahlûlü şekerlerin başlıca renkli teamüllerini vermektedir (Molisch, Selivanoff reaksiyonları, orsünlü HCl reaksiyonu). Madde redüktör değildir ve asid hidrolizden sonra Fehling'i irca etmekte ve sıcakta glukozozazona benzeyen uzun iğneler şeklinde bir Ozazon vermektedir.

Bütün bu kalitatif müşahedeleri kök boyanın cevheri olan alizarinin bünyesi ile mukayese ederek düşüncelerimizi aşağıdaki iki formülde hülâsa edebiliriz :



Bu faraziyenin tecrübe tarafından ne dereceye kadar tasdik edilebileceğini ancak bol miktarda Babinkden elde edilmiş billürlar üzerinde yukarıda işaret ettiğimiz istikamette yapılacak araştırmalar gösterecektir.

**Not I :** Bu araştırmaların tecrübi kısımları, muharririn Refik Saydam Enstitüsünde bulunduğu 1942 yılının ilk üç ayında yapılmıştır.

**Not II :** Metinde görülen fotoğraf, o sıralarda Enstitüyü ziyarete gelmiş olan Ankara Polis Enstitüsünde Mütahassısı Dr. Marc Payot tarafından çekilmiştir. Kendisine teşekkürlerimi sunarım.

İstanbul Teknik Üniversitesi Maden Fakültesi Laboratuvarı  
(Manüskriptin alındığı tarih : 1 Kasım 1953)

## NOTE SUR L'ISOLEMENT D'UN COMPOSÉ CRISTALLISÉ TRÈS VÉSICANT A PARTIR DES RACINES DE BABINI

Par Mme Remziye Saitli HİSAR

Laboratoire de Chimie de l'Université Technique d'Étatant

(Manuscrit reçu le 3-6-1953)

### Résumé :

Des échantillons de racine, appelés Babini ou Babink, récoltés à l'est d'Anatolie, ressemblant au *Rubia Tinctoria*, montrent une action très vésicante lorsqu'une petite quantité est broyée et humectée d'eau et est appliquée sur la peau. L'auteur a isolé à partir de ces racines des aiguilles orangées, bien cristallisées, fondant sans décomposition entre 72-75° et possédant la même action vésicante que les racines. On décrit l'évolution de l'action vésicante observée et la technique utilisée pour isoler le principe actif et on note ses principaux caractères.

Introduction — On avait envoyé par la justice un échantillon de morceaux de racines ressemblant au *Rubia Tinctoria*, afin d'examiner, si la substance colorante qu'il renferme était de nature nuisible ou toxique. D'après les détails donnés, une certaine quantité de ces racines broyée et mouillée d'eau, et appliquée pendant quatre heures sur la peau, colorait celle-ci et laissait une tache violette persistante ayant l'aspect d'une ecchymose et que les gens de mauvaise intention utilisaient pour simulation et calomnie, en prétendant d'être battus par leurs adversaires.

N'ayant trouvé aucune donnée sur Babink dans la littérature dont nous nous disposions et ne possédant pas la plante entière pour son identification botanique par les spécialistes, nous avons demandé à la Faculté d'agriculture un échantillon de *Rubia Tinctoria* avec lequel les racines de Babini étaient d'ailleurs confondues dans un examen préalable avant nous être envoyées. Nous nous sommes donc proposée d'étudier comparativement ces deux échantillons et d'isoler, si possible, la matière colorante de Babini, donnant des taches analogues à des ecchymoses, signalées par la justice.

### Action vésicante des racines de Babini :

Nous en avons fait deux essais sur notre bras : l'une avec 3 gr. de racine broyée grossièrement et mouillée d'eau. La surface d'application était de 9×6 cm. Durée de contact : une heure et demie. L'autre avec 0,5 gr. de racine, surface d'application de 5×2,5 cm. Durée de contact : une demie heure.

Nous décrivons ci-dessous les détails des effets physiologiques observés de la première application seulement, l'évolution de la seconde était à peu près la même, mais l'intensité de l'action physiologique était beaucoup plus atténuée.

#### **Description de l'effet vésicant :**

Quelques minutes après l'application des racines, on sent sur la peau d'abord un picotement, puis une chaleur locale dont l'intensité augmente progressivement devenant très douloureuse et presque insupportable au bout d'une heure et demie. Après l'enlèvement du produit, on aperçoit sur la peau une tache violette très foncée dont la sensation de brûlure ne faisait qu'accroître que ni les pansements à l'eau, ni l'application des pommades classiques n'en diminuait pas la douleur. On dirait que la tache était le siège d'une réaction chimique hexothermique et qui avançait lentement de la surface colorée de la peau vers l'intérieur des tissus. Troisième jour la tache se couvre de petites vésicules pleines de liquide, la chaleur et la douleur locale restant toujours très aiguës. La photo dans le texte turc montre l'état de la pail quatrième jour de notre essai. 5<sup>me</sup> jour les vésicules commencent à s'étendre et se transforment en une écorce colorée, en même temps la douleur locale s'atténue. Au bout d'une semaine l'écorce est fendillée, tombe petit à petit et le dixième jour apparaît à sa place une peau neuve de couleur rose qui brunit rapidement à l'air. Cette coloration brune ne disparaît définitivement qu'au bout d'un an. On peut donc dire que l'effet produit s'était évolué comme une brûlure assez profonde. On conçoit donc qu'en faisant varier la quantité appliquée et la durée de contact des racines, la tache laissée peut prendre l'aspect d'un ecchymose ou d'une brûlure plus ou moins profonde.

#### **Essai avec *Rubia Tinctoria* :**

Dans les mêmes conditions cette racine donne un léger picotement, passager sans aucun effet de vésication. La tache laissée sur la peau est de couleur rougeâtre et disparaît après 24 heures. Donc, l'action physiologique des deux racines sont nettement différentes.

#### **Isolément du principe vésicant du Babink :**

Nous avons appliqué aux racines plusieurs procédés d'extraction avec des techniques variées. Le meilleur résultat nous a été donné par le suivant: 100 gr. de racines grossièrement pulvérisées ont été bouillies avec de l'eau acidulée (2 %  $H_2SO_4$ ) dans un ballon de deux litres rempli de moitié et suivi d'un réfrigérant descendant. Le distillat recueilli (environ 700 cc.) était jaune clair et légèrement aromatique. Au cours de la distillation il s'est déposé dans le tube même du réfrigérant, de jolis cristaux orangés sous forme des aiguilles. Après l'épuisement du distillat avec le chloroforme et l'évaporation de celui-ci, on obtient un résidu cristallin identique au

corps orangé déposé dans le tube du réfrigérant. Rendement : environ 50 mgr. pour 100 gr. de racine de Babink.

#### **Caractères des cristaux isolés :**

Aiguilles jaune orangées, fondant entre 27-75°, sans décomposition, peu soluble dans l'eau, sol. dans l'éther, le benzène, l'acétone et très soluble dans le chloroforme. Sa solution aqueuse jaune claire, légèrement aromatique donne une jolie coloration pourpre avec une goutte d'ammoniaque ou d'alcali, elle vire au jaune verdâtre avec  $H_2SO_4$ . La matière colorante du *Rubia Tinctoria* se comporte différemment. En effet l'alizarine donne avec l'ammoniaque une coloration lumineuse acajon et avec  $H_2SO_4$  une coloration jaune sale.

#### **Action physiologique des cristaux :**

5 mgr. de cristaux mouillés et appliqués à la peau sur une surface de 1,8 cm. de diamètre, sont absorbés en quelques minutes et laissent une tache jaune foncée dont la couleur disparaît lentement. Cinq heures après l'application on a d'abord une sensation de picotement puis une chaleur locale qui continue toute la nuit et le lendemain on voit une tache violette foncée, analogue à une ecchymose. Les jours suivants les mêmes aspects de la vésication décrits plus haut avec les racines: formations de vésicules, sensation de douleur aigue, formation de l'écorce avec la chute de celle-ci, apparition de la peau neuve, rose brunnissant à l'air. La disparition de la tache brune a exigé un mois.

#### **Conclusion et interprétation des résultats :**

Les racines de Babink, ressemblant extérieurement au *Rubia-Tinctoria*, diffèrent de ce dernier, en outre quelques détails macroscopiques par son action vésicante sur la peau et par les propriétés chimiques et physiologiques de sa matière colorante que nous en avons isolé, qui est totalement différente de l'alizarine.

Quant à la nature chimique des cristaux isolés du Babink, sans des recherches complémentaires, on ne peut rien dire sur ce sujet. Mais en tenant compte de quelques observations faites au cours de nos études, nous pensons que la substance isolée peut être un hétéroside, dont l'effet vésicant de longue durée pourrait provenir d'une hydrolyse lente, s'accomplissant à l'intérieur des tissus, mettant en liberté sa partie agglucon qui peut être un composé irritant, probablement un acide. En effet, pendant les différents procédés d'extraction que nous avons utilisés, la méthode Stas-Otto, précipitation des corps sucrés par l'alcool absolu, nous avons obtenu une substance cristallisée, incolore, présentant la plupart des réactions des sucres (réaction de Molisch, réaction de Sévianoff, réaction avec l'orcine chloridrique). Il n'est pas réducteur, et après l'hydrolyse acide, il réduit Fehling. Il donne une Ozaon à chaud, fermé de longues aiguilles, ressemblant au glucosazon. Donc, par ana-

logie avec Alizarin qui est fourni par hydrolyse, l'acide rubérydrique + glucose. La matière colorante vésicante du Babink, peut être formée par un acide irritant (que nous appelons provisoirement l'acide babinique) — un sucre non réducteur (qui par ses propriétés citées plus haut ressemble beaucoup à saccharose).

*Not I :* La partie expérimentale de ces études a été faite en 1942 à l'Institut Central d'Hygiène d'Ankara et interrompue par suite du transfert du poste de l'auteur à Istanbul.

*Not II :* La photo donnée dans le texte turc a été prise par Monsieur Marc Payot, qui était attaché comme spécialiste à l'Institut de Police d'Ankara. Ici, j'ai le plaisir de le remercier vivement.

## SALMONELLA ENTERITIDIS GAERTNER BASILININ ORNITHODORUS LAHORENSIS KENELERİNDE TABİİ OLARAK BULUNUŞU (\*)

Dr. Necmettin AKYAY ve Dr. Sabahattin PAYZIN

Kenelerin bir çok türlerinin bakteri, virüs, riketsiya ve spiroket gibi patojen hastalık etkenlerini tabii olarak taşıdıkları ispat edilmiştir. R.R. Parker (1) tecrübi olarak enfekte kobaylardan *Dermacentor andersoni* kenelerinin salmonella ile enfekte edilebileceklerini göstermiştir.

Payzin, (2) son zamanlarda *O. lahorensis* kenelerinde bir defa salmonella enteritidis gaertner suşunu izole ettiğini bildirmiştir.

Araştırma programımıza göre kenelerden sistemli olarak *Coxiella burnetii* spirocheta recurentis ve salmonella tecridine çalışacaktır.

Türkiyede et yenilmesinden sonra husule gelmiş bir çok besin zehirlenmeleri salgınları yayımlanmıştır. Bu mevzu bizi hayvanlar arasında salmonella enfeksiyonunu nakledecek bir ajan olarak kenelerle ilgilenmeğe sevk etmiştir.

**Materyel ve metodlar :** Birimiz (Akyay) Türkiye'nin Ağrı, Van, Erzurum ve Elâzığ vilâyetlerini dolaşmış ve 50 muhtelif köyden kene nünuneleri toplamıştır. Keneler 50 cc. lik geniş ağızlı, içerisinde süzgeç kâğıdı bulunan, ağızları üç kat gazla kapatılmış cam şişelerde saklanmıştır. Elâzığdan alınan üç nümune hariç, bütün keneler *O. lahorensis* türüne aitti.

Bizim hedefimiz, bilhassa *C. Burnetii* ve *Borelia recurentis* izole etmektir. Fakat salmonella için de araştırmalar yapılmıştır. *C. burnetii* tecridine muvaffak olunmuş diğer bir yazımızal yayımlanmıştır. (3) Keza Dr. Özsan'la birlikte yaptığımız deneyler sonunda (ki bu keneler Urfa vilâyetinde temin edilmişti ve erraticus türü idi) borelia tecridine de muvaffak olunmuştur. Bu husustaki çalışma da bilâhare yayımlanacaktır.

**Kültür :** 4-7 kene etil alkol ile beş dakika, sath kontaminasyonunu bertaraf etmek için, çalkalandıktan sonra bir steril porcelen havaada steril kumla ezilmiştir. 5 cc. steril tuzlu su katılıp dekantasyona bırakılmıştır. On dakika durulduktan sonra üst mayı pipetle steril tüplere alınmış hayvanlara zerk ve kültür için kullanılmıştır.

İki kobaya ve iki yavru fareye periton içi yoluyla zerk yapılmış ve ayrıca ikişer plak Wilson-Blair ve Endo besiyetlerine ekilmiştir. Kobaylardan biri öldürülerek diğer serolojik deneyler için muhafaza edilmiştir.

(\*) 28/VIII/1958 de İstanbul'da toplanan V İnci Milletlerarası Tropikal Hastalıklar ve Malaria Kongresinde tebliğ edilmiştir.

Besiyerleri her gün muayene edilerek menfi olanlar dört gün sonra atılmıştır. Wilson-Blair veya Endodaki şüpheli koloniler diğer bir Endo plâğna pasaj yapılmıştır. Laktöz menfi koloniler alınıp Braun-Silberstein (4) A ve B besiyerlerine ekilmiştir. Bu besiyeri Türkiyede müsait sonuçlar ile geniş mikyasta kullanılmaktadır. Mannitol-sakkaroz-laktöz fermentasyonu-triptofandan indol, natrium tiosülfattan H<sub>2</sub>S, gaz ve asit husulü bu besiyerinde kolaylıkla müşahede edilmektedir.

Şüpheli suşlar agglütinasyonla salmonella bakımından tetkik edilmiştir. Agglütinan serumlar Danimarkada Kopenhag'daki milletlerarası salmonella merkezinden temin edildiği gibi izole edilen dört suş bu merkeze gönderilmiş ve Kauffmann tarafından S. enteritidis (IX, XII, g m) olduğu teyit edilmiştir.

**Sonuçlar :** Salmonella enteritidis gaertnerin dört suşu 50 kene nümunesinden tecrit edilmiştir 2 suş sadece kene süspansiyonundan ikisi ise hem kobay hem de fare den izole edilmiştir. 50 nümunedeki 300 den fazla kene salmonella bakımından incelenmiş ve % 8 inin salmonella enteritidis gaertner ile enfekte olduğu görülmüştür. Enfekte kenelerin topladığı olduğu kaynaklar birbirinden yüzlerce kilometre mesafe ile ayrılmış bulunuyorlardı.

Orta Anadoluda da enfekte kenelerin bulunduğu yukarıda bildirilmiştir. Memleketimizde et istiblakinden sonra besin zehirlenmeleri nadir değildir. Yukarıdaki bulgular gösteriyor ki o lahorensis keneleri (ihtimal ki başka türler de) salmonella enteritidis gaertnerin tabii konakçılarıdır. Ve hayvanlar arasında enfeksiyon yapan ara nakillerdir.

## Ö Z E T

O. lahorensis kenelerinin 50 nümunesi tetkik edilmiş, dört nümuneden salmonella enteritidis gaertner ayrılmıştır. Bu keneler hayvanlar arasında enfeksiyonu nakleden bir ajan olarak rol oynamaktadır.

## L İ Y E R A T U R

- 1 - R. B. Parker : Personal communication
- 2 - Pazın : Türk Üyeni ve tozrübi biyoloji dergisi 1949 (III) : IX No. : 1
- 3 - Pazın ve Akıny : Türk Üyeni ve biyoloji dergisi 1952 : XII.
- 4 - Braun H. ve Silberstein : İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Monografi 1945 — I.

## INFECTION NATURELLE DE LA SALMONELLE ENTERITIDIS GAERTNER AUX ORNITHODORUS LAHORENSIS (\*)

Dr. Subhanîin PAYSIN

et

Dr. Neemetîin AKYAY

Prof. Agr. à la Faculté de  
Médecine — Ankara

Institut d'Hygiène Refik  
Saydam — Ankara

Les rôles des tiques sont bien connus dans les diverses maladies des virus, des rickettsies, des bactéries et des spirochètes. R.R. Parker (1) a montré expérimentalement que *Dermacentor Andersoni* peut-être infecté par les salmonelles. Abondance de la publication, en Turquie sur les intoxications alimentaires après l'ingestion de la viande nous a amené à chercher un agent transmetteur de la maladie de l'animal à l'animal et ainsi nous nous sommes intéressés par les tiques.

*Les matériaux et méthodes* : L'un de nous (Akyay) a visité la partie orientale de la Turquie (les départements Agri, Van, Erzurum, Elâzığ) et a recolté 50 lots différents des tiques qui ont tous été *O. Lahorensis*, sauf trois qui ont été recoltés à Elâzığ.

L'objet de notre programme de recherche était d'isoler de *Coxiella Burnetii* et de *Borelia recurrentis*. Mais en même temps nous avons travaillé systématiquement sur les salmonelles aussi. Nous avons pu isoler *C. Burnetii* en 1952 et publié (2). De même nous avons réussi récemment avec Dr. Özsan d'isoler d'une *Borelia* d'*Ornithodoros erraticus*, recoltés des terriers des renards sauvages à côté de la frontière Turco-Syrienne (Akçakale). On va publier les travaux, prochainement.

*Cultures* : 4-7 tiques, après avoir bien trituré 4-5 minutes dans alcool éthylique pour éliminer la contamination de surface. On broie dans un mortier de porcelaine en prenant toute les précautions nécessaires de l'asepsie. On y ajoute 5 cc. d'eau physiologique stérile et on décente. Après dix minutes de repos le liquide surnageant est aspiré par une pipette stérile, dans des tubes stériles qui serviront pour l'inoculation et des cultures.

On inocule à deux cobayes et deux jeunes souris par voie intrapéritoneale et on encense deux boîtes de Wilson-Blair et deux boîtes de milieu d'Endo.

Les températures des cobayes étant prise chaque jour, s'il y a remonte plus de 40 on le sacrifie et l'autre est conservé pour les réactions sérologiques. Si le re-

(\*) Communiqué au V. Congrès International de médecine tropicale et du paludisme, Istanbul, 28/VIII/1958.



sultat de culture est positif, les colonies suspect seront reenculturées sur un autre Wilson-Blair et Endo. S'il n'y a rien durant quatre jours on les rejete. On va repiquer des colonies lactose négatif, sur les milieux Bram-Silberstein A et B (3). Ce milieu est employé largement en Turquie et donne des résultats satisfaisants. La fermentation de lactose, de saccharose, de mannitol, la production gazeuse de l'acide on peut observer facilement sur ce milieu. Les souches suspectes seront examinées avec des sérums agglutinants procurés de la Centrale internationale de salmonelle, Copenhague, Danemark, aimablement soumis à notre disposition par Dr. Kauffmann. Nos souches isolées ont été envoyées à la Centrale internationale de salmonelle et on nous les typée.

*Résultats :* Quatre souches de salmonella gaertner (IX, XII, gm.) ont été isolées des quatre lots de tiques. Deux à partir de suspension des tiques et les autres par inoculation des cobayes et des souris. 300 tiques divisées en 50 lots différents se montre 8 % infectées par salmonelle enteritidis gaertner, les régions infectées sont séparées l'une de l'autre par plusieurs centaines de kilomètres. Comme la partie orientale des tiques des parties centrale d'Anatolie aussi sont infectées, et l'intoxication alimentaire n'est pas rare. Ceci nous suggère que l'ornithodore lahorensis (probablement les autres espèces) sont des hôtes de salmonelles peuvent transmettre la maladie de l'animal à l'animal.

*Résumé :* De la partie orientale de la Turquie nous avons recueilli des *O. lahorensis* qui ont été infectés par salmonelle E. Gaertner. Les tiques peuvent transmettre la maladie de l'animal à l'animal.

#### LITTÉRATURE

- 1 — R. B. Parker — Communication spéciale.
- 2 — Parris et Akpaz — Türk Hıv ve Biyoloji Dergisi, 1949, IX, 1.
- 3 — Braun et Silberstein — Oriental J. vet. Hyg. Pathol. Soc. Monograph, 1949.

## ŞARKI KARADENİZ BÖLGESİNDE NEKATOR TARAMASI (\*)

Dr. Kemal ÖZSAN

B. S. Çiğdemci Anıtsal Hastanesi

Türkiye'de Nekatorun mevcudiyeti ilk defa Prof. Akil Muhtar Özden ve Sedat Tavat (1921) tarafından gösterilmiş, bilâhare Hasan Vazai, Ziya Öktem ve Hüsamettin Şerif'in çalışmaları ile durum daha iyi tebellür etmiştir.

Bu hastalığın Şarki Karadeniz sahillerine Rus işgali sırasında yol yaptırmak üzere çalıştırdıkları Çinli ameleler tarafından getirildiği söylenmekte ise de Prof. Şükrü Oytu'nun etüdülerine göre hastalık çok daha evvel bu mutakada mevcut idi.

İsmail Hakkı Çelebi de 1926 da *anelystoma duodenalis*'in mevcudiyetini açıklamıştır.

Prof. Ziya Öktem'in 1933 senesinde yaptığı ilk taramadan sonra daha geniş ölçüde tatbikine girilen tarama ameliyesine memuren yeter derecede sağlık memuru ve malzeme ile Şarki Karadeniz bölgesine gönderildim. Bu taramada mahalli teşkilât da ekiplerimize yardım etmişlerdir.

1946 dan itibaren, Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanmış olan yönetmelik gereğince gönderilen ekipler tarafından depistaj kısıtı ile taramalar yapılmış ve mahalli teşkilâtın da hastalıkla mücadele için takip edecekleri yol bildirilmiştir.

İlk olarak taramaya 8, 2/1946 dan itibaren Hopa ve ona bağlı Kemâlpazarı, Arhavi, Viçe nahiyeleri ile köylerinde başlamıştır. Daha evvel de bu ilçede nekator mevcudiyeti bilindiğinden ve halk da yapılan tedaviden çok fayda görmüş olduğundan bu işe halkın rağbeti büyük olmuş, tarama ve ilâc verme ameliyesi çok kolay olmuştur.

Hopa ilçesinden sonra Pazar, Çayeli, Of ilçe, bucak ve köylerinde de taramalar yapılmıştır.

Taranan bütün bu bölgelerde çok küçük ve yaşlılar hariç bütün şahısların dışkıları alınmış ve ilişik cetvellerde de görüleceği veçhile dışkı alma nisbeti, vasatı %50 yi bulmuştur.

Arazinin darlığı dolayısıyla halkın çok mobil oluşu, yani Zonguldak, İstanbul gibi iş merkezlerine çalışmaya gitmeleri dolayısıyla bu nisbet pratik olarak bütün nüfusu temsil etmektedir.

Dağlık olan bütün bu bölgelerde arazi yekdiğerinden 5-10 Km. aralıkla akan ırmak ve kolları tarafından bölümlere ayrılmış olup köyler bu dereler arasında kalan tepele-

(\*) V. Milletlerarası Tropikal Hastalıklar ve Malaria Kongresinde tebliğ edilmiştir.

rin yamaçlarına serpilmiş vaziyettedir. İklim ılık, ırmaktır. Bu muntakada çay ziraati yapılmaktadır.

Nekator nisbeti sahil köyleri ile vadi boyunca olan veya deniz seviyesinden pek yüksek olmayan düzlük köylerde yüksek olarak bulunmuş, yüksek köylerde de düşük olarak tesbit edilmiştir.

Şunu burada zikretmek yerinde olur ki, arazi dar, geliri kıt olan bu bölgede hayvancılığın da inkişaf etmemesi sebebiyle mahdut olan ziraatleri için insan pisliğini gübre olarak kullanılmaktadır. Helâ cukurları ve hastalığın geçiş yolları bakımından alınan bütün tedbirlere rağmen sunî gübrenin geniş ölçüde verilememesi yapılan bütün emekleri semeresiz bırakmaktadır.

İlişik olarak takdim edilen cetvellerde alınan dışkınn tek bir muayenesine dayanan sonuçlar bildirilmiştir. Gözden kaçan vak'aların olduğu tabiidir. Nekatorla beraber (teşhis dışkıda görülen yumurta üzerinden yapıldığından Nekator denince Ankilostom da bu kadroya ithal edilebilir) diğer barsak parazitleri de geniş ölçüde tesbit edilmiş olup, bilhassa askarit % 80-90 nisbetinde bulunmuştur.

Ordu iline kadar olan bölgede başka ekipler tarafından yapılan taramalarda Nekator nisbeti oldukça yüksek bulunmuş, fakat Orduda ve ondan sonra gelen sahil boyunca İstanbula kadar olan bölgede geniş taramalar yapılmamıştır. Ancak mahalli teşkilâtın yaptığı araştırmalara göre Samsun'dan sonra İstanbul'a kadar olan bölgede hastalar Rize, Trabzon, Giresun menşeli kimselerdir.

Türkiye'nin Karadeniz sahili hariç diğer bölgelerinde Nekatorun mevcudiyeti bildirilmemiştir.

İlaç olarak tetra klorür dö karbon verilmiş olup yaş başına 0,10 gr. hesaplanmış, büyük tahammülsüzlük arzaları görülmemiş, yalnız şüpheli bir ölüm vak'ası kaydedilmiştir.

Şimdi sıra ile taradığım bucaklara ait Nekatorlu şahıs nisbetini vereceğim. İlişik olarak takdim edilen cetvellerde durum daha tafsilen köy köy arz edilmiştir.

## ENQUÊTE COPROLOGIQUE SUR LA NÉCATORIASÉ DANS LA RÉGION CÔTIÈRE ORIENTALE DE LA MER NOIRE

Dr. Kemal ÖZSAN

En 1921 A.M. Özden et S. Tavak montrèrent l'existence de la Nécatoriasé en Turquie. Puis la question est bien élucidée par les travaux ultérieurs de H. Vasif, Z. Öktem et H. Şerif.

Bien qu'on accuse les chinois comme propagateurs de la maladie (au cours de la première guerre mondiale les russes les avaient fait travailler pour faire des routes militaires dans la région nord-est de la Turquie) d'après Ş. Oytun celle-ci est plus ancienne que l'on ne croyait.

Après la première mission qui était dirigée par Z. Öktem, j'en étais chargé de la seconde dans les côtes nord-est de la région de la Mer Noire.

Dans tous les travaux que je faisais avec mon équipe, j'étais grandement appuyé par les organisations sanitaires régionales.

Depuis 1946 d'autres équipes ont continués le dépistage pour le même but.

D'abord, nous avons systématiquement dépisté les villes de Kemalpaşa, d'Arhavi, de Viçe et puis de Pazar, de Çayeli et d'Of.

Dans tous les travaux, on avait la tâche d'examiner les matières fécales de toute la population existante, sauf les trop vieux et les très jeunes (les enfants moins de 4 ans), et nous avons atteint un pourcentage moyen allant jusqu'à 50 %.

Ces régions montagneuses sont séparées par des rivières et leurs confluent qui forment des étroites vallées de distance de 5 à 10 K.M. C'est dans ces vallées que les villages sont disséminés. Le climat est tellement doux et humide qu'il y permet la culture du thé. Le climat favorise énormément la propagation de la Nécatoriasé.

Au fur et à mesure qu'on s'éloigne la côte et des vallées basses, le pourcentage d'infestation commence à diminuer et dès qu'on arrive dans un climat frais et sec la nécatoriasé disparaît complètement.

Ces régions montagneuses qui se précipitent vers la mer ne laissent que des étroites bandes de terre cultivable entre les vallées et au bord de la mer et la population n'ayant ni la terre cultivable, ni de puturage pour élever des animaux se trouve dans une condition très précaire. Ceux-ci les obligent à s'en servir de leur matières

fécales comme engrais. Cet état de chose ne fait qu'augmenter le pourcentage des infectés.

Tant qu'on ne leur procurera des engrais artificiels, les mesures prises ne seront jamais satisfaisantes et la maladie se vira comme auparavant.

Le tableau présenté dans le texte Turc vous instruira des résultat obtenus d'un seul examen microscopique de la m.f.

Le diagnostic étant fait par les examens microscopiques de la m.f., on n'a pas fait la différenciation la nécatoriasis et l'ancylostomiase.

Les recherches faites sur cette maladie par plusieurs missions ne concernent que la partie cotière de la Mer Noire entre la frontière russe et la ville d'Ordu.

Entre cette dernière et Istanbul on n'a pas fait une enquête spéciale comme dans la région sus-dite. Le dépistage fait par les services médicaux locaux n'a pas démontré l'infestation parasitaire autochtone. Les quelques cas trouvés infestés étaient originaires de Rize, de Trabzon, de Giresun ou d'Ordu.

Jusqu'à aujourd'hui la nécatoriasis reste localisée dans la région susmentionnée et on n'a pas signalé l'existence dans d'autres régions sus du pays.

Comme médicament, nous avons servi la tetra chlorure de carbone à la dose de 0.10 gr. par kgr. de poids. Cette dose nous n'a pas donné des signes d'intolérance à signaler. Un cas de mort survenu après d'administration du médicament était attribué à une autre cause.

Commune Bucak	Population Nüfus	Nombre de m.f. examinés Muayene edilen dışki sayısı	Positif + cikan dışki sayım	Quantité de m.f. par rapport de la population	
				Muayene edilen dışkının nüfusa % sı	Positif par rapport de la m.f. examiné Dışkiya göre + % sı
Kemalpaşa	2934	1778	249	60	14
Ulu	6394	3208	687	50	21
Arhavi	11719	3607	520	31	14
Viçe	10378	5657	1808	55	23
Pazar	22313	11888	4399	50	39
Hemşin	6115	2291	541	43	23
Ardeşen	18071	9418	3883	52	36
Çayeli M.	5897	3539	1786	60	50
Merk. Bucak, köy	9890	4991	2634	50	53
Kaptanpaşa	2638	715	78	27	11
Gündoğdu	14227	6574	3063	46	47
Of M. ve köy	17617	11057	2999	63	21
Dernek	19696	10210	1699	32	16
Kadabor (8 köy)	6110	2356	7	40	0,3
Yekûn (Total)	182999	76719	23151	50	30

## BİBLİYOGRAFYA

Dr. Kemal Özsan :

- 1 — Hıpa ile ve bucağında yapılan Nekator taraması hakkında 26/3/1946 da Sağlık Bakanlığına verilen rapor.

Dr. Nuri Kurban :

Dr. Kemal Özsan :

- 2 — Hıpa ile ve Nekator sıvazı hakkında 1/6/1946 da Sağlık Bakanlığına verilen rapor.

Dr. Kemal Özsan :

- 3 — Çayır ile ve Nekator sıvazı hakkında 16/7/1946 da Sağlık Bakanlığına verilen rapor.

Dr. Kemal Özsan :

- 4 — Of meşesi bucağında yapılan meşel hakkında 21/1/1947 de Sağlık Bakanlığına verilen rapor.

Dr. Kemal Özsan :

- 5 — Kadılar bucağında yapılan Nekator sıvazı hakkında 21/1/1947 de Sağlık Bakanlığına verilen rapor.

Dr. Kemal Özsan :

- 6 — Dernek bucağında yapılan Nekator ve çeşitli nörodeleler hakkında 23/3/1947 de Sağlık Bakanlığına verilen rapor.

Prof. Şekir Özyun :

- 7 — Kancalı kurt probleminde ali 19/Aralık/1951, 23795 sayı ile Sağlık Bakanlığına verilen rapor.

## ISO NİKOTİNİK ASİT HİDRAZİDİN BCG VE MUHTELİF BAKTERİLER ÜZERİNE ETKİSİ

K. ÖZSAN

S. PAYZIN

H. EKMEK

Ankara Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Enstitüsü ve Refik Saydam Mikrobiyoloji  
Enstitüsü B. C. O. Servisinden

Halihazır tüberküloz ilaçlarından sonuncusu olan İNAH (İso Nikotinik asit hidrazid) in BCG ve diğer bakteriler üzerine olan etkisi araştırma konusu yapılmıştır. Deneylerimize halen devam edilmekte olmakta beraber şimdilik vardığımız bazı sonuçların yayınlanması uygun görülmüştür.

İNAHın koli, tifo, paratifo B, flexner, stafilokok, streptokok ve difteri basili üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Deneyler % 5 asitli besin etsuyunda yapılmıştır. Aşağıdaki çizelgede görüldüğü üzere, İNAHın bu bakterilerin üremesine 10 gama ile bile üreme önleyici etkisi elde edilememiştir.

**İso Nikotinik Asit Hidrazid**

Mikrop. adı	10 Gama	1/1 Gama	0,1 Gama	0,01 Gama	0,001 Gama	Koli	Kontrol
Koli	Hepsi (++++) üreme göstermiştir.	Hepsi (++++) üreme göstermiştir.	Hepsi (++++) üreme göstermiştir.	Hepsi (++++) üreme göstermiştir.	Hepsi (++++) üreme göstermiştir.	Hepsi (++++) üreme göstermiştir.	Hepsi (++++) üreme göstermiştir.
Tifo (R. Saydam Ty 6)							
Para B (R. Saydam)							
Flexner (Mikrob. Enstit.)							
Stafilokok (Oxford)							
Streptokok (Dick)							
Difteri (Park William 8)							

+++ Çok bol üremeyi göstermektedir.

### B C G Üzerine etkisi

1931 denberi Refik Saydam Enstitüsünde aşı imalinde kullanılan ve Van Deimse tarafından kontrol edilmiş olan BCG kütüğü deneyde kullanılmıştır. İNAH eriyiği seitz süzgeçlerinden süzülerek sterilize edilmiş ve aşağıdaki çizelgede görüleceği üzere muhtelif sulandırmaları yapılarak 20 santimetre kare yüzeyi olan Löwenstein besiyerinin her Cm. karesine istenilen miktar düşecek şekilde olan sulandırmadan 1 cc. yayılmıştır. Daha önceden bu sulandırmalardan 10 cc. lik miktarlar ayrılıp her birime iki damla taze BCG aşısı anasübesi (1 cc. de 10 miligram) katılmış bulunuyordu.

### Muhtelif İNAH miktarları ve BCG üremesi

İNAH Yoğunluğu *	1/5	1/10	1/20	1/35	1/45	1/55	1/60	1/65	1/75	1/80	1/100	1/140 1/150	Kontrol
Üreme derecesi	Üreme Yok	3-5	5-10	60	51	15+ 200	200	500	% 25	% 50	% 75	Kontrol Gibi	Tam
Her besiyerinde üreyen koloni													

\* İtakamlar (1/5-1/150) milyonda çarpılmalıdır.

a) RvH 37 üzerinde 1 : 60000000 İNAH'ın üremeyi önlediği bildirilmiş olmasına rağmen biz virulan basillerde olduğu gibi BCG de de bu kudreti tam olarak göremedik. 1 10000000 İNAH sulandırımında üreme olmuştur. Fakat açık bir üreme önlemini de belirlemiştir. (Kontrol tüpünün sıvama üremesine karşı 5-6 koloni).

b) Basillerin morfolojisinde de değişme olmuş, basillerin eni, boyu 1/3 kadar artmıştır. 2-3 tanesi birleşip zincirler yaptığı görülmüştür. dallanma dahi aşikâr idi.

c) Etki şekli : İNAH etkisi ile 1 ay 37 derecede kalıp hiç üreme olmamış tüplere (Sauton besiyeri) konularak alınan çalkantı santrifüjlenerek üst sıvı atılmış ve bu iş 3 kere tekrarlanmıştır. Çöküntü yeniden Sauton ile sulandırılarak her birinden Löwenstein besi yerine ekilmiştir. Sonuçlar şöyledir: 1/35 gamaya kadar bakteriositatik ve bakterisid etki görülmüştür. Bu deneylerin tekrarında aynı sonuçlar alınmıştır.

### 1 ay İNAH'ın muhtelif miktarıyla önlenmiş BCG

İNAH'ın DOZU	1/2 Y	1/5 Y	1/10 Y	1/35 Y	1/50 Y	ontrol
Santrifüjden sonra üreme		-		8 Koloni 3. m. m.	8 Koloni 3 m. m.	+++

Üreme 6 günde aşikâr idi.

Görülüyor ki, doğrudan doğruya İNAH ile ilk defa temasa gelen BCG kütüğünde bile sonradan 1/35 gama İNAH'a karşı dirençli bakteri birimleri bulunmaktadır. Bu işaret noktasından ileri doğru hareket edilerek tabii olarak bulunan dirençli kolonilerin bu kabiliyetlerini ne dereceye kadar arttırabileceği araştırılmıştır. Bunlar 1 cc. sinde 5 gamma İNAH bulunan Löwenstein besi yerlerine ekilmiş ve geç olmakla beraber 3-5 koloni üremiştir. 10 gamalık tüplerde ise üreme olmamıştır.

10 gama İNAH/cc ile aşırı kesafetindeki 5 gamaya dirençli BCG suspansiyonu karşılaştırılmış Löwenstein besi yerlerinde 19 gün sonra bolca üreme elde edilmiştir. Üreme müddeti 19 ve 26 gün arasında değişmiştir.

5 gamada üreyen dirençli koloniler ile 10 gama İNAH bulunan tüplerde üreyen kolonilerin sayısında pek büyük fark olmadığı halde cesametleri farklı idi. 10 gamada üreyenler 5 gamadakilerin 1/4-1/6 sı kadar ufak idiler. 10 gamada üreyen koloniler 20 gama İNAH bulunan vasatlara ekilmiş ve bunlarda da üreme olmuştur.



Bütün bu deneylerde INAH sız kontrol tüpleri deney süspansiyonu ile ekiliyordu. kontrol tübündeki kitle halindeki üremeye karşı esas deney tüplerinde üreme bir kaç ile bir kaç 10 koloni arasında değişmekte idi.

Deneylerin şekli değiştirilerek aynı sıralar takip edilmek suretiyle tecrübeler şu şekilde de tekrarlanmıştır : INAH'ın türlü yoğunluklarından 10 cc. sine 2 şer damla BCG aşısı süspansiyonu katılarak besi yerine ekmeden buzlukta muhtelif günler temasta bırakıldılar. Sonra bunlardan 5, 9, 32 inci günlerde Löwenstein besi yerlerinde ekim yapıldı. 10 gama INAH ile 9 gün temasta kalan da olduğu gibi 32 gün temasta kalan BCG süspansiyonunda sırası ile 10 uncu ve 24 üncü günlerde üreme elde edildi. Üreme 20 santimetre karelik besi yeri yüzeyinde 30 koloni kadardır. Halbuki aynı müddet buz dolabında saklanmış olan ve 10 cc. ilaçsız Sauton'a 2 damla BCG aşısı konularak yapılmış kontrol süspansiyonu ekilmiş tüpte üreme kitle halinde idi. 10 gama INAH muvacehesinde üreyen kolonilerden 20 gamalık yoğunlukta INAH bulunan besi yerlerine pasaj yapıldı ve bunda da üreme olduğu gibi 5 gamadan doğruca 20 gamaya yapılan pasajlarda da üreme elde edildi.

**Tartışma :** Yukarıdanberi verilen izahattan anlaşılacağı üzere Isonikotinic asit hidrazidin 10 gama gibi yüksek sayıdaki miktarlarının bile Koli, Tifo, Para tifo B, Flexner, Difteri basilleri ile stafilokok ve streptokoklar üzerine hiç bir etkisi yoktur. Bunların üremelerini önlemek şöyle dursun hatta meselâ, kolide olduğu gibi INAH muvacehesinde daha bol üreme olmuştur.

BCG üzerine olan etkisine gelince :

1/35 gama INAH yoğunluğunda ilaçla daha ilk defa temastan sonra dirençli koloniler teşekkül etmiş ve bunlar gittikçe artan INAH yoğunluğuna alıştırlarak 20 gama gibi yüksek bir yoğunlukta üreme kabiliyeti kazandırılmıştır. İlaçla temastan besi yerinde veya süspansiyon halinde iken olması arasında kayda değer fark olmamıştır. Aynı deneyleri hayvanlarda in vivo olarak yapmayı tasarladıkça da henüz kobay noksanı sebebi ile imkân bulamadık. İlaçın açık bakterisit etkisine rağmen dirençli bakterilerin hayvan vücudunda da aynen tüpteki gibi çoğalmaları beklenebilir. Bu hal belki de virulan verem basilleri için daha da dikkate değer mahiyette olacaktır. Bu olaylar bize INAH'dan ilk zamanların parlak vaatlerinin neden tahakkuk edemediğini göstermektedir.

**Hülasa :**

Muhtelif bakterilere (Koli, Salmonella, Koklar) karşı INAH'ın tesiri araştırılmış ve üreme önleyici kabiliyeti olmadığı anlaşılmıştır.

BCG nin INAH ile daha ilk temasında 1/35 gama INAH yoğunluğunda dirençli koloniler üremiş ve bunların dirençliliği 20 gamaya kadar çıkarılmıştır. INAH'ın BCG üzerine bakteriyostatik ve bakterisit etkisi görülmüştür. Aynı zamanda basillerde büyüklük ve dallanma artması müşahade edilmiştir.

## THE EFFECT OF ISONICOTINIC ACIDE HYDRAZID ON DIFFERENT BACTERIA AND B C G (\*)

K. ÖZSAN, S. PAYZIN and H. EKMEK

From the School of Medicine, Department of Bacteriology  
and Belik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara

The new antituberculosis drug, isonicotinic acide hydrazid was tested against some different bacteria.

10 cc. of 5 % asitic broth tubes containing different amounts of isonicotinic acide hydrazid (INAH), were inoculated with one drop of 24 hours cultures of *B. coli*, typhi (Panama 58), paratyphi B (Vaccine strain of R. Saydam Institute), *Sh. Flexneri*, *Staphylococcus aureus*, haemolytic streptococcus and diphtheria (Park Williams, Toronto-strain). No inhibition have been observed. The results are summarised in the table I.

**Table I. The Effect of INAH on Different Bacteria**

The amount of INAH	10	1	0.1	0.01	0.001	Controlle Tubes
Test Organisms	Y	Y	Y	Y	Y	
<i>B. Coli</i>						+++ <i>B. Coli</i>
<i>B. Typhi</i>						
<i>S. paratyphi B</i>						
<i>Sh. Flexneri</i>						plus
<i>Staphylococcus aureus</i>						
Streptococcus						
<i>B. Diphtheria</i>						plus

+++ is indicates heavy growth of the bacteria

### The Effect of INAH on BCG :

a) Vaccine strain of BCG of R. Saydam Institute (obtained from Pasteur-Institute on 1932 and controlled by van Deinsse on 1949) was used as test organism. INAH is diluted with distilled water and sterilized by filtration through Seitz pads. The necessary dilutions were made in sterilised saline. Surfaces of Löwenstein mediums were approximately 20 Sq.c. and the concentrations of the drug were calculated for 20 Cm<sup>2</sup> of medium. Each of 10 cc. of INAH dilutions were inoculated with one drop of fresh BCG vaccine (10 mg. BCG per cc.) One cc. of drugvaccine mixtures were inoculated evenly over the surfaces of two Löwenstein medium. The results are shown in table II.

(\*) Received for publication on May 1955.

**Table II : The Effect of INAH on BCG**

The concentration of INAH	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ	1/150 Control
	1/5	1/10	1/20	1/35	1/45	1/55	1/60	1/65	1/75	1/80	1/100	1/140	
The degree of growth of BCG	No. growth	3-5	5-10	60	51	150-200	200	500	*525	*450	*75	Growth as Controls	Well growth
		Colonies per medium											

Figures indicate 1/5,000,000 to 1/150,000,000 dilutions of INAH.

Complete inhibition of growth of have obtained only with 1/5,000,000 dilution of INAH.

b) One loopful growth of BCG from the tube of 1/35,000,000 dilution of INAH was transferred to another fresh medium. Good growth was obtained after five days incubation. 10 serial passages were made with two days intervals and after the tenth passage, the BCG strain was growing very easily during 24 hours. The 14, 15, 16, 16 th passages were made on each successive days.

c) Slight morphological changes were occurred with INAH action. Colonies were more buttery and dimensions of bacilli were enlarged. Indian ink smear preparations were made with BCG vaccine and INAH resistant growth of BCG and 100 bacilli each of them were measured with micrometre. Dimensions of INAH bacilli were 1/3 larger than the original BCG. No change have been occurred of acido-alcoholo-resistancy ability.

d) Mode of action : Tubes, which showed complete inhibition of growth of BCG for one month at 37°C were selected. 10 cc. of Sauton medium were added for each of them. Suspensions were made and centrifuged for 15 minutes. Supernates were discarded and sediments resuspended in 10 cc. of Sauton medium. One cubic centimeter of suspensions were inoculated into fresh Löwenstein medium. Results are shown in table II.

**Table II : The results of inoculations with washings of medium which BCG was inhibited for one month at 37°C.**

The amount of INAH	1/2 γ	1/3 γ	1/50 γ	1/50 γ	Controls
Growth after washing with Sauton	No. growth	No. growth	8 Colonies 3 mm.	8 Colonies, 8 mm	++++

Growth was obtained in six days.

D) These are preliminary observations. Experiments on BCG are continuing and detailed report will be published later.

### Summary

No bactericidal or bacterio-static effect of INAH on different bacteria was observed.

Bacteriostatic and bactericidal effect of INAH on BCG strain was evident, but 1/35 gamma resistant colonies were reached to 20 γ resistance degree after serial passages on different amounts of INAH.

Refik Saydam Merkez Hifzıssıhha Enstitüsünde hazırlanan

## KONSANTRE VE PÜRİFİYE DİFERİ ANTITOKSİNİ

Sadık GÖREN

İnstitüel Sahne Müdüresini

Enstitüde hazırlanan çeşitli tedavi serumlarının en az altı ay bekleldikten sonra pratiğe çıkarılmasına rağmen, dünyanın her tarafında olduğu gibi bu kabil normal beygir serumlarının sebebiyet verebildiği SERUM HASTALIĞI'ni asgari hadde indirmek amacıyla konsantre ve pürifiye serum istihsaline başlanmış bulunduğumuzu hekim arkadaşlara tebşir ederiz.

Enstitüde konsantre ve pürifiye serum ihzarı senelerdenberi düşünölmüş ve Müdür Niyazi Erzin tarafından gereken teknik materyal temin edilmiş olmasına rağmen bundan 30 sene evvelki görüşle tesis edilmiş enstitünün kuruluşundaki yetersizlikler yurdumuzun günden güne artmakta olan serum ihtiyacını bile ancak karşılayabilmektedir.

Filhakika 1952 yılındaki normal serum istihsalimiz :

Tetanoz serumu için	1.279.115
Diferi serumu için	648.250
Menengokok serumu için	26.240
Gangren serumu için	643.362
Normal beygir serumu için	122.470
Kuduz serumu için	4.500
Akrep serumu için	4.250
Emolitik serumu için	5.570

2.733.757 santimetre mikâbını bulmuştur. Bu da pratiğin taleplerini ancak karşılayabilmektedir.

Buna hâlel getirmeden böyle yeni bir preparata geçebilmek için kıymetli mesai arkadaşım Niyazi Erzin'in şehir dahilindeki enstitünün dar hudutları içinde serum produktörü olan beygir sayısını artırabilmesi hususundaki gayretleriyle husul bulan istihsaldeki ferahlık sayesinde bu gaye tahakkuk ettirilebilmiştir.

Çalışmalarımızda büyük yardımlarını esirgenmeyen Dr. Nusret Fişek'e ve kimyager Bahriye Kâhyaoğluya burada bilhassa teşekkür etmeği bir vazife sayarım.

Bu preparatın meydana gelmesinde büyük gayret gösteren şube arkadaşlarıma, bilhassa laborantım Hüseyin Günay'a teşekkür ederim.

Bu yazıda evvelâ serum aksıdanları, sonra konsantre ve pürifiye serum ihzarında ufak değışikliklerle takip ettiğimiz Amerikan standart metodu üzerinde bilgi vereceğiz.

Bir insana hayvan serumu verildiği zaman serum reaksiyonu ile neticelenebilmesi daima mümkündür. Serum reaksiyonu üzerindeki ilk müşahedeler difteri serumunun kullanılmağa başlandığı tarihlere (1893-1894) rastlar. Serum zerkinden sonra, bazı vak'alarda derhal veya bir kaç gün sonunda bazı ârzalarla karşılanmış ve bunların difterinin klinik tablosu ile bir ilgisine hükmedilmiş ise de bunun böyle olmadığı sonradan anlaşılmıştır. Bu hususta ilk tebliğ E. Roux, Martin ve Chailon tarafından 1894 Budapeşte kongresinde yapılmıştır. İlk zamanlar bu ârzaların antitoksin yüklü serumlarla husule geldiği sanılmış, fakat Johannesen 1895 de normal beygir serumunun da aynı ârzaları yapabileceğini tespit etmişti. 1902 de Portier ve Ch. Richet tarafından anafilaksi olayının keşfi sayesinde kumen aydınlatılmış olan bu ârzaların sonradan M. Arthus, Priquet, Schick, Francioni, Smith ve Otto gibi âlimlerin çalışma ve tecrübeleriyle farti hassasiyet ve allerji'ye bağlı hadiseler olduğu tamamen açıklanmıştır.

Serum reaksiyonları ikiye taksim edilebilir :

1 — Serum zerkinden sonra bir kaç dakika, yahut bir kaç saat arasında görülen **çabuk reaksiyon**'lar.

2 — Serumun zerkinden bir kaç gün ve hattâ haftalar sonunda husule gelen **geç reaksiyon**'lar (**Serum Hastalığı**).

### Çabuk Reaksiyonlar

1 — Herhangi ufak bir şokta dahi tahammülü olmayan şahıslar serum zerkinden sonra ölebilirler. Park ve Williams serum zerkinden sonra derhal husule gelen ölümleri bu guruba sokmuşlardır. Çok şükür bu tip vak'alara nadir rastlanmaktadır.

2 — Nonspesifik ve anafilaktoid reaksiyonlar, 1938 de Lord ve Heffron'un bildirdiklerine göre damar içine hayvan serumu zerkedilmiş 1755 vak'adan ibaret bir müşahede % 7 nisbetinde nefes almada zorluk, yüz kızarması, siyanozis, veya lumber ağrı, çabuk ve zayıf nabız ve diğer bazı semptomlarla müterafik haller kaydetmişlerdir. Bu yazarlar % 17.8 nisbetinde termal reaksiyon da tesbit etmişlerdir. Burada adı geçen anafilaktoid tabiri kalp genişlemesi, hemorrajî ve trombozisle süfli hayvanlarda anafilaksi gibi semptomlarla karakterize fenomenlere verilmiştir. Semptom ve patolojik değışmeler nonspesifik olup bu için spesifik bir maddeye karşı tabii veya kinbi farti hassasiyete bağlı olmadığı sanılır.

3 — Spesifik reaksiyonlar ise iki bölümde mütalâa edilmektedir :

a) Serum zerkine şiddetli reaksiyon veren şahıslardır. Nasıl ki bazı kimseler tüy, pudra, çiçek tozları ve satreye karşı hassastırlar. Ekzite edici âminin zerki veya bunun

burun, barsak muhata zarına, yahut çok organlara erişmesiyle ot humması, astma nasıl tezahür ediyorsa bazı şahıslar da hayvani proteinlere tabiaten hassastırlar. Böyle kimselere *atopically* hassas adı verilmiştir. Böyleleri çok az miktar serumu dahi reaksiyon verirler. Şayet evvelce bir serumla hassas kılınmış iseler bu reaksiyon çok daha şiddetli olur. Deri içine veya deri altına zerklere çok şiddetli reaksiyon gösterirler. Bu sebeple serumun son derece küçük dozlarıyla da gayri hassas kılınmazlar. 1937 de *V a u g h a n* ve *P i p e r* literatürden 25 vak'a toplamışlardır. Bunlarda ölüm, beygir serumu zerkini müteakip vukua gelmiştir. Bu ölümlerden altısında serum deri altı yolla zerkedilmişti. *P a r k* ve *W i l l i a m s*'a göre böyle şiddetli reaksiyonlara 1/10.000 şahısta rastlanır. Deri altı veya et içine serum zerkinden kısa bir zaman sonra husule gelen ölüm vak'aları ise ortalama 1/50.000 nisbetindedir.

b) Bu bölümdeki şahıslar serum zerkinden sonra derhal özel reaksiyon gösterirler. Bunlar evvelce beygir serumu zerkine tâbi olmuş ve böylece beygir proteinine karşı farkı hassasiyet kazanmışlardır. Bu hassasiyet halinin teessüsü bazan toksin + antitoksin halitasına gireu cüz'î miktar beygir serumu ile de olmuştur. Nitekim bu keyfiyet göz önünde tutularak bu kabil immünizasyon müdahaleleri için kullanılacak toksin + antitoksin halitası için geçiden istihal edilen antitoksin kullanılmıştır.

Bugün bilindiği üzere evvelce beygir serumu yapılmış bir şahsa ikinci bir serum zerkı hiçbir zaman kontrendike değildir. *B e s r e d k a* ve *P a r k*'in kıymetli çalışmalarıyla bu anlaşılmıştır. Hassasiyeti ölçen usullere baş vurulmakta ve böyleleri gayri hassas hale getirilmekte ve bir takım tedbirlerle serum zerkleri yapılmaktadır.

### Geç Reaksiyonlar

Serumun zerkinden bir kaç gün, hattâ bir kaç hafta sonunda görülen bu reaksiyonlara *S e r u m* *H a s t a l ı ğ ı* adı verilmiştir. Bunun husulünde, serum istihal edilen bellibaş hayvan serumları arasında en çok rolü bulunan beygir serumlarıdır.

Sığır serumu zerklerinde bu hastalık hali daha az müşahede edilmiştir. Ancak gerek teknik, gerekse yüksek üniteli serum elde etmek ve daha bir çok kolaylıkları dolayısıyla immün serumlar genel olarak beygirlerden istihal edilir.

Serum hastalığının tahassülünde beygir serumlarının yüklü olduğu albümin miktarı rol oynar. Yani serumdaki albümin miktarı ne kadar fazla olursa bu hastalığın husulü de buna müvazî olarak artar. Fazla miktarda veya bekletilmemiş taze serum zerkleri buna başlıca sebeptir. Normal beygir serumundan damar içine 50 cc. zerk yapılan şahıslarda bu hastalık % 100 görülebilir. Bundan daha az miktarda alanlarda da keza görülür.

Serum hastalığı hayvanlarda da husule gelir. Meselâ beygire sığır, insan veya tavşan serumu, keçiyeye beygir serumu, tavşanlara yabancı hayvan serumu zerkedilmekle bu hastalık müşahede edilir.

Serum hastalığını, serum albüminlerinden bilhassa öglobülin'in daha kolay ve daha çok husule getirdiği tespit edilmiştir. Bu sebeptendir ki, insanlarda kullanılacak immün serumların taze olmamasına çok dikkat edilir. Enstitüde hazırlanan immün serumların en az 6 ay dinlendirilmesi (tamül haline gelmiştir. Serum dinlendikçe bulanmağa başlar ve bunu bir çökme takibi eder. Bu çöküntü kısmen lipoid ihtiva eden öglobülin'den ibarettir. Böylelikle dinlendirilmiş serumlarda bu hastalığı yapma kötülüğü kısmen azaltılmıştır.

Serum hastalığı mahzuru pürifiye ve konsantre edilmiş serumlarla önemli surette ortadan kaldırılmıştır. Bu ameliye ile hem serum hastalığı ve hem de anafilaksi fenomeninde büyük rolü bulunan ve üzerinde antikor yükü bulunmayan veya bulunsa da pek cüz'i olan zararlı albümin reaksiyonları atılır. Normal beygir serumları % 7-8 albümin yüklü olmasına mukabil pürifiye ve konsantre edilmiş antitoksinlerde albümin % 12-18 arasındadır. Buna rağmen daha az serum hastalığı yaparlar. Çünkü zararlı olanlar atılmıştır. 1939 da Bradshaw ve Hutchinsono'nun bildirdikleri gibi, pürifiye ve konsantre serumlarla serum hastalığının zuhuru son derece azalmıştır.

### İmmün serumların pürifikasyon ve konsantrasyonu

İmmün serumların pürifikasyon ve konsantrasyonu, antitoksik serumlara münhasır kalmış bir ameliyedir. Yani difteri serumu, tetanoz serumu, gazlı gangren serumu ve benzeri antitoksinler pürifiye ve konsantre edilmiştir.

Yapılan araştırmalarla immün serumlardaki antitoksin serum içinde serbest bir halde bulunmayıp, bunun serumun Globülini'ne yüklü, yahut da bununla bir arada bulunduğu anlaşılmıştır. Dieudone, Belfanti ve Carbone'nin çalışmaları ile antitoksinin globülin fraksiyonunda bulunduğu tespit edilmiştir.

Globülin şimik yapıları bakımından üçe ayrılmıştır :

- 1 — Fibrinoglobülin
- 2 — Öglobülin
- 3 — Psödoglobülin

İmmün serumlardaki antitoksinler öglobülinde % 10-14 ve psödoglobülinde % 80-90 arasında yüklüdürler. Pic'kin tecrübelerine göre :

	Albumin	Fibrinoglobülin	Öglobülin	Psödoglobülin
Difteri antitoksini	⊙	⊙	Keçi serumu var	Beygir serumu var
Tetanoz antitoksini	⊙	⊙	Keçi sütü var	Beygir serumu var

İşte antitoksinle çok miktarda yüklü olduğu tespit edilen immün serumdaki psödoglobülin, çeşitli usullerle total serumdan ayrılır. Bu ameliyeye serum pürifikasyonu ve



konsantrasyonu denir. Pürifikasyon, zararlı albümin fraksiyonlarının atılmasını, konsantrasyon da o immün serumun orijinine göre daha fazla miktarda üniteli hale getirilmesini izah eder.

Serumların pürifikasyon ve konsantrasyonu içinde çeşitli usuller icat edilmiştir. Bunlar şimik, fizik, biyolojik ve bir de kombine olmak üzere esasında başlıca üç metoddur.

**Şimik metod** — İsminden de anlaşılacağı üzere immün serumu şimik maddelerle muamele ederek istenileni ayırmaktır. Bunun için ammonyum sülfat, magnezyum sülfat veya sodyum sülfat kullanılmıştır. Sodyum klorür, potasyum klorür, alüminyum sülfat ve demir klorid'le de çalışmalar olmuştur.

E. P. Pick, difteri ve tetanoz serumlarının pürifikasyonunda ammonyum sülfatin % 21.5 konsantrasyonu ile fibrinoglobülini ve % 25.6 konsantrasyonu ile globülini elde etmiş, fakat bunda antitoksin tesirini müşahade edememiştir. % 38-46 konsantrasyonda çalışmakla antitoksin tesirine malik bir mahsul elde etmiştir. Bu da psödoglobülin fraksiyonudur. Daha bir çok metodlar vardır.

**Fizik metod** — Havaya boşaltılmış bir kap içinde serumun ayıyuna belli bir derecede gidermek, yahut tamamen kurutup iptidaki hacmine nazaran daha az su koymak gibi bir prensibe dayanan bu usul, sadece konsantrasyona hizmet eder. Serum aksidanlarını önlemek hususunda faydalı bir tarafı yoktur. Bu metod icine giren B u j - n i d' in araştırmalarını da bu arada zikredebiliriz. Bu yazar difteri antitoksinini dondurmuş, sonra yavaş, yavaş erimeğe terketmiştir. Serumun erimesinden sonra iki kısım gözüne çarpmış. Üst ve alt tabakaları yaptığı araştırmalarda alt tabakının orijinine nazaran 2.25 defa daha kuvvetli olduğunu görmüştür. Bunu E r n s t C o o l i d g e ve G o d e d a tekit etmişlerdir. H. S e l ç u k bu usulü denemiş, tetanoz antitoksinini ve emolitik serum ile aldığı benzer sonuçları yazmıştır. Bu usuller immün serumların serum hastalığı yönünden gerektirdiği pürifikasyona cevap vermemektedir.

**Biyolojik metod** — Immün serumların tefessüh etmelerine rağmen tesirlerinin baki kaldığını gören araştırmacılar, bundan ilham alarak, serumların pepsin, pankreatin veya tripsin'le dijessiyonu, albüminleri tahrip ve böylece albüminden arı antitoksin elde etmeği düşünmüşlerdir. Psödoglobülin'in tripsin tesirine mukavemet göstermesinden faydalanılarak bu usul P f e i f f e r, P r o s k a u s e ve B r i e g e r tarafından ortaya atılmıştır.

**Kombine metod** — Yukarıda sıf bir fikir vermek için kısaca zikredilen metodların bazı kısımlarının mezcı suretiyle meydana getirilen metoddur. P r ö c s h e r antitoksinleri 32 derecede pankreas peptik anizimi, sonra yarı yarıya ammonyum sülfat konsantre solüsyonu ile muamele etmiştir. J a c o b y, doymuş ammonyum sülfatla muamele ve elde ettiği depoyu 37 derecede tripsinle yedi gün bırakıp tekrar ammonyum sülfatla çöktürerek kombine bir metod vazetmiştir. P e p e 1939 da antitoksinleri



düyük P.H da peşinile dijessiyona tâbi tutup sonra ammonyum sülfatla 58 dereceye ısıtmak suretiyle muntahap bir kombine metodu meydana çıkarmıştır.

**Kendi takip ettiğimiz metoda gelince**, New York hükümeti Sağlık Dairesinin kabul ettiği standart metodun hemen aynıdır. Tarafımızdan bazı önemli olmayan değişiklikler yapılmıştır. Metodun esas antitoksinlerin protein fraksiyonundan olan psödoglobülin üzerinde toplanmış olmasına, plazmanın öglobülin ile fibrinojeninin bir taraftan ammonyum sülfat ve diğer yandan ısıtmak suretiyle tersip ve izalesine, filtardaki antitoksinin tecemmü ettiği psödoglobülini de ammonyum sülfat konsantrasyonunu yükseltmek suretiyle tersip ve bu maddenin diyaliz ederek neticede purifiye ve konsantre antitoksin çıkarmaktan ibarettir. Ameliye şöyle bir sıra takip etmektedir :

**Plazmanın alınması :** Kan alınacak kavanozlar kuru takım ile sterilize edilir. Aynı % 17 steril sîtrat döşud solüsyonu hazırlanır. Kan kavanozlarına, 9 kısım kan için 1 kısım steril sîtrat solüsyonu konur.

Hişerimün hale gelmiş beygirlerden bu kaplara kan alınır. Kavanozlar oda derecesinde 24-48 saat bekletilir. Tesekkül eden plazma ölçülerek steril şişelerde toplanır. Her beygire ait olan şişenin üzerine beygirin numarası, serive tarihi ve konan plazma miktarı kaydedilir. Şişeye her plazma konuşta konan miktar kadar % 0.3 nisbetinde fenol katılır. Bu ilâve gayet yavaş yapılır. Ve bu esnada şişe daimi surette devri hareketle sallanır. Şişeler -5 derecelik odada saklanır. Şişe dolunca Lf değeri tesbit ve kaydedilir.

**Plazmanın harmanı :** Bu genel olarak 32 litre civarı plazma ile çalışılmaktadır. -5 derecelik odada saklanmış şişeler alınır. Dipteki depoyu dağıtmak için sallanır. Sonra ölçerek konsantrasyon tenceresine konur. Böylece yapılan harmanın mecmu miktarı protokol defterine kaydedilir. Harmandan 5 cc. bir örnek alınır. Bununla harmanın Lf değeri tayin edilir. Harman yapılırken Lf değerleri birbirine yakın olan plazmalarla yapılması daha iyidir.

**P.H nin ayarlanması :** Konsantrasyon tenceresindeki harman yapılmış plazmanın P.H sı kolorimetrik usulle 8 üzerinden ayarlanır. Elektrometrik de aynıdır. Şayet prezervatif olarak fenol katılmadan çalışılıyorsa, endikatörün büyük bir protein hatâsı mevcuubahis olacağından o zaman kolorimetrik P.H 7.3 üzerinden ajişte edilmelidir. Bu da elektrometrik usulle aşağı yukarı 8 e tekabül eder. Harman plazmadan muayyen bir miktar alınır. Gereken P.H yı elde etmek için buna katılan ammonyum hidroksit 0.1 N solüsyonundan ne miktar icap ettiği tesbit edilir. Sonra esas harmana katılacak ammonyum hidroksit N solüsyonu miktarı bulunur. Bu katıldıktan sonra iyice karıştırılır. Tekrar bir kontrol yapılmalıdır.

**Distille su ile sulandırılmak :** Konsantrasyon tenceresinde bulunan P.H sı 8 üzerinden ayarlanmış harman plazmanın bir kısmı için yarım kısım distille su ilâve edilir. Plazmanın miktarı + distille su miktarı toplamı kaydedilir.

**Birinci çöktürme :** Plazmanın öglobülini ve fibrinojeni % 29 konsantrasyon verecek şekilde doymuş ammonyum sülfat katmak ve 58 sonra 60 derecelerde ısıtmak suretiyle terzıp yapadır. Isıtma ile nonspesifik proteinleri terzibi arttırılmaktadır.

Konsantrasyon banyosundaki suyun derecesi 60 üzerinden ayarlanır. Banyoya distille su ile sulandırılmış plazmayı havi tencere oturtulur. Tenceredeki mayiın derecesi düşük olduğundan banyonun sıcaklığı tedricen iner. Beklenmeden doymuş ammonyum sülfat solüsyonundan aşağıdaki formül üzerinden katılması gereken miktar ilâve edilir :

$$X = \frac{CV}{100 - C}$$

X = Katılacak doymuş ammonyum sülfat solüsyonu.

C = Arzu edilen yüzdeki konsantrasyon (burada % 29 dur).

V = Sulandırılmış plazmanın hacmi.

**Doymuş ammonyum sülfat solüsyonun hazırlanması :** Biz bunun için içi sırfı 50 litrelik tencere kullanıyoruz. Buna 33 kilo 970 gram ammonyum sülfat koyuyor. üzerine 70-80 dereceler arasındaki sıcak distille sudan 37.500 cc. ilâve ediyoruz. Sonra tahta bir kürek ile 20 dakika karıştırıyoruz. Gene arada bir karıştırmak şartıyla ertesi sabaha kadar bırakıyoruz. Hidrometre ile 1.245 kesafet alındıkta âdi yumuşak filtre kâğıtından damacanalara süzerek saklıyoruz.

Konsantrasyon tenceresine ammonyum sülfat ilâvesi esnasında daima karıştırılmadır. Sonra tencerenin kapağı örtülür. Banyonun suyu otulur. Bu iş öyle tanzim edilir ki, konsantrasyon tenceresindeki mayiın derecesi 58 dereceyi iki saatte bulmalıdır. Bu iki saat zarfında her 15 dakikada bir mayiın karıştırılması icap eder. Mayi 58 dereceyi bulduktaki banyonun derecesi ise 60 dir. Isı menbaının kuvveti arttırılır. Banyonun derecesi 61.5 a yükseltilir. Konsantrasyon tenceresindeki mayiın derecesi de yavaş yavaş yükselerek 60 dereceyi bulur. Bu iş bir saatte husule gelmelidir. Bu esnada hararet menbaı ayarlanır. Konsantrasyon tenceresindeki mayiın 60 derece üzerinden yarım saat kalması sağlanır. Bu ısıtmalar esnasında her 15 dakikada bir gerek banyonun, gerekse konsantre edilen mayiın karıştırılması lâzımdır. Bu ameliyede dikkat edilecek taraf banyonun derecesinin asla 62 nin üstüne çıkmamasıdır. Isıtma sona erince banyodaki sıcak su akıtılır. Konsantrasyon tenceresi olduğu gibi ya bir kaç saat veya bir gece kendi haline bırakılır.

**Birinci süzme :** Konsantrasyon tenceresindeki kirli ayrılan renkteki mayi sitonajla onar kiloluk balonlara aktarılarak alınır. Bu dolu balonlar, otomatik süzmeyi temin eden özel rafın üst sırasına konacaktır. Bunun alt sırasında üzerinde filtre kâğıtlı huniler bulunan gene onar kiloluk balonlar mevcuttur. İşte dolu balonlar başaşağı hunilere ağızları gelmek üzere rafa yerleştirilir. Bu ameliyede âdi süzgeç kâğıtları kullanılır. Bu süzme işi genel olarak 24 saat sonunda biter.

**Presipitannın yıkanması :** Herhangi bir psödoblobülün iltisakı dolayısıyla kayıpları azaltmak için filtre kâğıtları üzerindeki presipitalar yıkanır. İki huni üzerindeki filtre kâğıtları için % 31 ammonyum sülfat mahlülünden 2 litre kullanılır. Stok olarak yukarıda hazırlanışını tarif ettiğimiz doymuş ammonyum sülfat solüsyonundan 31 cc. alıp buna 69 cc. distille su katarak bu temin edilir. Emaye bir tencere içinde filtre kâğıtları hepsi bir arada bir saat masere edilir. Bu müddet zarfında bir kaç defa karıştırılır. Sonra adı filtre kâğıtlarından süzülür. Kâğıtların üstünde kalan presipita atılır.

**İkinci çöktürme :** Bu ameliye ile psödoglobülün tersip edilir. Birinci çöktürme ve bunu takiben yapılan birinci süzme ve presipitannın yıkanmasıyla elde edilen süzüntü mayileri ölçülerek temiz ve distille su ile yıkanmış konsantrasyon tenceresine konur. Bunun ammonyum sülfat konsantrasyonu % 48 e çıkarılır. Katılacak doymuş ammonyum sülfat solüsyonu miktarı şu formül üzerinden hesaplanır :

$$X = \frac{V (C_2 - C_1)}{100 - C_2}$$

X — İstenen konsantrasyonu verecek doymuş ammonyum sülfat hacmi

V — Eldeki filtratın hacmi

C<sub>1</sub> — Ammonyum sülfatin iptidaki konsantrasyonu

C<sub>2</sub> — Ammonyum sülfatin istenen nihai konsantrasyonu.

Doymuş ammonyum sülfat solüsyonundan gereken miktar katılır. İyice karıştırılır. Oda derecesinde bir saat bırakılır. Bu müddet zarfında her 15 dakikada bir karıştırılır. İkinci çöktürme biter.

**İkinci süzme :** Konsantrasyon tenceresindeki ayrılan renkli rusuplu mayi sifonajla onar kiloluk balonlara aktarılır. Otomatik süzme rafının alt sırasına da aynı hacimdeki balonlardan konur. Bu defa hunilerin üzerine sert filtre kâğıdı (Whatman No. 50) konur. üst rafa doldurulmuş balonlar hunilerin üzerine baş aşağı yerleştirilir. Kendi haline bırakılır. Süzme işi ortalama beş gün sonunda biter. Bu sert süzgeç kâğıtlarını ırga karşı tutarak muayeneden geçirmelidir. Delik olanlar kullanılmaz. Süzülen mayinin berrak çıkması lazımdır.

**Presipitannın kurutulması :** İkinci süzmeden sonra otomatik süzme rafının alt sırasındaki balonlar içinde bulunan filtre atılır. Huni üzerindeki kâğıtlarda kalmış olan yoğun renk ve kıvamındaki presipitalar, kâğıtlar huni üzerinden yavaşça alınıp temiz masa üstünde yayılır. Altlarına rutubeti çekmek için 40-50 tabakadan ibaret adı filtre kâğıdından yapılmış yastıklar konur. Sert süzgeç kâğıtları üzerindeki yoğun kıvamındaki rusup, kauçuk veya porselen bir mablakla muhitten merkeze doğru toplanır. Bir gece kendi haline bırakılır. Ertesi gün kıvamı daha sertleşen presipitalar ak nesneli patiskadan yapılmış torbalara doldurulur. Torbaların ağızları bağlanır. Bir yere asılır, tıpkı torba yoğurdu yapar gibi, torbaların kendi tazyiki ile presipita içindeki sular yavaş yavaş sızarak damlar. 24 saat böylece kalan torbalar asıldıkları yerden alınarak

altına ve üstüne her biri 50-60 tabaka filtre kâğıdından yapılmış yastıklar konur ve presin altına sevk edilir. Başlangıçta hafif tazyik yapılır. Gittikçe artırılır. Arada bir silenen yastıklar kuruları ile değiştirilir. Torbadaki fazla rutubet böylece 24 saatlik ameliye ile alınır. Torbalar presü altında alınır. Dikiş yerlerinden keskin bıçakla kesilir. Kuru beyaz peynir kıvamı alan rusup diyaliz torbalarına doldurulur.

**Diyaliz vasıtasıyla ammonyum sülfatın izalesi :** Diyaliz için kullanılan özel selofan kâğıtlar ya tabaka halinde dir. Bu takdirde ameliye basittir. Rusup kâğıdın ortasına konarak boğcalanır, ağzı iyice işle bağlanır. Yahut üstüvane şekildedir. Böyle olduktan sonra edilecek boyda kesilir. Su ile ıslatılır. Yumuşak hal alır. Aksi takdirde çabuk kırılır veya delinir. Bir ucunu kendinden yapılan iki düğümle sıkıca düğümleir. Sonra çeşme suyu ile doldurulur. Hafif tazyik ile delik olup olmadıkları kontrol edilir. Delik olanlar kullanılmaya başlanılmıyorsa rusup doldurulur. Sonra ağzunu iki kat sicimle sıkı bir surette ve torbanın artan ucu kendi üzerine bükülerek ve gene iki kat sicimle emniyetli olarak kapatılır. Bu torbalar -5 derecede kışta yerde ve aynı sı derecesindeki çeşme suyu ile diyalize konur. Suya torbaların üçtebiri daldırılır. Su ceryanı fazla olmamalıdır. Genel olarak beş gün sonunda ameliye bitime eder. Önce ammonyum sülfatın izalesini haber verecek bir tensir tecrübesi yapılır. Diyaliz torbalarının batırıldığı banyonun suyu ile cesmeden gelen sudan onar cc. örnek alınır. Her ikisine baryum klorürün %10 solüsyonundan 1-2 damla damlatılır. Rüşup tahsül etmezse veya cesmeden alınan örnek kadar bir rüşup müşahede edilirse ameliyeye son verilir.

**Nessler miyarı vasıtasıyla ammonyum sülfat izalesinin esas kontrolü :** Diyaliz, ammonyum sülfatın % 0.2 den fazla bulunmamasına kadar yapılır. Bu da genel olarak beş günde tenim edilebilir. Esas kontrol için lüzumlu olan miyar ve solüsyonlar şunlardır:

- 1 — Nessler miyarı,
- 2 — % 2.5 luk asit triklorasetik solüsyonu,
- 3 — % 0.2 lik standart ammonyum sülfat solüsyonu.

Diyaliz torbalarındaki mayı steril bir şişede harman edilir. Bundan 1 cc. alınır. 100 cc. lik bir erlenmayere konur. Üzerine % 2.5 luk asit triklorasetikten 20 cc. katılır. Erlenmayerin ağzına geri soğutucu boru tertibi takılır. Kaynar banyoda 5 dakika tutulur. Sonra erlenmayerin içindeki mayı küçük bir cam huni üzerindeki adi filtre kâğıdından bir mezüre süzülür. Kâğıt 3 defa dist. su ile yıkanır. Süzüntü dist. su ile 400 santikübe iblâğ edilir. Bundan kapaklı bir cam mezüre 50 cc. konur. Üzerine 1 cc. Nessler miyarı katılır.

Diğer yandan Standard hazırlanır. % 0.2 ammonyum sülfat solüsyonundan balon jöjeye 0.5 cc. konur. Dist. su ile 200 santikübe iblâğ edilir. İyice karıştırılır. Bundan kapaklı bir cam mezüre 50 cc. konur. Üzerine Nessler miyarından 1 cc. katılır.

Her iki cam mezürün kapakları örtülür. 2-3 defa sallanır. 10 dakika beklendikten sonra standartla diyaliz mayii arasındaki husule gelen renkler kıyaslanır. Bunda renk koyulukları esasdır. Nümunenin rengi standarttan koyu olmamalıdır.

**Diyaliz mayiine sodyum klorür ilâvesi :** Diyaliz mayii harmanının miktarı ölçülür ve protokoluna kaydedilir. Buna % 0,8 konsantrasyon verecek miktarda saf sodyum klorür katılır. Şişe iyice çalklanır. Bulanık ve koyu renkli olan mayi açılır ve berraklaşır.

**Diyaliz mayiinin nötralizasyonu ve prezervatif ilâvesi :** Sodyum klorür ilâvesinden ve bunun erimesinden sonra diyaliz mayiinin P.H. sı sodyum karbonat ilâvesiyle 7,4 üzerinden ayarlanır. Nihai konsantrasyonu % 0,3 oluncaya kadar prezervatif madde olarak krezol veya fenol ilâve edilir. Krezol veya fenol katılırken proteinin presipitasyonunu asgari hadde indirmek maksadıyla sodyum karbonat solüsyonunu, krezol veya fenol ile karıştırıp diyaliz mayiine ilâve lâzımdır.

Sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , C.P.) ın dist. su ile % 18,5 luk solüsyonu hazırlanır. Diyaliz mayiinin P.H. sı kolorimetrik usulle 7,3 üzerinden ayarlanır. Bu da elektrometrik usulle takriben 7,4 demektir.

Ameliye için diyaliz mayiinden mucyyen bir hacim alınır. Kolorimetrik veya elektrometrik usulle çalışılacağına göre matluş P.H. yı elde etmek için, bu mucyyen hacimdeki mayie yukarıda hazırladığımız % 18,5 luk sodyum karbonat solüsyonundan hareket ederek tekrar hazırlanmış olan % 5 lik hafif solüsyonundan ne miktar katılması lâzımgeldiği bulunur. Bu tespit edilince esas mayie % 18,5 luktan katılması gereken miktar hesaplanır. Gerek bu, gerekse diyaliz mayiine 0,3 konsantrasyon verecek fenol bir kapta bir arada karıştırılır. İyice çalkatılarak, protein presipitasyonunu az çok önlemek için diyaliz mayiini havi şişeye yavaş yavaş damlatılır. Ve bu esnada şişe daimî şekilde çalklanır. Sonunda P.H. bir daha kontrol edilir. Sonra şişe  $-5^\circ$  derecelik odada bir ay kendi haline bırakılır.

**Mecmu katı muhtevanın tayini :**  $-5^\circ$  derecede takriben bir ay kadar bekletilen antitoksinin bir örnek alınır. Bunda mecmu katı muhteva tayini edilir. Şayet bu % 20 den fazla ise düzeltme yapılır.

Ameliye şöyledir : Örnek olarak 1 cc. alınır. Tartılmış bir plâtin kapsüle konur. 103-105 dereceler arasında sabit ızın alınmaya kadar fırında kurutulur. Sonra plâtin kapsülün ağırlığı ile plâtin kapsül — bakaya ağırlığı arasındaki fark bulunur. Bu 100 le çarpılır. Neticede mecmu katı bakayanın yüzdeki miktarı çıkar.

Şayet mecmu katı muhteva % 20 nin üzerinde ise antitoksin % 0,8 sodyum klorür ve % 0,3 fenollü dist. su ile sulandırılır. Mutat olarak kabul edilen miktar % 18,5 dur. Bu iş bittikten sonra pürifiye ve konsantre antitoksin evvelâ ya nakkiye topraklı âdi filtre kâğıdından yahut Seitz K dan ve sonunda Seitz E.K dan süzülür. Temizlik ve zararsızlık kontrolleri ile titri tayini edilir.

**Konsantrasyon ünitesinin tayıni ve mecmu ünitedeki kaybın tespiti:** Konsantrasyon ameliyesinden alınan randıman, konsantrasyon ünitesinin tayıni ve mecmu ünitedeki kaybın tespiti ile belli olur. Konsantre edilen antitoksinin 1 cc. sindeki ünite, ameliyeye bağlamazdan evvel aynı operasyonu ait plazmanın 1 cc. sindeki üniteye taksim edilmek suretiyle konsantrasyon ünitesi tespit edilir.

Mecmu üsüdeki kayıp ise, konsantrü edilmiş antitok-ideki ünitelet mecmuu, plazması mecmu üniteletü miktarından düşölmek suretiyle bulunur.

Diğerü antitoksinü üzerinde neticesini aldığımız muhtelif operasyonlara ait sonuçları aşağıdaki tabloda hülâsa ettik :

Operasyonu numarası	Harıman edilen plazması			Pürifikasyon ve konsantrasyondan sonra						
	Miktarı C.C	Lf değeri	Mecmuü Lf	Kide edilen antitoksinü C.C	Lf değeri	Mecmuü Lf	Konsantrasyon ünitesi	Mecmuü üniteletüdeki kayıp	Retenü ünitesi %	Kayıp %
1	30.000	600	18.000.000	6.800	2.000	13.600.000	3,33	4.400.000	75,5	24,50
2	32.300	400	12.920.000	5.300	2.000	10.600.000	3,33	2.320.000	82	18
3	31.000	600	18.600.000	6.000	2.100	12.600.000	3,5	6.000.000	67,7	32,30
4	32.300	700	22.610.000	5.200	2.000	10.400.000	2,85	12.210.000	46	54
5	31.000	600	18.600.000	5.000	2.000	10.000.000	3,33	8.600.000	53,70	46,30
6	31.300	600	18.780.000	5.700	2.100	11.970.000	3,5	6.810.000	63,73	36,27
7	33.600	500	16.800.000	5.800	2.300	12.180.000	4,6	3.460.000	80	20
8	31.800	600	19.080.000	6.700	2.300	15.410.000	3,8	3.670.000	80	20

Tabloda göröldüğü üzere, plazma, orijinal kudretinin 2,85 - 4,6 misli kuvvetlendirilebilmiştir. Kayıpları mümkün olanıbir asgari hadde indirmek ve randımanı arttırmak züpheşiz zamana vabeste bir iştir.

Konsantrasyon ameliyesi sırasında ikmci cöktürmeden sonra kullanılan sert kağıtlar, diyaliz torbaları, balon ve ölçü şişeleri gibi eşya distile suyla çalkantılır. Bu çalkantılar bir damacanada biriktirilir. Her defasında % 0,3 hesabıyla gereken fenol konmalıdır. + 5 derecelik odada saklanır. Böylelikle 50-60 litre kadar çalkantı suyu terküm ettiğinde ölçülerek konsantrasyon tenceresine konur. P.H. sı 8 üzerinden ayarlanır. Yukarıda plazmada tarif ettiğimiz şekilde bir defaya mahsus olmak üzere % 33 konsantrasyon verecek miktarda doymuş ammonyum sülfatla oda derecesinde bir saat muamele edilir. Sonra sert kağıtlardan süzölür ve diyaliz yapılır. Ameliyeye aynı şekilde devam edilir. Bu ameliyeden maksat kayıpları asgari hadde indirmek icindir.

#### L İ T E R A T Ü R

- Augustine B. Wadsworth — Standard methods of the division of laboratories and research of the New York State Dep. of Health 947.
- Erdi Nizad — Serum anafllaksisi ve serum hastalığı. Türk Üçen ve Tecrübi Hıvaski Dergisi, Cilt 7, sayı 3, 947.
- Gürsel Arat — Konsantrü ve pürifiye serumlar ve bunların terapötiki işimleleri. Türk Üçen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, Cilt 10, sayı 3, 950.
- Noble Pierre Sherwood — Immunology 1951.
- Pasteur Vallery-Radot, G. Maurice, Mme. Holtzer — L'antipylisme expérimentale et humaine 1937.
- Setecik İzzet — Askert Veteriner Mecmuası 1948 sayı 19.
- St. Bacher — Handbuch der Pathol. microorg., Band 11, 303.

**SUR L'ANTITOXINE DIPHTERIQUE CONCENTRÉE ET PURIFIÉE  
PRÉPARÉE A L'INSTITUT CENTRAL D'HYGIENE REFIK SAYDAM**

**SadiK GÖREN**

Chef de Service d'Immunités.

Pour la concentration et purification des antitoxine, nous avons choisi, entre les plusieurs qu'ils existent, la méthode adoptée par le département de la santé de l'état de New York, c'est à dire la précipitation de plasma avec la sulfate d'ammonium, d'abord à la concentration à 29 % (à la température de 58-60) et puis à 48 %, et l'élimination du sel par la dialyse.

Dans le tableau suivant nous donnons les résultats ce que nous avons obtenu sur huit préparations faites avec le plasma antidiphthérique :

Nombres de préparation	La mélange de plasma			après la souche, et purification						
	la quantité en C.C	le pouvoir de Lf	Totaux de Lf	La mat. de dial. en C.C	le pouvoir de Lf	moins de Lf	unité de la coagulation	La perte total en unité	le rendement	La perte
1	30.000	600	18.000.000	6.800	2.000	13.600.000	3.35	4.400.000	75,5%	24,5%
2	32.300	400	12.920.600	5.300	2.000	10.600.000	3.33	2.320.000	82 %	18 %
3	31.000	600	18.600.000	6.000	2.100	12.600.000	3.5	6.000.000	67,7%	32,3%
4	32.300	700	22.610.000	3.200	2.000	10.400.000	2.85	12.210.000	46 %	54 %
5	31.000	600	18.600.000	3.000	2.000	10.000.000	3.33	5.600.000	53,7%	46,3%
6	31.000	600	18.780.000	7.700	2.100	11.970.000	3.5	6.810.000	68,75 %	30,25 %
7	33.600	500	16.800.000	5.800	2.300	12.180.000	4.6	3.460.000	80 %	20 %
8	31.800	600	19.080.000	6.700	2.300	15.410.000	3.8	3.670.000	80 %	20 %

Nous avons pu de concentrer le plasma antidiphthérique de 2.85-1.6 fois que son pouvoir d'original.

Ces résultats sont semblables qu'aux les autres obtenus avec la même méthode.



## POSTVAKSİNAL B. C. G. ALLERJİSİ

Dr. Niyazi ERZİN

Elif 14. Kurumunun Tıbbi ve Biyoloji Bölümü

Koch basilleri ile zaman zaman temas eden, sürekli yolların varlığına Virülans Tüberküloz basılı alan kimselerin uzviyetinde (Hücre ile organizma arasındaki mücadele ortamı) Allerji dediğimiz bir reaksiyon unsurunun vücuda geldiği. Koch'un (Alt Tüberkülin) i ortaya koymasındanberi malûm olan bir hadisedir.

Bu Allerji, her ne kadar, organizmanın tüberküloz enfeksiyonuna karşı olan immunitetini kati olarak ifade etmezse de, vaktinde ve iyi bir allerji kazandıran kimselerde henüz allerjisi mevcut olmayışına nazaran tüberküloz enfeksiyonuna yakalanma nisbetinin çok düşük olduğu uzun senelerdenberi tesahüt edilmiş bir hakikattir.

İşte bu müşahedeler sonunda, immün uzviyetinin zararsız bir vasıta ile tüberküloza karşı spesifik bir allerji kazandırılması, immünolojiyi ilgilendiren çok mühim bir mevzu olmaktadır.

Bu bakımdan, üzerinde senelerce araştırmalar yapılan bir çok metodlar arasında, C. G. M. de Mesu arkadasi Guérin'in meydana koydukları BCG. aşısının tamamen zararsız, fakat istenilen spesifik Allerjiyi vereceği emni bir vasıta olduğu belirlenmiş ve bugün BCG. ile hazırlanan canlı mikroorganizmayı, Tüberküloz profilaktikinde en kuvvetli bir aşı olarak dünyama hemen her tarafında, geniş ölçüde tatbik edilmiş bulunmaktadır.

BCG. aşısının hangi şekli olursa olsun, Allerjisi olmayan, binaenaleyh Tüberkülini pasiflerine menfi reaksiyon veren kimselere tatbik edilir. Ammün müessiriyeti ise, aşılanandan bir müddet sonra bu menfi reaksiyonu nisbete çevirmesiyle ölçülür. Bu müddet asgari iki aydır. Şu halde BCG. tatbikine evvelâ organizmada (yeni doğan çocuklarda buna hücum olmadığı aşikârdır) kendiliğinden bir Allerji mevcut olup olmadığını araştırmak için, bir Tüberkülin tecrübesi yapmak suretiyle başlanır. Menfi tesmül gösterenler aslanır ve takriben 2 ay sonrada ikinci bir Tüberkülin testi yapılarak Allerjinin tesahüt edip etmediği araştırılır.

İşte bu viraaj nisbetinin iyi bir aşılamada hiç bir zaman % 95 ten aşağı düşmemesi lazımdır. Aksi takdirde aşının hazırlama tekeriminden başlayarak tatbikatta ceryan eden bütün manüplasyonu iyice tetkik edip ele geçirilen hataların tahibine gidilmelidir.

BCG. nin aşılama şekillerine göre bu viraaj nisbeti değişmekte olduğu gibi, aynı zamanda çalışan muhtelif memleketlerin istatistikleri de birbirini tutmamaktadır. Bunu yukarıda işaret ettiğimiz gibi, aşı süzümünün passaj usulleri, aşının hazırlanması, muhafaza



zası, kullanma müddeti, sevki ve tatbik tekniği gibi her muameleinin mühim ve ayrı bir rolü vardır.

BCG. nin ilk tatbik şekli, yeni doğan çocuklara ağız yolu ile verilen canlı mikroplı emülsiyonudur. Başlıca muhat gıyası, mikropları geçirmeye müsait olan yeni doğan çocuğa hayatının ilk 10 gününde icirilen BCG. emülsiyonu organizmaya yayılarak bir aşılama hadisesi yaratır.

Alumunum aşılamaalarda (Tifo, Dizanteri ve son zamanlarda enflüenza ve grip enfeksiyonlarına karşı kullanılan) ağız yolu ile vaki aşılama da olduğu gibi BCG. de de bu yoldan yapılan aşılamaadan sonra elde edilen Allerji (ve bunun yanında kısmen de muafiyet) nisbeti diğerlerinden düşüktür.

Netekim İtalya'da ötedenberi bu yoldan yapılan B C G. tatbikatını icelleyen *Giovanardi* (1) tetkik ettiği vakalarda ancak % 20-40 bir Allerji husule geldiğini bildirmektedir.

Şanghay'da *Lienou* ve *Kouo* (2) uzun seneler, muhtelif dozlarla yaptıkları tetkiklerde ise şu neticeleri elde etmişlerdir :

cc. sindir canlı jerm miktarı	Alınan Allerji nisbeti %
5 miligr. ile	21,6
10 " "	69,2
20 " "	94,9
75 " "	97,4

*Dr. Domingo* (3) tarafında Cuba'da yeni doğan çocuklara santimetre mikabında 20 milgr. canlı jerm bulunan asıdan 3 ampul (= 3X20 milgr.) verdiği çocuklardan % 86, 36 anda Allerji husule geldiğini tebliğ etmiştir.

Fransa'da *Dr. Bethoux* (4) bu nisbetin % 25 ten yukarı olmadığını bildirmiştir.

Yaptıkları bir anket neticesini 1948 Enternasyonal BCG. Kongresine bir raporla takdim eden *Well Hallé* (5) ve mesai arkadaşları, ağız yolu BCG. aşısının % 40 Allerji verdiği ve bu nisbetin bir sene sonra % 34,5 a düştüğünü bildirmekte ve bu travaylarda diğer metodlarla da bir mukayese yapılmaktadır. (Aşağıda bunlardan bahsedeceğiz).

Ağız yolu BCG. aşısının husule getirdiği bu düşük viraj nisbetini yükseltmek için *Assis* (6) aşının ihtiva ettiği canlı jerm miktarını (100) miligramına çıkarmış ve bundan her ay bir ampul vermek suretiyle 6 ay aşılama devam etmiştir. Bu usul sayesinde *Assis* aşılamaan çocuklarda % 90 bir viraj nisbeti sağlamaya muvaffak olmuştur.

Romanya'da *Popper* (7) ağız yolu ile aşılamanın tevhit ettiği bu viraj nisbetini yükseltmek maksadiyle kombine bir usul tatbik etmiş ve evvelâ ağız yolu ile aşıladığı çocukları, sonra Scarification metodu ile bir Revaccination'a tabi tutarak bunlarda % 90 Allerji virajı sağlamaya muvaffak olmuştur.

Yunanistan'da *Pedricologos* (8) 1925-1947 senelerindeki 23 senelik müşahedeleri sonunda ağız yolu BCG. aşısının % 53,8 lür vıraj tevlii ettiğini bildirmiştir.

Scarification usulü ile yapılan BCG. aşılamasındaki vıraj nisbeti yukarıda da işaret edildiği gibi ağız yoluna nazaran çok üstündür.

Bu usul daha kesif bir BCG. canlı mikropları emülsiyonunu, iltihaplı aletlerle husule getirilen besere çözümleri üzerine sürmek suretiyle tatbik edilen bir aşılama usulüdür. Bunun için muhtelif yerlerde kullanılan mikropları emülsiyonu kasafeti de muhtelifdir;

*Pedricologos* (8) yukarıda yazılı 23 senelik müşahedesinde ağız yolu ve scarification usulleriyle aşıladığı kişilerdeki bu vıraj nisbetini karşılaştırmakta ve bu nisbetin Scarificationda % 96,2-98,6 ya kadar yükseldiğini de ilâve etmektedir.

*Mathis* (9) Afrika'daki Fransız müstemlekelerinde yapılan umumî Scarification BCG. tatbikatından % 97,2 bir netice elde etmiştir.

Buna mukabil Belçika'da *Eckhout* ve *Moerloose* (10) santimetre mikâbında 20 miligram jerm ihtiva eden aşının scarificationla % 64,7 bir vıraj vermesine karşılık, santimetre mikâbında 75 miligram jerm bulunan aynı metolla % 100 vıraj tevlii etmektedir.

*Wells*, *Hallé* (5) ve arkadaşlarının neçriyatındaki rakam ve grafiklerden Scarification metodu ile aşılamalarda vıraj nisbetinin % 91; *Benda* ile *Wechsler* (11) ile aşılamadan 32 gün sonra vıraj nisbetinin % 97,8 ve *Courcoux* ile *Duret* (12) nin yaptıkları tetkiklerde bu nisbetin % 85-95 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

BCG. ile aşılamalarda neticeye müessir olan en mühim faktör, canlı mikropların emin ve sabit miktarda uzviyete sokulmasıdır. Yukarıda işaret ettiğimiz iki usulde de organizmaya giren canlı jerm sayısının her şahsa göre değişeceği tabiidir.

Bu mahzuru bertaraf etmek için baş vurulan diğer (multiple pique, deri altı ve deri içi gibi) usuller arasında intradermal metod bugün umumî tatbikatta diğerlerine tercih edilmektedir.

Intradermal metotta kullanılan BCG. emülsiyonunun 1 santimetre mikâbında 1 milgr. canlı jerm bulunmakta ve bundan her tüberkülin menfi şahsa 0.1 santimetre mikâp (=1/10 milgr.) şırınga edilmektedir.

Bu metod dünya sağık teşkilâtı tarafından da kabul edilmiş olup enternasyonal tüberkülozla mücadele kampanyalarında umumiyetle tatbik edilmektedir. Elde edilen son malûmata göre, yalnız bu teşkilâta bağı BCG. kampanyalarında 50 milyonu yakın bir insan kütlesi bu metolla aşılanmıştır.

Intradermal metotta, aşının husule getirdiği menfi allerjinin müsbete dönme nisbeti bir çok yerlerde muhtelif neticeler vermektedir. Diğerlerinde okduğu gibi bunda da

pasaj metodu, hazırlanması, saklanması, zevki ve nihayet tatbiki ile kullanma müddetinin uzunluğu veya kusalığı rol oynamaktadır :

İsveçli *Wassén* tarafından hazırlanıp Finlandiya'da *Savonen* (13) tarafından yapılan intradermal BCG tatbikatından 3 ay sonra % 90 viraj alınabilmektedir.

*Rosenthal* (14) aynı metodu uyguladığı yeni doğan çocuklarda viraj nisbetinin % 92,6, hemşirelerde ise bu nisbeti % 98,6 olduğunu ve aşılardan sonra husule gelen Allerjenin ise ortalama 3-4 sene devam ettiğini bildirmektedir. Halbuki Kolombiya'da *Dr. Medina* (15) yaptığı aşılamalardan en çok % 72,2 gibi düşük bir viraj elde edebilmiştir.

Ağız yolu tecrübelerine müvazı olarak, tatbik ettiği intradermal aşılama sonunda husule gelen viraj nisbetinin % 88-91,5 olduğunu; Lieou ve arkadaşları tebliğine ilave etmişlerdir.

Son olarak Dünya Sağlık teşkilâtının Doğu Akdeniz istatistik bürosunun neşrettiği bir raporda ise Mısır'daki BCG kampanyalarında yapılan Retest araştırmaları sonucunda, viraj nisbetinin % 40 dan yukarıya çıktığı müşahede edilmiştir.

#### **Bizim Kampanyamızda aldığımız neticelere gelince :**

Türkiye BCG Kampanyasının idaresi ve aşılama işlerinin organizasyonu, aşı tatbikatı tamamen bizler (yani Dr. Niyazi Erzin'in Başkanlığı altında Türk Hekimleri) tarafından yürütülmektedir.

Aşılardan 2 ay sonraki Retest kontrolları ise Dünya Sağlık teşkilâtı (OMS) na mensup iki Doktor (Dr. Stenrud ve Dr. Omlaud) ile iki BCG Mütchassis hemşiresi (Miss. Bentsen ve Miss. Billard) tarafından yapılmaktadır.

Her hangi bir bölgede aşı tatbikatından sonra aşı geçen (OMS) mütehassısları tarafından laaletin okul veya köy grupları üzerinde bu kontrol tecrübeleri yapılarak, aşılardan sonra husule gelen viraj nisbeti ve aşı yerindeki lokal reaksiyonları çok hassas metodlarla tesbit edilmektedir.

Şimdiye kadar bu (OMS) ekiblerinin tesbit ettiği neticeler aşağıdadır :

Retest yapılan yerin adı	Retest'e tâbi tutulan şahıs sayısı	Viraj nisbeti %
Edirne Merkez İlkokulları (I)	646	99
Edirne Merkez İlkokulları (II)	95	98
Kırklareli'de bir okul	188	100
Babaeski iki İlkokulu	620	99,7
Lüleburgaz'da üç okul	399	100
Lüleburgaz'da iki köy halkı	229	99,1
İzmir - Kemalpaşa 3 köy halkı	230	99
İzmir - Merkez 3 köy halkı	194	97,8
İzmir - Merkez, diğer iki köy halkı	358	98,4
<b>Yekûn</b>	<b>2.959</b>	<b>Ortalama % 99</b>

Buna müvazı olarak, Ankara köylerinde tatbik ettiğimiz BCG. aşısından 10-14 hafta sonra Dr. Daver Özlüarada tarafından 9 köyde yapılan Retest araştırmasında ise netice şöyle olmuştur :

Retest yapılan insan sayı	Ařıdan 10-14 hafta sonra tesbit edilen viraj nisbeti
711	% 99,8

Bu tetkikler bütün kampanya bölgelerinde devam etmekte olup, bunlara ait genel rakam ve istatistikleri ilerde ayrıca nesredeceğiz.

3670 kişi üzerinde yapılmış olan bu tetkikler meyânında, BCG. nin husule getirdiği lokal reaksiyonlarla Reteste yapılan kimselerde görölen lokal endürasyon ölçüsü de, yapılan aşının diğerini ölçme bakımından mühim manalar taşmaktadır :

**Türkiye BCG. Kampanyasında  
Entradermal BCG. tatbikinden 8-14 hafta sonra (5 ünite Mantoux)  
ile yapılan Retest tetkikinde, husule gelen lokal reaksiyonlar**

Endürasyon ölçüsü milimetre	Menfiler	M ü s b e t l e r			
	0—4	5—10	11—15	16—20	20 den fazla
Şahıs adedi	41	752	1990	809	78
% nisbeti	1,12	20,5	54,26	22,0	2,12

Aşı yerinde görölen lokal reaksiyonlar ise ekseriya, yukarıda gösterilen Retest neticelerini kontrol meyânında tetkik edilmektedir.

Bu reaksiyonlar basit bir enfiltrasyondan ibaret kalabildiği gibi, ülserasyon ve nekrotik kabuklanmaya kadar giden tezahürat halini de alabilmektedir. Bu reaksiyonlar hangi derecede ve devam müddeti (6-9 bazan 12 ay) ne olursa olsun hepsi gelip geçicidir. Yalnız çiçek aşısında olduğu gibi yerinde bir nebde bırakır.

Şimdiye kadar tetkik edilen vakalarda menfi lokal reaksiyon çok nadirdir. Vakaların takriben % 25 inde 5-8 milimetrelik bir enfiltrasyon, % 2 inde ise 16-20 milimetre kutrununda ve ülserasyonla kabuklanmaya kadar giden tezahürat ve geri kalan büyük çoğunlukta ise 5-10 milimetre genişliğinde orta şiddette (enfiltrasyon ve bazan scar tezekkülü) husule gelmiştir.

Rejional okdelerde tezahürata ancak binde 2 vakada rastlanmıştır.

(Bu tetkikler devam etmektedir.)

Türkiye BCG kampanyasında, ilk BCG aşlamasından sonra husule gelen allerjinin devamı bakımından Dr. Daver Özlüarda'nın Ankara köylerindeki tatbikattan 22-25 hafta sonra 7 köyde yaptığı tetkiklerden :

Köy adı	Kontrol edilgenlerin sayısı	Aşılamadan kaç hafta sonra kontrol edildiği	Müsbet allerji nisbeti
Elecik	163	24	96,4
Haydar	89	24	100
Çiflik	50	22	98
Kazayağı	28	25	100
Karacakaya	87	25	96,6
Ahmedadil	107	25	96,3
Eski köy	114	24	92,2
	Yekün 638		Ortalama 97,7

bulmuştur.

Şu hale göre, yukarıda işaret edildiği üzere BCG tatbikatından ortalama iki ay sonra husule gelen % 99,8 allerjinin 6 ay sonra % 97,7 ye düştüğü görülmektedir ki bu küçük fark da Türkiye BCG kampanyası faaliyetinin muvafakatli neticesinin açık bir ifadesidir.

Teşekkür :

Bu mesainin hazırlanmasında kıymetli yardımları olan Dr. A. Akcan, Dr. Stensrud, Dr. Omland, Dr. Özlüarda, Dr. K. Özsan, Dr. Sotigöl, Miss. Bentsen, Mlle. Billard ile sağlık memuru İhsan Canaver'e burada teşekkürlerimi ifade etmeyi bir vazife bilirim.

#### L I T E R A T Ü R

- 1 - Gavranoglu : Annali Italiane pediatria, 1951, C. 4, Sh. 251.
- 2 - Liou ve Kouo : 11 années de vaccination au BCG, à Shanghai : 1948 Militerarinet BCG, Kongresi raporlarından.
- 3 - Domingo : Valeur de la voie bronchale pour la vaccination antituberculeuse au BCG, 1948 Paris Militerarinet BCG, Kongresi raporlarından.
- 4 - Jellous : La source de vaccination antituberculeuse . . . , 1948 Paris International BCG, Kongresi raporlarından.
- 5 - Weil Hallé, Mlle. Lottu et Jeannon : Bull. de Inst. National, CHUz, Tome 4, No. 2, 1949.
- 6 - Assis : I. Congrès Internat. du BCG, —Section IV, P. 205.
- 7 - Popnier : Sur la technique et plan de vaccination par le BCG, en Roumanie : 1948 Paris International BCG, Kongresi raporu.
- 8 - Pardiouloros : Le BCG, et la vaccination contre la tuberculose en Grèce (1925 — 1947): Ayni kongre raporlarından.
- 9 - Ekholm et Moertose : Résultats obtenus de la vaccination d'un groupe scolaire par le BCG, : Ayni kongre raporlarından.
- 10 - Honda et Wechsler : Organisation et premiers résultats de la vaccination BCG, dans la section de l'Hôpital Beaujon : Kongre raporu.
- 11 - Cournoix et Buret : La vaccination de l'adolescent et de l'adulte par BCG, : Ayni Kongre raporlarından.
- 12 - Savonen : La vaccination au BCG, en Finlande intradermique, ayni kongre raporlarından.
- 13 - Rosenthal : Vaccination par le BCG, de sujets de tous âges. . . : Ayni kongre raporlarından.
- 14 - Medina : La vaccination au BCG, en Colombie, : Ayni kongre raporlarından.

## OBSERVATIONS ON BCG. VACCINATION, POSTVACCINAL ALLERGY AND LOCAL REACTIONS

Dr. Niyazi ERZİN (\*)

Director of Central Institute of Hygiene, Ankara

BCG. vaccination campaign which is organized by Turkish Ministry of Health, WHO, and UNICEF was started in January 1953. Vaccination of people in six provinces of Turkey has been completed at the moment.

Prevaccinal and postvaccinal allergy are tested with Mantoux test, using PPD obtained from Danish State Serum Institute and diluted to contain 5 unit per dose in this institute.

The vaccine which is used in the campaign is prepared in the BCG vaccine laboratory of Central Institute of Hygiene, Ankara. This laboratory is approved by WHO. The vaccine contains 1 mgr. of BCG per milliliter, 0.1 ml., i.e. 0.1 mgr. of this vaccine is inoculated intradermally. Vaccination is performed by Turkish sanitarians under supervision of Turkish physicians.

Postvaccinal Allergy has been tested in schools or in villages by Dr. Stensrud, Dr. Omland, Miss Bentsen, and Mlle. Billard who are WHO experts, Dr. D. Özlüarda, who is associate of the Director, retested a group of children as well.

### Results of Retesting

1) 2,959 vaccinated children have been retested by WHO experts 8-12 weeks after vaccination. Average of tuberculin conversion rates is 99 per cent.

2) 711 children living in 9 different villages have been retested by Dr. Özlüarda 10-14 weeks after vaccination. Tuberculin conversion rate is 99.8 per cent in this study.

3) The following table shows the distribution of the size of infiltration which is caused by retesting with 5 unit PPD (Mantoux test) on vaccinated children who were vaccinated 8-14 weeks before retesting.

### Infiltration in mm.

	Negative	Positive			
	0-4	5-10	11-15	16-20	over 20
No. of retested persons	41	752	1990	809	78
Percentage	1.1	20.5	54.3	22.0	2.1

(\*) He is also charged as General Director of BCG campaign in Turkey.

638 persons living in seven different villages have been retested for the second time to determine duration of allergy. Mantoux test with 5 unit PPD is used. This second retest have been performed 22-25 weeks later vaccination. Average tuberculin conversion rate has been found 97.7 per cent; so, the drop in the rate is 2.1 per cent within 4 months.

### **Local Reactions Due to Vaccination**

Local reactions are, generally, studied while retesting. Usual local reaction is infiltration. The diameter of infiltration in the site of vaccination is usually 10-15 mm. The cases which show no local reaction was very rare. The size of infiltration is under 10 mm., i.e. 5-8 mm. in 25 per cent of cases. 2 per cent of vaccinated children showed 16-20 mm. of infiltration, ulceration and formation of crust. Local reactions may last 6-9 months, even 12 month in some cases. The rate of swelling of regional lymph nodes is 0.2 per cent.

### **Acknowledgment**

I thank Dr. H. Acan, Dr. Stensrud, Dr. Onlund, Dr. D. Özlüarda, Dr. S. Sarıgöl Miss Beinsen, Mlle Billard and all physician and sanitarians working in BCG campaign for their effort to carry out BCG campaign and helping me to collect above data.

---

## DEVİYASYON YOLU İLE TÜRKİYE HAYVANLARINDA Q. HUMMASI BAKIMINDAN ARAŞTIRMALAR (\*)

Çayide ATTILA

KIŞIK 451, Cankaya, İstanbul, Türkiye Cumhuriyeti

### Hastalığın kısa tarihçesi :

Amili Rickettsia Burneti olan Q. Humması hakiki bir zoonozdur. Avustralya'da Queensland'da Brisbane mezhlaba işçilerinde 1933 senesinde ilk defa görülen bu hastalığı 1935 de Derrick Q. Humması ismini vermiş ve hastalık amilinin Rickettsia olduğu Freeman ve Burnet tarafından tesbit edilmiştir. 1938 de Derrick amili'ni kâsâfence bir cümle olmak üzere bu Rickettsia'ya R. Burneti ismini vermiştir. 1935 de Cox ve Davis Montana'da keneleri naklettikleri hastalık amillerini tetkik ederken Dermacentor Andersoni'lerle süzgeçleri geçen bir virus buldular. Sonraki araştırmalar bunun virus olmayıp süzgeçleri geçen bir Rickettsia olduğunu meydana çıkardı. (Rickettsia diasporica).

1938 de Deyer kruvaze nöraljiye deneylerde R. diasporica'nın da R. Burneti'ün aynı olduğunu isbat etti. Yine Amerika'da 1940 da keneler üzerinde çalışırken atipik pneumonie arazi ile seyreden bir salgın çıkmıştır. Nelson ve Hornibrook tarafından bildirilen bu vak'alar da Q. Humması olarak tesbit edilmiştir. 1941 de Balkanlarda Rusya ve Kıbrıs'ta (Balkan Gribi), 1943-1944 de Alman askerleri arasında çıkan ve yine Balkan Gribi ismi verilen ve Yunanistan'da Caminopetros tarafından tetkik edilen hastalığın, bilhassa Sicilya ve Korsika'da Amerikan birliklerinde çıkan atipik pneumoni salgınlarıyla İngiliz birliklerinde Dr. Yzb. Zoland, Warner, Robins tarafından eîud edilen hastahkların da Q. Humması olduğu tesbit edilmiştir. Caminopetros'un askerleri kan ve balgamı ile enfekte ettiği kobaylarda derece yükselmesi, dalak büyümesi ile kendini belli eden bu hastalık amilini Hezberg Rattelere ve onlardan yumurta Chorio-allantois gışıtına nakle, bu suretle de üretmeğe muvaffak olmuştur. Sonradan yapılan araştırmalar bu amili de Rickettsia Burneti olduğunu meydana koymuştur. Avrupada hastalık amili İspanya hariç hep insan salgınlarından ayırd edilmiştir. İspanyada ise Cox amili ilk defa koyunlardan ayırd etmiştir.

1947 de Afrikada, 1948 de Türkiyede, 1949-51 de Almanya'nın güney ve güney batı taraflarında yaygın epidemiler halinde Q. Humması tesbit edilmiştir.

Q. Humması Afrika'da. (Asyada : Hindistan, İran, Irak ve İsrail) tesbit edilmiştir. Hülâsaten denilebilir ki, dünyanın hemen her tarafında hastalık mevcuttur.

(\*) Bu yazı 26 Eylül 1952 tarihinde İstanbulda toplanan MEB Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.



### Bizim çalışmamız :

Çalışmamızı başlıca şu noktalar üzerinde tefsif ettik :

A — Yurdun muhtelif bölgelerinden müessesemize gönderilen hayvan kan serumlarının Q Humması bakımından deviyasyonla kontrolü.

B — Ankara ve civarında devlet müesseseleri ve köy hayvanlarından alınan kanların deviyasyonla kontrolü.

C — Deviyasyonda kanları müsbet bulunan hayvanların klinik ve patolojik âfatının tesbiti ve

D — Sütleri ile Rickettsia titrah edip etmediklerinin tetkiki.

### Metod :

Deviyasyonla hastalıklı muntakalardaki hasta hayvanların tesbitinde standart bir usulle çalışmayı düşündük, bunun için en elverişli yol olarak Dünya Sağlık Teşkilatını kabul ettiği tekniği ve sistemi seçtik. Bu teşkilattan temin ettiğimiz Lederle Henzerling antijenini ve müsbet kontrol serumunu kullandık. Bu hususta bize yardımları dokunan Dr. Kaplan, Dr. Hulse'a teşekkürlerimizi zikretmeyi bir borç biliriz.

Haemolysine ve kompleman titrajları Kolmer usulü ile yapılmıştır. Q Humması kompleman fiksasyonu teamülünde müsbet kabul edilme hududu 1/16 dır.

Çalışmamıza mevzu olan kanlar evvelâ 1/16 titresi üzerinden taranmış ve 1/16 müsbet bulunanlar; ikinci bir deviyasyonla 1/128 e kadar sulandırılarak kontrola tâbi tutulmuştur.

Tetkik etmiş olduğumuz 208 sığır, 148 koyun, 121 keçi, 4 köpek, 4 insan ve 21 kobaydan aldığımız 1/16 müsbet neticeler aşağıdaki iki tabloda toplanmıştır :

Tablo — 1

Muayeneye tâbi tutulan Hayvan nevileri	Yekûn	+		98 adedi hemung vermiş.
Sığır	208	53	155	
Koyun	148	38	110	
Keçi	121	8	15	
Köpek	4	3	1	
İnsan	4	3	1	
Kobay	21	15	6	
	506	120	288	

Tablo — II

Mıntakalara göre muayene ve sonuçları	Sığır			Koyun			Keçi			Köpek			İnsan		
	Yekûn	+	-	Yekûn	+	-	Yekûn	+	-	Yekûn	+	-	Yekûn	+	-
	17	13	4	—	24	10	14	—	—	—	—	—	—	—	—
124	25	99	—	46	8	38	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	7	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	8	12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34	—	34	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	78	20	58	17	4	13	4	3	1	4	3	1
—	—	—	—	—	—	—	104	4	2	—	—	—	—	—	—
208	53	155	—	148	38	110	121	8	15	4	3	1	4	3	1

NOT : Muayene edilen keçi sürümlerinin 98'i hemung vermiştir.

Inek sütünden 3 cc. karıştırılmak suretile, 4 grup halinde ikiye kobaya 2 şer cc. süt karışığı 20/9/1951 tarihinde deri altına zerkedildi. (178, 367, 149, 308, 403, 273, 380, 268, 67, 117, 427, 443, 37, 398, 430, 270, 366, 222, 373, 278) No. lu ineklerin süt karışığından 2 cc. derisi altına zerkedilen 128 No. lu kobay telkihin yedinci günü ölmüş, otopside ve dalak frotilerinde kayda şayan bir tegayyür tesbit edilememiştir. Bu kobayla beraber aynı materyelden zerk yapılan ikinci 467 No. lu kobay 16/10/1951 tarihinde kesilerek kan alınmış ve deviyasyon kan serumu 1/16-1/32 ve 1/64 tirinde (+ + + +) müsbet verdiğiinden ve yine aynı cetvellerin tetkikinden anlaşılacağı vecihle bu kobaya grup içinde sütünden bir miktar zerkedilen 149 No. lu inek de deviationla kanının kontrolünde müsbet reaksiyon gösterdiğiinden bu ineğin sütü ile Rickettsia Burneti ırahı muhtemel görülerek üzerinde durulmuştur. 942 doğumlu zavut ırkından olan bu inek hiç bir hastalık arazi göstermemiş, 12/6 1951 tarihinde doğurmuş ve yavrusu Fièvre aphteuse'den ölmüştür. (Orman Çiftliği veterinerliğinden alınan bilgi). Bu ineğin sütü alınmak üzere Orman Çiftliğine gidildiğinde yapılan muayenesinde klinik hiçbir araz tesbit edilememiş, beden derecesinde bir fevkalâdelik görülememiştir. Bu hayvandan alınan süttten 20/10/1951 tarihinde 2 cc., 213/2, 242/2, 247/2 No. lu kobayların derileri altına zerkedildi. Bu kobayların üçü de 12 gün kontrol edilen sabah ve akşam derecelerinde kayda değer hiçbir termik reaksiyon göstermemelerine rağmen 21/12/1951 günü kesilerek alınan kanlarının deviationunda 213/2 (+ + +), 247/2 (+ + +) ve 242/2 (+ +) müsbet sonuç vermişlerdir. (Deviation cetvel No: 5)

Netice : 149 No. lu inek, sütü ile Rickettsia Burneti ırahı etmektedir.

Orman Çiftliği sığırlarından 34 hayvanlık bir grup üzerinde Alman literatürlerinin bilhassa Siegert, Herzberg, Urbach'ın Aglutinasyon la aldıkları neticelerin deviation kadar kıymetli olduğu nazarı itibara alınarak Herzberg ve Urbach metoduna göre Alman antijeni ile Aglutinasyon ve Lederle antijeni ve Dünya Sağlık Teşkilâtı metodu ile deviation yapmak suretile karşılıklı bir çalışma yapılmış, neticelerin agglutinationda başka deviationda başka olduğu görülmüştür. Bunlara ait mukayeseli tablo aşağıdadır.

Orman Çiftliği sığırlarından 34 hayvanlık bir grupta Herzberg ve Urbach metoduna göre yapılan karşılıklı agglutination ve deviation cetveli :

Serum : 1/10 sulandırılmış sığır serumu  
 Agglutination antijeni : Alman antijeni (1/2 sulandırılmış)  
 Deviation antijeni : Henzerling (Lederle)

(Serumlar Uhlenbuth tüpleri içinde 0,1 cc. serum dilüsyonu - 0,1 cc. antijen dilüsyonu hazırlanmış ve 6 saat 37 derecede ve bundan sonra 12 saat da + 4 derecede bırakıldıktan sonra sonuçlar okunmuştur. Deviationda serum dilüsyonu 1/16 dir).

Təp. S. No	Serumun		Hayvan No. su	Agglutination		Deviation Sonucu	Mülahazat
	Nev'i	Mənşei		6. Saat	12. Saat		
1	Sığır	Orman çif liği	999-8				
2	"	"	369	-	-		
3	"	"	368	-	-	+	
4	"	"	399		++	-	
5	"	"	431	++	+	-	
6	"	"	289	+		-	
7	"	"	361		++++		
8	"	"	308	++	+	-	
9	"	"	270	+	++	-	
10	"	"	419	++	+	-	
11	"	"	204	++	+	-	
12	"	"	182	+		-	
13	"	"	46	-		-	
14	"	"	209		++	+++	
15	"	"	76	+		-	
16	"	"	318		-	-	
17	"	"	2039		-	-	
18	"	"	319		-	-	
19	"	"	212		-	-	
20	"	"	291		+	-	
21	"	"	193	+	+	-	
22	"	"	81		+	-	
23	"	"	1013		-	-	
24	"	"	253		-	-	
25	"	"	2010		-	-	
26	"	"	1005		+	-	
27	"	"	116		++	-	
28	"	"	311		+	-	
29	"	"	106		-	-	
30	"	"	3		++	-	
31	"	"	107	++		-	
32	"	"	249		-	-	
33	"	"	299		-	-	
34	"	"	1014		-	-	
35	WHO (+) Serum			-	-	++++	
36	Almaz (+) Serum			-	-	++	
37	Mənfi Serum			-	-	-	

Bu təbii vəziyyətdə Antigen : 1.16. 2 Ü. Lederle  
 Complement : 1/30 2 C.  
 Haemolysis : 1/2000 2 C. dir.

### **Ankara Çerkes Höyük köyü koyun ve keçilerinde tesbit edilen Q. Humması salgını:**

1952 yılı Mart ayı içinde Haymana veterinerliği ilçe köylerinde koyun ve keçiler arasında seyretmekte olan düşük vak'alarından şikâyetle (7) cenini (4 koyun, 3 keçi) Enstitümüze gönderdi. Bu ceninlerin yapılan otopsislerinde hepsinin de doğuma çok yakın bir zamanda düşürüldükleri iç organlarının, akciğer müstesna normal bulunduğu, akciğerlerin ise yedisinde de tipik şekilde muhtekan oldukları tesbit edildi. Brucellose laboratuvarı ile birlikte akciğer, dalak, kara ciğer, kemik ve kandan yapılan aerob ve anaerob ekimler steril kaldı. Bunun üzerine Q. Humması, Melitensis Abortus ovis bakımından bu ceninlerin ana kanlarının muayenesi düşünüldü. Haymana Veterinerliğinden kan istenildi. Gelen 7 ana kanından yapılan Melitensis ve Abortus ovis agglutinationları menfi netice verdi. Q. Humması bakımından yapılan deviationda ise bir koyun kanı. (Haymana No.: 5), (Deviation cetvel No.: 2) (+ - +) müsbet bulundu. Bunun üzerine Haymana veterineri ile temasa geçilerek 5 No. lu koyunun sahibi Ahmet Mermer'in köyünün Çerkes Höyük olduğu tesbit edildi. Bu köye bizzat gidilerek hastalık hakkında mümkün olan malûmat toplandı :

Hastalık takriben Mart ayı içinde çıkmıştır. Kendisini gebeliğin ileri devrinde olan koyun ve keçilerde göstermiştir. Düşük yapan hayvanlarda iştahsızlık, halsizlik ve nihayet % 40-50 arasında ölüm vaki olmuştur. Bu köyde düşüklükler her sene görülmekle beraber bu sene daha fazla miktarda olmuştur. Esasen evvelce düşük yapanların sağ kalanlarının ekserisi kısırdır. Köye gidildiği 15-4 1952 tarihinde gebe hayvanların kâffesi doğum veya düşük yapmış olduklarından hasta tesbitine imkân olmamıştır.

Köyün hayvan durumu: Dört sürü halinde takriben (1000)e yakın koyun ve keçi vardır. Düşük yapanlar köylünün ifadesine göre 1000 hayvandan 33 üdür ki, % 3,3 dür. Bu nisbetin daha yüksek olması kuvvetle muhtemeldir.

Köy hayvanlarından 69 koyun ve 5 keçiden, sürü ile sıkı teması bulunan 4 çoban ile 4 çoban köpeğinden kan alınarak deviationa tâbi tutulmuştur. Alınan neticeler II. No. lu cetvelde gösterilmiştir. Sorolojik muayeneye tâbi tutulan hayvanlara tarafımızdan kulak No. ları tatbik edilmiştir. Düşük yapmış 10 hayvandan 9 zu müsbet sonuç vermiştir.

Çerkes Höyük vak'asından sonra Refik Saydam Enstitüsünün 10-4 1952 gün ve 6904 sayılı yazısı ile (Maraş Vet. Md. lüğünden Q. Humması bakımından muayene edilmek üzere gönderilen) 4 kecinin kan serumları enstitümüze gönderilmiş ve yapılan kontrollerinde II. No. lu cetvelde görülen neticeler alınmıştır.

Buna göre kanların Q. Humması bakımından müsbet bulunması üzerine Maraş Vet. Md. lüğüne steril tüp ve kan iğnesi gönderilerek bu keçilerin bağlı buldukları sürülerden yeniden kan alınıp gönderilmesi rica edildi.

Maraş Veteriner Md. Selâhattin Yazgan tarafından alınıp gönderilen (100) adet keçi "Anthrax mücadelesine gidildiğinden" laboratuvara geliş tarihinden ancak bir ay

sonra muayeneye tâbi tutulabilmiş ve dördü menfi, biri (- + -) müsbet ve (98) i de Hemung vermiştir. Bu bakımdan orada seyreden ve tekkike memur Vet. Cevat Gediz'in verdiği malûmata nazaran halk arasında (ESKI) ismi ile tanınan hastalığın da Q. Humması olmasa kuvvetle muhtemeldir. Veteriner Cevat Gediz tarafından hastalarda 40-40,8 arasında değişen beden harareti, yavru atma ve ölüm görülmekte olduğu tebit edilmiştir. 2 hasta kesilerek yapılan topşilerinde teneffüs cihazlarında Bronchite afatı ile akciğerlerin bir kısmında 5 Cm' büyüklüğünde bir congestion mihrakı, bir kısmında Hepatisasyon mihrakları görülmüş diğer organların haricü görünüşlerinde patolojik bir âfata rastlanmamış olduğu bildirilmektedir. Bundan başka hayvanlarda öksürük, süt veriminde azalma görülüyor ve hastalananların ekserisinin öldüğü bildiriliyor. Nitekim (200) hyvanlık bir sürüde hastalanan (20) keçi de ölmüştür.

### Netice :

1 — (456) adet muhtelif kan kontrole tâbi tutulmuş ve bunlardan (76) sı müsbet bulunmuştur. Kanların gönderildiği (8) bölgeden (7) sinden hastalık mevcut yalnız bir bölgede (Göle inekhanesi) hastalık yoktur. Müsbet (7) bölge sırasıyla aşağıda arz edilmiştir :

- 1 — Ankara Atatürk Orman Çiftliği (Sığır, koyun)
- 2 — Hatay Devlet Üretim Çiftliği (Sığır)
- 3 — Konya Harası (Sığır)
- 4 — Haymana (Koyun, keçi)
- 5 — Karacabey Harası (Sığır, koyun)
- 6 — Çerkes Höyük köyü (İnsan, Çoban köpeği, koyun, keçi)
- 7 — Maraş (Keçi)

2 — Memleketin (8) muhtelif bölgesinden getirtilen muhtelif nevi hayvana ait (456) adet kan serumunun yapılan deviationlarında 1/16 da (- -) ler müsbet kabul edildiği takdirde % 16,6 yani mevcut 456 dan 76 sı müsbet; şayet 1/16 da (+ + + +) ler müsbet kabul edilmek lâzım gelirse bu takdirde % 8,5 olup (39) hayvandır ki, bunlardan (3) tanesi münten sürüye ait köpeklerdir. (12) si de yine bu sürüye ait hayvanlardır. Yukarıdaki rakamdan salgın tesbit edilen sürü nisbetleri olan (15) çıkarılırsa canlı hayvanlarda hastaların % 8 sı daha aşağı nisbetlerde olacak ve % 5,26 ya düşecektir.

3 — Salgın mimtakalarından Çerkes Höyük köyü koyun ve keçilerinden düşük yapan hayvanlar arasında müsbet nisbeti % 90 dır.

4 — Birinci maddede görüldüğü veçhile kontrole tâbi tutulan (8) bölgeden (7) sinden hastalığın bulunması Q. Hummasının memleketin ekseri yerlerinde mevcut olduğunun

kabul edilmesini icabettirmektedir. Bu muntakalara civar olan yerlerde de hastalığın bulunması tabiidir.

5 — Deviationda kanları müsbet bulunan hayvanların sütleri ile de *Rickettsia* istrah ederek hastalığı yaydıklarının bir kere de biz tesbit etmiş bulunuyoruz.

6 — Yaptığımız çalışmalar sırasında edindiğimiz kanaate göre Lederle antijeni bir seneden fazla titresini kaybetmeden olduğu gibi buzlukta muhafaza edilebiliyor. Buna mukabil inaktive müsbet serumlar buzlukta iki ay aynı titrede kalabilmekte sonra titresini yavaş yavaş düşürerek Hemung vermeğe başlıyorlar. Liyofilize müsbet serumlar buzlukta bir seneden fazla titresini kaybetmeden muhafaza edilebiliyor. Pratikten gönderilecek kanların gayet temiz olması, serumlarının ayrılarak hemon 60 derecede inaktive edilmesi iktiza etmektedir.

7 — Siegert, Herzberg ve Urbach'ın tavsiye ettikleri şekilde agglutination (tamülünü deviation kadar kıymetli bulamadık. Deviationla agglutination neticeleri arasında bir mutabakat görülememektedir.

8 — Bu çalışmalarımız esnasında lâboratuvarımıza (759) kan gelmiş bunlardan (4) ü insan, (4) ü köpek, (49) u kobay ve diğerleri sığır, koyun ve keçidir. 759 kan serumundan (228) i anticomplementaire çıkmıştır. Hemung veren bu serumların hepsi de alındıklarından bir buçuk, iki ay sonra deviationa tâbi tutulabilmişlerdir.

---

(\*) Bu deviation Dr. Müezzî, Dr. F. Çimen, Cavide Atilla ve N. Kırcağın tarafından yapılmıştır.