

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

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

Cilt : XX — Sayı : II
(1960)

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

•

REVUE TURQUE D'HYGIENE ET DE BIOLOGIE EXPERIMENTALE

•

TÜRKISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

(TURK. HYG. — EXP. BIOL)

Vol : XX — No. : II

Ankara, 1960

ISSUED BY
PUBLIE PAR
HERAUSGEGEBEN VOM

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSIHA ENSTİTÜSÜ (ANKARA)
TARAFINDAN NEŞREDİLİR.

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sahife

1 — Dr. Niyazi ERZİN

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsünün 1959 yılı faaliyeti hakkında	179
Summary of the yearly activities of Refik Saydam Central Institute of Hygiene in 1959	184

2 — Vet. Bact. Turgut TULGA

Türkiye'de varlığı ilk defa tesbit edilen bir akrep türü (<i>Buthus Quinquestriatus</i>) ile <i>Prionurus Crassicauda</i> 'ya karşı hazırladığımız akrep serumları arasında çapraz proteksiyon deneyleri	191
Cross - reactions between anti - scorpion (<i>Buthus Quinquestriatus</i>) and anti - scorpion (<i>Prionurus Crassicauda</i>) sera	201

3 — Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Üç Kabakulak vak'asından virus izolasyonu ve bu viruslarla yapılan laboratuvar çalışmaları	204
Three new isolates of Mumps virus	215

4 — Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Normal şahısların serumlarında Kabakulak antikoru araştırması	216
A study on the antibodies of Mumps in normal human sera in Turkey	218

5 — Dr. Nusret H. FİŞEK - Dr. Şerafet ERTUĞRUL

Mayi difteri anatoksini kudret deneylerinde immünizasyonun iki zerk ile yapılmasının üstünlüğü	219
Potency tests for flu'd Diphtheria toxoids	223

6 — Dr. Tahsin BERKİN - Vet. Bact. Necmettin ALKIŞ

Memleketimizde ilk defa tesbit olunan <i>Shigella boydii</i> tip II (P 288) vak'ası	227
---	-----

7 — **Vet. Bact. Turgut TULGA**

Mueller vasatı ile geniş ölçüde, yüksek üniteli tetanoz tok- sini, tetanoz serumu ve aşısı prodüksiyonu	229
Large scale tetanus toxin production with Cl. Tetani var. Harvard	236

8 — **Dr. Nermin EGE**

Ankara'da aseptik menenjit sendromlarının etyolojik ajan- larının HeLa hücrelerinde araştırılması	239
--	-----

9 — **Dr. Muvaffak AKMAN - Muzaffer ÇOBANOĞLU**

Stafilokokların patojenitesinin tâyininde basit ve süratli lam testi	248
Quick slide test for estimating the pathogenicity of staphy- lococci	258

10 — **Dr. Mesude AKTAN - Dr. Şerafet ERTUĞRUL**

Leptospiraların üretilmesinde kullandığımız bir katı vasat	260
Ein fester Nährboden zur Züchtung von Leptospiereen ...	264

11 — **Dr. Şükrü KAYMAKÇALAN**

Piperazin ile ascariasis tedavisinin ilmi esasları	266
The scientific basis of the anthelmintic effect of piperazin in the treatment of ascariasis	269

12 — **Dr. Elhan ÖZLÜARDA - Prof. Dr. Zühdi BERKE**

1959 - 1960 kış ve ilkbaharında memleketimizde influenza enfeksiyonu durumu	271
Influenza in Turkey in 1959 - 1960 Winter	275

13 — **Dr. Gülseren ERONAT - Dr. Azmi ARI - Dr. Sadık OKKAN**

Kuduz aşısı neticesi teessüs etmiş bir neuritis vak'ası ...	276
A clinical case of neuritis due to rabies vaccination	278

14 — **Dr. Azmi ARI**

Türkiye'de son onbir senelik (1949 - 1959) Semple usulli Kuduz aşısı tatbikatı neticeleri	280
Results of rabies vaccination by Semple method in Turkey during last eleven years (1949 - 1959)	290

15 — Semple usulü ile Kuduz aşısı	294
---	-----

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSİHHA ENSTİTÜSÜNÜN 1959 YILI FAALİYETİ HAKKINDA

Dr. Niyazi ERZİN
Enstitü Direktörü

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü 1959 yılı faaliyet ve mesaisini gerek bütçe ve gerekse malzeme bakımından sağlayabildiği imkân ve vasıtalara göre yürütmüştür.

Enstitü dergisinin XIX. cildi bir çok müşküller ve imkânsızlıklar dolayısıyla 1959 yılında üç nüshası bir arada olmak üzere ancak neşre dilediğimizeştir.

Bunun dışında herhangi bir neşriyat veya tercüme yapılmasına imkân bulunamamıştır. Buna karşılık Enstitü kitaplığının bir çok noksan ve ihtiyaçları temin edilmiş ve yeniden tanzimine çalışılmıştır.

1958 yılının sonunda kurulan ve frenginin klâsik teamüllerine tatmin edici cevap vermeyen serolojik teşhisleri aydınlatmak maksadı ile Enstitüsünde kurulmuş olan TPI (Treponema Pallidum Immobilization) Servisi faaliyetini genişletmiş ve teşkilât arasında geniş bir alâka uyarılmıştır. Aynı şubede Leptra araştırmaları da yer almış ve kısa zamanda bu yönden de kıymetli mesai elde edilmiştir.

Uzun yıllardanberi tahakkuku için büyük gayret sarfedilen Salmonella Merkezi de geçen yıl içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bu Şube Dünya Sağlık Teşkilâtı'nın Kopenhag Devlet Serum Enstitüsündeki Salmonella Umumi Merkezi ile yakın bir çalışma sistemi kurmuştur. Aynı zamanda Ankara Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Enstitüsünün de bu servisin kurulmasındaki yardım ve ilgisi şükranla karşılanmıştır.

Bu iki şubeden başka Enstitünün mühim ihtiyaçlarından olan Patolojik Araştırmalar için bir lâboratuvar tesisi de programa alınmıştır.

A — İSTİHSALÂT DURUMUMUZ

1959 senesinde Enstitüde istihsal, sevk ve sarfedilen her türlü aşılardan, toksin ve anatoksinler, antijen ve allerjenler, serumlar aşağıdaki cetvellerde gösterilmiştir :

1 — Bakteri aşılıarı :

C i n s i	İstihsal (Litre)	Sevk (Litre)
Kolera aşısı	103	85
Veba aşısı	50	58
Tifo aşısı	6893	7356
B. C. G. aşısı (Ağız yolu)	6425 doz	6234 doz
B. C. G. aşısı (Deri içi)	382	339
Boğmaca aşısı	46	46
Brucella aşısı	—	0,4
Stafilokok aşısı	—	0,8
Nezle aşısı	—	2
Y e k û n	7506	7919

2 — Viras ve Riketsiya Aşılıarı :

C i n s i	İstihsal (Litre)	Sevk (Litre)
Kuduz aşısı	2931	2854
Çiçek aşısı	7,2 milyon doz	7,2 milyon doz
Tifüs aşısı	1129	1113
İnfluenza aşısı	9	—
Y e k û n	4069	3967

3 — Toksin ve Anatoksinler :

C i n s i	İstihsal (Litre)	Sevk (Litre)
Difteri anatoksini	2277	555
Difteri toksini	2430	171
Tetanoz anatoksini	714	351
Tetanoz toksini	773	107
Y e k û n	6194	1184

4 — Karma Aşılar :

<u>C i n s i</u>	<u>İstihsal (Litre)</u>	<u>Sevk (Litre)</u>
Tifo+Tetanoz aşısı	—	4
Difteri+Tetanoz aşısı	118	98
Tifo+Tifüs aşısı	157	113
Tifo+Difteri aşısı	131	275
Boğmaca+Difteri Aşısı	532	633
Difteri+Tetanoz+Tifo aşısı	686	708
Boğmaca+Difteri+Tetanoz aşısı	62	53
Y e k û n	1686	1884

5 — Antijen ve Allerjenler :

<u>C i n s i</u>	<u>İstihsal (Litre)</u>	<u>Sevk (Litre)</u>
Wassermann antijeni	7,00	12,04
Kaha antijeni	8,60	11,20
Meinicke antijeni	—	0,44
Antijen Metilik (saf)	—	—
Antijen metilik (sulu)	—	0,07
Tüberkülin (ham)	—	1,96
Tüberkülin (Mantoux)	588	618
Y e k û n	603,60	643,71

6 — Serumlar :

<u>C i n s i</u>	<u>İstihsal (Litre)</u>	<u>Sevk (Litre)</u>
Tetanoz serumu	1902	1904
Difteri serumu	1722	775
Dizanteri serumu	—	6
Şarbon serumu	590	439
Gangren serumu (Polivalan)	80	81

Perfringens serumu	—	
Histolitikus serumu	—	
Ödemasiens serumu	—	
Vibrion Septik serumu	115	
Hemolitik serum	—	1,680
Normal serum	180	61
Kuduz serumu	8,5	10,1
Akrep serumu	65	28
Konsantre Difteri serumu	—	5,2
Konsantre Tetanoz serumu	—	—
Konsantre Anaerob serumu	—	1,0
Konsantre Kuduz serumu	—	
Plasma (Anaerob)	—	
Plasma (Diğer)	110	
Ye k û n	4778	3312

7 — Enstitü İstihsalâtında kullanılan maddeler :

C i n s i	İstihsal (Litre)
İmmünizasyonda kullanılanlar	10
Boğmaca vasatı	563
Adi jeloz	1847
Mayi üretim yerleri	5981
Fizyolojik tuzlu su	6805
Damıtık su	113201
Y e k û n	128407

B — TAHLİL ve KONTROL MESAİSİ :

1959 senesinde yapılan bakteriyolojik, şimik, farmakolojik ve ilaç kontrolleri aşağıda gösterilmiştir :

1 — Bakteriyolojik tahlil ve kontrollar :

Mikroskopi	2293 adet
Kültür	3524 »
Wassermann	30877 »
Kahn	30877 »
Aglütinasyon	2202 »
Çeşitli kan tahlilleri	697 »
Yiyecek ve içecekler	3152 »
Diğer maddeler	1716 »
Y e k û n	75338 »

2 — Kimyevî tahlil ve kontrolar :

Su	947 adet
Maden suyu	51 »
İlâç, zehir, v.s.	87 »
Hayatî tahliller	3476 »
Yiyecekler	898 »
İçecekler	284 »
Sınaf tahlil	50 »
Diğer tahliller	94 »
Y e k û n	5887 »

3 — Farmakolojik tetkik ve kontrollar :

Toksikolojik tetkikler	126 adet
Diğer tetkikler	3437 »
Y e k û n	3563 »

4 — İlâç kontrolları :

Mütalâalar	423 adet
Antienfeksiyöz ve antiseptik müştahzarlar	341 »

Vitamin ve hormonlar	304	»
Narkotikler ve uyku ilâçları	489	»
Kalb ve damar sistemi ilâçları	118	»
Diğer ilâç ve müstahzarlar	344	»
Aşı ve serumlar	169	»
Toksisite tecrübeleri	1705	»
Sterilite tecrübeleri	881	»
Y e k ũ n	4774	»

H ü l â s a

Enstitünün bu bir yıllık üstihsal ve kontrol faaliyeti, Vekiller Heyeti tarafından tesbit edilen fiyat cetveline göre kuruslandırılmış ve aşağıda gösterilmiştir :

	<u>İstihsal (Litre)</u>	<u>Tutarı (T.L.)</u>
Her nevi aşlar	19455	1301675
Antijen ve Allergenler	604	67026
Serumlar	4773	656250
Enstitü istihsalı için hazırlanan vasatlar	128407	154370
Her türlü tahliller (Şimik, bakteriyolojik ve farmakolojik)	89562	993527

SUMMARY OF THE YEARLY ACTIVITIES OF REFİK SAYDAM CENTRAL INSTITUTE OF HYGIENE IN 1959

Dr. Niyazi ERZİN
Director

Refik Saydam Central Institute of Hygiene carried out its work and activities in 1959 according to the financial possibilities and materials it could obtain.

The Volume XIX of this Bulletin could be published only as a single issue including the three Numbers of 1959 because of the various difficulties and impossibilities. It couldn't be possible to make any additional publication and translations. However, several needs and wants of the library of the Institute have been obtained and it was tried to reorganize.

The TPI (Treponema Pallidum Immobilization) Department established in the last months of 1958 to illuminate the serological diagnosis with unsatisfactory results obtained in the tests of classical syphilitic reaction, has enlarged its activities and had a great interest in the Organization. The Investigations on Leprosy has taken place in the same Department and valuable studies have been made on this subject.

The Salmonella Centre tried to be substantiated for a long time has been realised in the last year. This Department has established a close working system with The Universal Salmonella Centre in The Statens Serum Institute, Copenhagen. It has been very much appreciated to have the valuable help and interest of The Institute of Microbiology of The Ankara Medical Faculty in establishing this Centre.

In addition, the foundation of a laboratory for pathological investigation which is one of the most important needs of the Institute, has taken into programme.

A — PRODUCTION ACTIVITIES :

The vaccines, toxins, and anatoxins, antigens and allergens, sera produced, distributed and used in The Institute during 1959 are showed in the following tables.

I. Bacterial Vaccines

Kind of Production	Produced Litre	Distributed Litre
Cholera Vaccine	103	85
Plague Vaccine	50	58
Typhoid Vaccine (TAB)	6893	7356
B. C. G. Vaccine (Oral)	6425 (dose)	6234 (dose)
B. C. G. Vaccine (Intracutaneous)	382	339

Whooping Cough Vaccine	46	46
Brucellosis Vaccine	—	0,4
Staphylococcus Vaccine	—	0,8
Anticatarrhal Vaccine	—	2
TOTAL	7506	7919

II. Virus and Rickettsial Vaccines

Kind of Production	Produced Litre	Distributed Litre
Rabies Vaccine	2931	2854
Smallpox Vaccine (Million Doses)	7,2	7,2
Typhus Fever Vaccine	1129	1113
Influenza Vaccine	9	—
TOTAL	4069	3967

III. Toxins and Anatoxins

Kind of Production	Produced Litre	Distributed Litre
Diphtheria Anatoxin	2277	555
Diphtheria Toxin	2430	171
Tetanus Anatoxin	714	351
Tetanus Toxin	773	107
TOTAL	6194	1184

IV. Combined Vaccines

Kind of Production	Produced Litre	Distributed Litre
Typhoid + Tetanus Vaccine	—	4
Diphtheria + Tetanus Vaccine	118	98
Typhoid + Typhus Vaccine	157	113
Typhoid + Diphtheria Vaccine	131	275

Whooping Cough+Diphtheria Vaccine	532	633
Diphtheria + Tetanus + Typhoid Vaccine	686	708
Whooping Cough + Diphtheria + Tetanus Vaccine	62	53
TOTAL	1686	1884

V Antigens and Allergens

Kind of Production	Produced Litre	Distributed Litre
Wassermann Antigen	7,00	12,04
Kahn Antigen	8,60	11,20
Meinicke Antigen	—	0,44
Antigen Methylie (pure)	—	—
Antigen Methylie (Diluted)	—	0,07
Old Tuberculine	—	1,96
Mantoux Tuberculine (PPD)	588	618
TOTAL	603,60	643,71

VI. Sera

Kind of Production	Produced Litre	Distributed Litre
Tetanus Serum	1902	1904
Diphtheria Serum	1722	775
Dysentaria Serum	—	6
Antrax Serum	590	439
Gangren Serum (Polivalent)	80	81
Perfringens Serum	—	—
Hystoliticus Serum	—	—
Oedematiens Serum	—	—
Vibrion Septic Serum	115	—

Hemolytic Serum	—	1,680
Normal Serum	180	61
Rabies Serum	8.5	10,1
Scorpion Serum	65	28
Concentrated Diphtheria Serum	—	5,2
Concentrated Tetanus Serum	—	—
Concentrated Anaerob Serum	—	1,0
Concentrated Rabies Serum	—	—
Plasma (Anaerob)	—	—
Plasma (Other)	110	—
TOTAL	4773	3312

VII. Materials used for the production of The Institute

Kind of Production	Produced Litre
Materials used in the immunization processes	10
Media for Whooping Cough	563
Ordinary Gelose	1847
Liquid Media	5981
Physiological Saline	6805
Distilled Water	113201
TOTAL	128407

B — ANALYSING AND CONTROL ACTIVITIES

The bacteriological, chemical, pharmacological examinations and drug controls made in 1959 are showed in the following tables :

I. Bacteriological examinations and analysis :

	<u>Number</u>
Microscopy	2293
Culture	3524
Wassermann Tests	30877
Kahn Tests	30877
Agglutination Tests	2202
Various blood examinations	697
Food Controls	3152
Other substances	1716
TOTAL	<u>75338</u>

II. Chemical analyses and controls :

	<u>Number</u>
Water	947
Mineral water	51
Drug, poison, etc.	87
Biochemical analyses	3476
Eating substances	898
Drinking substances	284
Industrial substances	50
Other analyses	94
TOTAL	<u>5887</u>

III. Pharmacological examinations and controls :

	<u>Number</u>
Toxicological examinations	126
Other examinations	3437
TOTAL	<u>3563</u>

IV. Drug Controls

	<u>Number</u>
Remarks and opinions	423
Antiinfectious and antiseptics	341
Vitamins and hormones	304
Narcotics and Sleeping drugs	489
Drugs for Heart and Circulatory system	118
Other drugs and preparates	344
Vaccines and sera	169
Toxicity tests	1705
Sterility tests	881
TOTAL	<u>4774</u>

The production and control activities of the Institute in 1959 are valued according to the price list fixed by The Government and given below :

	<u>Produced Litre</u>	<u>Value in Turkish Lira</u>
All sort of vaccines	19455	1301675
Antigens and allergens	604	67026
Sera	4773	656250
Media prepared for the production of the Institute	128407	154370
All sort of analyses (Chemical, bacteriological, and pharmacological)	89562 (number)	993527

**TÜRKİYEDE VARLIĞI İLK DEFA TESPİT EDİLEN BİR AKREP
TÜRÜ (BUTHUS QUINQUESTRİATUS) İLE PRIONURUS
CRASSICAUDA ya KARŞI HAZIRLADIĞIMIZ AKREP SERUMLARI
ARASINDA ÇARPAZ PROTEKSİYON DENEYLERİ**

Vet. Bakt. Turgut TULGA

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

İmmünoloji Şubesi Şefi

Enstitümüzde senelerden beri yurdumuz ihtiyacına cevap verecek miktarda akrep serumu hazırlanmaktadır. Nüfusumuzun artması ile birlikte akrep serumuna olan güvenin çoğalması bu seruma karşı olan isteğin fazlalaşmasına yol açmıştır. Bakteri orijinli toksinlere karşı istediğimiz miktar ve kudrette serum hazırlamak modern bakteriyoloji ve immünolojinin ışığı altında her zaman mümkün olmaktadır. Hayvan orijinli zehirlere (venom) gelince, durum tamamiyle değişmekte ve yenilmesi güç çetin safhalar arz etmektedir.

Zehirli akrep veya yılan tabii şartlarda olduğu gibi lâboratuvarda üretilemez. Memleketimizin faunası ne ise ondan yeteri derecede istifade etmek zorundayız. Bazen yalnız kazanç hırsı ile hareket eden akrep toplayıcı ve satıcılarının takip ettikleri hileli yol, serum prodüksiyonuna elverişli akrep teminini çok güçleştirmektedir.

Yurdumuzun akrepleri geniş bir coğrafi yayılış göstermektedir. Prof. Kosswig ve Ord. Prof. Dr. Mithat A. Tolunay Türkiyedeki akrep türleri ve yayılışları üzerinde araştırma yapmışlar ve idantifikasyonlara Dr. Wachon da iştirâk etmiştir. (8, 13, 14, 15).

Bu araştırmalar neticesi memleketimizde değişik coğrafi dağılışlar gösteren ve dört cinste toplanan beş akrep türü tespit edilmiştir.

1 — *Buthus gibbosus* brulle

2 — *Prionurus crassicauda*

3 — *Scorpio maurus fuscus*

4 — *Euscorpins italicus*

5 — *Euscorpins carpathicus*.

Bütün bu akrepler zehirli olarak kabul edilmektedir. Gerçekten bütün akrepler zehirlidir. Fakat bu toksisite lokal bir ağrıdan genel ara-za ve hattâ ölüme sebep olabilecek şiddette değişiklik gösterebilir. Arı da zehirlidir. Çok nadir de olsa ölüme sonuçlanan arı sokmaları vakalarımıza literatürlerde rastlamak mümkündür. Yurdumuzda serum prodüksiyonu bakımından hangi akrep türlerinden istifade mümkündür ve en uygunu olanı hangisidir. Yaptığımız araştırmalarda bu konuyu inceledik. Aldığımız sonuçları aşağıda açıklansya çalışacağız.

— Materyel ve metod —

Zehirli akrep temini: Otuzdenberi İlçe, güney anadolu kıyı bölgesinden ve güney doğu ilerimizden (Diyarbakır, Mardin, Urfa) sağlık teşkilâtı vasıtasıyla bedeli karşılığında her yaz kırk. eşi bin akrep kuyruğu toplattırmaktayız.

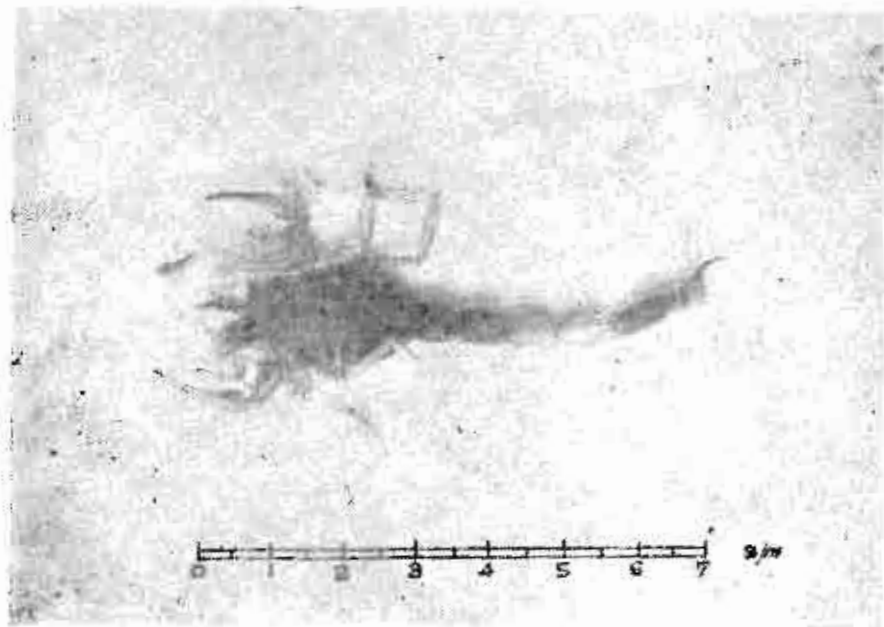
Bir akrep kuyruğu ortalama bir litreye nesl olmaktadır. Temin edilen akrep kuyruklarına okseriya yeter derecede zehirli olmaması serum prodüksiyonunu aksatmakta hattâ imkânız hale getirmekte idi. Bu derium karşısında her bölge akrebinin toksisitesini yeniden gözden geçirmek mecburiyetiyle karşı karşıya kaldık. Zehir (venom) hazırlanması ve titraj: Genel olarak aynı bölgeden gelen binlerce akrep gerek morfolojik ve gerekse toksisite bakımından tam bir benzerlik göstermektedir. Yalnız adet telson (akrebin zehir kesesi) den az olmamak üzere belirli miktarda akrep kuyruğu kahve değirmeninde toz haline getirilir. Bir akrep kuyruğuna bir santimetre küb serum fizyolojik isabet etmek üzere yeter hacimde serum fizyolojikle karıştırılarak 48 - 72 saat müddetle buz dolabında maserasyona terk edilir. Bu müddet sonunda santrifüje edilerek posalan ayrılan zehirli sıvı, 15 - 20 gr. lik beyaz finlik farelerinde veya 150 - 200 gr. lik beyaz sıçanlarda deri altı yoluyla titre edilir.

Hiperimmünizasyon ve serum prodüksiyonu :

Tuzlu suda hazırlanmış buluzun ve uygun seviyede toksisite gösteren (Bir akrep kuyruğunun en az onda biri bir fareyi öldürebilmelidir) zehir maserasyonuna binde dört nispetinde formol ilâve edilerek 37

(santigrat) derecelik etüvde 15 - 20 gün müddetle anavenom haline gelmesi için terk edilir.

Anavenomun hayvan deneyleriyle zararsızlığı tahakkuk ettik sonra, serumu prodüksiyen hayvanına (at veya merkep) adale içi yolla ve gün aşırı olmak üzere 1, 2, 4, 8, 12, 18, 24, 40, 70, 100, 150, 150, 150, santimetre küb zerkedilir. Anavenomun içine adjuvant olarak binde dört alun de potasse ve yüzdeelli nispetinde sığır eti buyyonu ilâve etmekteyiz. Bu zerkler tanımlandıktan sonra 15 - 20 gün müddetle hayvan istirahatata bırakılır.



Bothrops «Leirius» Quinquestriatus

Adyanon (Orjinal)

Yukardaki esaslar dahilinde hazırlanmış ve titraji yapılmış zehir maserasyonuna binde bir nispetinde formal ilâve edilerek 24 - 48 saat buzlukta temasa terk edilir. Anavenom da olduğu gibi zehirli tuzlu suya da alun de potasse ve et suyu konularak aynı zerk geması altında hiperimmünizasyona devam edilir. Yalnız burada iki zerk arasındaki fasilâ 3 - 4 gün olmalıdır. Bu metoda riayet edildiği takdirde ölümler neticesiyle şiddetli reaksiyonlar vukua gelmemektedir. Son zehir dozunu zerkini takip eden günde alınan nümune kanında istenilen antikor seviyesi tespit edilemezse 100 - 150 santimetre küb üzerinden bir kaç zerk daha yapılır. Serum istenilen ölçülerde koruyucu kudret gösteren hay-

van bekletmeden senye blans'a (Bleeding out) tâbi tutularak bütün kan alınır.

Böyüce bir hiperimmünizasyon periyodu içinde bir serum prodüksiyon hayvanı 1500 - 2000 akrep kuyruğuna tekabül eden zehirli anti-jen almaktadır.

Serum titrajı :

125 - 150 gr. lık sıçanlar kullanılmaktayız. Bir sıçanı 2 - 3 saatte öldüren zehirin 1 - 1,5 mislini (bu miktarın bir telsonun kaçta kaçına tekabül ettiği hesab edilmektedirki bir santimetre küb serumun ne miktar akrebin zehirini nötralize edebildiği anlaşılabilir) serumun değişik miktarlarıyla bir saat oda derecesinde teması terk ettikten sonra deri altı yoluyla zerkediyoruz. Genel olarak her serum dozu için 4 - 6 sıçan kullanılmaktayız. Serumsuz zehir alan kontrol sıçanları bir, iki saat içinde ölmektedir. Serum karşısında hayatta kalan hayvanların 96 saat müddetle gözlem altında bulunduruyoruz. 24 saati ölmeden geçiren sıçanların bunu takip eden günlerde emniyetle hayatta kaldıklarını müşahade etmekteyiz.

— SONUÇLAR —

Türkiyede varlığı ilk defa tespit edilen bir akrep türü : **BUTHUS QUINQUESTRIATUS**'dur. Ege ve güney anadolu bölgelerinden temin edilen akreplerin serum prodüksiyonu bakımından immünizasyona elverişli olmadıkları kesin surette anlaşıldı. Bu bölgelerden akrep satın almaya son verdik. Memeketimizin en zehirli akrebi olarak bilinen Urfa ve Mardin illerinin hâkim akrep türünü teşkil eden *Prionurus Crassicauda* nın zehiri ile serum istihsaline devam ettik. Bu arada Adıyaman Sıhhat ve İçtimai Muavenet Müdürlüğünün enstitümüz adına toplatmış olduğu çok az miktardaki akrep kuyruğu dikkat nazarımızı çekti. Bu akrepler açık saman renginde olup (tek tük viyole iltimaat verenler vardı) farelerde yapılan toksisite deneyleri şimdiiye kadar hiç alışık olmadığımız bir netice vermişti. Yurdumuzun en zehirli akrebi olarak tanıdığımız *Prionurus crassicauda* nın zehiriyle kıyaslanınca, bundan 5 - 6 misli daha kuvvetli toksik olduğu anlaşıldı. *P. Crassicauda* nın bir telsonunun ancak 1/20 - 1/30 miktarı fareleri öldürebildiği halde bu akrebin bir telsonunun 1/180 - 1/200 miktarı fareleri emniyetle öldürüyordu (Tablo 1).

Bizce meçhul bir akrep türü ile karşı karşıya olduğumuzu derha anladık. Enstitü Müdürü sayın Dr. Niyazi Erzincanlı'ya durumu arz ettik Ç

İşmalarımıza hız verecek ölçüde çok yakın ilgi gösterdiler. İki ay içinde Adıyaman'dan 9.000 akrep temin edildi. Bu 9.000 akrep tam bir yeknesaklık gösteriyor, aralarında tek tük *P. Crassicauda* kuyruklarına rastlamıyordu. Yaptığımız toksisite deneyleri bir evvelki sonuçların benzerini verdi (tablo 1). Bu akrep zehirine karşı monovalan bir serum istihsaline teşebbüs etmekle beraber tür tespiti için (indatifikasyon) İsrail Üniversitesinde zooloji profesörü Dr. Aharon Shulov'a iki adet bozulmamış akrep numunesi gönderdik. (Dr. A. Shulov, The Hebrew University of Jerusalem Department of Zoology, Israel). Bu zat Filistin akrepleri üzerindeki araştırmalarıyla literatüre geçmiş olup (2) o sıralarda dünya ajansları ve gazeteleri kendisinin akrep serumu istihsalindeki buluşlarından haberler veriyordu. Bu konuda hâlen Vekâletimiz ve Enstitümüz Hariciye Vekâleti kanalıyla temas halindedir. A. Shulov 13/Ocak/1960 tarihli mektubunda, kendisine gönderdiğimiz Adıyaman orijinli akrep numunelerinin dünyanın en zehirli ve en tehlikeli akrebi *BUTHUS Quinquestriatus* olduğunu bildiriyordu. Bu arada bizim serum prodüksiyonu çalışmalarımız ilerlemiş ve artık ait olduğu tür bize de biline *Buthus Quinquestriatus*'a karşı 5899 santimetre küb miktarda (seri no: 6425) spesifik bir serum elde etmiş bulunuyorduk. Literatürlere göre bu akrep türü Suriye, Filistin ve kuzey Afrikada yaşamaktadır (1 2. 12. 10.). Açık sarı rengi çöl akrebi olduğuna işaret etmektedir. A. Shulov çalışmalarında Filistinde on iki akrep türünün mevcut olduğunu tespit etmiştir. Bunlardan en zehirli ve tehlikelisi *Buthus Quinquestriatus* dur (2). Dünya ajans ve matbuatına intikal eden Filistinde hazırlanmakta olan serumun bu akreple ilgili olduğunu Hariciye Vekâletimiz kanalıyla gelen yazılardan öğrenmiş bulunuyoruz.

Bu sonuçlar bizi, akrep serumu prodüksiyoncusu olarak çok önemli bir kaç problemle karşı karşıya bırakmıştı:

1 — *Prionurus Crassicauda* ya karşı hazırlamakta olduğumuz akrep serumu, Adıyaman orijinli *Buthus Quinquestriatus*'un zehirini istediğimiz ölçülerde nötralize edebilecek midir?

2 — *Buthus Quinquestriatus*un zehirine karşı henüz hazırlanmış bulunduğumuz akrep serumunun, *Prionurus Crassicauda*'nın zehiri karşısındaki nötralize edici kudreti nedir?

3 — En uygun serum yurdumuz için hangisidir veya her kişinin karışığı polivalan bir serum mu hazırlamak mecburiyetindeyiz?

Bütün bu soruları cevaplandırabilmek için çapraz proteksiyon deneyleri yapmaya karar verdik. Deneylerimizde 1959 yılında hazırladığımız 6266 seri numaralı anti *prionurus crassicauda* serumuyla, 1960 yılını başlarında hazırlamaya muvaffak olduğumuz 6425 seri numara-

h anti *Buthus Quinquestriatus* serumunun ayrı ayrı, iki farklı akrep zehiri karşısındaki nötralle edici kudretlerini araştırdık. Buna paralel olarak her iki zehiri kendi homolog serumlarıyla aynı zamanda karşılaştırdık. Her serum dozu için 150 gram ağırlığında altı sıçan kullandık. Sonuçlar 2 ve 3 numaralı tablolarda görölmektedir.

ÖZET VE KARAR

1 — Literatürlere dünyanın en zehirli ve tehlikeli akreplerinden biri olarak geçmiş bulunan ve daha ziyade Suriye, Filistin, kuzey Afrika gibi çöl bölgelerinde yaşayan *BUTHUS QUINQUESTRIATUS*'un Türkiyede de mevcut olduğunu ilk defa tespit etmiş bulunuyoruz (Türün tayı A. Shulov tarafından yapılmıştır).

2 — *Buthus Quinquestriatus* türü Adıyaman bölgesinin hâkim unsurunu teşkil etmektedir.

3 — Bu akrep, şimdiye kadar memleketimizin en zehirli akrebi olarak tanıdığımız *Prionurus crassicauda* dan 4 - 5 misli daha zehirlidir. Bu neticeye göre yurdumuzun en zehirli akrebi (daha zehirlisi bulununcaya kadar) *Buthus Quinquestriatus* dur.

4 — *Prionurus crassicauda*nın zehirine karşı hazırlanmış akrep serumu kendi homolog zehirini nötralle edebildiği gibi, *Buthus Quinquestriatus* un zehirini de aynı ölçüde nötralle edebilmiştir.

5 — *Buthus Quinquestriatus* a karşı hazırlanmış serum yalnız *Buthus Quinquestriatus* un zehirini nötralle edebilmiş, *P. Crassicauda* nın zehirine karşı tesirli bulunmamıştır.

6 — Çeşitli akrep türlerinin zehirleri arasında antijen yakınlığı veya ayrılığı ütedenberi bilinen bir gerçektir. Kanaatimize göre akrep zehirlerinde, zehir komponenti yanında immünolojik yönden, tür için spesifik ayrı bir antijen komponenti bulunmaktadır. Çok zehirli bir akrep olan *B. Quinquestriatus* un antijen komponenti çok daha az zehirli olan *P. crassicauda* da müsterek bulunmaktadır.

Buna karşılık *P. Crassicauda* da kendisi için özel bir antijen komponenti daha mevcutturki bu komponent çok daha zehirli olan *B. Quinquestriatus* türünde mevcut değildir.

7 — Enstitümüzde *Prionurus crassicauda* zehirine karşı hazırlanmakta olan akrep serumu yurdumuzda yaşayan ve bizce bilinen akrep türlerinin hepsine karşı müessirdir. Senelerdenberi Adıyamandan bir şikâyet vaki olmaması da bu inancımızı uygular mahiyettedir.

8 — *Buthus Quinquestriatus* a karşı hazırlanmış serum çok daha spesifiktir.

NOT : Amerika Birleşik Devletleri Ordusu dünyamızın çeşitli memleketlerinde farklı türden akreplere karşı hazırlanmış serumlar arasında çapraz proteksiyon deneyleri yapmak için Texas da bir merkezde (Dept. of Preventiva Medicine, Army Medical Service School, Brook Army Medical Center, Fort Sam Houston, Texas) bir çalışma programı hazırlamıştır. Bu maksatla 1959 yılının sonbaharında Enstitümüzden akrep serumu ve zehiri istemişlerdi. *P. Crassicaudaya* karşı hazırlanmış olduğumuz 6254/4803 seri ve kontrol numaralı serumdan zehirle birlikte yeteri miktarda göndermiştik. Yukarıdaki deneylerimizin sonuçlandığı ve bu yazımızın dergiye verilmek üzere iken Hugh. L. Keegan imzalı ve 28/Mart/1960 tarihli mektupta çapraz proteksiyon deneylerinin sona ermekte olduğu, Türkiyede, Enstitümüzde hazırlanmış akrep serumunun, Cezayirin en tehlikeli akrebi olarak bilinen, *Prionurus australis*'e karşı kendi homolog serumuna nazaran çok daha müessir bulunduğu büyük bir alâka ile müşahede ve tespit edildiği bildirilmektedir.

Son neticelerden ayrıca tafsilen bilgi verileceği ile ilâve edilmektedir. Enstitümüzde *P. Crassicaudaya* karşı hazırlamakta olduğumuz akrep serumunun dünya çapında yapılan bir sınavdan büyük başarı ile çıktığı, hattâ batı memleketlerinde hazırlanmakta olan bazı homolog serumlara nazaran daha üstün ve tesir sahasının daha geniş bulunduğu anlaşılmaktadır. Böylece Urfa ve Mardin bölgesinin hakim unsurunu teşkil eden *P. Crassicauda* akrep türünün antijen mozayığının farklı komponentlerden ibaret olduğu ve akrep zehirlerinde toksisite ile antijenisite arasında her zaman beraberlik olamayacağı hususundaki görüş ve düşüncemizi doğrulayacak müşahedelerin çoğalacağını inanıyoruz.

TEŞEKKÜR

1 — Teşvik edici çok samimi ilgi ve yardımları dolayısıyla Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Direktörü Dr. Niyazi Erzin'e ve *Buthus «Leirus» quinquestriatus*'un idantifikasyonu hususunda nazik yardımlarını esirgemeyen Kûdus İsrail Üniversitesi zooloji profesörü Dr. Aharon Shulov'a şükranlarımı arz ederim.

2 — Urfa ve Adıyaman Sıhhat ve İçtimai Muavenet Müdürlükleri bölgelerine ait akreplerin temininde çok ciddi ilgi göstermişler ve çalışmalarımızı kolaylaştırmışlardır. Teşekkürü bir borç bilirim.

3 — Çalışmalarımıza iştirâk etmiş bulunan servis laborant ve teknisyen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Türkiyedeki en zehirli akreplerin zehirlerinin fare ve sıçanlardaki titrajı
(Titrations of venoms of most venomous scorpions in, Turkey)

TABLO — 1

AKREP (SCORPION)	Farelerdeki toksisite (Toxicity in mice) S. Cutaneously, 15 - 20 gr.	Sıçanlardaki toksisite (Toxicity in rats) S. Cutaneously, 150 gr.
PRIONURUS CRASSICAUDA (Urfa origin)		
1/2 telson (sting)	15 - 20 dakikada ölüm (death in 15 - 20 minutes)	1 - 2 saatte ölüm (death in 1 - 2 hours)
1/5 telson (sting)	40 - 60 dakikada ölüm (death in 40 - 60 minutes)	5 - 24 saatte ölüm (death 5 - 24 hours)
1/10 - 1/15 telson	2 - 3 saat içinde ölüm (death in 2 - 3 hours)	umumiyetle öldürmez (Usually no death)
1/20 - 1/25 telson	5 - 6 saat içinde ölüm (Death in 5 - 6 hours)	Öldürmez (No death)
1/30 telson	24 saatte bazen ölüm (Some deaths in 24 hours)	Öldürmez (No death)
BUTHUS QUINQUESTRIATUS (Adiyaman irigin)	Farelerdeki toksisite (Toxicity in mice) S. C. 15 - 20 gr.	Sıçanlardaki toksisite (Toxicity in rats) S. C. 150 gr.
1/10 telson	10 - 20 dakikada ölüm (death in 10 - 20 minutes)	1 - 2 saatte ölüm (death in 2 - 3 hours)
1/15 telson	10 - 20 dakikada ölüm (death in 10 - 20 minutes)	
1/20 telson	20 - 25 dakikada ölüm (death in 20 - 25 minutes)	4 - 8 saatte ölüm (death in 4 - 8 hours)
1/25 - 1/60 telson	25 - 30 dakikada ölüm (death in 25 - 30 minutes)	Öldürmez (No death)
1/80 - 1/100 telson	30 - 45 dakikada ölüm (death in 30 - 45 minutes)	Öldürmez (No death)
1/120 - 1/160 telson	2 saat içinde ölüm (death in 2 hours)	Öldürmez (No death)
1/180 telson	2 - 3 saatte ölüm (death in 2 - 3 hours)	Öldürmez (No death)
1/200 - 1/220 telson	24 saat içinde ölüm (death in 24 hours)	Öldürmez (No death)

Beyaz sıçanlarda çapraz protoksiyon deneyi

TABLO — 2

Akrep zehirli	Prionurus Crassicauda zehirine karşı hazırlanmış akrep serumu (Seri no: 6266, Haz. tarihi : 6/1959) Serum dozu : Santimetre küb									
	0.166		0.2		0.3		0.4		Kontrol sıçanlar (yalnız zehir)	
	Ölen	yaşayan	Ölen	yaşayan	Ölen	yaşayan	Ölen	yaşayan	Ölen	yaşayan
Prionurus	2	4	Yok	6	Yok	6	Yok	6	Yok	6
Crassicauda 1/2 telon	3	3	Yok	6	Yok	6	Yok	6	Yok	6
Buthus Quinquestratus 1/10 telson										

Beyaz sıçanlarda çapraz proteksiyon deneyi

TABLO — 3

Akrep zehiri	Buthus Quinquestriatus zehirine karşı hazırlanmış akrep serumu (Seri no: 6425. Haz. tarihi : 1/1960) Serum dozu : Santimetre küb											
	0.166		0.2		0.3		0.4		Kontrol sıçanlar (Yabuz zehir)			
Buthus quinquestriatus 1 10 telson	Ölen	yaşayan	Ölen	yaşayan	Ölen	yaşayan	Ölen	yaşayan	Ölen	yaşayan	Ölen	
Prionurus Çir. aşısında	3	3	Yok	6	Yok	6	Yok	6	Yok	6	6	
1 2 telon	6	Yok	6	Yok	6	Yok	6	Yok	6	Yok	6	

**CROSS - REACTIONS between anti - scorpion (BUTHUS
QUINQUESTRIATUS) and anti - scorpion (PRIONURUS
CRASSICAUDA) sera**

* Turgut TULGA

Refik Saydam Central Institute of Hygiene Ankara/Turkey

According to previous investigations five scorpion species are present in Turkey. Each located in different districts and only one, *Prionurus crassicauda* is most dangerous. We usually use the venom of this species to produce antivenin at Refik Saydam Central Institute of Hygiene.

Last summer (1959) we collected examples of scorpions in various districts of this country to determine the existence of another species, if any. We have found a very toxic species, which is identified by Dr. Aharon Shulov, as *BUTHUS QUINQUESTRIATUS*. The toxicity test showed that this species is 4 to 5 times more toxic than *Prionurus crassicauda*. (table 1.)

It is very common in Adiyaman district (a district in the south - east part of Turkey). We produced a homologous antivenin with the venom of *B. Quinquestriatus* and made cross - protection test on white rats. each weighs 150 gr.

1 — Anti *prionurus crassicauda* serum neutralized both venoms, namely venoms of *P. Crassicauda* and *B. Quinquestriatus*.

2 — Anti *B. Quinquestriatus* serum only neutralized the homologous venom, but not *P. Crassicauda*.

This fact shows a high degree specificity of the neutralizing effect of the anti *B. Quinquestriatus* serum obtained.

3 — This observation demonstrates that *P. Crassicauda* venom contains at least two different antigenic components and one them is identical with *B. Quinquestriatus* venom. We believe that the venom of

P. Crassicauda has a more complex antigenic composition in spite of its less toxicity than the venom of *Buthus quinquestriatus*. This indicates the superiority of the antivenin which is produced with the venom of *prionurus crassicauda* in the prevention of scorpion venenation in Turkey.

Cross protection test on white rats

Scorpion antiserum produced with the venom of *Prionurus crassicauda*

(Serial no: 6266., Prep. date June, 1959)

Scorpion venoms	Serum dose ^e (ml.)				Control rats (no serum)
<i>P. Crassicauda</i>	0.166	0.2	0.3	0.4	
1/2 stings	2/6	0/6	0/6	0/6	6/6
<i>B. Quinquestriatus</i>					
1/10 stings	3/6	0/6	0/6	0/6	6/6

Scorpion antiserum produced with the venom of *B. Quinquestriatus*

(Serial n. 6425. Prep. Date., January 1960)

Scorpion venoms	Serum dose (ml.)				Control rats (no serum)
	0.166	0.2	0.3	0.4	
<i>B. Quinquestriatus</i>					
1/10 stings	3/6	0/6	0/6	0.6	6/6
<i>P. Crassicauda</i>					
1/2 stings	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6

The fractions represent the number of rats dying over the number tested.

ACKNOWLEDGMENTS

1 — Special acknowledgment is made to Dr. Niyazi Erzin, Director of Rafik Saydam Centarl Institute of Hygiene, for his kind interest and helps.

2 — I wish to express my thanks to Dr. Aharon Shluov, dept. of zoology, The Hebrew University of Jerusalem, for his help in identification of *Buthus Quinquestriatus*.

LİTERATÜR

- 1 — Çağlar Melâhat., Omurgasız hayvanlar, 11, 108.
- 2 — Fredrick R. Taylor., Arachnidism 1949., Oxford Medicine V., P. III., 966.
- 3 — Gören Sadık, 1950, Akrepler ve akrep seromu (Les Scorpions de la Turquie) Türk Hijyen ve Tecrübi B. D. 10, 81 - 95. .
- 4 — Etienne Sergent, 1935, Etude de venin des scorpions d, Algérie (Dises minima mortelles pour les animaux de laboratoire) Arch. de l'Inst. Pasteur d'Algérie, 13, 39 - 41.
- 5 — Etienne Sergent, 1936, Préparation d'un sérum contre le venin de scorpion. Arch. del l'Inst. Pasteur d'Algérie, 57, 240 - 243.
- 6 — Etienne Sergent, 1938, Venin de scorpion et serum antiscorpionique. Arch. de l'Inst Pasteur d'Algérie, XVI, 3, 257 - 282.
- 7 — Etienne Sergent, 1938, Iconographie de scorpions de l'Afrique du Nord. Arch. de l'Inst. Pasteur d'Algérie, 16, 513 - 522.
- 8 — Kosswig Curt, 1951, A propos de quelques scorpions de Turquie collectés pars M. le prof. Dr. Curt Kosswig. Rev. de la Faculte de sciences de l, universite de, Istanbul, Série B. T. XVI, Fasc. 4,
- 9 — Ländber K. 1946, Piqûre par in scorpion (Buthus Pachyrus Pocock) auto - observation, Acta Tropica, 3, 152 - 154.
- 10 — Oytun H. Şükri., 1956, Tıbbi Entomoloji, 37 - 45.
- 11 — Rutz Castaneda, M., 1933, Herstellung und Wertbestimmung des serums gegen scorpionnenstich (Bol. Inst. Hig. del. Dep. Salubr. Mexico) Ref. Zbl. Bakt, 116, 23 (1935).
- 12 — Shulov Aharon, Şahsi mektuplar (Personel letters) 18/Dec./1959 13/Jan. 1960.
- 13 — Tolunay A. Mithat, 1948, Türkiye akrepleri ve akrepler üzerinde genel bilgi, Ziraat Vekâletli Dergisi, 11,
- 14 — Tolunay A. Mithat, 1958, Zur Verbreitung der skorpione in der Türkei, Z. Ang. Entomologie 43, 4, 336 - 370.
- 15 — Wachon, M., 1947, Réoartion et origine des scorpions de Turquie. Compte Rendu sommaire des Séances de la soc. de Biogéographie, 206 - 28.

ÜÇ KABAKULAK VAK'ASINDAN VIRUS İZOLASYONU VE BU VIRUSLARLA YAPILAN LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü Viroloji Şubesi Mütchassısı

Müdür : Prof. Dr. Zübdi BERKE

Memleketimizde Kabakulak'ın etyolojisi mevzuunda yapılmış çalışmalarına ait neşriyat pek mahduttur. K. H. Plevnelioğlu'nun 1947 yılında neşretmiş olduğu (1) çalışmalarındanberi virolojik teşhis metodlarında bir çok ilerlemeler kaydedilmiştir. Kabakulak virusunun izolasyonu ve idantifikasyonu hususunda yeni metodları kullanarak yaptığımız laboratuvar çalışmalarının neşrinin alâkalı arkadaşlar için faydalı olacağını ümid ediyoruz.

Kabakulak virusu parotitli vak'aların tükürüğünden, hastalığın 1. ve 2. günlerinde ve bazen daha sonra izole edilebilmektedir. Meniingoensefalit vak'alarında da hastalığın ilk günlerinde spinal mayiden ayrılabilir. bilmektedir.

Hastadan alınan tükürük, hidrosel mayii veya spinal mayi numuneleri tetkik edileceği zamana kadar deep freeze'de donmuş bir halde muhafaza edilmelidir. Serolojik teşhis için hastadan alınan kandan derhal serumu ayrılmalı ve -10° - -15° C de saklanmalıdır. Antikor teşekküllü veya artışı tesbit etmek için hastadan, biri hastalığın ilk günlerinde, diğeri bundan 14 gün sonra olmak üzere iki serum numunesi alınması teşhis için daha faydalı olmaktadır.

Kabakulak virusu, embriyonlu tavuk yumurtalarında, maymunlarda, küçük tecrübe hayvanlarında ve doku kültürlerinde üretilebilir. Numune ekilmeden önce kaba kısımlarından kurtarılmak için alçak devirle santrifüje edilir. Numune eşit miktarda buyyon içine alındığı takdirde, santrifugasyon esnasında, azalan viskozite bakterilerin daha kolay çökmesini sağlar. Numuneyi bakterilerden kurtarmak için ayrıca, üstte kalan mayiye her cc. için 500 - 1000 ünite veya mikrogram penicillin ve streptomycin ilâve edilir ve buzlukta bekletilir.

IX. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

Her numune 7 - 8 günlük embriyo ihtiva eden yumurtalara amniyotik kese içine 0,1 cc. miktarında zerkedilir. Yumurtalar 5 - 7 gün 35° - 36°C lik etüvde bırakılır. Bu müddet sonunda toplanan amniyotik mayilerde virus mevcudiyeti tesbit edilemezse, amniyotik zar ve mayilerin karışımı ile en az üç pasaj yapmadan menfi neticeden emin olmak lâzım gelir.

Müteakkip pasajlar için amniyotik, allantoik ve sarı keselere ekim yapılabilir. Koriyo - allantoik zara ekim de müsbet netice vermekle beraber bir üstünlük göstermemektedir. Kabakulak virusu ürettiği takdirde embriyo doku ve mayilerinde kompleman birleştiren antikolar ve hemagglütinimler bulunmaktadır. Hemagglütinimler ancak enkübasyonun 7. günü azami seviyesine varmaktadır. Hemagglütinasyon (H. A.) testinin müsbet olması virus mevcudiyetini göstermekle beraber, menfi bulunduğunda takdirde, bu enfeksiyonun vukubulmadığını göstermemektedir. Çünkü mayi ile yapılan H. A. testi menfi olduğu halde aynı embriyona ait amniyotik kesede kompleman birleştiren antikoların mevcut olabileceği görülmüştür. H. A. testi müsbet olduğu takdirde bunun spesifitesi, standard antiserumla Hemagglütinasyon - İnhibisyon (H. A. I.) testi yapmak suretiyle tesbit edilebilir.

En yüksek hemagglütininin titresi, ekim yoluna tabi olmaksızın ve en erken olarak amniyotik mayide elde edilmektedir. Bazı virus suşları ise allantoik sisteme hiç adapte edilememektedir.

Ekim yapılan yumurtadan enfeksiyon mevcudiyetini tesbitte kullanılan ikinci yol kompleman birleştiren antijenin meydana çıkarılmasıdır. Bu test H. A. dan daha itimada şayandır. Kompleman birleştiren antijen en fazla amniyotik kesede bulunmaktadır. İleri pasajlarda allantoik zar da bazı suşlarda antijen olarak kullanılabilir.

Tükürükten kabakulak virusunun izolasyonunda, insan kanser hücrelerinin HeLa suşunun ve tripsinize maymun böbreği hücrelerinin kültürleri muvaffakiyetle kullanılmaktadır. Virusun mevcudiyeti, doku kültürlerinde tavuk embriyonundan daha çabuk ve daha kolaylıkla meydana çıkarılabilmektedir. Kabakulak virusu HeLa hücre kültürlerinde, maymun böbrek hücrelerinde olduğundan daha çabuk sitopatojenik tesirini göstermekte ve maymunlarda bulunabilen bazı latent viruslar HeLa hücrelerinde mevzu bahis olmadığından bunlar daha elverişli bulunmaktadır. Doku kültürü, izolasyon mevzuunda tavuk embriyonuna nazaran daha elverişli bulunmakla beraber, kültür mayiinde hemagglütinimlerin her zaman bulunmayışı idantifikasyonu güçleştirmekte ve nötralizasyon testlerini icabettirmektedir.

İzole edilen kabakulak virusu susları, yağı alınmış steril süt içinde ve deep freeze'de (-50°C) uzun zaman muhafaza edilebilmektedir.

Kabakulakta virus izolasyonu ve idantifikasyonu mevzuunda yaptığımız çalışmalar aşağıda hülâsa edilmiştir:

MATERYEL VE METODLAR

Vak'alarımız :

I. Vak'a : A. T., 13 yaşında, erkek. 8 Şubat 1960 günü iki taraflı olarak parotis ve submaksiller tükürük bezlerinin şişmesi ile hastalanmış. Aynı gün steril buyyon ihtiva eden iki şişeye hasta tükürtülerek numune alındı ve -18°C de muhafaza edildi (Numune No: 1 a ve 1 b).

II. Vak'a: M. B., 5 yaşında, erkek. 26 Şubat 1960 günü iki taraflı parotis ve submaksiller tükürük bezlerinin şişmesi ile hastalanmış. Aynı gün steril buyyon içine tükürük numunesi alındı ve deep freeze'de muhafaza edildi.

III. Vak'a: M. B., 38 yaşında, ikinci vak'anın babası. 14 Mart 1960 günü iki taraflı parotis tükürük bezlerinin şişmesi ile hastalanmış. (Oğlundan 17 gün sonra hastalanmıştır. Enfeksiyonu oğlundan almış olması muhtemeldir.) Hastadan yine aynı şekilde steril buyyon içine tükürük numunesi alınarak deep freeze'de muhafaza edildi. Bu vak'adan hastalığın başlangıcından 19 gün sonra kan serumu almarak serolojik testlere tabi tutulmuştur.

Alınan numuneler üzerindeki çalışmaları iki kısımda toplayabiliriz:

1 — İzolasyon tecrübeleri

- a) Tavuk embriyonunda
- b) Doku kültürlerinde

2 — İdentifikasyon testleri

- a) Hemagglütinasyon (H. A.) ve Hemagglütinasyon - İnhibisyon (HAI)
- b) Kompleman birleşmesi (CF)

Numunelerin tavuk embriyonuna ekim suretiyle tetkikleri :

Ekim yapılacağı gün numune deep freeze'den çıkarılarak eritildi. Steril bir santrifüj tüpüne bundan 3 cc. kadar konuldu ve 3000 dd. ile 10 dakika santrifüje edildi. Üstte kalan mayi steril bir tübe alınarak buna, cc. de 1000 ünite olacak şekilde penicillin ve streptomycin sülsiyonundan ilâve edildi. Ekimden evvel en az 30 dakika $+4^{\circ}\text{C}$ de bekletildi. Bu suretle inokulum ekime hazırlanmış oldu.

Her numunenin birinci yumurta pasajı için 8 günlük embriyon ihtiva eden 10 adet tavuk yumurtası kullanıldı. Yumurtaların hava boşluğu çevresi ve embriyonun bulunduğu taraf karanlık odada kurşun kalemle işaret edildikten sonra ekim yapılacak olan karanlık odaya alındılar. Alkol iyode ile iyice silindikten sonra hava boşluğu üzerinde ve embriyon tarafında kabuk steril bir iğne ile delindi. Her embriyonun amniyotik kesesi içine, yumurta lamba üzerinde tutulduğu esnada, inokuumu ihtiva eden diziyem tertibatlı 1 cc. lik enjektörle 0.1 cc. zerkedildi. İnokulumdan, aynı zamanda, eğri jeloz, buyyon, karaciğerli buyyon vasatlarına ekim suretiyle sterilite kontrolü yapıldı. Ekilen yumurtalardaki ekim delikleri eritilmiş parafin ile kapatıldı ve 36°C lik etüve konuldular.

Yumurtalar her gün kontrol edilerek ölenler her numunenin kendine ait karta kaydedildi. 7. gün sağ kalan yumurtalar açıldı.

Açılacak yumurtalar alkol iyode ile silindikten sonra hava kesesi üzerindeki kabuk, koriyo - allantoik zarı zedelememeye dikkat ederek kesilip kaldırıldı. Kabuk zarı steril bir pensle alındı ve steril bir enjektörle, zarın damarsız bir kısmından koriyo - allantoik keseye girilerek mayi çekildi. numunenin numarasını taşıyan bir tübe konuldu.

Bundan sonra koriyo - allantoik kese makasla açılarak, amniyotik kese ve muhteviyatı dışarı sarkacak şekilde yumurta yan yatırıldı ve yine enjektörle amniyotik kesedeki mayi alınarak yine aynı numarayı taşıyan başka bir tübe kondu. Bu şekilde koriyo - allantoik ve amniyotik mayileri alınan embriyon bir petri kutusu içine boşaltılarak üzerindeki amniyotik zar sıyrıldı ve bir numuneye ait bütün amniyotik zarlar aynı boncuklu steril şişeye kondu.

Toplanan amniyotik ve allantoik mayilerde H. A. testi ile virus mevcudiyeti arandı, testin menfi bulunduğu hallerde müteakkip yumurta pasajlarında amniyotik zar ve amniyo - allantoik mayilerden hazırlanan süspansiyon inokulum olarak kullanıldı.

Numunelerin doku kültürlerine ekim suretiyle tetkikleri :

Her numune için, HeLa hücrelerinin üreyerek tam bir tabaka teşkil ettiği tüplerden ikişer tane kullanıldı ve hiç ekim yapılmayacak olan iki tüp de kontrol olarak alındı. Tüplerde mevcut ve insan serumu ihtiva eden besi vasatı boşaltılarak yerine dana serumu ihtiva eden idame vasatı konuldu. Tavuk embriyonuna ekimde olduğu gibi hazırlanmış ve antibiyotikle muamele edilmiş olan her numuneden iki doku kültürü tübüne 0,1 cc. konularak ekim yapıldı. Tüpler 37°C lik etüvde bulunan sabit raflara yerleştirildi. Ekim yapılan tüpler ve kontrol tüpleri her gün mikroskopta tetkik edilerek sitopatojenik tesir araştırıldı ve neticeler kaydedildi.

Doku kültürlerindeki üremeyi teyit etmek üzere tüplerdeki vasattan alınan numuneler tavuk embriyonuna ekilerck bunlardan alınan mayi ve zarlarda muhtelif testler yapıldı.

Teshis ve idantifikasyonda kullanılan testler :

H.A. testi : Ekim yapılan embriyoların amniyotik ve allantoik mayilerinde yapıldı. Kontrol olarak, ekilmeyen fakat aynı şartlarda muhafaza edilen yumurtaların amniyotik ve allantoik mayileri kullanıldı.

Amniyotik ve allantoik mayilerin, plastik plakların godelerinde otomatik 0,2 cc. lik pipetlerle ve fizyolojik tuzlu suda (1/1 - 1/16) iki katlı sulandırılmaları hazırlandı. Her godeye % 1 lik tavuk eritrositi süspansiyonundan yine 0,2 cc. ilâve ve üzerlerine 0,2 cc. tuzlu su tevzi edildi. Plastik plaklar iyice çalkalandıktan sonra +4°C buzlukta bekletildi. İki saat sonra test neticeleri okundu. Bilâhare oda derecesinde 1 saat kalmakla da hemaglütinasyonun vukua geldiği görüldü.

H. A. I. testi : Bu testi iki defa ve iki ayrı gaye için kullandık. Birincisinde, üçüncü vak'adan alınan nükaha serumu standard kabakulak V antijeni ile karşılaştırıldı. Bu serumda spesifik inhibitörler tesbit edildikten sonra, ikinci bir H. A. I. testinde üç numuneden izole edilen virusların, bu serumla karşılaştırılmak suretiyle idantifikasyonları yapıldı.

H. A. I. testine tabi tutulacak olan nükaha serumu ile kontrol olarak alınan menfi serum (normal kobay serumu kullanıldı) ve Colindale Laboratuvarından temin edilen standart müsbet serum, non-spesifik inhibitörleri bertaraf etmek için kolera filtratla muamele edildi. Bunun için

bir kısım serum beş kısım kolera filtratla karıştırılarak (serum 1/6 sulandırılmış oldu) bir gece 37°C lik etiüde bırakıldı ve ertesi sabah 56°C lik beumaride bir saat müddetle inaktive edildi.

Testte, standard hemaglütinin olarak, Colindale Laboratuvarından temin edilen Kabakulak V antijeni kullanıldı ve testin yapılacağı gün H. A. testi ile titre edildi. Esas H. A. I. testinde, bulunan titrenin 4 katı (4 ünite) antijen kullanıldı.

Inaktive edilen nükahe serumu, standard müsbet ve menfi serumların 1/6 dan itibaren 1/1586 ya kadar iki katlı sulandırılmaları fizyolojik tuzlu suda ve plastik plâklarda 0,2 cc. içinde hazırlandı. Üzerlerine 4 ünite hemaglütinin tevzi edildi. 1/2 dilüsyonda yapılan serum kontrollerine antijen konulmadı. Ayrıca hemaglütininin 4 gode içinde 4 ü, 2 ü, lü ve 1/2ü. lik sulandırılmaları yapılarak üzerine 0,2 cc. tuzlu su tevzi edildi (antijen kontrolü). Plâklar hafifçe çalkalanarak yarım saat oda derecesinde bekletildi. Bu müddet sonunda, hazırlanan ve hemaglütinin títrajında kullanılan % 1 lik tavuk eritrositi süspansiyonundan üzerlerine 0,2 cc. ilâve edildi. Plâk çalkalanarak buzluğa kondu ve 1 - 2 saat sonra neticeler okundu. Daha sonra oda hararetinde bırakılan plakta da aynı netice alındığı görüldü.

İkinci olarak H. A. I. testinde, izole edilmiş kabakulak viruslarının bulunduğu amniyotik mayiler, yukarıdaki testte spesifik antikorları ihtiva ettiği gösterilen nükahe serumu ve ayrıca menfi serum ile karşılaştırıldı. Serumlar yine kolera filtratla muamele edilerek non - spesifik inhibitörler bertaraf edildi. Kontrol olarak kullanılacak standard müsbet serum da aynı muameleye tabi tutuldu. H. A. I. testinden evvel kontrol edilecek suşları ihtiva eden mayilerde hemaglütinasyon testi yapılarak üniteleri tayin edildi. Her mayi için, bir sırada müsbet ikinci sırada menfi serumun 1/6 - 1/284 iki katlı sulandırılmaları hazırlandı. Üzerlerine 4 ünite olmak üzere sulandırılmış mayiler tevzi edildi ve yarım saat oda hararetinde bekletildikten sonra % 1 lik tavuk eritrositi süspansiyonu ilâve edildi ve plaklar çalkalanarak karıştırıldı. Kontrol olarak, standard müsbet ve menfi serumlar, standard V antijeni ile karşılaştırıldı ve ayrıca her antijenin de yukarıda anlatıldığı şekilde kontrolü yapıldı. Bir saat oda hararetinde bekletildikten sonra neticeler okundu ve kaydedildi.

Kompleman birleşmesi (CF) testi : Muhtelif gaye ve değişik anti-jenlerle yapıldı:

1 — Ekilmiş yumurtaların amniyo - allantöik mayilerinde ve amniyotik zar süspansiyonlarında virus mevcudiyetini meydana çıkarmak için,

2 — Üçüncü vak'adan alınan konvalesan serumunda kabakulak antikorlarını aramak için,

3 — Hazırlanan solübl kabakulak antijenlerinin titrajları için,

4 — Epidemiyolojik gaye ile normal şahıs serumlarında, hazırlanan solübl kabakulak antijeni ile kabakulak antikoru aramak için. (Bu çalışmadan alınan neticeler ayrı bir makale halinde neşredilecektir.)

C — CF testine tabi tutulacak ve antijen olarak kullanılacak santrifüje edilmiş amniyotik zar süspansiyonları, amniyotik ve allantoik mayilerde önce sterilite tecrübesi yapıldı. Sterilitesi tahakkuk eden mayilerin, plâstik plakların gödelerinde, 0,1 cc. içerisinde ve % 8,6 Na Cl + % 0,1 Mg SO₄ (% 10 luk) ile, 1/1 - 1/64 iki kâth sulandırılmaları yapıldı. Üzerlerine, inaktive edilmiş standard müsbet (Colindale) serumun işleyen titresinin 4 katı 0,1 cc. içerisinde tevzi edildi. Kompleman da ilâve edildikten sonra bir gece + 4°C de bulunan plaklara, ertesi gün oda hararetinde bir saat bekletildikten sonra, 0,2 cc. sistem ilâve edildi. Plaklar yarım saat 37 C de kaldıktan sonra neticeler okundu. Bu tecrübeye kontrol olarak, her antijen standard menfi serumla, standard müsbet ve menfi serumlar standard antijenle karşılaştırıldı. Ayrıca, antijenler serumsız olarak ta kontrol edildi.

2 — Hasta serumu ile yapılan tecrübeye, hasta serumu, standard antijenle karşılaştırıldı. Yukarıda anlatılan teknik kullanıldı. Hasta serumunun yüksek titrede kabakulak antikoru ihtiva ettiği tesbit edildikten sonra, ilerideki antijen titrajlarında müsbet serum olarak kullanıldı.

3 — Solübl kabakulak antijenleri şu şekilde hazırlandı: Virus üretilmiş embriyoların koriyo - allantoik zarları steril tuzlu suda yıkandıktan sonra darası alınmış boncuklu şişelerde toplandı ve tartıldı. Buna, % 20 lik bir süspansiyon yapacak miktarda tamponlu tuzlu su ilâve edildi ve şişeler iyice çalkalanarak zarlar ezildi. Hasıl olan süspansiyon önce 2000 dd. ile 10 dakika, sonra 18.000 dd. ile 20 dakika çevrildi, üstte kalan berrak mayi steril bir şişeye alındı ve sterilite testi yapıldıktan sonra «box» usulü ile titre edildi. Bunun için, antijenlerin 1/1 - 1/64 ve müsbet serumun 1/8 - 1/256 iki kâth sulandırılmaları % 08,6 lik ve Mg SO₄ li tuzlu su ile tiplerde hazırlandı. Antijen sulandırılmaları yukarıdan aşağı ve serum sulandırılmaları soldan sağa olmak üzere plastik plakların gödelerine 0,1 cc. miktarlarında tevzi edildi. Plaklarda serum ve antijen kontrollerından başka, standard antijen + müsbet serum, standard antijen + menfi serum ve nesic kontrolü + müsbet serum kombinasyonları da kontrol olarak konuldu. Kompleman da dağıtıldıktan sonra, her zaman olduğu gibi, kompleman kontrolü de yapıldı ve

bir gece + 4°C de bırakıldılar. Ertesi sabah plâklar oda hararetine ısıtıldıktan sonra sistem ilâve edildi, 37°C de yarım saat bekletildi ve neticeler okundu. En yüksek serum dilüsyonu ile müsbet reaksiyon veren en yüksek antijen dilüsyonu 1 ünite kabul edilerek müteakkip tecrübelerde bunun iki misli (iki ünite) kullanıldı.

4 — Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan ve titre edilen solübl kaba-kulak antijenleri, Enstitümüz bakteriyoloji şubesine Wassermann tetkiki için memleketin muhtelif bölgelerinden gönderilen normal şahıs serumları ile karşılaştırıldı. Bunun için, serumlar 1/8 dilüsyonda inaktive edilerek plastik plâklarda 1/8 - 1/32 iki katlı sulandırılmaları hazırlandı, titresinde sulandırılan antijen ve kompleman ilâvesinden sonra bir gece buzlukta fiksasyona bırakıldı. Ertesi sabah sistem ilâve edildi ve 37°C de yarım saat bırakıldıktan sonra neticeler okundu. Bu tecrübelerde kontrol olarak, menfi ve müsbet serumlar da aynı antijenle karşılaştırıldı.

Laboratuvar tecrübelerinden alınan neticeler :

Tavuk embriyonuna ekimde :

Her üç şahsa ait nümunelerin ekim ve pasajlarında total olarak 187 adet embriyonlu yumurta kullanıldı. 71 adedi (% 38), yedi günlük en-kübasyon periyodu esnasında öldüler. Ölümün yarısından fazlası ilk iki gün içinde vukubuldu (birinci gün 23, ikinci gün 23 ölüm). Üçüncü günden itibaren ölüm adedi azaldı (üçüncü gün 15, 4. ve 5. günler üçer, 6. ve 7. günler ikişer ölüm).

Pasajlar ilerledikçe ölüm nispetinde bir azalma müşahede edildi. Ölüm nisbeti birinci pasajda % 47, ikinci pasajda % 43, üçüncü pasajda % 34 ve dördüncü pasajda % 23 idi.

Her üç virus suşu arasında, embriyonu öldürme hususiyeti bakımından belirli bir ayrılık yoktu.

Doku kültürlerine ekimde :

Her üç numunenin ekiildiği doku kültürlerinde ikinci günden itibaren bazı dejeneresans görülmeye başladı. Bütün sahada yaygın olarak hücreler yuvarlaklaştılar. Ölü hücre grupları büyüdü ve hücre tabakası parçalandı. Ekilmeden bırakılmış kontrol tüperinde hücre tabakasının normal kalması ile ekilmiş tüplerde virus üremesi teyid edilmiş olmakla beraber bu bulguyu daha katî olarak doğrulamak için virus üreyen tüplerin vasatından tavuk embriyolarına pasajlar yapıldı ve bu embriyoların mayi ve zarlarında yukarıda anlatılmış olduğu şekilde muhtelif testlerle virus mevcudiyeti arandı.

Tęşhis ve idantifikasyon tecrübelerinden alınan neticeler :

Birinci vak'adan alınan iki nümuneden (I a ve I b) iki ayrı yumurta pasajı serisi yapıldı. Birinci nümuneden yapılan ilk üç pasajdan alınan amniyotik ve allantoik mayilerde yapılan H. A. testleri menfi netice verdi ve ancak 4. pasajda amniyotik mayilerden müsbet netice alındı. Buna mukabil, amniyo-allantoik mayi ve zarlardan hazırlanan antijenlerle yapılan C. F. testi üçüncü pasajda müsbet olmuştu. Aynı vak'adan alınan ikinci nümunedeki ise 2. pasajdan itibaren H. A. ve CF testlerinden müsbet netice alındı. Doku kültüründen tavuk embriyonuna yapılan pasajlarda H. A. ikinci, CF dördüncü pasajdan itibaren müsbet bulundu.

Yapılan bütün C.F. testlerinde, antijen olarak kullanılan amniyotik zar süspansiyonlarının amniyo-allantoik mayilere nazaran daha kuvvetli bir antijenik hassaya malik oldukları görüldü.

Bütün kontrollerin menfi reaksiyon verdiği CF testlerinde müsbet kabakulak serumu ile alınan müsbet neticeler, nümunenin ekildiği tavuk embriyonlarında kabakulak virusunun ürediğini teyid ediyordu.

H. A. testi ile virus mevcudiyeti tesbit edilen amniyotik mayiler müsbet kabakulak serumu ve menfi serum ile karşılaştırılmak üzere HAI testi-ne tâbi tutuldular. Non-spesifik inhibitörleri bertaraf edilmiş müsbet serumla —menfi serumun aksine olarak— bu virusların yaptıkları hemag-lütinasyonun inhibe olduğu görüldü. Bu suretle amniyotik mayilerin yaptığı hemag-lütinasyonun kabakulak virusuna ait olduğu teyid edilmiş oldu.

Birinci vak'adan izole ve idantifiye edilen bu kabakulak virusu suşu (Suş No. : 1), amniyotik mayi içinde ve eşit hacimde steril, yağı alınmış sütle karıştırılmış olarak -18°C de muhafaza edildi. Bir ay sonra suştan (I a nın 5. ve I b nin 4. pasajı) tavuk embriyonuna bir pasaj yapıldı. Bu embriyoların koriyo-allantoik zarlarından yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan solübl antijenle yapılan CF testlerinin müsbet neticeleri, muhafaza edilen kabakulak virusunun enfektif özelliğini devam ettirmekte olduğunu gösterdi.

İkinci vak'adan alınan nümunedeki yapılan tavuk embriyonu pasajlarında CF testinde ikinci, HA testinde üçüncü pasajdan itibaren müsbet netice alındı. Doku kültüründen tavuk embriyonuna yapılan pasajda ise HA birinci, CF ikinci pasajda müsbet oldu. İzole edilmiş olan bu (Suş No. : 2) kabakulak virusu suşunun da idantifikasyonu, HAI ve CF testlerinde müsbet ve menfi kabakulak serumları ile karşılaştırılmak suretiyle yapıldı ve aynı şekilde sütle karıştırılmış amniyotik mayi içinde —18°C de muhafaza edildi. Bir ay sonra bundan yapılan tavuk embriyonu pasajında (4. pasaj) virusun mevcudiyeti CF testi ile tesbit edildi.

Üçüncü vak'adan alınan numunede ise daha ilk pasajda amniyotik mayide HA müsbet olduğu halde CF ancak ikinci pasajda müsbet netice verdi. İzole edilen virus süşunun (Süş No. 3) idantifikasyonu, yine standart müsbet ve menfi serumlarla HAI ve CF testlerine tâbi tutulmak suretiyle yapıldı. Bir ay sütle karışık amniyotik mayi içinde ve —18°C de muhafaza edilen virusun, bu müddet sonunda yapılan yumurta pasajı ile, enfektivitesini muhafaza etmekte olduğu tesbit edildi.

Üçüncü vak'adan alınan konvalesan serumunun, standard kabakulak S ve V antijenleri ile karşılaştırıldığı HAI ve CF testlerinde yüksek titrede (HAI de 1/40 ; CF de 1/256) kabakulak antikoru ihtiva ettiği görüldü. Bilâhare bu serum, izole edilen her üç virusun idantifikasyon tecrübelerinde —standard müsbet serumla kontrollu olarak— kullanıldı.

Netice ve Münakaşa

Kabakulak virus izolasyonu mevzuunda yaptığımız bütün bu çalışmalardan şu neticelere vardık :

Kabakulak vak'alarında hastalığın ilk günü alınan tükürük numunelerinden hemen daima virus izolasyonu mümkün olmaktadır. Aynı hastadan arka arkaya alınan iki numuneden biri virus bakımından daha zengin olabilmektedir. Numuneler buyyon içine alınıp ekim zamanına kadar —18°C de muhafaza edildiği takdirde virus canlı kalmaktadır.

Tavuk embriyonuna ekimde, 7 günlük enkübasyon devrinde embriyoların 30 - 40 mm olduğu hesaba katılarak her numuneden en az 8 yumurtaya ekim yapılmalıdır.

Ekilen embriyoların mayi ve zarlarında yapılan HA ve CF testlerinin neticelerinden emin olmak için her numunenin tetkiki en az üç pasaj ile idame edilmelidir. Zira her numune için, müsbet netice alınan pasaj seviyesi değişmektedir. HA ve CF testlerinden alınan müsbet neticeler arasında bir münasebet tesbit edilememiştir.

Amniyotik mayilerin müsbet HA verdikleri hallerde dahi, allantoik mayilerde yapılan HA testi bütün pasajlarda (5 pasaj yapıldı) menfi bulunmuştur.

Numunenin doku kültürüne ekim suretiyle tetkikinde netice daha çabuk alınmaktadır. Ancak, doku kültürü besi vasatında kabakulak virusu mevcudiyetini HA testi ile göstermek mümkün olmadığından (2), sıradan tavuk embriyonuna pasaj ve embriyo mayilerinde HA ve CF testleri yapmak suretiyle müsbet netice teyid edilebilmektedir.

Ekilen embriyoda virus ürediğini tesbit için yapılan CF testinde antijen olarak kullanılan amniyotik zar süspansiyonu amniyotik ve allantoik mayilerden daha iyi netice vermektedir.

İzole edilen kabakulak virusu suşları enfekte amniyotik mayi ile eşit hacimde karıştırılmış steril, yağı alınmış sütte ve -18°C de iyi muhafaza edilebilmektedir. Bu viruslarla hazırlanan solübl antijenler epidemiyolojik gaye ile yapılan CF testlerinde muvaffakiyetle kullanılabilir.

HÜLASA :

Üç kabakulak vak'asından hastalığın ilk gününden alınan tükürük nümunelerinden tavuk embriyonuna ve HeLa hücresi doku kültürlerine ekim suretiyle üç kabakulak virusu suşu izole edildi ve virus mevcudiyeti HA testi ile tesbit edildi.

Bu virusların, HAI ve CF testlerinde standart müsbet kabakulak serumu ile karşılaştırılmak suretiyle idantifikasyonları yapıldı.

Vak'alardan birinden alınan konvalesan serumda yapılan HAI ve CF testleri kabakulak antikoru mevcudiyetini gösterdi.

İzole edilen viruslar enfekte emniyotik mayi ve yağı alınmış steril süt içinde -18°C de muhafaza edilmektedir. Bunların, ilk bir ay içinde enfektif vasıflarını muhafaza ettikleri yapılan pasajlarla tesbit edilmiştir.

Bu üç virusun ekildiği embriyoların koriyo-allantoik zarlarından hazırlanan solübl kabakulak antijeni, epidemiyolojik gaye ile yapılan CF testlerinde muvaffakiyetle kullanılmıştır.

LİTERATÜR

- 1 — Plevnefioglu, Prof. Dr. Kemal Hüseyin : Culture of Mumps Virus On Chicken Embryo and Some Experiments On the Etiology of Mumps. Acta Medica Turcica, 1948 Vol. I, No: 1, P. : 39.
Kabakulak Virusunun Tavuk Embriyonu Üzerinde Kültürü ve Kabakulak Etyolojisi Hakkında Birkaç Tecrübe Ank., Üni., Tıp Fak. Mec. Cilt I., Sayfa 100.
- 2 — Enders, John F., Ph. D. : Mumps. Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Diseases 1956, Second Edition, P. : 281.
- 3 — Beveridge, W. I. B., and Burnet, F. M. : Cultivation of Viruses and Rickettsiae in the Chick Embryo, 1946, P. : 59

THREE NEW ISOLATES OF MUMPS VIRUS

Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Reflk Saydam Central Institute of Hygiene, Department of Virology

Summary :

Three viruses of mumps have been isolated from the saliva of three cases with parotitis on the first day of the disease. The cultures were made on chick embryos and HeLa cell tissue cultures.

The death rate after amniotic inoculation of 7-day embryos was about 47 % at the first passage but it has lessened gradually in further passages (43 % at the second, 34 % at the third and 23 % at the fourth passage).

There was no relation between the death rates of embryos inoculated with the three isolates of mumps virus.

HeLa cell tissue cultures were found very satisfactory for rapid isolation of mumps virus. The cytopathic changes induced by the mumps virus was observed on the second day of inoculation. The confirmation of the presence of mumps virus was made by carrying out passages from tissue culture to chick embryo.

The presence of mumps virus in the amniotic fluids was demonstrated by H. A. test. No positive result could be obtained with allantoic fluids in five passages even when amniotic fluid of the same embryo showed hemagglutinins in H. A. tests.

The isolated viruses were subjected to H. A. I and C. F. tests for identification and the results obtained have confirmed the presence of the mumps virus.

The serum taken from one of the three cases 19 days after the onset of the disease has showed compleman fixing antibodies and anti-hemagglutinins in C. F. and H. A. I. tests carried out using standard S and J antigens.

These three isolates of mumps virus were preserved by addition of an equal volume of sterile defatted milk and have been kept at -18°C . Their infectivity has been showed by new passages on chick embryos after one month of preservation.

The soluble antigens prepared from the chorio-allantoic membranes of the embryos inoculated with these isolates are being used in C. F. tests carrying out on normal human sera for epidemiological purpose.

Presented at the IX. Biannual Meeting of The Turkish Microbiological Association in Istanbul.

NORMAL ŞAHISLARIN SERUMLARINDA KABAKULAK ANTİKORU ARAŞTIRMASI

Dr. Elhan ÖZLUARDA

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Viroloji Şubesi

Müdür : Prof. Dr. Zühdî BERKE

Memleketimizde Kabakulak morbiditesi hakkında bir fikir edinmek üzere, 1960 Nisan ve Mayıs aylarında 29 muhtelif vilâyet ve kazadan Enstitüye Wassermann tetkikine gönderilmiş olan 361 adet şahıs serumunda kompleman birleşmesi testi ile, kabakulak antikoru araştırdık.

Aldığımız neticeleri burada kısaca anlatmak istiyoruz :

MATERYEL VE METOD

Gönderilen serumların alındığı şahısların yaşları ve cinsiyeti hususunda bir not verilmemiş olmakla beraber, Wassermann tetkikine gelen serumlar umumiyetle yetişkinlerden alınmış olduklarından, bulduğumuz neticeleri buna göre mülâhaza edeceğiz. Heride yapacağımız daha etraflı araştırmalara bu çalışma bir başamak teşkil edecektir.

Kompleman Birleşmesi testine tâbi tutulacak olan bu serumlar 1/8 dilüsyonda inaktive edilerek 1/8, 1/16 ve 1/32 olmak üzere üç dilüsyonda tetkik edilmişlerdir.

Testte kullanılan kabakulak solübl antijeni, tarafımızdan izole edilmiş kabakulak viruslarının üretildiği tavuk embriyonlarının koriyo-allantoik zarlarından hazırlanmıştır.

Testte kullanılan bütün reagentlerin sulandırılmaları 0,8,6 Na Cl ve 0,01 Mg SO₄ (10) ile yapılmıştır.

Serum sulandırılmaları, p.âstik tablaların godelerinde ve otomatik pipetlerle, 0,1 cc. içinde hazırlandıktan sonra üzerlerine yine 0,1 cc. titresinde sulandırılmış kabakulak solübl antijeni ve 0,1 cc. kompleman ilâ-

IX. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

ve edilmiş ve bir gece + 4°C de fiksasyona bırakılmıştır. Ertesi gün oda hararetine ısıtılan plâklara 0,2 cc. sistem tevzi edilmiş ve yarım saat 37°C de, okumayı kolaylaştırmak için de bir müddet buzlukta bekletildikten sonra neticeler okunmuştur.

Neticeler ve Münakaşa :

Tetkik edilen 361 adet serumun 171 inde (% 47,4) kabakulak antikoru tesbit edilmiş, 190 adedi menfi bulunmuştur (% 52,6). Müsbet serumlardaki antikor titreleri aşağıdaki cetvelde gösterilmiştir :

Tablo : 1 — Normal Şahıs Serumlarında Kabakulak Antikoru Titreleri

Tetkik edilen Serum adedi	Menfi adedi	Müsbet adedi ve titreleri								Müsbet Yekûn	
		1/8 den az		1/8		1/16		1/32			
361	190 % 52,6	45	% 12,5	86	% 23,8	25	% 6,9	15	% 4,2	171	% 47,6

% 52,6 olarak bulunan menfi nispeti kabakulak enfeksiyonuna pek sık rastlanan memleketimiz için yüksek görünmektedir. Bunda, tecrübelerimizde yalnız S antijeni kullanımımızın ve yetişkinlerde kabakulak antikoru seviyesini yükselten yeni vak'alara maruziyetin bazı bölgelerde az oluşunun rolü olsa gerektir. Bu menfi reaktör nispetine, hastalığı geçir-memiş olanlardan başka antikor seviyesi çok düşmüş olanların da dahil olması kuvvetle muhtemeldir.

Kabakulakta bağışıklık mevzuunda çalışan bazı müellifler (1) (2), kabakulak geçirilmiş olan yetişkinlerin % 20 - 30 unun serumlarının menfi reaksiyon verdiklerini görmüşlerdir. Bunu, S antijenine karşı meydana gelen antikorumun V antijenine karşı hasıl olanlardan daha çabuk kaybolmuş olması ile izah etmektedirler. Epidemiyolojik araştırmalarda her iki antijenin kullanılması daha doğru bir neticeye varmayı temin edecektir.

Buna mukabil, kabakulak antijeni ile müsbet reaksiyon veren antikoru muhakkak geçirilmiş klinik veya subklinik bir kabakulak enfeksiyonunu gösterir. Zira tipik kabakulak vak'alarında kompleman birleş-tiren antikorumun teşekkül etmediği görülmemiştir. Saniyen, kabakulak şuş-larında antijenik bir fark da tesbit edilmemiştir (1) (2).

Tetkik ettiğimiz serumlar Karadeniz bölgesi, Orta ve Kuzeybatı Anadolu bölgelerinden gönderilmişlerdi. Karadeniz ve Kuzeybatı Anadolu bölgelerine ait olanlarda Orta Anadolu'ya nispetle daha fazla müsbet reaksiyona tesadüf edilmiştir.

Heride daha fazla serum üzerinde S ve V antijeni ile ve yaşları da nazarı itibare alarak yapacağımız araştırmalara bu küçük çalışma bir basamak teşkil etmiştir.

Hülâsa :

1960 yılı Nisan ve Mayıs aylarında temin edilen 361 adet normal yetişkin, insan serumunda, tarafımızdan izole edilen viruslarla hazırlanmış antijenle karşılaştırmak suretiyle kompleman birleşmesi testi yapılmış ve 171 inde (% 47,4) kabakulak antikoru tesbit edilmiştir. Menfi reaktör nisbetinin yüksek bulunuşu, testte yalnız S antijeni kullanılmış olması ve S antikoruvarının V antikoruvarından daha çabuk kaybolması keyfiyeti ile izah edilmiştir.

A STUDY ON THE ANTIBODIES OF MUMPS IN NORMAL HUMAN SERA IN TURKEY

Dr. Ethan ÖZLÜARDA

Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Department of Virology

Of 361 normal human sera obtained from the different parts of Turkey, 170 gave positive results in Complement Fixation tests carried out using S antigen prepared from the chorio-allantoic membranes of chick embryos infected with the newly isolated mumps virus.

This study is only a stage for our further investigations will be made on a large number of human sera and with both S and V antigens.

LITERATURE

- 1 — Elizabeth P. Marie, M. D., John F. Enders, Ph. D., Joseph Stokes, Jr., M. D., and Lewis W. Kane, M. D. : Immunity in Mumps IV. The Correlation of the Presence of Complement - Fixing Antibody and Resistance to Mumps in Human Beings. *J. Exper. Med.* 84 : 323 - 339, 1946.
- 2 — Gertrude Henle, Werner Henle, Jane S. Burgoon, Winslow J. Bashe Jr. and Joseph Stokes, Jr. : Studies on the Prevention of Mumps. I. The Determination of Susceptibility *J. Immunol.*, 66 : 535 - 549, 1951
- 3 — John F. Enders, Ph. D. and Karl Habel, M. D. : Mumps. *Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Diseases.* 1956, 281 - 312.

Presented at The IX. Biannual Meeting of The Turkish Microbiological Association in Istanbul.

MAYI DİFTERİ ANATOKSİNİ KUDRET DENEYLERİNDE İMMUNİZASYONUN İKİ ZERK İLE YAPILMASININ ÜSTÜNLÜĞÜ

Nusret H. FİŞEK [1] ve Şerafet ERTUĞRUL
Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

Difteri anatoksini kudret deneylerinde kobayların bir zerk ile mi yoksa iki zerk ile mi muaf kılınmalarının daha iyi netice vereceği münakaşalı bir mevzuudur. Holt (1) bir zerk ile muafiyet vermenin iyi netice verdiği ve iki zerke lüzum olmadığı kanaatındadır. Barr (2) ise iki zerkin lehindedir. Lâboratuvarımızda yaptığımız deneylerde (3) adsorbe aşlar için iki defa zerkin daha iyi netice vereceğine dair bir delil elde edemedik. Bununla beraber mayı difteri anatoksini gibi zaif antijenlerde iki zerkin çok daha iyi netice verdiği ve bu sebeple tercih edilmesi gerektiğine dair müşahedelerimiz vardır. Bu yazıda bu hususa dair topladığımız neticeler bildirilmiştir.

Metod ve materyal : Deneylerde kullanılan difteri anatoksini Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü tarafından imâl edilen tasfiye edilmemiş difteri anatoksindir. Kobaylar ırk bakımından homojen değildir, ağırlıkları 270 - 320 gram arasındadır.

Bir zerk usulü : Kobaylar anatoksinin muhtelif dilüsyonları ile alt altına zerk yaparak immünize edilmiştir. İmmünizasyondan bir ay onra 20 M. LD difteri toksini zerkedilmiştir.

İki zerk usulü : Kobaylara difteri anatoksinin muhtelif dilüsyonları zerk edilmiş ve üç hafta sonra aynı kobaylara aynı doz bir daha zerkedilmiştir. Bu kobaylara 12 - 15 gün sonra 20 M.L.D. difteri toksini zerkedilmiştir. Hayvanlar 5 gün müşahede altında tutulmuştur.

(1) Şimdiki adresi «Hıfzıssıhha okulu, Ankara» dir.

Neticeler : Bir zerk ile yapılan 6 kudret deneyinin sonuçları Tablo 1. de iki zerkle yapılan altı deneyin sonuçları da Tablo. II de görülmektedir.

Münakaşa : Kobaylara bir defa anatoksin zerki ile onları muaf kılma suretiyle yapılan üç deneyde 588 ve 548 sayılı difteri anatoksinlerinin LD₅₀ kıymetleri arasındaki nisbet 1.0, 1.0 ve 1.7 bulunmuştur. Bunların ortalaması 1.3 dür. 667 ve 673 sayılı difteri anatoksinleri ile yapılan deneylerde ise nisbet 1.0, 1.5 ve 1.7 dir. Bunların ortalaması 1.4 dür. Demek oluyor ki bir zerk ile kobaylar muaf kılındığı zaman aşuların izafi kudreti birbirinden % 46 farkedebilmektedir. Bir zerk usulünün ikinci bir mahzuru da muhtelif deneylerde kobayların muaf kılınabilmeleri arasında müşahede edilen büyük farklardır. Meselâ 1.ci deneyde 0.1 cc anatoksin hayvanların hepsini korumuş ise de ikinci deneyde aynı doz hayvanların % 61 ini ve üçüncü deneyde % 21 ini muaf kılabilmiştir. Bu varyasyon sebebi ile deneyler bir zerkle yapılırsa % 50 noktanın tecrübenin hudutları içine düşebilmesi için anatoksinin 4 - 5 dilüsyonu ile çalışmak icabeder. Kobayları iki zerkle muaf kılma usulü kullanılırsa gerek anatoksinlerin izafi kudretlerinde ve gerekse hayvanların muaf kılınabilmelerinde müşahede edilen varyasyon azalmaktadır. Filhakika 667 ve 673 üncü serilerin LD₅₀ kıymetleri arasındaki nisbetin ortalaması 1.7 dir ve altı deneyden üçünde bu kıymet 1.7 veya 1.8 dir. Ortalamada mühim fark gösteren deneylerde bu fark % 17 den büyük değildir. Hayvanların muaf kılınabilmelerine gelince beş deneyde 0.06 cc anatoksin ile muaf kılınan hayvanlarda ölüm nisbeti % 33 ile 53 arasındadır. Bu netice gösteriyor ki bu usulde muaf kılınabilme varyasyonu da tek doza nazaran çok küçüktür. Bunun pratik önemi az kobay kullanılmasına rağmen LD₅₀ değerlerinin tecrübe hudutları içine düşmesi imkânının sağlanmış olmasıdır.

Hülâsa : Mayi difteri anatoksini kudret deneylerinde bir zerk ve iki zerk usullerinin değerleri tetkik edilmiş ve kobaylar iki zerkle muaf kılınırlarsa izafi kudret ve muaf kılınabilme ve varyasyonlarının azaldığı müşahede edilmiştir.

Mehezler :

1. Holt, L. E., Proceedings of the First European Meeting of Biological Standardization.
2. Barr, M. Proceedings of the First European Meeting of Biological Standardization.

3. Akyay N. and Fişek, N. H. Türk İjiyen ve Tec. Bio. Der XVII, 76, 1957.
4. Reed. L. J., and H. Muench, Am. J. Hyg. 27, 493 (1938)
5. Finney, D. J. — Statistical Methods in Biological Assays — Charles Griffin and co. Ltd. 1952.

TABLO 1

Bir zerk ile muaf kılınan kobaylarla alınan sonuçlar

Denej No.	Kobay Sayısı				LD ₅₀	
	Ölen/Total				cc.	Nisbet
	Dilüsyon faktörü	4	10	25	62	
1	Seri no. 588	1/20	0/20	2/20	17/20	0.125 1.9
	Seri no. 548	3/19	1/16	2/17	9/18	0.066
	Dilüsyon faktörü	6	8	15	20	38 50
2	Seri no. 588	3/14		7/15	11/13	0.067
	Seri no. 548		4/14	7/12	11/12	0.067 1.0
	Dilüsyon faktörü	4	12	36	48	
3	Seri no. 588	7/18	17/19	18/18	19/19	0.105 1.0
	Seri no. 548	6/19	18/20	18/19	19/19	0.100
	Dilüsyon faktörü	3	12			
4	Seri no. 667	12/17	20/20			0.425 1.0
	Seri no. 673	13/20	20/20			0.425
	Dilüsyon faktörü	3	12			
5	Seri no. 667	3/19	13/19			0.138 1.5
	Seri no. 673	1/20	11/19			0.091
	Dilüsyon faktörü	3	12			
6	Seri no. 667	5/20	14/20			0.158 1.7
	Seri no. 673	1/19	10/18			0.090

FABLO II

İki zerk ile muaf kılınan kobaylarda alınan neticeler

Deney no.	Seri no.	Dilüsyon faktörelri (kobay sayısı) ölen/Yekûn										LD ₅₀ cc	Nisbet
		8	6	8	12	16	24	32	48	64			
1	667	0/19	1/20		2/20		5/19		14/18		0.022	2.0	
	673	0/20	0/19		1/17		2/18		7/16		0.011		
2	667	0/19	4/20		9/20		12/19		14/18		0.063	1.7	
	673	1/20	0/19		4/18		9/18		12/19		0.037		
3	667			5/19		13/19		15/20		17/20	0.075	1.8	
	673			1/19		7/20		12/20		18/20	0.041		
4	667			7/20		10/20		15/19		19/20	0.067	1.8	
	673			2/19		5/19		11/20		17/20	0.037		
5	667			1/17		9/19		14/18		14/19	0.047	1.4	
	673			2/17		5/13		10/19		13/18	0.034		
6	667			7/20		10/19		16/20		18/20	0.059	1.7	
	673			3/19		9/19		8/20		14/19	0.035		

POTENCY TESTS for FLUID DIPHTHERIA TOXOIDS

Nusret H. FIŞEK (1) and S. ERTUĞRUL

Refik Saydam Central Institute of Hygiene — Ankara

We observe in our laboratory quite a large variation in potency tests for fluid diphtheria toxoids when guinea - pigs are immunized with single injection of toxoid. We tested two injection method and observed that the variation becomes less important if guinea - pigs are immunized with two injection of toxoid. Our results are presented in this paper.

Method and material : Toxoids are crude fluid diphtheria toxoid manufactured by the Refik Saydam Central Institute of Hygiene.

Guinea - pigs are not homogeneous racially. They weigh between 270 and 320 grams.

One injection method: Guinea - pigs are injected with the different dilutions of toxoids subcutaneously. They are challenged one month later with 20 M.L.D of diphtheria toxin.

Two injection method: The guinea - pigs are injected with the different dilutions of diphtheria toxoid twice. The interval between injections is 3 weeks and two immunizing doses of toxoid is the same. They are challenged 12 - 15 days later with 20 M.L.D of diphteria toxin. Animals are observed for 5 days.

LD₅₀'s are computed with Reed and Muench method (4) with the exception of exp. 3, 4, 5 and 6 in Table 1 and exp. 1 in Table II, in which probit analysis method (5) on graph paper are used.

Results : The results of one injection method are given in Table I. and the results of two injection method are given in Table II.

Discussion : The ratios between LD₅₀ values of two batches of diphtheria toxoid, ie. batch nos. 588 and 548 are 1.9, 1.0 and 1.0 with an

(1) Present address : School of Hygiene, Ankara.

average of 1.3 when guinea - pigs are immunized with single injection of the diphtheria toxoid and the ratios for batch nos. 667 and 673 are 1.0, 1.5 and 1.7 with an average of 1.4. So deviation from the mean may be as high as 46 percent as it is in experiment «1». Another disadvantage of single injection method is the large variation in the immunizability of guinea - pigs from one experiment to another. For instance, in the first of our experiment 0.1 ml. toxoid immunized 100 percent of the guinea - pigs. In the second experiment the same dose protected 65 percent of the guinea - pigs and in the third experiment 21 percent. This variation makes necessary to use too many dilutions in order to be sure that 50 percent end point will be within experimental limits.

In case of immunization with two doses variation in the relative potencies and in the immunizability of guinea - pigs are less pronounced than single dose method. Infact, the average ratio between L.D.₅₀ values of batches 667 and 673 is 1.7 and results are 1.7 or 1.8, in four experiments out of six, when guinea - pigs are immunized with two doses of toxoid. The relative potencies in two extreme cases differ only 17 percent from the average. The variation in the death rates near to 50 percent end point vary between 33 and 53 percent. This is quite small when it is compared with the results of single dose method. It has a great practical importance because it is possible to work with two or three different dilutions of toxoid and save quite a few guinea - pigs.

The necessity of injecting two doses of toxoid in order to immunize guinea - pigs with diphtheria toxoid is controversial (1,2). We do not have evidence for the necessity of two injections when adsorbed toxoid is tested (3), but we think that it is essential when poor antigens such as fluid diphtheria toxoid is standardized.

Summary : The efficiency of single - dose method and two dose method for the estimation of potency of fluid diphtheria toxoids has been investigated. It has been observed that the variation in immunizability of guinea - pigs and variation in relative potencies of toxoids are lessened if guinea - pigs are immunized injecting toxoids twice.

References :

1. Holt, L. B. Proceedings of the First European Meeting of Biological Standardization.

2. Barr, M. Proceedings of the First European Meeting of Biological Standardization.
3. Akyay N. and Fişek, N. H. Türk İjiyen ve Tecrübf Bio. Der., XVII, 76, 1957.
4. Reed, L. J., and H. Muench, Am. J. Hyg., 27, 493 (1938).
5. Finney, D. J.,— Statistical Methods in Biological Assays - Charles Griffin and co. Ltd. 1952.

TABLE 1

**The results of Diphtheria Toxoid Potency Tests on Guinea - pigs
Immunized with One Injection**

Exp. No.	No of Guinea - pigs				LD ₅₀ Ratio		
	Died/Total				ml.		
	Dilution factor	4	10	25	62		
1	Batch No. 588	1/20	0/20	2/20	17/20	0.125	1.9
	Batch No. 548	3/19	1/16	2/17	9/18	0.066	
	Dilution factor	6	8	15	20	38	50
2	Batch No. 588	3/14		7/15	11/13		0.067 1.0
	Batch No. 548		4/14	7/12		11/12	0.067
	Dilution factor	4	12	36	48		
3	Batch No. 588	7/18	17/19	18/18	19/19	0.105	1.0
	Batch No. 548	6/19	18/20	18/19	19/19	0.100	
	Dilution factor	3	12				
4	Batch No. 667	12/17	20/20			0.425	1.0
	Batch No. 673	13/20	20/20			0.425	
	Dilution factor	3	12				
5	Batch No. 667	3/19	13/19			0.138	1.5
	Batch No. 673	1/20	11/19			0.091	
	Dilution factor	3	12				
6	Batch No. 667	5/20	14/20			0.158	1.7
	Batch No. 673	1/19	10/18			0.090	

TABLE II
The results of Diphteria Toxoid Potency Tests on Guinea - pigs.
Inmunized with two Injections

Exp. Nos.	Batch Nos.	Dilution factors											LD ₅₀ cc	Ratio		
		3	6	8	12	16	24	32	48	64						
1	667	0/19	1/20		2/20		5/19								0.022	2.0
	673	0/20	0/19		1/17		2/18					14/18	7/16		0.011	
2	667	0/19	4/20		9/20		12/19								0.063	1.7
	673	1/20	0/19		4/18		9/18					14/18	12/19		0.037	
3	667			5/19		13/19		15/20						17/20	0.075	1.8
	673			1/19		7/20		12/20					18/20	0.041		
4	667			7/20		10/20		15/19						19/20	0.087	1.8
	673			2/19		5/19		11/20					17/20	0.037		
5	667			1/17		9/19		14/18					14/19	0.047	1.4	
	673			2/17		5/13		10/19				13/18	0.034			
6	667			7/20		10/19		16/20					18/20	0.059	1.7	
	673			3/19		9/19		8/20				14/19	0.035			

**MEMLEKETİMİZDE İLK DEFA TESBİT OLUNAN SHİGELLA
BOYDII TIP II (P 288) VAK'ASI**

Dr. Tahsîn BERKİN
Bakteriyoloji Şb. Müdürü

Bakteriyolog Necmettin ALKİŞ
M.V. Bakteriyoloji Şb. Mütchassısı

Antakyaya yaptığı kısa bir seyahatin hemen akabinde şiddetli is-
halden müşteki olarak Enstitümüze müracaat eden ecebi bayan (S.S.)
ın (Prot. no: 149) gaitasının tetkikinde :

Gaita tamamen amorf ve su kıvamını almıştı. Kanlı cerahatlı mü-
koz parçalar mevcuttu.

Mezkûr gaitadan yaptığımız direkt ve teksif usulü ile parazit ara-
mada parazit, parazit yumurtası, amip, kist görülmedi.

Kültür muayenesi : Salmonella ve Shigella intanları düşünülerek;
Müller- Kauffmann'ın Tetrathionatlı besi yerine, SS. Mac Conkey, En-
do ve Wilson- Blair vasatlarına yaptığımız ekimlerde; Tetrathionatlı
buyyonda üreme olmadı. Wilson- Blair de yeşilimsi koloniler yaptı. SS.,
Mc Conkey ve Endo üretim yerlerinde şeffaf, hafif kabarık, yüzeyi düz
takriben 1-2 mm. çapında laktöz menfi koloniler teşkil etti. Bu ko-
lonilerden yaptığımız Preparatlarda gram menfi ve şiddetli moleküler
hareketi olan bakteriler görüldü. Tek koloniden buyyona ve yatık je-
loza pasajlar yaparak biyosimisini inceledik. 24 saat sonra buyyonu ho-
mojen bulandırdı.

Biyosimisinin tetkikinde :

Glucose	+	Sorbitol	-
Laktose	-	Arabinose	+
Maltose	-	Rhamnose	-
Sallein	-	Indol	-
Mannitol	+	H ₂ S	-
Adonito 1	-	YP	-
Dulcitol	-	MR	+
Ure	-		

bulundu. Bu hali ile Shigella Boydii tip II yi tutmakta idi.

Central Public Health Laboratory (+) den aldığımız absorban tip serumlarla yaptığımız lam aglutinasyonlarında Shigella Boydu tip II (P 288) ile çok kuvvetli aglutinasyon verdi.

Dilüsyon metodu ile yaptığımız antibiotik hassasiyet testinde Terramycin e (I cc. de 10 gama) ve Erythromycin e (I cc. de 5 gama) hassas bulundu.

Memleketimizde ilk defa izole edilen Shigella Boydu II vak'ası olmasından ötürü neşretmeyi faydalı bulduk.

Zusammenfassung

Wir haben von einem Stuhlgang proben Shigella Boydu typ II (P 288) isolieren. Diese ist erste Shigella Boydu II fall in der Turkei.

LITERATÜR

1 — Hallmann, Lothar : Bakteriologie und Serologie 1955

MUELLER VASATI İLE GENİŞ ÖLÇÜDE, YÜKSEK ÜNİTELİ TETANOZ TOKSİNİ, TETANOZ SERUMU VE AŞISI PRODÜKSİYONU

Vet. Bakt. Turgut TULGA

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

İmmünoloji Şubesi Şefi

Bakteri toksinlerini invivo nötralize edebilecek ajanlar bulununca-ya kadar toksin zerkleriyle hiperimmünize edilmiş hayvanlardan elde edilener spesifik antitoksinler (antitoksik serumlar) terapi ve profilaksideki önemli yerlerini muhafaza etmeye devam edeceklerdir.

Nüfusu fazla olan her sene büyük artış gösteren memleketlerde toksin aşlarıyla (anatoksinler) her kesi aşlamak mümkün olamamaktadır. Tetanoz her yaşın hastalığı olduğuna göre burada güçlüklerle karşılaşılacağı aşikârdır. Memleketimizde tetanoz anatoksin tatbikati, bilhassa karma aşı olarak her sene daha geniş bir sahayı içine almaktadır. Bunun yanında, daha çok profilaktik olarak tatbik edilmekte olan tetanoz serumu ihtiyacı da artan nüfusumuza paralel olarak çoğalmaktadır. Bu durum karşısında, tetanoz anatoksini ve antitoksini prodüksiyonumuzu günün ihtiyaçlarına ve dünya standartlarına göre ayarlamak mecburiyetini şiddetle his ettik.

Enstitümüzün sayın direktörü Dr. Niyazi Erzinin bu husustaki direktifleri ve yardımları bizi antijen değeri daha yüksek tetanoz toksini elde etme yollarını aramaya sevketti.

Geniş ölçüde prodüksiyon yapan lâboratuvarların karşılaştıkları başlıca güçlük, bazen aydınlatılması güç sebepler altında toksin vasfının bozulmasıdır. Bu arzu edilmeyen neticeler en ileri imkânlarla çalışan müesseselerde dâhi vaki olmaktadır. Bunun başlıca sebebi bakteri kimyası ve fizyolojisindeki bir çok problemin henüz çözülmemiş olmasıdır. Biyolojide çözülen bir problem çözülmesi gereken bir çok yeni problemlerin ortaya çıkmasına yol açıyor.

Tetanoz toksini prodüksiyonunda variabilite gösteren başlıca faktörler şunlardır :

1 — Peptondaki vaiabilite.

2 — Bakteri suşunun muhafazasındaki güçlükler ve buna bağlı olarak bakteri metabolizmasında husule gelen değişiklikler dolayısıyla kullanılmakta olan vasatın terkibine giren nutritif maddelerin yetersiz veya bazılarının lüzumsuz hale gelmesi.

3 — Kültür kaplarının ve bilinen, bilinmeyen daha bir çok faktörlerin standardize edilememesi.

Harvard Üniversitesi profesörlerinden J. H. Mueller ve arkadaşları geniş ölçüde prodüksiyonlara elverişli yüksek tetanoz toksini elde etme yollarını 1939 yılından itibaren aramaya başlamışlar ve bu amaçla clostridium tetaninin beslenme ve üremesi için optimal şart ve unsurları tespit etmeyi gaye edinmişlerdi. Aldıkları neticeleri 1943 yılında yayınlamaya başladılar. Araştırmalara Dr. N. H. Fişek te iştirâk etmiş vasata öküz kalbi adelesi enfüzyonunun ilâvesi lüzumlu görülerek vasat tekâmül ettirilmiştir. (Fişek N. H., Mueller J. H., Miller P. A., J. Bact. 1954, 67, 239 - 334).

Kesif bir çalışmayı ve ısrarlı bir takibi gerektiren bu araştırmalar esnasında ekteki Cl. tetani suşu passajla mutasyona uğrayarak vasata tamamiyle adapte olmuştur (Cl. tetani Harvard suşu).

Gerek antijenite, gerekse toksisite bakımından tetanoz toksininde rol oynayan faktörlerin çok variabl olması araştırmacı ile prodüksiyonunun ekseriya farklı neticeler almasına yol açmaktadır. Fülhakika, 20 cc. Mueller vasatı ihtiva eden tecrübe tüplerindeki Cl. tetani Harvard suşu kültürlerinden santimetre kübde 60 - 90 Lf. değerinde toksin elde etmek hemen her zaman mümkün olduğu halde, aynı vasat ve aynı suşa 2 - 4 litrelik kültür kaplarından ancak 15 - 60 Lf. değerinde toksin elde edilebildiği bu işle uğraşanlarca bilinen bir gerçektir.

Araştırmacı rehberliği çok önemli olmakla beraber prodüksiyoncu kendi imkân ve şartlarına göre bazı modifikasyonlar yapmak zorundadır. Biz de metod ve esaslar değişmemekle beraber, kültür kaplarının hacmi, sterilizasyon müddeti, kültürlerin enkubasyon müddetleri gibi bazı önemli faktörler üzerinde kendi prodüksiyon kapasitemize uygun olarak optimal şartları tayin ve tespite çalıştık.

Konumuz sadece tetanoz toksini ve bununla ilgili prodüksiyonlar olduğu için fazla teferrüata girişmeden, Enstitümüzde dolayısıyla yurdumuzda bu sahada ilk defa tatbik mevkiine konulmuş bulunan yenilik-

lerden ve elde etmiş bulunduğumuz çok memnuniyet verici neticelerden bahsedeceğiz.

Memleketimizde tatbikat sahası her gün biraz daha genişlemekte bulunan tetanoz aşısı 1956 yılındanberi bu metotla hazırlanmaktadır. Bu konuda tamamlayıcı bilgiyi ayrı bir yazımızda arzedeceğiz.

Mueller tetanoz kültür vasatıyla elde ettiğimiz antijen değeri yüksek toksinle serum prodüksiyonunda faydalanmamız bazı sebepler dolayısıyla ancak 1957 senesinin ikinci yarısından itibaren mümkün olabilmektedir.

MATERYEL VE METOD

Kullanılan suş ve muhafazası : Kullandığımız suş Cl tetani Harvard suşudur. Bu suşun % 1 glikozlu buyyondaki 24 saatlik kültürü santrifüze edilir. Her on santimetre küb kültürlerden elde edilmiş bulunan bakteri sedimenti % 5 tavşan eritrositi ihtiva eden yağsız steril sütün bir santimetre küb miktarıyla süspansiyon haline getirilir, ampullere dağıtılarak havasız şartlar altında kurutulur ve buzlukta saklanır.

Tohum kültürünün hazırlanması : Tohum kültürü vasatı % 1 glikozlu sığır eti buyyonudur. 20 X 2,5 cm. ölçüsündeki tüplere yüksek irtifada dağıtılır. 45 dakika serbest buharda rejenere edilen ve soğutulan tüplere kurutulmuş olarak saklanan suşdan ekilir. 24 saatlik enkubasyondan (34 - 35 santigrat) sonra birinci pasaj tüpünden ihtiyaca göre 10 - 12 tüpe ikinci pasaj yapılır.

İkinci pasajın 24 saatlik kültüründen bir litre vasata 10 santimetre küb hesabıyla ekim yapılır. Aynı şekilde tohum kültürünün müteakip operasyonlar için üçüncü ve dördüncü pasajlarına devam edilir. Her pasajda aerob ekimler yapılarak muhtemel kontaminasyonlar kontrol altına alınır.

Umumiyetle üçüncü pasajdan sonra suşun toksisite ve antijenisitesinde bîrız bir zayıflama müşahede edilmektedir. Böylece bir haftalık çalışma günü içinde 3 - 4 pasajlık tohum kültürü ile 120 - 160 litrelik kültür vasatının inokülasyonu mümkün olmaktadır.

Kültür vasatı : Mueller vasatıdır (Mueller J. H., Miller P.A., Füsek V.H., 1954) Bir litrelik vasatın orijinal terkibi şudur :

Peptone (N. Z. Case, pancreatic digest of casein)	22,5 gr.
Öküz kalbi adelesi enfüzyonu (1/1)	50 cc.

Gulcose	11 gr.
Na Cl	2,5 gr.
Na ₂ H P O ₄ 12 H ₂ O	2 gr.
K H ₂ P O ₄	0,15 gr.
Mg SO ₄ 7 H ₂ O	0,15 gr.
Cystine	0,25 gr.
Tyrosine	0,5 gr.
Ca. Pantothenate	1 mg.
Uracil	2,5 mg.
Thiamine	0,25 mg.
Riboflavine	0,25 mg.
Pyridoxine	0,25 mg.
Biotin	2,5 mikrog.
Mürci demir (reduced iron)	0,5 gr.
Distile su	1000 cc.
p H 7 - 7,2	

Vasatın terkbine giren pepton bu maksat için özel teknik şartlar altında pankreatik hazma tabi tutulmuş kazein preparatıdır. Amerika Birleşik Devletlerinde Sheffield firmasında (Sheffield Farms Company, Norwich, New York) hazırlanmaktadır. Ticari ismi N. Z. Case dir.

Vasatın terkbine giren diğer maddeleri Merck ve Fisher firmalarından temin etmekteyiz.

Kültür kapları : Beş litrelik Jena şişelerinden faydalanılmaktayız. Vasat şişelere dörder litre üzerinden tevzi edilmektedir.

Vasatın hazırlanması ve sterilizasyon: Otoklavımızın kapasitesini göz önünde bulundurarak kırk litrelik operasyonlarla çalışılmaktadır.

35 litre distile su 60 - 70 dereceye kadar ısıtılır. 900 gram N. Z. Case yavaş yavaş karıştırılarak eritilir. Yağlarından aykılanmış iki kilogram sığır kalbi kıyması iki litre distile su içinde hafif ateste kaynatılır, tülbenkten ve süzgeç kâğıdından filtre edildikten sonra vasata ilâve edilir. Glikoz ve tuz da konularak erimeleri temin edilir. Kırk litre üzerinden miktarları tespit edilmiş tampon madde ve vitaminler

ayrı şişeler içinde belirli hacimde distile suda eritilir. Cystine ve tyrosine gibi amino asitlerini eritmek için % 10 klor asidi solusyonu kullanılmaktadır. Uracil suda çok güç eridiği için eritici olarak amonyaktan istifade etmekteyiz. 100 miligram uracil için iki santimetre küb amonyak kâfi gelmektedir.

Hafif ateş üzerinde bulunan peptonlu su üzerine bütün bu maddeler (mürci demir hariç) orjinal formüldeki sıraya göre ilâve edilir. Distile su ile kırk litreye tamamlandıktan sonra sud kostik solusyonu ile pH 7 - 7,2 üzerinden ayarlanır. Pepton çok saf olduğu için pH ayarlamasından sonra her hangi bir çöküntü husule gelmemekte dolayısıyla flitrasiyona lüzum kalmamaktadır.

Beş litrelik 10 adet Jena şişesinin her birine 2 - 3 gram mürci demir konur, ve kırk litrelik vasat dörder litre üzerinden tevzi edilir. Ağzları pamuklanmış ve kâğıtlanmış şişeler serbest buharda yarım saat. 110 santigrad altında 40 - 45 dakika müddetle sterilize edilir. Otoklavın derecesi düşer düşmez, vasat henüz kaynama derecesinde iken şişeler dışarıya alınarak soğuk su havuzuna terkedilir. Yeteri kadar soğuyan şişelerin her birine 24 saatlik tohum kültüründen balonlu pastör pipeti ile 40 santimetre küb ekim yapılır. Tohum kültürünün serbestçe kendi kendine kültür kabının zeminine akmasına bilhassa dikkat etmek lâzımdır. Pipeti üflemeden muhakkak surette kaçınılmalıdır. Bu şekilde elime tâbi tutulan kültür kapları 34 - 35 derecelik etüv odalarında üremeye terkedilir. Enkubasyon müddeti 6 - 7 gündür. 24 saat sonra kaplarda gazlı bir üreme müşahede edilir. Genel olarak 48 saatten itibaren kültürler siyahlaşmaya başlar. Enkubasyonun beşinci veya altıncı günü otoliz aşikâr bir safhaya erişir. Enkubasyon müddeti sonunda her şişede sâfiyet kontrolü yapılır. Temiz olduğu anlaşılan şişelerdeki kültürler harman halinde klarifikasyon ve flitrasiyona tâbi tutulur. Kırk litrelik bir operasyondan ortalama 30 - 32 litre toksin elde etmekteyiz. Titrâjı yapılmak üzere toksinden nümune alınır. Toksin anatoksin imâl'inde kullanılacaksa formollenerak 35 derecelik etüvde bir ay müddetle terkedilir.

Serum hayvanlarının hiperimmünizasyonunda kullanılacak toksin toluol altında buzlukta muhafaza edilir.

Toksin titraji: Farelerde (17 - 20 gr.) standard serum karşısında (Dünya sağık teşkilâtının organı olan Kopenhag Devlet serum Enstitüsünden temin edilmektedir) toksinlerin 1/10 L + değerlerini ve yine aynı orijinli standard flokülân serum karşısında Lf ünitelerini tespit ediyoruz. Bu titrajlara paralel olarak kobay veya farelerde MLD tayinleri de yapmaktayız.

Serum titraji : Serumlarımız, standard serum karşısında 1/5 L + hududu standardize edilmiş test toksinle titre edilmektedir. Test toksinimiz 72 operasyon numaralı olup 1/5 L miktarı 0,00048 gramdır. Tayin ettiğimiz üniteler eski enternasyonal tetanoz antitoksin ünitesidir.

— SONUÇLAR —

Tetanoz toksini : Hazırladığımız tetanoz toksinlerin Lf değerleri santimetre kübde 15 - 45 Lf arasında değişmektedir. Buna paralel olarak toksinlerin 1/10 ünite standard antitoksin karşısındaki L + hudutları 150 - 400 1/10 L + arasında tespit ve tayin edilmektedir.

Sadece bir fikir edinmek için yaptığımız MLD titraajlarında toksinler genel olarak santimetre küb de 50,000 - 200,000 fare MLD si göstermektedirler. Bazı toksin operasyonları santimetre küb de 3 - 4 milyon kobay MLD si vermişlerdir.

Serumlarımızın üniteleri : Yukarda arz ettiğimiz metodla hazırladığımız tetanoz toksinleriyle 1958 senesindenberi hiperimmünimize ettiğimiz at ve öküzlerden elde edilen tetanoz serum ünitelerinde evvelki senelere nazaran yüzde yüzün üstünde bir artış kaydedilmiştir. 1949 - 1957 senelerinde at orijinli tetanoz anatoksinlerinin ortalama ünitesi 870 - 1300 (U. İ.) arasında değişirken 1958 yılından itibaren bu serumların ünitelerinde süratli bir artış müşahade edilmiş ve ortalama olarak 2600 antitoksik üniteye yükselmiştir. Buna paralel olarak 1958 yılından evvel öküzlerden elde edilen tetanoz antitoksinlerinin üniteleri ortalama 300 - 400 arasında değişmekte iken 1958 yılından sonra istihsal edilen öküz orijinli tetanoz serumlarının ortalama antitoksik üniteleri 1200 - 1300 enternasyonal üniteye yükselmiş bulunmaktadır.

Bu hususta daha açık bir fikir verebilmek için, şubemizin titraaj protokollarından çıkarılan mukayeseli neticeler aşağıdaki çizelelerde gösterilmiştir.

Muhtelif senelerde istihsal edilen at orijinli tetanoz serumlarının üniteleri (eski enternasyonal ünite)

Seneler	asgari ünite	azamî ünite	ortalama ünite
1949	300	I.U. 3000	I.U. 870
1950	300	3000	800
1952	600	1600	900

**Muhtelif senelerde istihsal edilen at orijinli tetanoz serumlarının
üniteleri (eski enternasyonal ünite)**

Seneler	asgari ünite	azami ünite	ortalama ünite
1953	600	2800	1300
1954	500	3200	1400
1955	500	2200	1300
1956	500	3000	1300
1957	600	2000	1200
1958	1200	6000	2600
1959	1200	6000	2600

**Muhtelif senelerde istihsal edilen öküz orijinli tetanoz serumlarının
üniteleri (eski enternasyonal ünite)**

Seneler	Asgari ünite	azami ünite	ortalama ünite
1951	300 İ.U.	800 İ.U.	450 İ.U.
1952	300 İ.U.	600 İ.U.	400 İ.U.
1954	300	700	500
1955	300	300	300
1957	200	500	370
1959	700	3000	1300

Tetanoz aşlarımızın potensi : 1956 senesindenberi bu metodla hazırladığımız tetanoz aşlarının beş santimetre küb miktarıyla inoküle edilmiş 300 - 350 gr. ağırlığındaki kobaylar bir ay sonraki 400 MLD lik toksin zerkiyatı karşısında % 85 - 95 nispetinde hayatta kalmışlardır. Bu konudaki tetkikatımıza devam etmekteyiz.

Özet ve Karar

1 — 1956 yılındanberi Mueller tetanoz toksin vasatı ve Cl tetani Harvard suşu ile geniş ölçüde tetanoz toksini hazırlamaktayız.

Elde ettiğimiz tetanoz toksinlerinde gerek antijeniste ve gerekse toksisite bakımından memnuniyet verici bir yeknesaklık sağlanabilmektedir.

2 — Hayvan organizması antijen değeri yüksek tetanoz toksini karşısında çok tatminkâr bir şekilde cevap evirmiş ve tetanoz serumlarımızın üniteleri evvelki senelere nazaran % 100 ün üstünde bir artma göstermiştir.

1958 yılındanberi 2500 - 3000 ünitelik serumları emniyetle istihsal edebilmekteyiz. Bu serumlar konsantre ve pürifiye edildikleri takdirde santimetre kübdeki tetanoz antitoksin ünitesi 5000 - 6000 İ. U. ye veya daha yüksek bir seviyeye ulaşabilmektedir.

3 — Bilindiği gibi, öküz iyi serum hayvanı değildir. Serumlarımız ünitesi çok düşüktür. Buna rağmen Mueller vasatında hazırladığımız tetanoz toksini ile hiperimmünize edilmiş öküzlerin serumları eski senelerin at orijinli tetanoz serumlarının en iyi üniteleri olan 1220 - 1400 gibi ünitelerle yarışabilecek bir seviyeye erişebilmiştir.

4 — Tetanoz serum ünitelerindeki bu yükseliş profilaktik ve terapötik maksatlarla tatbik edilecek serumun hacmini küçültmüş, dolayısıyla insan sağlığına büyük faydalar sağlamıştır.

5 — Yüksek üniteli tetanoz serumu prodüksiyonun emniyetle sağlanabilmesi daha az serum hayvanıyla çalışmak gibi ekonomik önemi küçümsenmeyecek neticeler doğurmuş, bu da prodüksiyon masraflarının azalmasını intaç etmiştir.

LARGE SCALE TETANUS TOXIN PRODUCTION WITH Cl. TETANI

Var. HARVARD

Turgut TULGA

Refik Saydam Central Institute of Hygiene
Ankara/Turkey

We use Mueller medium (Fişek, N. H., Mueller J. H., Miller P. A., 1954, J. Bact. 67, 239 - 334) and Cl. tetani var. Harvard in tetanus toxin production at Refik Saydam Central Institute of Hygiene since 1956.

Our production during the last four years amounts to 2000 liters.

We distribute the medium into 5 liter Jena bottles. Each bottle contains four liter medium. They are sterilized 45 minutes in flowing steam and then 50 minutes at 110 C.

Received for Publication April 1, 1960.

The medium is cooled promptly after sterilization and inoculated with 40 ml. of 24 hour of *C. tetani* var. Harvard.

Seed culture are prepared in 20 X 2,5 cm. tubes and never transferred more than three times because its toxicity diminishes.

For seed culture we use 1% dextrose nutrient broth and keep the strain lyophilized.

Cultures are incubated 6 - 7 days at 34 - 35 C.

Then they are clarified and filtered. N. Z. Case (produced by the Sheffield Farms Co., Norwich, New York) has been used as pancreatic digest of casein. Lf vaule of filtered toxins varies between 15 to 45 Lf. in ml, and O.1 L + unites has been obtained 150 to 400 per ml.

We use the toxin for toxoid production and hyperimmunization of horses. The average titer of horse hyper immune serum is 2500 - 300 IU. (Old) and the titer of cattle hyper immune serum is 100 - 1300 UI (Old). 80 - 90 percent of guinea pigs, which are immunized intraperitoneally with a single dose of five ml. toxoid and challenged with 400 MLD. toxin survives.

L I T E R A T Ü R

- 1 — Feeney, R. E., Mueller, J. H., and Miller, P. A., 1943 Growth requirements of *clostridium tetani*. II Factors exhausted by growth of the organism. *J. Bact.*, 46, 559 - 562.
- 2 — Fişek Nusret H., Mueller J. H., and Miller, P. A., 1954, Muscle extractives in the production of tetanus toxin. *J. Bact.* 67, 239 - 334.
- 3 — Mueller, J. H., and Miller, P. A., 1943 Large scale production of tetanal toxin on a peptone-free medium, *J. bact.* 47, 15 - 22
- 4 — Mueller, J. H., and Miller, P. A., 1947, Factors influencing the production of tetanal toxin, *J. Immunol.*, 56, 143 - 147.
- 5 — Mueller, J. H., and Miller, P. A., 1945 Production of tetanal toxin. *J. Immunol.*, 50, 377 - 384.
- 6 — Mueller, J. H., and Miller P. A., 1948 Factors affecting the production of tetanus toxin ; *J. Immunol.*, 50, 377 - 384.
- 6 — Mueller, J. H., and Miller P. A., 1948 Factors affecting the production of tetanus toxin ; temperature. *J. Bact.* 55, 421 - 423

- 7 — Mueller, J. H., and Miller, P. A., 1948 Unidentified nutrients in tetanus toxin production. *J. Bact.* 56, 219 - 233.
- 8 — Mueller, J. H., Miller, P. A., and Lerner, E. M. 1948 Factors influencing the production of tetanus toxin : Gaseous products of growth. *J. Bact.* 56, 97 - 98.
- 9 — Mueller, J. H., Miller, P. A., 1955 Separation from tryptic digests of casein of some acid liable components essential in tetanus toxin formation. *J. Bact.* 69., 634 - 642.
- 10 — Ramshorst van J. D. and Rizks H., 1954. The flocculation of tetanus toxin and toxoid, *Antoine van Leeuwenhoek*, 20.

ANKARA'DA ASEPTİK MENENJİT SENDROMLARININ ETYOLOJİK AJANLARININ HeLa HÜCRELERİNDE ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Nermin EGE
Ankara Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Enstitüsü

Bugün Coxsackie ve Echo virusları Polio virusları ile beraber enteroviruslar adı altında toplanmaktadır. Coxsackie ve Echo (enteric cytopathogenic human orphan) viruslarının son yıllarda, aseptik menenjit ve polioya benzer sendromlardan, beyin omurilik sıvısı ve dışkı suspansiyonlarından çok sayıda izolasyonu ve hastalık esnasında titrenin artışı bu sendromların etyolojik ajanı olduğunu göstermektedir. Dünyanın muhtelif memleketlerinde ufak salgınlarla seyreden bu vakalardan Echo ve Coxsackie viruslarının muhtelif tipleri izole edilmiştir. Echo tip: 6 ve 9 ve Coxsackie B2, 5 büyük çoğunlukta olmak üzere diğer tip enteroviruslar aseptik menenjit sendromlarından elde edilmiştir. Kızamığa benzer döküntülerle görülen vakalarda Echo tip 9 etyolojik ajan olarak ayrılmıştır. (Lit. No. 1 - 33).

Bu çalışmamız, Ankara'da çocuklar arasında görülen aseptik menenjit ve polioya benzer sendromların Echo ve coxsackie virusları ile münasebetini araştırmak gayesiyle yapılmıştır. Enstitümüze 1957 Mart - Haziran ve 1958 Mayıs - Ekim ayları arasında, Ankara'nın üç çocuk kliniğinden ve Amerikan Hastahanesinden gönderilen 2-5 yaş arasındaki çocuklara ait B. O. S. ve dışkı numunelerini HeLa hücreleri doku kültürüne ektik. Gönderilen 36 B. O. S. den 21 ve 27 dışkı numunesinden 9 virus tecrit ettik. Tecrit edilen viruslar arasında 6 polio virusu hariç 24 virus çalışmalarımızın konusunu teşkil etti.

Materyel ve Metod

HeLa hücreleri doku kültürü. — Gey tarafından uterus kanserinden elde edilen ve sabit bir suş olan HeLa suşu hücreleri kullanıldı. Hücrelerin kültürü yapıldığı şişe, tüpler ve kullanılan diğer malzeme Macrea ve Syverton'un tarif ettikleri metoda uygun olarak hazırlandı. (12,32)

Beyin omurilik sıvıları. —Gönderilem B. O. S. ları ekilineye kadar -- 15°C de saklandı.

Dışkı suspansiyonları. — Gönderilen dışkı suspansiyonları PBS (A) (Dulbecco) ile % 20 suspansiyonu hazırlanıp, 1500 d.d. santrifüjde kaba parçalarından ayrıldıktan sonra 100 u/ml. penisilin ve 100 γ /ml. streptomisin ilâve edip 1 saat + 4°C de bekletildikten sonra + 4°C 5500 d.d. bir saat çevrilip üst sıvı alındı. Sterilite kontrolü yapıldıktan sonra — 15°C de ekilineye kadar saklandı.

Serumlar. — Vak'aların gönderilen kanları, serumlar ayrılarak — 15°C de saklandı.

Materyelin ekimi. — Tabaka teşkil etmiş tüpler besi yerleri boşaltılıp 3 defa P. B. S. A. ile yıkandıktan sonra % 1 sığır serumu, % 95 Earle'un tamponlu tuz solusyonu, % 1 antibiyotik (penisilin, streptomisin 100 u. γ /ml. ve % 3 NaHCO₃ (% 4.4) müteşekkil muhafaza vasatı konuldu. Dışkı ve B. O. S. nümunelerinden 0.1 ml. ekildi, her nümune için iki tüp kullanıldı. Dışkı suspansiyonları ekildikten yarım saat sonra besi yerleri boşaltılıp değiştirildi, bu şekilde dışkı suspansiyonlarının muhtemel toksik tesirleri bertaraf edilmiş oldu.

Virusların tecridi. — Bir hafta müddetle incelenen tüplerde göze yozlatgan etki (G.Y.E.) (Cytopathogenic effect) görüldüğü zaman, hücrelerin ekseriyetinin harap olması ile besi yerleri toplandı ve nötralizasyon deneyi için — 15°C de saklandı. Resim (1 - 2 - 3).

İzole edilen viruslar ile nötralizasyon. — Dünya Sağlık Teşkilâtı'ndan (W. H. O.) temin edilen hiperimmün Coxsackie ve Echo serumları kullanıldı. Yazılan titrelerine göre sulandırıldı ve Echo 2 - 5, 6 - 10, 11 - 13, Coxsackie B - 5 polivalan olarak kullanıldı. Ayrıca monovalan serumlarla tiplendirme yapıldı. Elde edilen viruslar düşük titrede olduğundan konsantre virus ihtiva eden sıvılar 0.05 ml. ve tip serumlar 0.3 ml. olarak bir saat oda derecesinde nötralize edildikten sonra 0.1 ml. iki tüplük serilere ekildi. Nötralizasyonda virus kontrolleri ve ekilmemiş tüpler kontrol olarak konuldu. Yapılan deneylerde her bir virus ile nötralizasyon husule geldi, bu da sıvılarda virusun 1×10^7 doku kültürü dozundan aşağı mevcut olmadığını gösterdi.

Vak'aların serumları ile nötralizasyonu. — Serumlar muntazam elde edilemediği için mahdut vak'ada denendi. Serumlar 1/10, 1/100, 1/200 ve 1/500 sulandırılarak yukarıda tarif edildiği şekilde nötralizasyon yapıldı.

Sonuçlar

HeLa hücrelerinde G.Y.E. gösteren viruslar aynı hücrelerde nötralizasyon sonucu Echo (6-10) ve 11 Coxsackie B virusları olarak ayrıldı. (12)

Monovalan serumlarla tiplendirilen Echo virusları, 6 Echo 6, 1 Echo 9 ve 1 Echo 10 olarak tiplendirildi. Coxsackie gurubu viruslardan da 3 Coxsackie B 3 ve Coxsackie B 5 tiplendirildi. İzole edilen ve polivalan ve monovalan serumlarla tiplendirilen enteroviruslar ve klinik sendromlara göre dağılışı tablo 1 de gösterilmiştir.

TABLO : 1

İncelenen 36 B. O. S. dan 18 enterovirus ayrıldı. Tecrit edilen virusların gurup ve tiplerinin klinik nümunelere göre dağılışı tablo II de gösterilmiştir. Mevcut hasta serumları homolog viruslarla yüksek titrede (1/500) nötralizasyon verdi. Bir vak'ada çift serum nümunesinde ikinci serumda titre artması tesbit edildi. (1 : 100 den 1 : 1000 çıktı).

Münakaşa

HeLa hücrelerine ekim yapılarak aseptik menenjit ve polioya benzer sendromlardan 12 Echo ve 11 Coxsackie virusları tecrit edildi. Bunlardan 6 Echo 6, 1 Echo 9, 1 Echo 10, 3Coxsackie B 3 ve 3 Coxsackie B5 virusları tiplendirildi.

B. O. S. dan tecrit edilen enteroviruslar, aseptik menenjit ve polioya benzer vak'aların etyolojik ajanı olarak kabul edildi. 5 vak'ada serumlarında homolog viruslara karşı yüksek titrede antikor, bir vak'ada da ikinci serumda antikor titresi artması tesbit edildi. (1/1000) Dışkıdan izole edilen 1 Echo ve 4 Coxsackie virusunun, etyolojik ajan oldukları kabul edilmezse de 1 vak'anın serumunda 1/200 homolog virus ile nötralizasyon tesbit edildi.

Aldığımız bu sonuçlara göre, aseptik menenjit ve polioya benzer sendromlarda B. O. S. ve dışkı nümuneelrinden HeLa hücreleri doku kültürü vasıtasıyla % 40,3 nisbetinde entrovirus izole ettik. Bu sendromlarda rutin olarak HeLa hücrelerinden istifade edildiği takdirde büyük bir kısmının kat'i etyolojik ajanlarının tesbiti mümkün görülmektedir.

TABLO : I — Echo ve Coxsackie viruslarının grup ve tiplerinin Klinik Sendromlara göre dağılışı

Hastalığın Tipli	E C H O				C O X S A C K I E			
	Echo (6 - 10)	Tip 6	Tip 9	Tip 10	Cox. A 9. B 1-5	Tip B3	Vakaların Toplamı	
Aseptik menenjit	3	6	0	1	2	3	17	
Poliyo benzer hastalık	1	0	1	0	3	0	6	
Hier virus tipli için toplam	4	6	1	1	5	3	23	

TABLO : II — Echo ve Coxsackie virüslerinin Grup ve Tiplerinin Klinik Nümunelere göre dağılışı

Numunenin Tipi	E C H O			C O X S A C K I E			B. O. S. ve Dışkı Numunelerinin Toplamı	İncelenen Klinik nümunelerin Sayısı
	Echo (6-10)	Tip	Tip	Cox. A 9. B 1-5	Tip	Tip		
		6	9		B3	B5		
B. O. S.	3	6	1	1	3	3	18	33
Dışkı	1	0	0	4	0	0	5	24
Her Virus Tipi için Toplamı	4	6	1	5	3	3	23	57

Ö z e t

HeLa suşu hücreleri, doku kültürüne, aseptik menenjit sendromlarından 33 B. O. S. ve 24 dışkı materyeli ekildi, 12 Echo ve 11 Coxsackie virüsü izole edildi. Ayrıca 6 Echo 6, 1 Echo 9, 1 Echo 10 ve 3 Coxsackie B 3 ve 3 Coxsackie B 5 virüsleri tiplendirildi. HeLa suşu hücreleri doku kültürü kullanılarak bu sendromlardan % 40,3 nisbetinde enterovirüs izole edildi.

Summary

We have utilized strain HeLa cells in continous culture by the method of Syverton and Macrea. These cultures have been inoculated by the specimens of SF and stool suspensions from aseptik meningitis syndrome. Out of 33 SF and 24 stool suspension, we have isolated 12 Echo and 11 Coxsackie viruses and furthermore 6 Echo 6, 1 Echo 10, 1 Echo 9 anda 3 Coxsackie B 3 and 5 viruses have been typed. We have isolated enteroviruses 40,3 per cent aid of HeLa cells cultures.

LİTERATÜR

1. Alvaraz, R., Sabin, A. Characteristics of ploiomyelitis and other entero-viruses recovered in tissue cultures from healthy American children. Proc. Soc. Exper. Biol. and. Med., 1955, 87, 655.
2. Archetti, I., Felici, A., Russi, F., Fua, C. Research on the etiological agent of the Marche meningo-neuroxitis during the epidemic outbreak af the summer and autumn of 1955. Sci, Med., Italy. 1955, 5, 321. (Exep. Med., 11, 98).
3. Beale, A. J., Dumcan, D., Stackiw, W., Davis, N., Demster, G. Rhodes, A. J. Further observation on the laboratory diognosis of aseptik mehingitis caused by group B Coxsackie virus. Canad. J. Publ. Hlth., 1956, 47, 179 (Exep. Med., 9, 937).
4. Boissard, G. P. B. Stokes, L. J., Macrea, A. D., Mac Cullum, F. O. İsolation of viruses related to Echo virus type 9 from outbreaks of aseptik meningitis. Lancet, 1957, 272, 6967.
5. Bodosova, G., Gasporova, K. Polony, R. The incidense of abacterial meningitis in 1954 in Eastern Slovakia, caused by viruses of Coxsackie group. Cas ; Lak. 1956, 95, 313. (Exep. Med., 9, 637).

6. Davis, D. C., Melnick, J. L. Association of Echo virus type 6 with aseptic meningitis. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 1956, 92, 839.
7. De Goes, P., Vasconcelos, J. V., Schwarz, N. M., Coldheil, R., Travassos, J. Occurance of Coxsackie virus in Rio Jenerio VI. Isolation of viruses in neurological syndrom. *An. Microbiolo.* 1955, 3, 125.
8. Elias, H., Schwartz, J. Sfarf, I., Freidman I. Isolation of Coxsackie viruses in neurological syndrom. *An. Microbiolo.* 1955, 3, 125.
8. Elias, H., Schwartz, J. Sfarf, I., Freidman I. Isoaltion of Coxsackie virus from of paralytic poliomyelitis. Aetiologic relationship. *Microbiol.*, 1957, 7, I. (*Exep. Med.*, 1, 64).
9. Gard, S. Etiology of acute aseptic meningitis. *Acta. Padiat.*, 1954, 43, 54. (*Exep. Med.*, 9, 397).
10. Gotdfredsen, A. Von Magnus, H. Isolation of Echo virus type 9 from cerebrospinal flinds. *Danish. Med. Bull.*, 1957, 4, 233. (*Exep. Med.*, 10,590).
11. Hennensen, W.. Study of the virus of epidemic meningitis (Echo 9). *Z. Hyg. Infektr.*, 1957, 144, 125. (*Exep. Ded.*, 11, 5).
12. Karzon, D. T. , Barron, A. L. Winkelstein, Jr. W., Cqhen, S. Isolation of Echo virus type 6 during outbreak of seasonal aseptic meningitis. *J. Amer. Med. Ass.*, 1956, 126, 14.
13. Kirby, W. M. M., Evans, C. A. Tissue culture isalation of Coxsackie group B viruses in aseptic meningitis. *J. Amer. Med. Ass.*, 1955, 159, 743.
14. Klaus, H, Kirk, D., Ostopiok, M. Aseptic meningitis caused by Coxsackie virus with isolation of virus from cerebrospinal. *J. Amer. Med. ; Ass.*, 1954, 156, 678.
15. Krech, U., Wulff, H. Pathogenicity of Echo type 9. *Schweiz. Z. Allg. Path. Dakt.*, 1957, 20, 651. (*Exep. Med.*, 11, 551).
6. La Helle, O. Aseptic meningitis caused by Echo viruses. *J. Hyg. (Lond.)* 55, 475. (*Exep. Med.*, 10, 589).
7. Lennartz, H., Meass, G., Kersting, G. Aetiology of aseptic meningitis resulting of a virological investigation of the epidemic of meningitis in the summer and autumn of 1956. *Klin. Wachr.*, 1957, 35, 327. (*Exep. Med.*, 11, 1027).

18. Macrea, A. D. Tissue Culture. Virus reference laboratory, Colindale, London. (Laboratuvarda kullandıkları metodun teksir edilen kopyası).
19. Malherbe, H., Harwin, R., Smith, A. H. An outbreak of aseptic meningitis associated with Echo virus type 4. S. Afr. Med. J., 1957, 31, 1261. (Exep. Med., 10, 589).
20. Mc. Lean, D. M., Croft, C. C., Prince, J. T., Heckmann, E. E. Coxsackie and Echo virus infection in Ohio during 1956. Ohio St. Med. J., 1957, 58, 907. (Exep. Med. 11, 431).
21. Mc. Lean D. M., Melnick, J. L. Association of mouse pathogenic strain of Echo virus type 9 with aseptic meningitis. Proc. Soc. ; Exper. Biol. And Med. 1957, 94, 556,
22. Meyer Jr. H. M., Rogers, N. C., Miesse. M. L., Grawford, I. P. Aseptic meningitis caused by orphan viruses and other agents. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, 67, 332, (Exep. Med. ; 11, 294).
23. Melnick, J. L. Application of tissue culture methods to epidemiological studies of poliomyelitis. Amer. J. Publ. Hlth., 1954, 44, 571.
24. Nameche, J. An epidemic of virus meningitis and poliomyelitis in the infections department of the hospital Saint - Pierre in the summer of 1956. Acta. Pediat. Belge., 1957, 11. 153. (Exep. Med., 11, 432).
25. Nihoul, E., Quersin - Thiry, L. A. New Clinical Entity. Lancet, 1957, 1, 269.
26. Ormsbee, R. A., Cameron, D., Aseptic meningitis due to infection with Echo virus type 9. J. Hyg. (Lond.). 1957, 55 464.
27. Prince, J. T., St. Geme Jr., J. W. Echo 9 virus exanthem. J. Amer. Med. Ass. 1958, 167, 691.
28. Prinzie, A, De somer. P., Dufrane, A., Lamy, M. Occurance of Echo virus in epidemic of beningn aseptic meningitis in Belgium ; Rev Med. Louvain, 1957, 9, 136. (Exep. Med., 11, 102).
29. Riordan, J. T., Ledinko, N. Melnick, J. L., Multiplication of poliomyelitis viruses in tissue cultures of monkey testes. 11 Direct isolation and typing of straine from humen stools and spinal cord in roller tubes. Amer. J. Hyg., 1952, 55, 339.

30. Robbins, F. C., Enders, F. J., Weller, T. H., Florentino, G. L., Studies on the cultivation of poliomyelitis in tissue culture. V. The direct isolation and serologic identification of virus strains in tissue culture from patients with non paralytic and paralytic poliomyelitis. Amer. J. Hyg., 1951, 54, 286.
31. Somodsko, V., Lacko, F., Hodolova, M. Virological study of an epidemic of serous meningitis caused by Coxsackie A₂ virus. Bratislavaka Lekass. Listy, 1957, 37, 469. (Exep. Med. 11, 501).
32. Syverton, J. T., Mc. Lean, D. M., De Silva, M. M. Outbreak of aseptic meningitis caused by Coxsackie B5 virus, J. Amer. Med. Ass., 1957 164, 205.
33. Tyrell, D. A. J., Clarke, S. K., Heet, R. B., Curren, C. R. Studies of a Coxsackie virus antigenically related to Echo 9 virus and associated with an epidemic of aseptic meningitis with exanthema. Brith. J. Exp. Path., 1958, 39, 178. (Exep. Med., 12, 567).

STAFİLOKOKLARIN PATOJENİTESİNİN TAYİNİNDE BASİT VE SÜRATLI LAM TESTİ

STAFİLOKOKLARIN PLASMACOAGULASE AKTİVİTELERİ İLE NORMAL İNSAN PLAZMASINDA KÜMELEŞMELERİ ARASINDAKİ MÜNASEBET (*)

Dr. Muvaffak AKMAN ** ve Muzaffer ÇOBANOĞLU ***

Plasmacoagulase teşkil eden stafilokoklar, lam ve tüpte sitrathı normal insan plazması ile karıştırılmak istendiklerinde, derhal kümeler teşkil etmektedirler. Biz, bu özelliği tetkik ederek kümeleşme hâdisesinin koagülaz teşkili ile uygunluk derecesini tesbit için 547 stafilokok suşu ile muhtelif tecrübeler yaptık.

Bu yazıda, daha önce yapılmış olan tetkiklerle, bizim tecrübelerimizin tekniği ve neticeleri bildirilmiştir.

GİRİŞ : Stafilokokların patojenitesini tâyin için muhtelif testler tavsiye edilmiştir. (1, 2, 3, 4). Bunlardan bir çoğu uzun zamana ihtiyaç gösterdikleri, komplike ve pahalı oldukları için, diğer bazıları ise patojenite için kat'î deliller temin etmediklerinden, rutin işlerle uğraşan mahdut imkânlı laboratuvarlar bilhassa şu 3 test üzerinde dururlar : Hemoliz, Mannit fermentasyonu ve Plazmakoagülaz. Bilhassa bu sonuncusunun patojenite hakkında en güvenilir bilgiyi temin ettiğine inanılır. (2). Meselâ Cruickshank, **Staphylocoagulase**'in ister **aureus** isterse **albus** olsun, bütün patojen suşlarda mevcut olduğunu yazmıştır. (5). Christie ve Keogh, bir patolojik vetireye bağlanabilecek bütün stafilokokların koagülaz teşki lettiklerini, koagülaz (—) olan bir suşla bir patolojik hâdise arasında hiç bir zaman **hakikî** bir ilgi tespit edemediklerini ve pigment teşkili, şeker fermentasyonu, hemoliz ve aglütinasyon testlerinden

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı B. S. A. Enstitüsü, Haccettepe Çocuk Hastahanesi çalışmalarından.

** Enstitü Mikrobiyoloji Uzmanı.

*** Enstitü Mikrobiyoloji Teknisyeni.

hiç birisinin koagülaz testi kadar itimada şayan olmadığını bildirmişlerdir. (6)

Koagülaz teşkili, insan, tavşan, kobay, at, öküz, koyun plazmasında, (5) tam veya münasip nispetlerde sulandırılmış plâzma kullanılmak suretiyle küçük tüplerde veyahut kapiller tüplerde (7) tetkik edilebilir. Bu iş için liyofilize plâzmanın sulandırılarak kullanılması da mümkündür. (8, 9).

Daha önce yaptığımız bir çalışma esnasında (Dr. M. A.), patojen suşları ayırabilmek için koagülaz aktivitelerini tâyin ederken, suşlardan bazılarının tüpteki plazma ile homojen olarak karışmadıklarını, klasik «kar yağmış» görünümü hasil ettiklerini ve bu manzarayı hasil eden stafilokokların umumiyetle koagülaz teşkil ettiklerini müşahede ettik. Koagülaz (—) olan suşlar böyle bir reaksiyon vermedikleri gibi, her iki gruba mensup suşların hem tüpte ve hem de lam üzerinde serum fizyolojikle homojen bir bulanıklık hasil edecek tarzda ezilmeleri mümkün oluyordu. Bu hâdise bizi, daha sonra izole ettiğimiz suşlarla mukayeseli kontroller yaparak her iki hâdise arasındaki münasebeti adedî olarak tespitte ve bu hususta diğer müellifler tarafından yapılmış olan tecrübeleri tetkike sevketti.

İlk olarak Much 1908 yılında bu hususa dikkati çekmiş, (10) daha sonra 100 den fazla koagülaz (+) stafilokok'u tetkik eden Birch-Hirschfeld bunların insan plazması ile ezilmek istendiklerinde derhal kümeler teşkil ettiklerini göstermiştir. (11). Cadness-Craves ve arkadaşları da, koagülaz testi ile lamda plazma ile kümeleşme olayının paralel gittiğini tasdik etmişlerdir. (12). Jenkins'e göre, tüp koagülaz testinde gözden kaçabilen hafif müsbetlik halleri dahî lamda yapılan aglütinasyonla meydana çıkarılabilmektedir. (9).

Lamda normal plazma ile yapılan bu teste, anti-stafilokoksik özel serumlarla yapılan aglütinasyon testlerinden tefrik için, «non-spesifik aglütinasyon» veya «kümeleşme=clumping» denilmesi teklif edilmiştir.

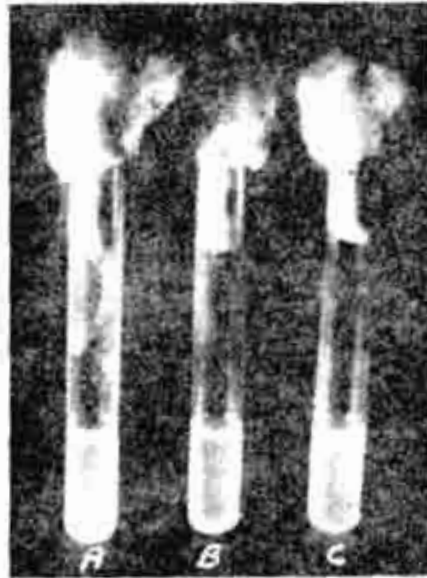
BİZİM YAPTIĞIMIZ TECRÜBELER : Baz, muhtelif patolojik mahsuller ile hastahane servislerinden izole ettiğimiz cem'an 547 suş ile mukayeseli kontroller yaparak, koagülaz testi ile lamda ve tüpte «kümeleşme» olayının uygunluk nispetini araştırdık. İki usul arasında kâfi nispette mutabakat bulunması halinde, lam veya tüpte bir kaç saniye zarfında netice veren testin, tüpte koagülaz testi yerine emniyetle kullanılması mümkün olabilecekti.

Plazma : Kızılay Ankara Kan Merkezinden hastahanemiz ihtiyacı için alınan kan şişelerinden, bekletilmek veya santrifüje etmek suretiyle elde edilmiştir. Bilgimize göre bu kanlar, klasik usullerle ACD mahhüllerine uygun nispetlerde olarak alınmaktadır. (4). Lamda yapılan testler-

de bu plazma ve serum fizyolojik hazırlanan 1/4 : 1/256 nispetindeki dilüzyonları, tüp koagülaz testlerinde ise 1/4 dilüzyon kullanılmıştır.

Koagülaz tüpler : 8 x 75 mm. lik tüpler kullanılmıştır. İçlerinde 1 cc plazma dilüzyonu bulunan bu tüpler, ekildikten sonra 37 C. lik etüvde enkübe edilmiş, neticelet, 4 ve 24 saat sonra kaydedilmiştir. Tüplerde her hangi bir nispette koagülasyon husulü (-) kabul edilmiştir.

Tüp ve lam testinin yapılışı : Öze ile bal olarak alınan bakteriler, tüp aglütinasyon testinde önce tüpün eidiarında plazma seviyesine yakın bir yerde iyice ezilmiş, bundan sonra yavaş yavaş plazma dilüzyonu ile ıslatılarak karıştırılmıştır. Lam testinde de buna müsababil olarak, özedeki bakteriler önce plazma damlasına mücavir kuru kısımda iyice ezildikten sonra, dairevi hareketlerle ve öze ile plazma damlasına karıştırılmışlardır. Bundan maksat, stafilokokların özeden büyük parçalar halinde koparak plazmaya karışmalarının önlenmesidir. Her iki usulde de pozitiflik hallerinde, önce ezilmiş olan bakteriler plazma ile temasa gelir gelmez derhal büyük, bariz kümeler teşkil ederler. Menfilik halinde tamamen homojen bir bulanıklık husule gelir. (Şekil 1 ve 2). Lamda ve tüpte aglütinasyon

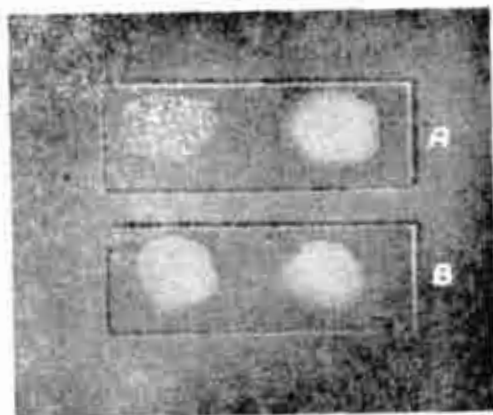


ŞEKİL : 1

Stafilokokların tüpte plazma ile karıştırılmasında derhal görülen durum

A. Patojen stafilokoklar. B. Saprotit stafilokoklar. C. Serum fizyolojik kontrolü. (A tüpündeki opak yağmursu görünümüne ve B ve C tüplerindeki homojen bulanıklığa dikkat ediniz.)

tinasyonun pozitif kabul edilebilmesi için, plazmada kümeleşme gösteren suşlar, tüpte ve lam üzerinde steril serum fizyolojik ile aynı tarzda muamele edilmişlerdir. Oto-aglütinasyon veren suşlar, serum fizyolojikte de kümeleşme gösterirler ve bu gibi suşların koagülaz teşkili hakkında, tüpte koagülaz testi yapılmaksızın bir karar verilemez.



ŞEKİL : 2

Staflokokların lam üzerinde plazma ve serum fizyolojik ile karıştırılmasında derhal görülen durum

A. Patogen staflokok, B. Saprofit Staflokok. (Soldaki damlalar 1 + 4 dilüe sitratlı insan plazması ve sağdakiler steril serum fizyolojik damladır. Plazma damlasında bariz kümeleşme, serum fizy. damlalarında homojen bulanıklık görülüyor.)

Testin müsbetliği ve oto-aglütinasyon bulunmayışı hallerinde serum fizyolojik damlaları kurutulmuş ve Gram ile boyanarak staflokoklar bakımından tetkik edilmişlerdir.

Neticelerin kaydı : Plazma ile karıştırıldıkları anda ve azami 20 saniye zarfında kümeleşen suşlar aglütinasyon (+) kabul edilmiş, geç husule gelen ve ancak farkedilebilecek kadar zayıf olan aglütinasyon halleri (—) addedilmişlerdir. Pozitiflik halleri, bu testi bir kaç defa yapmış olan bir laboratuvarcı tarafından derhal farkedilebilecek kadar aşikârdır.

Kontrollar : Boyalı preparat ve oto-aglütinasyonun tetkiki yansıca, her seri test ile birlikte bir adet ekilmemiş plazma tüpü aynı tarzda enkübe edilmiştir.

NETİCELER :

1) İlk tecrübeye tipik stafilokok kolonilerinden hareket edilmiş, boyandıktan sonra stafilokok oldukları kesinleşen suşlar yatık jelozlara çekilerek çoğaltılmıştır. Bu suşlar yukarıda anlatılan teknikle koagülaz tüplerine ekilmiş ve «kar yağmış» manzarası hasil edenler (+) olarak kaydedildikten sonra enkübasyona geçilerek, 4 ve 24 saatin hitamında koagülaz durumu okunmuştur. Oto-aglütinasyon tahkik edilmiştir. (Şekil 1). Bu tecrübeye 547 suş kontrol edilmiş olup, neticeler toplu olarak Tablo I. de gösterilmiştir.

TABLO I.

Tüpte Kümeleşme ile Koagülaz Teşhisi Arasındaki Münasebet

Total Suş Sayısı	547	24 saatte Koagülaz		Oto-Agl. (+)	Aykırı netice veren	Aykırı netice nispeti
		müsbet	menfi			
Tüpte kümeleşme (+)	302	290	12	8	4 (a)	% 1.3
Tüpte kümeleşme (-)	245	10	235	—	10	% 4

(a) : Bu suşlar tüpte sadece (±) Agl. verdikleri halde, (+) sayısına dahil edilmişlerdir

Bu tablonun tetkikinden anlaşılacağı gibi, her iki usul 525 suş (yani % 97.4) için aynı neticeleri vermişlerdir. Kümeleşme gösteren suşlardan % 98.6 sı koagülaz (+) bulunmuş, kümeleşme husule getirmiyen suşlardan % 95.9 u koagülasyon yapmamışlardır. Her iki usulle cem'an 14 suş aykırı neticeleri vermişlerdir. (% 2.5) Oto-aglütinasyon veren 8 suş hakkındaki karar ancak tüp koagülaz testinden sonra verilebilecektir ki, bu namumî suş sayısının (% 1.4 ünü teşkil eder.

2 —) 337 suş, lam üzerinde 1 damla 1/4 dilüe plazma ile daha önce tarif edildiği tarzda karıştırılmış, derhal «kar yağmış» manzarası (+) olarak kaydedilmiş, boyalı preparat ve serum fizyolojik damlası iel kontrolden sonra aynı suşlar koagülaz için tüpteki 1/4 plazmaya ekilmiştir. Lamda (+) ve (-) suşları arasındaki fark gayet barizdir. (Şekil 2) Hafif ve geç reaksiyonlar (-) kabul edilmişlerdir. Neticeler Tablo II. de gösterilmiştir.

TABLO II.

**Saf Kültürlerle çalışıldığında Lamda Kümeleşme ile
Koagülaz Teşkili Arasındaki Münasebet**

Total Suş sayısı	337	24 saatte Koagülaz		Oto-Agl. (+)	Aykırı netice veren	Aykırı netice nispeti
		müsbet	menfi			
Lamda kümeleşme (+)	210	201	9	9	—	—
Lamda kümeleşme (—)	127	—	127	—	—	—

Görüldüğü gibi suşların hepsi için lamda «kümeleşme» ve tüpte koagülaz teşkili tam bir paralellik arz etmektedir. (Uygunluk nispeti % 100 dür.) 9 suş için alınmış netice, usulün hatası değildir; ancak bu suşların koagülaz teşkili (ve dolayısıyla patojeniteleri) hakkında derhal karar verilmesi mümkün olmayacak, tüpte koagülaz testinin neticesini beklemeğe gerekecektir. Usul, vak'aların % 97.3 ünde 20 saniyede karar verilmesini mümkün kılmıştır.

I ve II nci tecrübelerle girmiş olan suşlardan 5 tanesi, tüpte farke dileyebilecek kadar zayıf bir kümeleşme gösterdikleri halde, lamda plazma ile çok bariz aglütinasyon vermiş ve bu suşların koagülaz teşkil ettikleri görülmüştür. **Lamda yapılan testin, tüpte yapılacak aglütinasyon testinden daha güvenilir neticeler verdiğine, bu durum, iyi bir misâl teşkil eder**

3 —) Buraya kadar anlatılmış olan tecrübelerde mümkün olduğu kadar saf kültürlerle çalışılmıştır. Bundan sonra, plaklarda karışık bir flora bulunduğu takdirde, acele hallerde karışık kültürle yapılacak olan lam testinin, koagülaz testi ile ne nispette uygunluk göstereceğini incelemek istedik. Plaklardan öze ile aldığımız karışık kültürle lam testi ve koagülaz yaptık. Bu esnada mümkün merteye stafilokok kolonilerinden almaya dikkat ettik. Diğer tecrübelerde bahsettiğimiz kontrolleri de ihmal etmedik. Neticeler Tablo III de arz edilmiştir.

TABLO III**Karışık Kültürle Çalışıldığında, Lamda Kümeleşme ile Koagülaz Teşkilî Arasındaki Münasebet**

Total Suş sayısı	210	24 saatte Koagülaz		Oto-Agl. (+)	Aykırı netice veren	Aykırı netice nispeti
		müsbet	menfi			
Lamda kümeleşme (+)	103	96	7	3	4 (.)	% 4
Lamda kümeleşme (—)	107	1	106	—	1 (..)	% 0.9

(.) : 2 tanesi lamda derhal, fakat (-) Agl. vermiş, buna rağmen hata nispetine dahil edilmişlerdir.

(..) : Tüp ve lamda test tekrar edilmesine rağmen, koagülaz (+) olan bu suş daima kümeleşme (—) bulunmuştur; hakikî aykırı neticedir.

Görülüyor ki, karışık bir flora ile çalışıldığı zaman dahî 207 suştan 202 si (yani % 98 i) için her iki test aynı neticeyi vermişlerdir. Sadece suşların % 1.4 ü için koagülaz testinin neticesini beklemek gerekmiştir.

Tablo II ve III deki neticeler birlikte mütalea edilirse, 547 suştan 530 tanesi için, yani vak'aların % 96.8 inde koagülaz testlerinin neticeleri beklenmeksizin 20 saniye zarfında bir hükme varmanın mümkün olduğu görülür.

4 --) Bu tecrübeler esnasında 340 suş lamda 1/4 - 1/256 sulandırılmış plazma ile titrelî olarak denenmiş, kümeleşmenin hangi dilüzyona kadar devam ettiği kaydedilerek tüp koagülaz testleri ile mukayese edilmiştir. Neticede, kümeleşmenin görüldüğü plazma dilüzyonu ile, koagülaz zamanı ve teşekkül eden pıhtının büyüklük veya sertliği arasında bir münasebet tespit edilmemiştir.

5 —) Suşların pigment teşkilî ile lamda kümeleşme ve koagülaz durumu arasındaki münasebet derecesi de tahkik edilmiştir. Suşlar Eacto - Chapman Stone Vasatı (13) na ekilip 37 derecede 48 saat enkübyasyondan sonra pigment cinsleri kaydedilmiştir. Buna ait neticeler Tablo IV de toplu halde verilmiştir.

TABLO IV.**Pigment Cinsi ile Koagülaz Teşhisi Arasındaki Münasebet**

Aureus		Albus		Citreus	
249		290		8	
Koagülaz (+)	%	Koagülaz (+)	%	Koagülaz (+)	%
233	9.5	62	21	4	(.)

(.) : Tetkik edilen suş sayısının azlığı sebebiyle yüzde hesabı doğru değildir.

Tablo'nun tetkikinden anlaşılacağı gibi, aureus suşlar arasında koagülaz (+) nispeti, albus suşlarından daha fazladır. Buna rağmen, albus suşlar arasında da ihmal edilemeyecek nispette Koagülaz (+) suş bulunmaktadır. Aureus suşlardan önemli bir kısmının Koagülaz (—) yani bir bakıma saprofit sayılmaları gerekir. Unumî kanaate uygun olarak koagülaz (—) suşlardan en büyük kısmı (yani % 91.9 u) albus tipi bulunmaktadır.

6 —) 299 koagülaz (+) suştan 290 tanesi (% 96.9) 4 saat zarfında, 9 tanesi (% 3) ise 24 saat zarfında koagülasyon husule getirmişlerdir. Şu halde tecrübeye 4 saatin sonunda nihayet verilmesi halinde % 3 nispetinde hata yapılabilecektir.

7 —) Tecrübeler için 9 muhtelif plazma kullanılmıştır. Bunların hepsi, standard suş olarak sakladığımız (+) suşla lamda ve tüpte kümeleşme husule getirmiş, (—) suş ile homojen bulanıklık vermişlerdir. Bu tecrübeleri ileride muhtelif yaşta insanlardan ve muhtelif hayvanlardan alınacak plazmalarla tekrarlamak niyetindeyiz.

MÜNAKAŞA :

Cadness - Graves ve arkadaşları, kendi tecrübelerinde tetkik ettikleri suşlardan % 99.5 inin tüpte koagülaz ve lamda «kümeleşme» testlerinin aynı neticeleri verdiğini bildirmişlerdir. Diğer bir tecrübelerinde ise, 20 saniyeden sonra teessüs eden kümeleşme halleri (—) kabul edildiği takdirde 558 koagülaz (+) suş için uygunluk nispeti % 87 olmuş-

tur. Bu müelliflere göre lamda (—) netice veren suşlar için tüpte koagülaz testi yapılmalıdır ve bu takdirde lam testi, kullanılacak koagülaz tüpü sayısında takriben % 40 - 50 nispetinde bir tasarruf sağlayabilir. Fakat, lam testinin her hangi bir laboratuvarda rutin test olarak koagülaz yerine kullanılabilmesi için her laboratuvar kendi plazması ve izole ettiği suşlarla her iki testin uygunluk derecesini tahkik etmelidir. (12)

Bizim yaptığımız tecrübelerde, uygunluk nispeti saf kültürlerle çalışıldığı zaman % 100 ve karışık kültürler için % 98 bulunmuştur. Saf kültürlerle çalışıldığında lam testi, suşlardan % 97.3 ü için koagülaz durumunun 20 saniye gibi kısa bir zamanda tespitine imkân vermiştir. En güvenilir laboratuvar testlerinin dahî muayyen nispetlerde hatalı neticeler verebilecekleri düşünülürse, lamda «kümeleşme» testinin emin bir muayene usulü olduğu söylenebilir.

Muayyen şartlarda, meselâ hemokültürden, idrar veya diğer vücut sıvılarının kültürlerinden stafilokokların saf olarak elde edilmesi hallerinde test bilhassa ehemmiyet kazanır. Bu hallerde patojenitenin erken tayini mühimdir ve hemoliz, mannit fermantasyonu gibi, testlere nazaran en erken neticeyi veren koagülaz tecrübesi için dahî 4 ve bazen 24 saat beklemek icabeder. Koagülaz teşkili, patojenite için en mühim kriteriyum olarak kabul edildiğine ve lara üzerinde sitratlı plazma ile yapılan «kümeleşme» testinin koagülaz testlerine muvazî neticeler verdiği tespit edildiğine göre, bu test yerine lam testinin kullanılması suretiyle, bir stafilokok'un patojen olup olmadığına 20 saniye gibi kısa bir zaman zarfında karar verilebilecek demektir. Bu ise hem tedavî edici hekime ve hem de laboratuvarcıya zamandan tasarruf sağlar, iş hacmini azaltır.

Bizim tecrübelerimize göre, saf kültürlerle çalışıldığı takdirde lamda kümeleşme husule getirmeyen suşlar koagülaz (—) kabul edilebilirler; bunlar için ayrıca tüpte koagülaz testi yapılmasına lüzum yoktur. Zira, lamda menfi netice veren suşların hiç birisi tüpte koagülaz teşkil etmemişlerdir. Sadece oto-aglütinasyon veren suşların tüp testine tâbî tutulmaları icap eder ki, bizim tecrübelerimize göre bunların umumî suş sayısına nispeti % 1.4 civarındadır.

Hülâsa olarak, lam testinin tüpte yapılan koagülaz testine nazaran üstünlükleri şunlardır :

1. 4 veya 24 saat yerine 20 saniye zarfında netice vermesi,
2. Çok az miktarda plazma ile yapılabilmesi. (1 damla sitratlı plazma sulandırılarak kullanıldığı takdirde 50 - 60 suşun denenmesine yetecektir.)

Doğru bir hükme varılabilmesi için şu hususlara dikkat edilmelidir:

(a): Mümkün mertebe saf kültürle çalışmalı, plaklarda karışık flora mevcudiyeti hallerinde daha ziyade stafilokok kolonilerinden almaya gayret etmelidir,

(b): Test daima bol bakteri ile yapılmalı ve müteakiben serum fizyolojik ile oto-aglütinasyon kontrol edilirken, öze iyice yakılıp soğutulmuş olmalıdır,

(c): Ezme iş iyi yapılmalıdır,

(ç): 20 saniyeden sonra teessüs eden, çok küçük parçalar halinde olan zayıf kümeleşme halleri menfi kabul edilip, karar vermeden önce tüpte koagülaz testi yapılmalıdır,

(d): Oto-aglütinasyon mutlaka kontrol edilmeli ve (+) bulunan suşlar tüpte koagülaz testine tabi tutulmalıdır,

(e): Preparat yapıp Gram ile boyanmalıdır.

Bu hususlara riayet edildiği takdirde, test neticelerine güvenilebilir. Pozitiflik halleri bu testi bir iki defa yapan kimseler tarafından, menfi reaksiyonlardan kolayca tefrik edilecek kadar barizdir.

Ö Z E T

Koagülaz (+) olan stafilokoklar, sıratlı normal insan plazması ile tüp veya lamda ezilmek istendiklerinde derhal kümeler teşkil etmektedirler. Buna mukabil, Koagülaz (—) stafilokoklar tamamen homojen bir bulanıklık hasil eder ve kümeleşmezler. Müsbet ve menfi reaksiyonlar arasındaki fark gayet barizdir.

Koagülaz testi son zamanlarda patojenite tayininde en mühim ve en ziyade güvenilir muayene usulü olarak kabul edildiğine göre, metinde tarif edilen lam testi-muayyen hususlara dikkat edilmek şartıyla-bir stafilokok'un patojenitesi hakkında 20 saniye gibi kısa bir zamanda karar verilmesini mümkün kılan, emniyetli, basit ve ucuz bir test olarak kullanılabilir. Yaptığımız tecrübeler, lamda «kümeleşme» testi ile tüpte yapılan koagülaz testi arasında, suşların % 98 — 100 ü için mutabakat mevcut olduğunu göstermiştir

Metinde, lam testi ile tüpte koagülaz testinin uygunluk dereceleri, pigment cinsi ile koagülaz teşkili arasındaki münasebet ve tecrübelerin tekniği arz edilmiştir.

QUICK SLIDE TEST FOR ESTIMATING THE PATHOGENICITY OF STAPHYLOCOCCI

Muvaffak AKMAN, M. D., M. P. H. and Muzaffer ÇOBANOĞLU

Chief and Technical Assistant respectively, Microbiology Section Research Institute of Child Health, Ankara University Faculty of Medicine Ankara TURKEY.

Coagulase positive staphylococci are clumped in citrated normal human plasma almost always, if an attempt is made to suspend them in the plasma in tubes or on slides. To investigate the dependability of this parallelism we conducted a number of tests with 547 strains of staphylococci of various origins, such as blood, urine, body fluids, throat and nose, skin lesions and the air of the hospital wards.

In our tests, material taken directly from the plates or from subcultures on agar slants by a loop are used both for slide «clumping» and tube coagulase tests. The results of these tests and the types of the pigment are recorded and compared. For the tube tests 1/4 and for the slide tests 1/1 to 1/256 dilutions of plasma were used. Citrated plasma was obtained from the blood bottles of Red Crescent's Blood Collecting Center. During the tests, Gram stained slides were examined microscopically and as a control one uninoculated plasma tube was incubated with each series of tests.

In the case of a positive clumping reaction a typical «snow flakes» appearance occurs in tubes or on slides within 20 seconds. On the other hand, in a negative reaction the suspension remains homogeneously turbid. The difference is quite clear and both strains produce homogeneous turbidity in saline. (Fig. 1 and 2).

Much, Birch-Hirschfeld, Cadness-Graves et al., and Jenkins^o previously noted this correlation between clumping in plasma and the coagulase production and reported that there was a parallelism in 87-99.5 % of the cases. In our tests, when we used mixed cultures for comparison, the rate of confirmity was about 98 % (Table III) but

when only pure cultures of staphylococci were used, both tests gave exactly the same results. (Table II)

Since coagulase production is generally believed to be the most important criterium for pathogenicity, slide test could substitute the tube coagulase tests and makes it possible to estimate the pathogenicity within 20 seconds almost with 100 % certainty.

Our experiments also showed that although there was a correlation between the pigment type and the coagulase production, pigment type could not be taken as an absolute sign of pathogenicity, because 21 % of albus strains produced coagulase while 6.5 % of the aureus strains were found to be coagulase negative. (Table IV)

Slide test is superior to the classical coagulase test in that it is cheaper, easier, saves both, time and material.

In the Turkish text, the details of our experiments, technic, and results are given.

L I T E R A T Ü R

1. Öktem, Z.: *Tıbbî Bakteriyoloji*, 2: 16 - 27, İst. Üniv. Yayın., 1955.
2. Öktem, Z. ve Unat, K.: *Mikrobiyoloji Pratiği*, 241, İst. Üniv. Yayın., 1951.
3. Wilson, G. S. and Miles, A. A.: *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity*, Third ed. 1 : 608 - 621, Williams and Wilkins Co., 1946.
4. Bray, W. E.: *Clinical Laboratory Methods*, Fourth edit., 387, Mosby Co., 1951.
5. Cruickshank, R.: *Staphylocoagulase*, *J. Path. Bact.*, 45: 295 - 303, 1937.
6. Christie, R. and Keogh, E. V.: *Physiological and Serological Characteristics of Staphylococci of Human Origin*, *J. Path. Bact.*, 51: 189, 1940.
7. Griffith, L. J. and Ostrander, W. E.: *A Capillary Tube Method for the Determination of the Coagulase Reaction*, *J. Lab. and Clin. Med.*, 53: 304 - 306, 1959.
8. Turner, F. J., Schwartz, B. S. and Plains, M.: *The Use of a Lyophilized Human Plasma Standardized for Blood Coagulation Factors in the Coagulase and Fibrinolytic Tests*, *J. Lab. and Clin. Med.*, 52: 888 - 894, 1958.
9. Jenkins, C. J. and Metzger, W. I.: *Evaluation of Different Substrates for the Staphylococcal Coagulase Tests and a Comparison of the Tube and the Slide Techniques*, *J. Lab. and Clin. Med.*, 54: 141 - 144, 1959.
10. Much, H.: *Biochem. Z.*, 14: 143, 1908. (Ref. 12 de zikredilmistir.)
11. Birch - Hirschfeld, L.: *Klin. Wschr.*, 13: 331, 1934, (Ref. 12 de zikredilmistir.)
12. Cadness - Graves, B., Williams, R., Harper, G. J. and Miles, A. A.: *Slide Test for Coagulase Positive Staphylococci*, *Lancet*, i : 736 - 738, 1943.
13. *Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures*, Ninth edit., 1953.

LEPTOSPIRALARIN ÜRETİLMESİNDE KULLANDIĞIMIZ BİR KATI VASAT

Dr. Mesude AKTAN ve Dr. Şerafettin ERTUĞRUL

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

Leptospira kültürlerinin üretilmesinde kullanılan vasatların ekseriyetini mayi vasatlar teşkil etmektedir. Bu sıvı üretim yerleri içerisinde bu güne kadar Korthof vasatı en çok tercih ve tavsiye edilenler meyanında bulunmaktadır (11, 9, 5).

Leptospira kültürlerinin bol üremesi ve üreyen bu kültürün bir müddet canlı kalabilmesi için muhakkak serum veya ascites'e ihtiyaç vardır. Bu durumu nazarı dikkate alan müellifler bu konuyu tetkik maksadiyle muhtelif hayvan serumları üzerinde (Beygir, Koyun, Sığır, Tavşan) tecrübeler yapmışlar ve neticede hemen hepsi tavşan serumunun üstünlüğünde müşterek bir kanaata varmışlardır (4, 1, 7).

Tavşan serumunu muhtevi mayi vasatta Leptospira kültürlerinin hayatıyeti her üç veya dört haftada bir yapılan pasajla mümkün olmaktadır. Sık pasajlar esnasında ise bazı mahzurlar meydana gelmektedir ki bunlardan birincisi, kültürün çabuk kontamine olmak tehlikesi, ikincisinde, virulansı azalması ihtimalidir.

Bu konuyu nazarı dikkate alan bir alman müellifi H. Wortatz (1952) bu sık pasajları ortadan kaldırmak gayesiyle Leptospira kültürlerini katı vasatta üretmeği tecrübe etmiştir. Her ne kadar Leptospira kültürlerinin üretilmesinde Nagouhinin (10) kullandığı yarı katı vasatta tavsiye edilmişse de bu hususta geniş tecrübeler yapılmamıştır. Halbuki H. Wortatz bir seneden fazla yaptığı deneyler neticesinde bütün Leptospira suşlarının bol miktarda ürediğini ve bu kültürlerin oda derecesinde karanlıkta bir sene canlı kalabildiklerini bildirmiştir (12).

Leptospira kültürlerinin katı vasatta üretilmelerini Cox, D. C. (1957) tecrübe etmiş fakat bu muhtelif kültürlerin dayanma müddetini değıilde patojen Leptospiralaların kolonilerini tetkik etmiştir (2).

Bundan başka Larson, A. D. (1959) ve arkadaşlarında kültürlerin plat da koloni sayımlarını yaparak Leptospiralarla enfekte hayvanlarda Leptospiromi esnasında jerm sayısını tesbit etmek imkânını bulduklarını bildirmişlerdir (6).

Yukarda izah etmeğe çalıştığımız şekilde bu güne kadar Leptospiraları katı vasatta üretmeği pek az müellif tecrübe etmiştir.

Bizde elimizde mevcut Leptospira kültürlerinin uzun zaman dayanmalarını ve pasajlar esnasında kirlenen suşların kolaylıkla izolasyonlarını temin maksadiyle bir katı vasat üzerinde araştırma yaptık.

MATERYEL VE METOD

Hazırladığımız katı vasatın esasını mayi Korthof vasatı teşkil etmektedir; fakat bizim yaptığımız Korthof vasatının bir hususiyeti vardırki oda üç ayda bir konsantre şekilde hazırlanmasıdır. İsviçrede ST. Gallen Bakterioloji laboratuarında (1957) Dr. Wiesseman nın hususi bir şekilde yaptığı bu konsantre vasatı bizde laboratuarımızda aynı metodlar dahilinde hazırlamaktayız. Buz dolabında muhafaza edilen bu vasat kullanılacağı zaman 1/10 nisbetinde steril eaudistillé ile çoğaltılmaktadır.

Yaptığımız katı vasatın hazırlanışı : PH sı 7-7,2 olarak tesbit edilen mayi Korthof vasatına % 1,5 nisbetinde Difco nun Bacto agarından ilâve ettik ve 100° de yarım saat olmak üzere üç gün sterilizasyona tabi tuttuk, üçüncü gün sonunda çıkan vasat 60° ye kadar soğutulduktan sonra 100 cc. sine 4 - 5 cc. hesabiyle hemoliz yapılmış tavşan eritrositi ile 10 cc. normal tavşan serumu ilâve ederek tüplere ve petrilere taksim ettik. (hemoliz tavşan serumunu 5 cc. tavşan eritrostini 10 cc. tuzlu su ile iki defa santrifüj ederek yıkadıktan sonra üstteki kısım aktarılaraq depo dan 1 cc. alıp 19 cc. eaudistillé içerisine karıştırmak suretiyle hazırladık).

Hazırladığımız bu katı vasatı muhtelif konsantrasyonlarda tavşan ve koyun eritrositi ilâve ederek tecrübeler yaptık neticede tavşan eritrositinin koyun eritrositine nazaran daha uygun olduğu kanaatine vardık. Bu tecrübe için mevcut Leptospira suşlarımızdan aşağıda isimleri yazılı olan şu suşları kullandık.

L. icterohemorrhagiae Leipzig, L. grippo - typhosa Moskau, L. icterohemorrhagiae Bern, L. grippo - typhosa Mallesdorf, L. sejro M. 84, L. canicola Chieu Chiffon, L. mitis Johnson, L. hyos Basel, L. australis A Ballico, L. australis Almanya, L. autumnalis Almanya, L. pom-

Kirli kültürlerden saf Leptospira kolonilerinin elde edilmesi için yapılan ekim :

Yukarıda isimleri sayılan Leptospira suşlarından her birinin mayı Korthof vasatında üretilmiş ve karanlık saha mikroskobunda muayeneleri yapılmış yedi günlük kesif üremiş kültürlerinden geniş ağızlı bir öze ile bir damla alınıp jelozun sathına yayarak 27° lik Etüve terk ettik. Dördüncü günden itibaren her gün platları kontrola tabi tuttuk, müteaddit defalar yapılan tecrübelerle göre, üreme beşinci ve altıncı günden itibaren başlamakta ve ekseriya yedinci sekizinci günde azami hadde erişmekte idi.

Petrilere ince bir safiha halinde dökülen jelozda kültür gözle görülebilen hafif bir tül manzarasında üremekte idi. Koloniler ekseriya bir arada kitle halinde görülmekle beraber etrafta tek olarak düşenlerde mevcuttu. Bu tek kolonilerin muhiti gayri muntazam, yaygın ve vasatın rengi ile hemen aynı renkte olup satıhtan ziyade vasatın derinliğine doğru üremiş bir vaziyette bulunmakta idiler. Koloniler öze ile alınmak istendiği zaman adeta çivilenmiş gibi vasata yapışık bir halde bulunduğundan kolaylıkla çıkmamakta ve ancak jeloz parçacığı ile alınabilmekte idiler. Bu kolonilerden karanlık saha mikroskobunda yaptığımız muayenede, sahada gayet hareketli yüzlerle Leptospira görmekte idik, sulu vasatlarda en kesif üreyen kültürlerde dahi hiç bir zaman bu kadar bol ve hareketli Leptospiraya tesadüf etmemiştik.

Tecrübe ettiğimiz suşların hemen hepsi bu vasatta bol bir üreme gösterdikleri halde yalnız L. soexkögig ve L. hyos suşları daima (+) zaif ürediler.

Hazırladığımız bu jeloz platlarına gerek elimizde mevcut kirli suşlardan ve gerekse tarafımızdan bilhassa kirletilen suşlardan müteaddit defalar ekim yaptık, muayyen bir inkubasyondan sonra platlarda çeşitli bakteri kolonileri arasında pek tipik ve karakteristik bir vasıfta üreyen Leptospira kolonilerini ayırarak saf kültür elde etmeğe muvaffak olduk.

Katı vasatta kültürün uzun zaman muhafazası için yapılan ekim :

Yukarıda söylediğimiz şeklide tüplerde dik olarak dondurumluş agara elimizde mevcut Leptospira suşlarının mayı Korthof vasatındaki kesif üremiş kültüründen ekim yapılarak 27° lik Etüve terk ettik. 7 - 8 gün sonra tüpleri makroskobik olarak muayene ettiğimiz zaman hafif bir opelesans gördük bilahıra öze ile aldığımız bir jeloz parçacığını lam

üzerinde tuzlu su ile iyice ezdikten sonra lamel kapatıp karanlık saha mikroskobunda yaptığımız muayenede sahada yüzlerle hareketli ve canlı Leptospiraları gördük. Bilahıra bu tüplerin ağızlarını parafinle kapatarak karanlıkta oda derecesinde muhafaza ederek her on beş günde bir defa canlı kalıp kalmadıklarını kontrole tabi tuttuk. Bu tüpler ekim yaptığımız tarihten beş ay sonra kontrol edildikleri zaman fevkalâde bol ve hareketli Leptospiraları ihtiva ediyordu. Aynı tarihte bu vasattan sulu vasata yapılan pasajlardada beş gün sonra bol bir üreme gördük.

Tecrübeye tabi tuttuğumuz bu dik jeloz kültürlerini hâlen muhafaza etmekteyiz, müteakıp aylarda yine canlılık ve üreme kontrolleri yapılacaktır.

NETİCE VE MÜNAKAŞA

Leptospira kültürlerinin üretilmesinde kullanılan sıvı besi yerleri her ne kadar kültürlerin idamesi için uygun bir vasat isede bazı mahzurları dolayısıyla katı besi yerlerini buna tercih etmek icap etmektedir.

Sıvı besi yerlerinde birinci mahzur, kültürün bu vasatta uzun zaman canlı kalmamasıdır; dolayısıyla her üç veya dört haftada bir pasaj yapmak icap etmektedir. Bu sık pasajlardada hem suşun virulansı azalmakta hemde kontamine olmak ihtimali çoğalmaktadır (3).

İkinci bir mahzurda kirlenen Leptospira suşlarının izolasyonunun diğer bakteriler gibi kolay olmamasıdır. Malum olduğu üzere bu gibi suşların temizlenmesi ancak, ya kültürün filitasyonu (ki muhtelif Müelliflerin kanaatine göre çeşitli filitreler tavsiye edilmektedir.) yada kobay peritonuna zerkle mümkün olmaktadır (3, 8, 9). Bu tavsiye edilen metodlardan ise her zaman kati bir netice alınmamaktadır.

Halbuki son senelerde bir kaç müellifin katı vasat üzerinde yaptıkları deneyler bu gibi mahzurların kısmen bertaraf edildiğini meydana çıkarmıştır (6, 12, 2).

Bizimde bu konu üzerinde yaptığımız tecrübe ile aldığımız sonuçlar fevkalâde tatmin edici mahiyettedir. Bilhassa kirli suşlardan hiç bir nüşkülâta ve külfete mahal kalmadan saf kültürün elde edilmesi aynı zamanda lâboratuarda daima temiz bir kültürün hiç pasaja ihtiyaç göstermeden uzun zaman canlı kalabilmesi işlerimizi çok kolaylaştırmaktadır.

Binaenalyh yaptığımız bu tecrübeden aldığımız netice bize bu gün Leptospiraların üretilmesinde katı vasatın sulu vasat kadar ve belkide daha fazla bir ehemmiyet kazandığı kanaatını vermiştir.

HÜLĀSA :

Leptospira kültürlerinin dayanma müddetlerinin uzatılması ve diğer bakterilerle kirlenen suşlarda saf kültürün elde edilmesi için bir katı vasat yapılmıştır.

Bu vasat mayi Korthof vasatına % 1,5 jeloz, % 4 - 5 hemoliz yapılmış tavşan eritrositi ve % 10 normal tavşan serumunun ilâvesiyle yapılmıştır.

Tüplerde dik olarak dondurulan bu agara ekilen bütün Leptospira kültürleri 7 - 8 günde gayet kesif bir üreme göstermişler ve beş ay bu vasatta canlı kalmışlardır.

Diğer taraftan kirli Leptospira suşlarının aynı vasatın platlardaki ekimlerinde üreyen tipik kolonileri ile izolasyonları yapılarak saf kültürleri elde edilmiştir.

Zusammenfassung

Ein fester Nährboden Zur Züchtung von Leptospiren

Ein fester Nährboden, Zur Dauerkulturen und Zur Isolierung der Leptospiren aus den begleitbakterien wurde entwickelt.

Die Zusammensetzung dieser festen Nährboden besteht aus flüssige Korthof Nährboden, 1,5 % Agar und 4 - 5 % Hemolisierte Kaninchen rote Blutkörper und 10 % normale Kaninchenserum.

In Reagenzgläser gefüllten Nährboden eingepflichte Leptospiren Stämmen wuchsen in 7 - 8 tagen sehr üppig und Sie behielten ihr Lebensfähigkeit Monatelang vor. Auserdem aus den überimpfte verunreinigten Stämme wurde die Leptospiren zwischen den begleitbakterien kolonien sehr leicht isoliert und als rein kultur gezüchtet.

LITERATUR

- 1 — Babudieri, B. (1943) Zbl. f. Bakt. orig. 150, 243. Das Überleben von Leptospieren auf Sernm und Blutnährboden.
- 2 — Cox, C. D. and Larson, A. D. (1957) J. Bact. 73, 587 Colonial Growth of Leptospirae.
- 3 — Ekrem, K. U. ve Gürtürk, S. (1955) Leptospiroloji.
- 4 — Korthof, G. (1932) Zbl. f. Bakt. orig. 125, 429 Experimentelles Schlammfieber beim Menschen.
- 5 — Larson, A. D., Treick, R. W., Edwards, C. L. and Cox, C. D. (1959) J. Bact. 77, 361. Growth Studies and plate counting of Leptospire.
- 6 — Helmut, H. (1950) Zbl. f. Bakte. orig. 156, 249 Beitrag Zur Leptospierenzüchtung.
- 7 — Maria A. F. (1952) Zbl. f. Bakt. orig. 158, 519 Zur Leptospierenzüchtung.
- 8 — Schultz (1960) Zbl. ref. 174, 348 (Mh. Vet. Med. 14, 278, 1959) Ein Beitrag Zur filtration von Bakteriell verunreinigten Leptospieren stämmen
- 9 — Wieseemann, E. (1949) Z. für Hygiene 130, 80. Der Heutige stand der Leptospieren forschung.
- 10 — Otto, G. und Wieseemann, E. (1952) Leptospirose.
- 11 — Wotjtkowska, R., Uminka, A., Figura, K., Wajswaser, R. (1959) Offis Inter. des Epizooties L, 843
- 12 — Woratz, H. (1952) Z. Hyg. infektionkrankheiten. 134, 78. Ein fester Nährboden für Dauerkulturen pathogener Leptospieren.

PIPERAZİN İLE ASCARIASIS TEDAVİSİNİN İLMİ ESASLARI

Doç. Dr. Şükrü KAYMAKÇALAN

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Enstitüsü

Piperazin, tıp ve eczacılık ilimleri için yeni bir madde değildir. Daha ondokuzuncu yüzyılın sonlarında Gut hastalığına karşı ilaç olarak kullanılmıştır. Fakat anthelmentik tesiri ancak yirminci yüzyılın ikinci yarısında öğrenilmiştir. Piperazinin Gut'ta kullanılması, piperazin solusyonunun in vitro olarak ürik asid için iyi bir eritici olmasına dayanıyordu. Sonradan yapılan ciddi tetkikler, piperazin'in vücuttan ürik asid itrahını arttırmadığını ve bu sebepten Gut hastalığında her hangi bir değeri olamayacağını göstermiş ve bir çok memleketlerde piperazin'in bu maksatla kullanılması terkedilmiştir. Piperazin'in bir ilaç olarak tamamen unutulmaya mahkum olduğu bir sırada, anthelmentik tesirinin keşfedilmesi, yeniden önem kazanmasına sebep olmuş ve eski baskılarından piperazini çıkarmış olan bazı Farmakope'ler, bu maddeyi yeni baskılarına tekrar ilâve etmek lüzumunu hissetmişlerdir.

Zamanla değerini kaybetmiş bir ilâcın, başka vesile ile yeniden değer kazanması, yalnız piperazin'e ait bir özellik olmayıp, Farmakoloji tarihinde buna benzer daha başka misâller de göstermek mümkündür. Bu bize, eskiden kullanılıp, terkedilmiş bazı drogların modern araştırma metodları ile yeniden tetkik edilmesinin faideli olabileceğini öğretmektedir.

Piperazin'in Anthelmentik Tesirinin Mekanizması :

Bu konudaki çalışmalar daha ziyade piperazin'in ascaris'lere olan tesirine istinat etmektedir. Her şeyden önce, yapılan çalışmalarda piperazin'in ascaris'leri öldürmediği, fakat onları felç ederek hareketsiz bıraktığı dikkati çekmiştir. Filhakika ascaris'lerin bulunduğu bir vasata piperazin ilâve edilince, solucanların hareket kabiliyetlerini kaybettikleri görülür. Fakat bu solucanlar müteakiben piperazin ihtiva etmeyen

bir vasata nakledilecek olurlarsa motilitelerini yeniden kazanırlar. Ayrı şekilde piperazin alan hastaların düşürdükleri parazitler de 37 derecede tuzlu bir vasatta enkübe edilirlerse, bir müddet sonra tamamen normal bir aktivite gösterirler. (9)

Piperazin'in ascaris adalesinde husule getirdiği paraliz, curare'in memelilerin iskelet adalesindeki tesirine benzemektedir. Curare gibi, piperazin de bizzat adale hücrelerini felcetmemekte, fakat adale ile sinir arasındaki motor plaklara tesir etmektedir. Ascaris adalesinin direkt olarak elektrikle stimülasyona karşı verdiği cevap, piperazin ile önlenmemektedir (6). Piperazin muhtemel olarak ascaris adalesinde nöromüsküler rabitada acetylcholin'in tesirine mani olmaktadır. Filhakika ascaris adalesinde gerek acetylcholin, gerekse acetylcholinesterase fermentinin mevcudiyetleri gösterilmiştir (2). Ancak enteresan olan cihet piperazin'in neden ascaris adalesinde acetylcholin'in tesirine mani olduğu halde memeli adalesinde aynı tesiri göstermeyişidir. Bu husus henüz kat'i olarak halledilmemiş olmakla beraber, ascaris organizmasında piperazin'in tesirine ait bazı biyosimik özellikler tesbit edilmiştir.

Ascaris adalesinde de, memelilerde olduğu gibi, enerji deposunu glikojen teşkil etmektedir. Ascaris lubricoides'ten izole edilen glikojen, bir çök bakiımlardan memeli dokularındakine benzemektedir (2). Memelilerde adale kontraksiyonu için lüzumlu enerji, glikojen'in lactic acid'e tahavvülü esnasında, Adenosin-tri-phosphoric acid (ATP) ve diğer enerjiden zengin fosforlu bileşiklerin sentezi ile temin edilir. Ascaris adalesinde ise anaerobic şartlarda lactic acid husule gelmemektedir. Buna mukabil gerek aerobic, gerekse anaerobic şartlarda ascaris organizmasında büyük miktarlarda succinic acid husule geldiği tespit edilmiştir (3). Piperazin'in ascaris organizmasında succinic acid sentesine mani olduğu gösterilmiştir. Piperazin'in ascaris adalesinde felç yapıcı tesiri ile succinic acid miktarını azaltıcı tesiri arasında büyük bir paralelizm mevcuttur ve her iki tesir de reversibl'dir. Piperazin ihtiva etmeyen bir vasata nakledilen solucan, hareket kabiliyetini kazanırken, aynı zamanda vücudundaki succinic acid konsantrasyonu da artmaktadır (4). Öyle anlaşıyor ki, acetylcholin, piperazin muvacehesinde kâfi miktarda succinic acid husule gelemediği için, ascaris adalesinde kontraksiyon tevhit edememektedir.

Piperazin'in Anthelmentik Tesir Tarzının Pratik Önemi :

Piperazin'in ascarisleri öldürmeyip, felcetmesinin pratik bakımdan büyük bir değeri mevcuttur. Bu sayede, barsaklarda ascaris'lerin ölmeyle açığa çıkacak toksik maddelerin rezorbsiyon tehlikesi ortadan kal-

kar ve yine aynı sebepten, diğer ascaris ilâçları ile yapılan tedaviden farklı olarak, piperazin kiirünün hemen arkasından bir müşhil vermeğe lüzum kalmaz. Ascaris'lerin paralize olmalarının başka bir faidesi, bazı anthelmentiklerin tesirinde olduğu gibi, solucanların ölmeden önce etrafa kaçışmaları ile husule gelebilecek komplikasyonların (safa yollarının tıkanması, barsak perforasyonu vs.) önlenmesidir. Hattâ aksine tifolu bir şahısta aynı zamanda ascarisasis mevcut olduğu takdirde, tifo seyri esnasında piperazinle ascaris'lerin düşürülmesi tavsiye edilmektedir. Filhakika tifoda barsak perforasyonlarının husulünde ascaris'lerin kolaylaştırıcı bir rol oynadığı son zamanlarda anlaşılmıştır (7). Buna rağmen tifolu bir hastada ascaris'lerin düşürülmesi için piperazin'den gayri bir anthelmentik kullanmaya, gerek ilâcın toksisitesinden, gerekse müşhil kullanma zaruretinden, hiç bir hekim cesaret edemez.

Piperazin'in diğer Ascaris ilâçlarına üstünlüğü ;

Piperazin'in ascaris tedavisinde tercih edilmesinin muhtelif sebepleri olmakla beraber, bunların başında şüphesiz, toksisitesinin azlığı gelir. Piperazin tedavisine tabi tutulan şahıslarda muhtelif labratuar analizleri yapılmış, kan ve idrar kontrollerinde, karaciğer fonksiyon testlerinde anormal bir husus tesbit edilmemiştir (10). Piperazin gebelikte de her hangi bir ârıza husule gelmeksizin kullanılmıştır (5).

Literatürde piperazin tedavisine bağlı olarak bildirilen bazı toksik tesirler, daha ziyade ilâcın yüksek dozlarda alınmasından ileri gelmiştir. Oldukça nadir raslanan bu belirtileri şu şekilde toplamak mümkündür: Bulantı, kusma, baş ağrısı, baş dönmesi, karın ağrısı, ürtiker, erythema multiforme, tremor, koordinasyon bozukluğu, adali zaafiyet, görme bozukluğu, hafıza bozukluğu, hafif diyare ve letharji (5). En yüksek dozlarda zehirlenme vak'aları çocuklarda görülmüştür. Amerikada 3 yaşında bir kız çocuğu 9 gram piperazini bir defada içmiş ve tespit edilen en mühim belirti, reflekslerde hipoaktivite ile birlikte ayakta duramama olmuştur. Çocuk, kısa zamanda hiç bir sekel bırakmaksızın iyileşmiştir (5). Buna benzer bir vak'a Almanyada müşahade edilmiş, yine 3 yaşında bir çocuk 12 gram piperazin'i birden almıştır. Bu çocukta zehirlenme tablosu bidayette ayakta duramama ile dikkati çekmiş, bir müddet sonra çocukta çeşitli nörolojik belirtiler meydana çıkmış, şuur kaybolmuş ve Elektroensefalogram'da jeneralize ritm bozuklukları tesbit edilmiştir. Yapılan semptomatik tedavi ile çocuk dört gün zarfında tamamen normal sıhhatine kavuşmuştur (11).

Piperazin'in allerji yapıcı bir tesiri (allerjenitesi) olmadığı hayvan tecrübeleri ile gösterilmiştir. Piperazine citrate şurubu ile kobaylar hassaslaştırmaya çalışılmış, fakat bunda muvaffak olunamamıştır (10).

Hazım kanalında gıda maddelerinin mevcudiyeti ile piperazin'in tesirinin azalmadığı gösterilmiştir (1). Bu sebepten piperazin tedavisi esnasında hastaların perhiz yapmalarına lüzum yoktur.

Bazı piperazin tuzlarının hastalara şurup şeklinde verilebilmesi, tedavi bakımından büyük bir kolaylık sağlamıştır. En ziyade tercih edilen ve en çok kullanılan piperazine citrate şurubu olmuştur. Bilhassa çocuklar bu şurubu kolaylıkla alabilmektedir. Piperazine citrate şurubunun başka bir faidesi icabında hastalara sonda ile verilebilmesidir.

Ascaris'lerin kümelenerek barsakta bir ileus tablosu husule getirdikleri vak'alarda, piperazin citrate şurubu, cerrahi müdahaleye lüzum kalmadan barsak tıkanıklığının açılmasını sağlamıştır (8).

Ö Z E T .

Ascariasis'in modern ilâcı olan piperazin'in tesir tarzı muhtemelen şu şekildedir: Piperazin, ascarisleri öldürmeyip, felceder. Bu felç, kura-rizan maddeler'in tesirine benzemektedir. Fizyolojik olarak ascaris adalesinde glycogen'den enerji prodüksiyonu esnasında succinic acid husule gelmektedir. Acetylcholine'in solucan adalesinde kontraksiyon doğurabilmesi için kâfi miktarda succinic acid husulüne lüzum vardır. Piperazin, solucan adalesinde succinic acid sentezini önleyerek, acetylcholine'in tesirine mani olur.

Piperazin'in bu tesir tarzının pratik önemi üzerinde duruldu.

THE SCIENTIFIC BASIS OF THE ANTHELMINTIC EFFECT OF PIPERAZIN IN THE TREATMENT OF ASCARIASIS

Şükrü KAYMAKÇALAN, M. S., M. D.

Dept. of Pharmacology, Ege University Medical School

SUMMARY :

The mode of action of piperazin, which is the modern remedy for ascariasis, is probably as follows :

Piperazin does not kill the ascarides, but paralyzes them. This pa-

ralysis is similar to the action of curariform drugs in mammals. Normally succinic acid is accumulated in ascaris muscle during the energy production from glycogen. A sufficient amount of succinic acid is necessary for muscular contraction induced by acetylcholine. Piperazine blocks the effect of acetylcholine in ascaris muscle by inhibiting the production of succinic acid.

The practical importance of this effect of piperazin has been discussed.

LITERATUR

- 1.) Brown, H. W. Therapy of ascariasis with piperazine. Am. J. Trop. Med. Hyg. 4: 947, 1955.
- 2.) Bueding, E. Metabolism of parasitic helminths. Physiol. Rev. 29: 195, 1949.
- 3.) Bueding, E. and Farrow, G. M. Isolation of succinic acid from the perienteric fluid of ascaris lumbricoides. Am. J. Med. Hyg. 5: 382, 1956.
- 4.) Bueding, E. and Farrow, G. M. Effect of piperazine hexahydrate on succinate production by ascaris lumbricoides. Am. J. Trop. Med. 6: 383, 1957.
- 5.) Bueding, E. and Swartzwelder, C. Anthelmintics, Pharmacol. Rev. 9: 329, 1957.
- 6.) Norton, S. and Beer, E. J. Investigations on the action of piperazine on ascaris lumbricoides. Am. J. Trop. Med. Hyg. 6: 898, 1957.
- 7.) Pena - Chavarria, A., Lizano, C. and Xirinachs, H. The treatment of ascariasis with piperazine citrate in typhoid - fever patients. Am. J. Trop. Med. Hyg. 6: 388, 1957.
- 8.) Sappenfield, R. W., Swartzwelder, C. and Miller, J. K. The use of piperazine citrate in the treatment of apparent partial intestinal obstruction due to ascariasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 6: 383, 1957.
- 9.) Standen, O. D. Activity of piperazine, in vitro, against ascaris lumbricoides. Brit. Med. J. 2: 20, 1955.
- 10.) Swartzwelder, C., Miller, J. H. and Sappenfield, R. W. The treatment of cases of ascariasis with piperazine citrate. Am. J. Trop. Med. Hyg. 4: 326, 1955.
- 11.) Wechseiberg, K. Zur Vertraglichkeit des piperazins. Deutsche med. Wohnschr. 81: 632, 1956.

1959 — 1960 KIŞ VE İLKBAHARINDA MEMLEKETİMİZDE INFLUENZA ENFEKSİYONU DURUMU

Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Prof. Dr. Zühdü BERKE

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü, Viroloji Şubesi ve
WHO Türkiye Influenza Merkezi

1959 — 1960 kışında, her kış olduğu gibi kuzey yarım küresinde solunum sistemi hastalıkları artmıştır. Şubat ayında azamî seviyesini bulan epidemiler Martta azalmaya başlamış ve Nisanda hemen hemen yok denecek seviyeye inmiştir. Bilhassa mektep, hastane, hapisane, askerî birlikler gibi topluluklarda sporadik vak'alar ve fokusler hasıl olmuş ve bunların A₂ (İtalya, İsviçre, Almanya, Danimarka, Hollanda, Fransa, USA) ve B virusu (İtalya, Finlanda) ile meydana geldiği tesbit edilmiştir. Bir kaç vak'ada A₁ (USA) virusu ve İnfluenzaya benzer hastalıkların bir kısmından da adenoviruslar (Kanada, İsveç) izole edilmiştir. Bu epidemiler büyüme temayülü göstermemiş, selim ve kısa süreli olmuştur. Asya (Endonezya, Japonya, Borneo) ve Afrikada da mahdut ve selim epidemiler olmuş ve A₂ virusu izole edilmiştir. (Weekly Epidemiological Records, WHO, 1959 — 1960).

1959 — 1960 kışında Memleketimizde Influenza durumunu, yukarı solunum yolları hastalarında ve normal şahıslarda olmak üzere serolojik olarak ve virus izolasyonu suretiyle tetkik ettik. Aldığımız neticeleri burada kısaca açıklamayı faydalı buluyoruz.

Virus izolasyonu çalışmaları :

Influenza şüpheli hastalardan usulüne uygun olarak alınmış ve Laboratuvarımıza gönderilmiş olan 65 adet Boğaz Çalkantısı, embriyonlu tavuk yumurtalarına ekim suretiyle tetkik edildi ve 8 inden (7 si Şubat, 1 i Nisan ayında) virus izolasyonuna muvaffak olundu. İzolasyon yapılan bu Boğaz çalkantılarından 5 i Sağlık Memurları Okulu talebelerine,

IX. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

1 i laboratuvarımız personeline, diğ er 2 si de yine Ankarada bulunan hastalara aitti.

Sekiz izolmandan gerekli miktarda üretilebilen 4 ün de, A: Asia/57, A./Netherland/36/56, B/Johannesburg ve B/Australia/43 antiserumları ile karşılaştırmak suretiyle HAI (Hemaglütinasyon - İnhibisyon) testi yaparak dört virusun da A: tipine ait olduğunu tesbit ettik. Bunlardan üçü kurutulularak, teşhisin teyidi gayesi ile, Londradaki Dünya İnfluenza Merkezi'ne gönderildi.

Tablo. I. İnfluenza Bakımından Tetkik Edilen Boğ az Çalkantılarının Alınan Neticeler

Tablo.I. The Results Obtained from Throat Washings Examined for the İnfluenza Virus

Numunenin alındığı tarih Date of Throat Washings	Tetkik edilen B. Ç. No: Number examined	Gönderen Yer Sent from	Netic e (Results)		
			Menfi No: Negati- ves	Müsbet No: Positi- ves	İdantifi- kasyon No. of Identified
Kasım (November) 1959	12	İzmir	12	—	
Aralık (December) 1959	4	Ankara	4	—	
Ocak (January) 1959	2	Ankara	2	—	
Şubat (February) 1960	28	Ankara	21	7	3 (A ₂)
Mart (March) 1960	2	Ankara	2	—	
Nisan (April) 1960	11	Ankara	10	1	1 (A ₂)
Nisan (April) 1960	6	İzmir	6		
Total	65		57	8	4

Not : İdantifiye edilen virüsler, İnfluenza A, Turkey/1/60; 2/60; 3.60; ve 4/60 olarak isimlendirildi.

Serolojik araştırmalar :

a) Hasta serumlarında: Kasım 1959 ayı başından Mayıs 1960 sonuna kadar şubemize 85 adedi akut safha, 26 sı nükaha ve 32 si çift serum olmak üzere 143 hasta serumu gönderildi. Bunlar İnfluenza A ve B solübl antijenleri ile karşılaştırılmak üzere kompleman birleşmesi testi ne tabi tutuldular. Neticede, serumların 14 ün de (% 9,8) İnfluenza A

antikorları ve 29 unda (% 20,3) İnfluenza B antikorları mevcudiyeti tesbit edildi. İnfluenza B müsbet serumların adedi daha yüksek görünmekle beraber bunların ancak % 3,4 ünde titre 1/32 veya daha fazla olduğu halde bu nisbet İnfluenza A müsbet serumlarda % 28,5 tur.

İnfluenza B antikorlarına bütün kış rastlanmakla beraber en çok Aralık ve Ocak aylarında görülmüş, İnfluenza A müsbet adedi ise Şubat ve Nisan aylarında azamiye varmıştır.

Hasta serumlarının ekseriyetini Ankaradan temin edilenler teşkil etmektedir.

b) Normal şahıs serumlarında: Muhtelif vilâyetlerden Enstitüye Wassermann tetkikine gönderilmiş olan normal şahıs serumlarında aynı şekilde kompleman birleşmesi testi ile İnfluenza antikorları araştırdık.

Tetkik edilen 512 serumun 56 sında İnfluenza A antikorları (% 11) ve 163 ünde İnfluenza B antikorları (% 31,8) tesbit edildi.

Bu 512 serum, Mart, Nisan ve Mayıs aylarında, Kuzeybatı, Orta ve Güneydoğu Anadolu ve Karadeniz bölgelerindeki 27 vilâyetten gönderilmişti. A antikorlarına en fazla Sinop (% 40), Malatya (% 38) ve Balıkesir (% 24) vilâyetlerinden gönderilen serumlarda, B antikorlarına ise, Amasya (% 63), Malatya (% 50), İzmit (% 46), Balıkesir (% 43), Bolu (% 42) ve Urfa (% 41) dan gelenlerde tesadüf edildi.

İnfluenza A ve B yi beraberce mütalâa edersek, serum temin ettiğimiz 27 vilâyet içinde en yüksek musabiyetin Malatya, Amasya, Balıkesir, Sinop, İzmit ve Bursa'da olduğunu görürüz.

Sağlık Vekâletine bildirilen İnfluenza vak'aları adedi Şubat ayında 1508, Mart'ta 2159 ve Nisan ayında 71 dir. Bu ihbarları nazarı itibara alırsak İnfluenza vak'aları en çok İstanbul, Eskişehir, Bitlis ve Bursa'da (1203 - 237 arası) görülmüş, Manisa, Muğla, Çorum, Elâzığ'da daha az (162 - 45 arası) ve Sivas, Antalya, Balıkesir, Niğde, Kütahya, Tekirdağ'da (16 - 3 arası) birkaç vak'aya inhisar etmiştir. İnfluenza ihbarlarının en çok yapıldığı İstanbul, Eskişehir ve Bitlis vilâyetlerinden maalesef bize serum gönderilmedi. Maamafih hakiki influenza vak'ası adedinin ihbar adedine uymadığı muhakkaktır. Zira, klinikman kat'i bir influenza teşhisi yapmak mümkün olmadığı gibi, ihbarı mecburî olmadığı için bir çok vak'alar da muhtemelen Sağlık Vekâletine bildirilmemiştir. Nitekin, ihbar yapılmayan vilâyetlerde de İnfluenza vak'alarının olduğunu (Ankara, Sinop, Malatya... v.s.) serolojik ve izolasyon çalışmalarımız göstermiştir.

Tablo : II — 1959 - 1960 Kış ve İlkbaharında İnfluenza şüpheli hasta ve normal şahıs serumlarında İnfluenza Antikorları

Table : II — İnfluenza Antibodies in the Sera of İnfluenza Suspected Patients and Normal Persons in 1959 - 1960 Winter and Spring

Serum Sera		Menfi adedi No. of	Müsbet Serumlar ve Titreleeri Positives and their titers								Total of Positi- ves
Cinsli Kind	Adedi Num- ber		Nega- tives	Flu A				Flu B			
		8		16	32	Total	8	16	32	Total	
1. Serum Acute stage	85	60	3	1	1	5	13	7	—	20	25
2. Serum Convalescent	26	19	4	—	—	4	3	—	—	[*] 3	7
Çift Serum Acute + Convaless.	32	21	1	2	2	5	2	3	1	6	11
Normal serum Normal sera	512	296	49	7	0	56[*]	126	32	5	[*] 163	219 [*]
Total	655	396	57	10	3	70	144	42	6	192	262 (*)

[*] Bu rakamlara hem A hem B müsbet olan 3 serum dahildir.

[*] These numbers include three sera which are Flu A and B positive.

N e t i c e

1959 - 1960 kış ve ilkbaharında memleketimizde influenza vak'aları olmuşsa da hastalık epidemi haline gelmemiş, kısa süreli olmuş ve mahdut kalmıştır.

Boğaz çalkantısı numuneleri ancak tarafımızdan usulüne uygun olarak alınıp laboratuvarımıza getirilebildiğinden virus izolasyonu yalnız Ankara'dan temin edilebilen numunelerde mümkün olmuştur. Diğer vilayetlerden adi posta ile gönderilmiş olan numuneler günlerce yüksek hararete kalmış olduğundan, virus izolasyonu mümkün olamayacağı için tetkik edilmemiştir.

1959 - 1960 kışında bütün dünyada olduğu gibi bizde de influenza vak'alarının ekseriyetinin A: tipi virus ile meydana geldiği, Ankara'dan alınan numunelerden izole ve idantifiye edilen dört virus suşunun da A: tipinde oluşunun tespiti ile teyid edilmiş oldu..

Serolojik tecrübelerde ise daha çok İnfluenza B antikorlarına tesadüf edişimizi, B antikor seviyesinin bir çok vak'alarda düşük bulunmasına rağmen, bazı Avrupa memleketlerinde olduğu gibi (İtalya, Finlanda) bizde de, A ile beraber B virusu ile de yeni vak'aların vukua gelmiş olması ihtimali ile izah edebiliriz.

Serolojik taramalarda adenovirus enfeksiyonuna karşı meydana gelmiş antikorlara yüksek nispette tesadüf edişimiz nazarı itibare alınırca, geçirilmiş ve bir kısmı Vekâlete ihbar edilmiş gripal enfeksiyonların büyük bir kısmının adenoviruslarla meydana gelmiş olabileceği düşünülebilir. Nitekim bazı memleketlerde (Kanada, İsveç) gripal enfeksiyonlardan adenoviruslar izole edildiği bildirilmiştir.

H ü l â s a

1959 - 1960 kış ve ilkbaharında, bütün kuzey yarım küresinde olduğu gibi, bizde de solunum sistemi enfeksiyonu vak'aları artmış ve amilin çoğunlukla A: tipi İnfluenza virusu olduğu, yapılan izolmanların (8 adet) idantifikasyonu (4 ünün) ile anlaşılmıştır.

Gerek hasta ve gerekse normal insan serumlarında yapılan serolojik tetkiklerde influenza B ve adenovirus antikorlarına da yüksek nispette tesadüf edilmesi, görülen gripal enfeksiyonların büyük bir kısmının bu viruslarla meydana gelmiş olabileceğini düşündürmektedir.

1959 - 1960 kışında memleketimizde İnfluenza enfeksiyonu kısa süreli olmuş ve selim seyretmiştir.

INFLUENZA IN TURKEY IN 1959 - 1960 WINTER

Dr. Elhan ÖZLÜARDA

Prof. Dr. Zühdî BERKE

«WHO» İnfluenza Center, Virology Department of Refik Saydam Central
Institute of Hygiene

Summary :

From the throat washings of 65 cases of İnfluenza 8 viruses were isolated and identified as A: strain.

Serological examinations showed that a large number of cases with upper respiratory disease were due to İnfluenza B and Adenoviruses.

Presented at the IX. Biannual Meeting of The Turkish Microbiological Association in Istanbul.

KUDUZ AŞISI NETİCESİ TEESSÜS ETMİŞ BİR NEURİTİS VAK'ASI

Dr. Gülseren ERONAT

Ankara Hastanesi Nöroloji
Kliniği Başaüstanı

Dr. Azmi ARI

R. S. Merkez Hıfzıssıhha
Enstitüsü Mütchassısı

Dr. Sadık OKKAN

Ankara Hastanesi Bakteri-
yoloji ve Enfeksiyon Hasta-
lıkları Mütchassısı

Kuduz aşısından sonra görülebilen komplikasyonlardan bir kısmı lokal olarak aşının tatbik edildiği tarafta, ağrı, kızarıklık, şişlik ve endüryasyon gibi reaksiyonlardan ibaret olup, bunlar umumiyetle geçici mahiyettedirler.

Simple ve U. V. irradiye aşılarında olduğu gibi, içinde sinir dokusu ihtiva eden aşı nevelerinin mühim komplikasyonları, aşının sinir dokusu komponentinin sensitizasyonu'na bağlı olarak teessüs edebilen encephalomyelitis'lerdir. Bunları 3 gurupta toplamak mümkündür.

- 1) Muhiti nöritisler,
- 2) Dorso Lümbal miyelitler,
- 3) Landry tipi, çıkıcı vasıfta felçler.

Bu çeşit encephalomyelitis'lerin allerji esasına dayandığı hakkındaki nazariye, Morgan'ın 1947 de bildirdiği maymun deneyleri ile teyit edilmiştir. Bu suretle aşından mütevellit nörolojik komplikasyonların, aşı ile birlikte vücuda girebilen sinir dokusuna karşı husule gelen allerjik bir reaksiyondan ileri gelmekte olduğu ileri sürülmektedir. Buna nazaran aşılanan binlerce şahıs arasından niçin pek azında bu nevi ihtilâtların tezahür ettiği meselesi de kolay olarak izah edilebilir.

Aşından mütevellit komplikasyonlar, dört yüzde bir'den bir kaç binde bir'e kadar değişen nisbetlerde bildirilmiştir. New-York City istatistiklerine göre : aşı tatbik edilen her 2025 kişiden 1 kişide encephalomyelitis veya neuritis teessüs etmiştir. Nisbet, on dört enjeksiyon yapılanlarda, yedi veya daha az enjeksiyon yapılanlara nazaran, beş misli artmaktadır.

İstanbul hariç Türkiye'de son 26 senedir kuduz aşısı tatbik edilen 248.510 kişiden cem'an 19 unda Paralitik aksidan tesbit edilmiştir. Nisbet % 0,0076 dır. Bunlardan 5 tanesi maalesef ölümle sonlanmıştır, görüldüğü gibi, aksidan paralitık nisbeti elimizdeki malûmata göre memleketimizde gayet düşük bulunmuştur.

Bu tip komplikasyonlara 2 nci defa aşı tatbik edilenlerde daha sık raslanır. Komplıkasyonlar ilk aşı tatbik edilenlerde birinci dozun tatbikinden sonra 8ilâ 21 nci günler arasında olmaktadır. 46 vak'adan ibaret olan bir seride hiç bir ölüm veya daimî sekel bırakan âraz görülmemiş ise de, fatalite muhtemeldir.

Her ne kadar tesir değeri hakkında kesin bilgi verilmiyorsa da, bu reaksiyonların tedavisinde ACTH ve Cortisone kullanılmaktadır. Ateşle müterafik baş ağrısı, bulantı, umumî lymphadenopathy ve halsizlik gibi âraz sinir dokusu aşısını kesmek için kâfi endikasyon teşkil eder.

Sinir dokusu aşılarının bu tehlikeleri gözönüne alınarak son zamanlarda (Ördek embriyo aşısı) imâl edilmiştir. Bu şekildeki aşıda pek cüz'î sinir dokusu bulunur; Yahutta hiç sinir dokusu ihtiva etmez. Böylece allerjik encephalomyelitis riski de çok azalmış olur.

Ayrıca her ısırık vak'asına aşı tatbiki yerine hakiki şüpheli ısırıklara aşı verilmesi, seyrek de olsa tezahür eden nörolajik komplıkasyonları daha da azaltacaktır.

V A K ' A

Halûk Aktan, 16 yaşında öğrenci, Giresun, Pr. 930 7 - 24/3/1960.

Şikâyeti : Kol ve bacaklarındaki ağrı, hareket ve hissiyet azlığı.

Hikâyesi : Hastaneye yatmadan 20 gün önce bir sokak kedisi elini tırmalamış, kedi bir hafta sonra ölünce kendisine kuduz aşısı yapılmaya başlanmış (22.2.1960). Her gün 6 cc den 11 gün aşı yapılmış, dokuzuncu gün bulantı, geceleri sıkıntı ve bacaklarında ağrı başlamış, on birinci aşıda bu haller artmış, ense sertliği, kol ve bacaklarda hissizlik, hareket zorluğu meydana çıkınca bulunduğu memleket olan Giresun'dan Ankara'ya getirilerek kliniğimize yatırılmıştır.

Soy ve öz geçmişi : Ailevî hastalık tarif edilmiyor. Anne ve babası, kardeşi sağ ve sıhhatte. Kendisi 5 yaşında adenopati geçirmiş.

Genel durum : Aktif yapıda, teşekkülâtı tam, cilt ve mukozalar normal, ateş 37, nabız 100 muntazam, tansiyon arteriyel 10, 5 - 6,5, uyku ve iştaha az, miksiyon ve defekasyon tabii.

Nörolojik muayene : Baş ve boyunda : gözler, dil, uvula hareket ve refleksleri tabii, hissiyet tabii, ense sertliği mevcut. Kollarda sağda fazla olmak üzere yumruk yapma ve kolları kaldırmakta zorluk kuvvetsizlik, iki taraflı biceps ve radius refleksleri yokluğu olup hissiyet iki taraflı boyuna kadar hipoesteziktir. İki taraflı karın cildi refleksi yok, gövdede hipoestezi mevcuttur. Bacaklarda hareket noksanlığı bariz olup sol bacak yataktan 45 derece kaldırılabilir, hafif fleksion ve ekstansiyon mevcut. Aşil ve patella refleksleri iki tarafta da yok. Solda Babinsky müsbet, sağda lakayt. İki taraflı Hipoestezi mevcut. Basmakla adaleler ağrılı. Gayrı iradî hareket ve trofik bozukluğu yok.

Diğer sistemlerde patolojik bulgu mevcut değil.

Göz dibi muayenesinde : arter ve venler tabii, her iki papilla nazal superiör sektörde hudutları silik ve kabark.

İdrar muayenesi : Tabii.

Kan : Sedimantasyon 2 - 8 - 23, Hb. % 80, BK 8200, KK 4040000.
Formül : Eo 1, St. - Seg. 69. Ly. 27, Mono 3, Bas 2.

Klinik teşhis : Kuduz aşısına bağlı polinevrit.

Tedavi : B₁ ve B₁₂ vitaminleri, terramycin, Deltacortril tatbik edildi. 10 uncu günde masaja başlandı, yatışından bir hafta sonra ense sertliği kayboldu, refleksler normale döndü, on yedinci günün sonunda şifa ile taburcu edildi.

SUMMARY

of

A CLINICAL CASE of NEURITIS DUE TO RABIES VACCINATION

The Etiology and Clasical knowledge of the Paralytic Accident due to Rabies Vaccination reviewed.

In addition, some, statistical data from world literature and from Turkey are given. In fact, during last 26 years (1933 - 1959) 19 paralytic cases reported among 248. 510 vaccinated. The vaccine used mainly produced from sheep brains and it contains 0.5 % Phenol in it. 5 out of 19 cases were died.

As it is seen, the rate of paralytic cases fortunately is very very low when it compared with other countries.

The full description of clinical paralytic case is given ; The patient recovered.

LİTERATÜR

Morgan I. M.,

allergic encephalomyelitis in mankey in response to injection of normal mankey nervious tissüe.

J. Exper. Med. 1947, 85, 131 - 140.

Rivers and - Horsfall,

Viral and Richettsial infection of Man

3 rd Edition, 1959

A. Çilesiz

Türkiye'de Semple aşısı ile Kuduz aşısı tatbikatı ve 16 senelik (1933 - 1948) neticeleri.

Türk. İjyeni ve Tecr. Biol. Dergisi 1949, 9/2, 24.

A. Arı,

Henüz neşredilmemiş doküman.

TÜRKİYEDE SON ONBİR SENELİK (1949 - 1959) SEMPLİ USULÜ KUDUZ AŞI TATBİKATI NETİCELERİ

Dr. Azmi Arı MPH

Refik Saydam M. H. Enstitüsü Viroloji ve Virus Aşılı Şubesi

Şef : Prof. Dr. Zühdî BERKE

Enstitümüzde Semple usulü ile kuduz aşısı istihsal ve tatbikati 1932 senesinde başlar (1). Aşılama hastanın çok yakınına kadar götürülen bu usulde, 1932 yılından itibaren kuduz aşısı istasyonlarının sayısı muntazaman artırılmış olup 1933 de 26 istasyonla faaliyete geçilmişken bu sayı 1948 de 82 (1), 1953 de 127 (2) ve nihayet 1959 da 254 e yükseltilmiş bulunmaktadır.

Aşının hazırlanmasında ve tatbik şeklinde zamanla bazı değişiklikler yapılmıştır (1). Son yapılan değişiklikler 1960 Kuduz Aşısı Talimatında tafsilâtı ile görülecektir. Burada başlıca değişiklikleri kısaca sıralıyoruz, bunlar :

- a) Lokal yara tedavisine gerekli ehemmiyetin verilmesi,
 - b) Vahşî hayvanların ve kuduz olduğu klinikçe tesbit edilen hayvanların sebebiyet verdikleri vak'alara bir defada evvelâ serum ve 24 saat sonra Semple tipi ve 20 günlük aşısı şemasının tatbiki,
 - c) 24 günlük aşısı şemasının tamamen kaldırılması,
- gibi hallerden ibarettir.

Protokollerin tetkiki, Enstitüde kuduz aşısının canlı Virus-Fiks ile hazırlanmasının 1956 danberi tamamen terk edildiğini göstermektedir. Bu kararda, kuduz hiperimmün serumu ve arkasından Semple tipi ölü aşısı tatbikatının tecrübe hayvanlarında gösterdiği iyi neticelerin (3) ve tatbikatta bunu teyit eden bulguların rol oynadığı aşıkârdır.

Semple usulü kuduz aşısı istihsaline ait teknik tafsilât Abdülkadir Çilesiz ve Nafi Türkay'ın (1,2) yazılarında mevcut olduğundan, burada bu

Bu yazının bir özeti, 1960, LX. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde dercedilmiştir.

hususla ayrıca temas edilmemekle beraber, aşının müessiriyet kontrolünde kullanılan «Habel» testinden kısaca bahsetmek yerinde olacaktır.

Filhakika bu testde esas, hepsi aynı vasıflarda olan 70 - 80 fareyi aşlamak (farelere iki hafta arka arkaya haftanın ilk üç günleri aşının 1/10 sulandırımından günde 0,25 cc P. İ. zerkler yapmak) diğer bir 50 fareyi kontrol olarak bulundurmak ve son aşlamadan iki hafta sonra aşı ve kontrol farelere canlı kuduz Virus - Fiks vererek (onarlık fare gruplarından aşıllara virusun 10^{-2} 10^{-5} ve kontrollere 10^{-5} . . . 10^{-7} sulandırımından B. İ. 0,03 cc) aşı ve kontrol gruplarda virusun hesaplanacak % 50 ölümler dozlari (% 50 ÖD) arasındaki farkı bulmaktan ibarettir. İyi bir aşıda bu fark 2-4 log. olmalıdır.

Bu test, vasatı iki aylık bir zaman aldığından her hafta istihsal edilen ve kullanma müddeti muayyen olması itibariyle istihsalinden itibaren bir iki ay içerisinde sevkedilmesi lâzım gelen bir aşıda her seri için pratikte tatbik edilememektedir. Filhakika, bütün dünyada olduğu gibi ve Dünya Sağlık Teşkilâtınca işaret edildiği üzere Enstitümüzde de kuduz aşısının senede 3-4 defa müessiriyet kontrolü yapılagelmektedir. Ayrıca, virusun enfektivite ve patojenitesinin her pasajda yakinen müşahadesinin mümkün oluşu aşının antijenitesi hakkında iyi bir fikir verici rolündedir.

Hiperimmün Kuduz Antiserumu (Antirabik Serum),

1960 Kuduz Aşı Talimatı gözden geçirilecek olursa, kuduz şüpheli ısırılma vak'alarının Semple aşısı ile korunması yanında bilhassa kuduz olduğu kat'i bilinen hayvanların sebebiyet verdiği tehlikeli ısırıklarla, vahşi hayvanların ısırılmalarında Semple usulüyle aşılamaya başlamadan önce serum tatbikatının günlük pratiğe girmiş olması ve bunun müsbet neticeleri kuduzdan korunmada antirabik serumun ehemmiyetini aşikâr olarak ortaya koyar.

Antirabik serum memleketimizde sıhhatli merkep ve beygirlerden istihsal edilir (6). Antirabik serumun tatbikattaki iyi neticelerine ait neşriyat her gün artmaktadır (3, 5, 7, 8). Filhakika, aşağıdaki tabloda da görüleceği gibi, memleketimizde çok ağır ısırık vak'alarından son beş sene içerisinde antirabik serum tatbik edilen 266 sının hiç birinde kuduzdan ölüm kaydedilmemiştir. Bu neticeler, antirabik serumun ağır ve bariz şüpheli ısırılmalarda şahsı hastalıktan koruma mevzuurunda ne derece ehemmiyetli olduğu hakkında bir fikir verecek açıklıktadır. Pratikte, serum tatbikinden doğacak komplikasyonları nazarı itibara alarak şüphe-

siz, serumun lüzumsuz tatbikinden kaçınmak icap eder. Ayrıca, serumun ısırlmadan itibaren ancak ilk 72 saatta müessir olduğu düşünülürse geç müracaat eden ağır ısırık vak'alarına serum tatbikinden pratik bir fayda beklenemez. Son iki senelik istatistik malûmatın tetkiki, 1958 de 60 serum tatbikinden 4 ünün ve 1959 da 140 serum tatbikinden 10 unun 4-5 inci günlerde müracaat eden ağır ısırıklılara vaktin geçmiş olmasına rağmen tatbik edilmiş olduğunu göstermektedir.

Cetvei : 1

Türkiye'de 1949 - 1959 Semple Aşı Tatbikatı Neticeleri

Seneler	(1) Aşılana sayısı	(2) Antirabik serum verilenler	(4) Kuduzdan ölüm	Ölüm % sı	Aksidan Paralitik (A. P.)	A. P. neticesi
1949	7.084	—	4	0.056	1	Şifa
1950	7.864	—	3	0.040	2	Şifa
1951	6.859	—	1+ 1	0.015	—	—
1952	9.124	—	1+ 1	0.011	1	Ölüm
1953	14.756 (3)	—	10+13	0.07	—	—
1954	13.513	—	18+ 7	0.06	1	Şifa
1955	17.223	12	5+ 4	0.03	—	—
1956	16.189	24	3	0.02	—	—
1957	18.965	30	11+ 7	0.06	1	Ölüm
1958	21.199	60	8+ 3	0.04	1	Şifa
1959	28.869 (3)	140	4+ 9	0.013	1	Ölüm
Toplam	161,645	266	58+45	0.036	8	

- (1) Şüpheli ve kuduz hayvanların sebebiyet verdiği ısırıkların neticesi aşılana sayısı (bütün aşılana 193.296 dır),
- (2) Serum tatbik edilenler arasında kuduzdan ölüm ve paralitik aksidana rastlanmamıştır.
- (3) 1953 ve 1959 senelerinde umumî tıbbî yapılarca bazı istasyonlarda birikip kalmış fişlerin getirilmesinin rakamları birden artırdığı görülmektedir.
- (4) İkinci rakamlar aşılama işlemleri arasında kuduzdan ölümleri gösteriyor, izahat tekstdedir.

1 numaralı cetvel tetkik edildiği zaman aşuya tâbi tutulanların 1949 dan bu yana aşı istasyon sayısının çoğalmasına paralel olarak muntazam arttığını ve 1959 da 4 katına çıktığını gösteriyor. Bu artışta aşı-

ama hizmetlerinin halkın ayağına götürülmüş olması rol oynamakla beraber, memleket nüfusunun çoğalması ile beraber bilhassa köylü vatan-
daşın sıhhatını alâkadar eden mevzularda hekime müracaat etme itiyatının teşekkülünün de büyük payı vardır.

Diğer memleketlerin istatistikleri ile karşılaştırıldığı zaman memleketimizde kuduzdan ölüm nisbeti umumiyetle düşük bulunmuştur. Son onbir senede kuduzdan tesbit edilen 103 ölüm vak'asının, hemen hemen % 45 i maalesef hiç bir aşı tedavisi görmemiş şahıslara inhisar ediyor. Bunlarda hastalığın vasati kuluçka devri 40 - 60 gün arasında bulunmuştur. Aşı tatbikine rağmen tesbit edilen diğer 58 ölümün ananizmelerinin tetkiki, bunlardan büyük bir çoğunluğun kuluçka süresinin 10 - 30 gün arasında değiştiğini göstermektedir. Bilindiği gibi kuduz aşısı tatbiki ile beraber tam bir immünite dördüncü haftadan itibaren teessüs ettiğine göre ölümler immünitenin henüz tam teşekkül etmediği devreye rastlamaktadır. İlerde, bu gibi vak'alara vaktinde antirabik serum tatbiki, ölümleri şüphesiz daha da azaltacaktır.

Şimdiye kadar antirabik serum tatbiki eldeki imkânlarla göre bakterioloğu bulunan kuduz aşısı istasyonlarına inhisar ettirilmiştir. Önümüzdeki senelerde serum tatbikinin bütün Vilâyet merkezlerindeki kuduz aşısı stasyonlarına teşmil edilmesi programa alınmıştır.

Bu suretle ısırlıktan itibaren en geç 72 saat içerisinde tatbiki icap den antirabik serumun, lüzumlu vak'alara tam zamanında verilmesi kolaylaştırılmış olacaktır. Ancak, istihsali uzun zaman alan, büyük emek mahsulü ve masraflı olan antirabik serumu olur olmaz kullanmanın zararlarını burada bir defa daha kaydetmek yerinde olacağı kanaatindeyiz.

Paralitik Aksidana gelince ;

161643 u kuduz veya kuduz şüpheli ve 31648 i kuduz olmadığı mühede sonunda tesbit olunmuş ısırlıklara ait olmak üzere cem'an 193.291 ilamaya mukabil, onbir sene içerisinde sadece 8 paralitik aksidan bildirilmiştir. Bunlardan beşi aşının bırakılması ve yardımcı tedavi sayeide tamamen şifa ile sonlanmış olmasına mukabil diğer üç vak'ada staları kurtarmak maalesef mümkün olamamıştır.

Paralitik aksidan nisbetindeki tesbit edilen düşüklüğün, Enstitüde 1945 - 1947 senelerindenberi aşısı istihsalinde tavşan yerine koyun mi kullanmakla bir münasebeti olup olmadığı düşünülmeye değer gönmektedir. Ayrıca, bu gibi vakaların ihbarında yanlışlıkların yapılabiği hatıra gelebilir.

Paralitik aksidan kuduz aşısı tatbikati esnasında zuhur eder. Bununun veya tavşan beyin maddelerine karşı bazı şahıslarda teessüs eden

hususî bir hassasiyete bağlı olduğu anlaşılmıştır. Paralitik tip reaksiyonlara evvelce kuduz aşısına tâbi tutulanlarda daha sık rastlandığı bildirilmektedir. Bizim vak'alarımızda bu husus maalesef tavzih edilmediğinden kat'î bir şey söylemek mümkün değildir. 1940 senesinde Mc. Kendrick kuduz aşısı tatbik edilen 488.795 şahıstan 14 ü ölümle sonlanan 55 paraliz vak'ası bildirilmiştir (7).

Aşağıda, bir fikir vermek üzere Türkiye'de son 11 senelik kuduz aşı istatistik malûmatını toplu olarak veriyoruz ; bu rakamlar, ilerde memleketimizde kuduz hastalığının tam bir kontrolü yapılması plânlanırken mütehassıslara, hangi noktalar üzerinde itina ile durulması icap edileceği hakkında yardımcı olacaktır.

CETVEL : 2

1. Kuduz ve kuduz şüpheli (A, B, C) ve müşahede sonunda kuduz olmadığı anlaşılan (D) hayvanların ısırma veya salyalarının bulduğu yara veya bereler neticesi aşıya tâbi tutulanların sayısı :

Seneler (Years)	Isıran hayvanın hastalık haline göre tedaviye alınanların sayısı (Number of patients treated according Status of biting animal)	
	Kuduz veya kuduz şüpheli Rabies or unknow (A, B, C)	Müşahede sonunda sağlam (D) Healty at the end of observation
1949	7.084	1.281
1950	7.864	1.354
1951	6.859	1.003
1952	9.124	1.582
1953	14.756	3.083
1954	13.513	3.070
1955	17.223	3.485
1956	16.189	2.934
1957	18.963	3.862
1958	21.199	4.292
1959	28.869	5.702
	161.643	31.648

CETVEL : 3

Aşı tatbik edilenlerin kaç günlük şemaya tâbi tutulduklarına ait tasnif :

Seneler (Years)	Kaç günlük şema (Scheme)		
	14	20	24
1949	2.387	2.532	3.446
1950	3.721	2.798	3.466
1951	3.426	2.299	2.137
1952	5.259	2.941	2.539
1953	9.285	4.899	3.655
1954	6.175	4.382	2.956
1955	8.187	5.178	3.858
1956	8.240	4.759	3.350
1957	9.416	5.859	3.688
1958	10.145	6.536	4.518
1959	13.594	9.095	6.180
	79.835	51.318	39.798

CETVEL : 4

Vak'aya sebep olan hayvanların kuduz olma ihtimallerine göre tasnif :

Seneler (Years)	Kategoriiler (Categories)			
	A	B	C	D
1949	43	989	6.042	1.281
1950	185	1.013	6.666	1.354
1951	117	1.219	5.523	1.003
1952	230	1.194	7.700	1.582
1953	218	2.132	12.406	3.083
1954	238	1.477	11.798	3.070
1955	257	1.987	14.979	3.485
1956	279	2.431	13.479	2.934
1957	292	1.920	16.751	3.862
1958	171	3.407	17.621	4.292
1959	256	1.661	26.952	5.702
	2.286	19.440	139.917	31.648

Kategori A (Laboratuvar muayenesinde kuduz olduğu anlaşılanlar)

Kategori B (Klinik muayene ile kuduz olduğu anlaşılanlar)

Kategori C (Akıbeti meşhûl, kuduz şüpheliler)

Kategori D (Kuduz olmadığı müşahede sonunda veya laboratuvar muayenesi neticesi tesbit edilenler)

CETVEL : 5

Yarannn karakterine g6re tasnif :

Seneler (Years)	Yarannn vash (Status of Wound)		
	Derin (Sever)	Sathi (Slight)	Temas (Contact)
1949	658	5.227	2.480
1950	988	5.401	2.829
1951	595	4.879	2.388
1952	886	6.674	3.146
1953	1.679	9.982	6.178
1954	1.085	7.619	4.809
1955	827	9.233	6.943
1956	2.578	8.029	5.582
1957	1.207	9.638	7.638
1958	1.558	10.691	8.950
1959	2.198	14.270	12.401
	14.959	91.643	63.344

CETVEL : 6

Çıplak ciltten veya elbise 6zerinden ısırıldığına g6re tasnif :

Seneler (Years)	Y A R A (Wound)		
	Çıplak ciltten (Bare Skin)	Elbise 6zerinden (Trough clothes)	Temas (Yara yok) (Contact)
1949	2.485	3.400	2.480
1950	2.954	3.435	2.829
1951	2.216	3.258	2.388
1952	3.235	4.325	3.146
1953	5.918	5.743	6.178
1954	4.136	4.568	4.809
1955	5.164	5.116	6.943
1956	5.918	4.689	5.582
1957	5.884	5.441	7.638
1958	6.257	5.992	8.950
1959	9.235	7.233	12.401
	53.402	53.200	63.344

CETVEL : 7

Yaranın mevkiine göre tasnif :

Seneler (Years)	Y A R A (Wound)				
	Baş (head)	Kol (arm)	Gövde (body)	Bacak (leg)	Temas (Contact)
1949	384	2.080	285	3.136	2.480
1950	542	2.564	274	3.009	2.829
1951	344	1.936	213	2.981	2.388
1952	540	2.635	299	4.088	3.146
1953	848	3.995	332	4.686	6.178
1954	532	3.566	317	4.789	4.809
1955	732	3.958	323	5.267	6.943
1956	757	5.210	375	5.068	5.582
1957	711	4.657	450	6.007	7.638
1958	828	4.594	465	6.357	8.950
1959	1.371	6.399	566	8.132	12.401
	7.589	41.594	3.899	53.520	63.344

CETVEL : 8

Isırılan gün ile aşı tatbiki arasında geçen zamana göre tasnif :

Seneler (Years)	G Ü N (day, vaccination started)				
	0 - 4	5 - 7	8 - 14	15 - 21	21 den fazla
1949	6.405	1.130	535	153	142
1950	6.697	1.417	828	189	87
1951	6.492	632	529	127	82
1952	8.768	936	655	223	125
1953	14.192	1.888	1.019	544	196
1954	10.640	1.516	824	375	158
1955	12.943	2.488	1.225	348	219
1956	13.053	1.526	1.109	331	170
1957	14.556	2.090	1.186	850	250
1958	15.409	2.550	2.140	849	281
1959	23.438	2.806	1.757	493	375
	132.593	18.979	11.807	4.482	2.085

ISIRAN HAYVANIN NEVİNE GÖRE TASNİF

Seneler (Years)	Köpek (Dog)	Kedi (Cate)	Fare (Mouse)	Çift tınaklı (Sheep and cow)	Tek tınaklı (Horse and donkey)	İnsan (Human)	Kuş ve bezer- ler (Birds)	Kurt (Wolf)	Çakal (Jackal)	Diğer vahşi hayvan- lar (Others)
1949	5.758	937	369	374	228	518	70	21	60	30
1950	6.281	868	440	718	282	456	50	25	68	50
1951	5.348	455	450	417	273	851	30	2	24	32
1952	7.658	912	600	633	329	463	31	15	35	30
1953	12.566	1.347	1.017	1.256	543	783	30	73	94	30
1954	9.573	860	708	917	434	884	25	28	59	25
1955	11.191	1.050	1.406	1.495	632	1.269	30	—	—	—
1956	9.667	1.292	1.052	2.503	756	792	31	11	94	71
1957	12.554	1.164	1.230	1.742	651	1.452	38	50	99	83
1958	13.961	1.261	1.378	1.964	520	1.653	53	22	64	323
1959	18.770	1.867	2.059	2.862	1.155	1.814	64	49	121	108
	113.307	12.013	10.709	14.881	5.783	10.836	452	310	894	812

3 den 9 a kadar olan cetvellerde tasniflere 1949 - 53 senelerinin D kata
görüsünde olan rakamlar dahildir.

L İ T E R A T U R

1. Abdülkadir Çilesiz,
Türkiye'de Semple usulü ile kuduz aşısı tatbikatı ve 16
(1933 - 1948) senelik neticeleri
Türk İjyeni ve Tecrübi Biol. Dergisi, 1949, 9/2, 24
2. Nafi Türkay,
Türkiye'de 1953 yılı içinde Semple aşısı tatbikatı ile An-
kara Refik Saydam M. H. Enstitüsünde Högyes - Philips
Metodu ile aşı tatbikatından alınan neticeler.
Türk İjyeni ve Tecr. Biol. Dergisi, 1954, XIV/1, 62
3. Zühdi Berke, Nafi Türkay,
Kuduzda seroprofilaksi Problemi,
Türk İjyeni ve Tecr. Biol. Dergisi, 1957, XVII/3, 179
4. Organizastion Mondial de la Santé,
La Rage, Technique de Laboratoire.
Serie de Monographies 23, 1955.
5. W. H. O.,
Expert committee on Rabies,
Technical Report Series No. 121, 1957
6. Aşılar, Serumlar, Antijenler, Allerjenler ve Serolojik Teamüller,
1958, üçüncü bası.
7. Thomas M. Revers Frank L. Horsfall.
Viral and Rickettsial Infection of Man,
Third Edition, 1959
3. N. Barme,
La Serum Antirabique dans le traitement de Morsure de la
Rage en north Vietnam,
Ann. Inst. Pasteur, 1958, 94, 384
1. Dr. Strephan Baecher,
Türkiye'de Kuduz aşısı tatbikatı,
Türk İjyeni ve Tecr. Biol. Dergisi, 1940, 2/1, 85.

RESULTS OF RABIES VACCINATION BY SEMPLE METHOD IN TURKEY DURING LAST ELEVEN YEARS (1949 - 1959)

Dr. Azma Ari MPH

Virology and Virus Vaccines Production Dept.

Chief : Prof. Dr. Zühdi BERKE

In Refik Saydam Central Institute of Hygiene Production of Rabies vaccine by Semple method set out in 1932. At the beginning, only 26 vaccination centers established in different part of the country then, the number of vaccination centers increased continuously. However, this number reached to 82 in 1948 (1), 127 in 1953 (2), and to 254 in 1959 respectively.

The procedure of preparation of vaccine and the application of it has slightly been changed during this period (1). In fact, the last modification has been written in detail in «Rabies Vaccination Regulation book-lete for Semple method, 1960»; the main points on this subject have been summerised as follow :

- a) Emphacising the importance of local treatement of wound at the possible earlier time,
- b) Application of antirabic serum in one time followed by 20 days (4 ml/day) vaccination scheme after 24 hours of serum take up for the petients who are severely bitten by either vild or rabid and suspected rabid animal or the people severely bitten by an ascaped animal which bites more than one person,
- c) Abolishing 24 days (6 ml/day) vaccination schedule which used to be present for long time.

Production of living virus vaccine by Högyes - Philips method abandoned in 1956 in general in this institute, and other places except Istanbul. The Convincing results of the experiments made in this institute (3) and other places show the efficacy of the antirabic serum followed by Semple type vaccinatın in severely biten individuale.

This paper presented at the IX. Blannual meeting of Turkish Microbiological Association at Istanbul.

Similar results were also obtained from field application and experience. Those are the facts which are great to do on this decision together with many other advantage of Semple type vaccinat in our

Country :

At the present time every week almost 50-60 litres of 5% infected sheep brain tissue, Semple type rabies vaccine produced in this institute ; the vaccine contains 0.5% of acid phenic in it and for every batch of vaccine the following tests have been done regularly : sterility and safety ; whereas potency test done only 3-4 times in a year. As it is known each potency test takes approximately more than two months which is not practical for routine purpose in our conditions. On the other hand, stability of Fix-Rabies virus is well known for infectivity and antigenicity ; the former has been checked in every week.

Antirabic Serum produced in this institute regularly from healthy hors and donkey (6). Its efficacy shown by neutralisation test in mice using a freeze dried control serum, comes from WHO, or its equivalent.

The value of one dose antirabic serum followed by a course of vaccine (Semple type), in the treatment of severely bitten or wounded individuals shown by many auters (3, 5, 7,8). In fact, our observations confirm these findings. However, as it will be seen from the table there is no death among non of the 266 severly bitten persons which received one dose serum folloved by a course of vaccine during the last 5 years in the whole country.

TABLE : 1

Results of Semple Type Rabies Vaccination During 1949 - 1959 in Turkey

Years	Number of			% death	Accident Parali- tle (AP)	Result of (AP)
	Vaccinated (1)	Antirabic Serum given (2)	Death from Rabies			
1949	7.084	—	4	0.056	1	Recovery
1950	7.864	—	3	0.040	2	Recovery
1951	6.859	—	1+ 1	0.015	—	—
1952	9.124	—	1+ 1	0.011	1	Death
1953	14.756	—	10+13	0.070	—	—
1954	13.513	—	18+ 7	0.060	1	Recovery
1955	17.223	12	5+ 4	0.030	—	—
1956	16.189	24	3	0.020	—	—
1957	18.865	30	11+ 7	0.060	1	Death
1958	21.199	60	8+ 3	0.040	1	Recovery
1959	28.869	140	4+ 9	0.013	1	Death
Total	161.645	266	58+45	0.036	8	

- (1) This include the number of vaccinated either bitten by a rabies or suspected animals,
 (2) There were not any death among individuals who were already given anti-rabic serum,
 (3) The second figures showing the number of death from rabies for the people who are not given any vaccine treatment.

As it is seen from the table — 1 the number of vaccinated people increased continuously from 1949 onward as it used to be rather in a small scale. In fact this number is almost 4 times high in 1959 than in 1949. However, there are a couple of explanation of it as we think :

- a) The number of vaccination station increased continuously and spread all over the country so that every person could reach and get the vaccination facilities much easily than before as years go by.
- b) The population of the country has been increased as well ; In fact, it was 21 million in 1950, 24 million in 1955, and probably about 30 million in 1960.

- c) People are getting more interested for their health therefore, they go to the physician for all sort of medical cares including rabies vaccination more often nowadays. This one is the more important facteur as one can say, we presume, in the explanation of the about fact.

When one looked at the number of death from rabies during this period, it is seen that death rate is fairly low among vaccine treated persons (average 0.036). 45 out of 105 deaths unfortunately had no vaccination what so ever. Incubation period of the disease is about 40 - 60 days among untreated persons whereas it is about 10 - 30 days among vaccine treated. Since, active immunity in rabies, completed not before than four weeks after vaccination started, it is quite understandable why vaccine itself has no effect for the cases which have short incubation period. We believe, in the future, when application of anti-rabik Serum plus semple type vaccination schedule for the proper cases spread in every part of the country as we imagine, this will decrease the number of death from rabies even below the present number.

Statistical data for rabies vaccination, for the last eleven years in Turkey have been given in tables at Turkish title.

SEMPLİ USULÜ İLE KUDUZ AŞISI

Aşının hazırlanması :

Ankara Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsünde hazırlanan Kuduz Aşısı % 5 koyun dimağı (Virus - Fiks) ile % 0.5 fenol emülsiyonundan ibarettir. Bu aşı, Pasteur zamanındanberi, bir çok müteakıp pasajlarla Virus Fiks haline getirilmiş Kuduz virusu ile hazırlanır. Aşıdaki Virus - Fiks inaktivedir.

Bu aşığı hazırlamak için beyin zarı altına veya beyin içerisine sıringa suretiyle enfekte edilen tavşan veya koyunlar muayyen ve sabit bir enkübasyondan sonra aşı virusuna ait semptomları gösterirler. Felçlerin en ileri devrinde ve hayvanın ölümünden kısa bir zaman evvel kamı akıtılmak suretiyle öldürülür, ve siteril şartlar altında dimağı çıkarılır. Usulü dairesinde çalkalanarak ezilir ve üzerine fenollü fizyolojik tuzlu su ilâve edilmek suretiyle hazırlanır.

Kontroller :

Kuduz Aşısında :

- a) Zararsızlık
- b) Siterilite,
- c) Müessiriyet

tecrübe ve kontrolleri yapılır ve buna göre bir seri numarası verilir. (Aşı hakkında herhangi bir fazla mütalâa istendiği takdirde aşı şişesinin üzerinde yazılı seri numarasının da bildirilmesi lâzımdır.)

A — KUDUZ AŞISININ TATBİK EDİLECEĞİ VAK'ALAR :

Kuduz aşısı profilaktik bir tesire malik olup, teessüs etmiş olan kuduz enfeksiyonuna hiç bir tesiri yoktur. Bu sebeple şüpheli ısırığa ma-

ruz kalan şahsın hiç vakit geçirmeden, yara tedavisine ve aşılmasına başlamak lâzımdır.

Enfeksiyonun teşekkülünde uzviyete giren canlı virus miktarının rolü çok büyüktür. Bu itibarla, ısırılmayı takip eden en kısa zamanda evvelâ yara tedavisine başlamak lâzımdır. Bu maksatla yaranın sabunla yıkanması, alkol ve tentürdiyotla temizlenmesi icap eder. Büyük yaralarda, bu ilk tedaviyi yaranın açık yara tedavisiyle idamesi takip eder.

Aşağıdaki hallerde Kuduz Aşısı tatbik edilir :

a) Kuduz veya kuduz şüpheli olan bir hayvan tarafından deri veya muhat gışası yoluyla ısırılan veya yaralananlar (Bu vak'alarda aşılama müddeti 5 inci sayfadaki şemalara göre tâyin edilir),

b) Isırılma veya yaralanma keyfiyetinin elbise üzerinden olması hallerinde (yaranın şekil ve vafına göre 5 inci sayfadaki şemalardan biri),

c) Hayvan salyasının sıyrık, çatlak deriyle temasa gelmesi,

ç) Kuduz veya kuduz şüphesi olan bir hayvan tarafından tırnaklanmak suretiyle yaralanmalar (yaranın şekil ve vafına göre 5 inci sayfadaki aşılama şemalarından biri),

(Hayvan turnağının kendi salyası ile daima temasta bulunması muhtemeldir).

d) Kuruz veya kuduz şüpheli bir hayvan veya insanın taze salyası ile bulaşmış eşyalarla (hayvanın tasmaı, yuları, dizgini, v.s. gibi) husule gelen yaralanmalar ve bunların yaralı ve bereli ciltle teması,

e) Kuduz veya kuduz şüpheli olan hayvanların otopsi ve âza sekسیونlarını yaparken yaralananlar (20 günlük aşılama şeması) ve bu gibi hayvanların dimağ, nüha, salya guddeleri, ağız - boğaz boşluğu, meri ve mide boşluğu organları ile temas edenler (14 günlük aşılama şeması),

f) Enfekte maddelerin göze, yaralara, iyice kapanmamış yara yerlerine, hafif çatlağı olan deriye bulaşması halinde (yaranın durumuna göre 14 - 20 günlük aşılama şeması),

g) Bir yerde kuduz bir hayvan veya insan zuhur ettiği zaman bunlarla yaralayıcı vasıfta temasta bulunanlar (14 - 20 günlük şemalardan biri),

Kuduz veya kuduz şüpheli hayvanların süt ve etlerini çiğ olarak yi-yenler aşılana tâbi tutulur.)

h) Meçhul hayvanlar tarafından ısırılanlar ve yaralananlar : bun-ların hepsi istisnasız olarak aşuya alınır ve aşı şeması sonuna kadar ara-lıksız olarak tatbik edilir (temas ve yaralanma durumuna göre 5 inci sayfadaki aşılama şemalarından biri tatbik edilir).

Hayvanın kayıp olması, öldürülmesi veyahutta hayvan hakkında şüpheli ifade verilmesi, veya ısırılma tarihinden itibaren uzun zaman geç-miş olması herhangi istisnâ bir muamele yapılmasına lüzum göstermez.

i) Sahipli ve bilinen hayvanlar tarafından ısırılan ve yaralananlar :

(1) Kuduz aşısının tatbik edileceği (yukarıda yazılı «a» dan «h» ye kadar bütün hâllerde olduğu gibi) vak'ların aşılmasına der-hal 14 günlük şema ile başlanmakla beraber hayvanda müşahe-de altına alınmalıdır.

Normal görünüşlü hayvanlarla ısırılma veya yaralanma tarih-lerinden itibaren 13 [*] gün zarfında hayvanda hiç bir ku-duz âraza görülmez ve tam sıhhatta kalırsa aşılamanın kaçın-cı günü olursa olsun aşı kesilir.

Hayvan müşahede esnasında diğer bir hastalıktan ölse bile aşı şemasının tamamlanması icap eder.

Müşahede müddeti içerisinde kuduzdan ölen hayvanların yara-ladığı veya ısırıldığı kimselere,* aşuya 14 günlük şema ile baş-lanmışsa geri kalan aşıları 20 güne çıkarılır. Meselâ, müşa-hedeki hayvan, müşahedenin sekizinci günü ölmüşse şahıs, ge-ri kalan 12 günü, 20 günlük tedavi şemasına göre aşılamağa devam edilir.

(2) Hayvanlar arasında kuduz vak'alarının eksik olmadığı yerler (bulaşık bölgeler) deki her hayvan bidayette kuduz şüpheli itibar edilir ve yukardaki birinci madde aynen tatbik olu-nur.

(3) Aşılı oldukları kesin olarak bilinen hayvanlar (en geç altı ay evvel) tarafından vâki ısırılma hallerinde şahıs bidayette aşuya alınmaz, yalnız hayvan müşahedede bulundurulur. Mü-

[*] Hayvan Sağlık Zabıta Nizamnamesinde bu müddet 13 gün olarak kayıtlı olmakla beraber dünya literatürü ve Dünya Sağlık Teşkilâtı 10 gün müşahe-deyi kâfi görmüş ve kabul etmiştir.

şahede esnasında hayvanda kudurma vuku buhır, ölür veya kaçarsa ısırılanlar derhal aşıya alınır.

j) Çok nadir vak'alar: Hiç bir enfeksiyon ihtimali olmadığı halde, şahsın kuduz hastalığı hakkındaki evham ve şüphelerinin önüne geçmek için (psşik tedavi) kendisine 7 günlük hafif bir tedavi tatbik edilebilir. (Fişde' bu gibi vak'alar için izahat veriniz).

B — AŞAĞIDAKİ VAK'ALARDA KUDUZ AŞISI TATBİK EDİLMEZ :

a) Malûm ve hâlen hayatta salim bir hayvan tarafından 13 günden evvel ısırılan ve yaralanan kimseler, (bu durum iyice tesbit ve şahsın kesin ifade verip vermediği tahkik edilmelidir).

b) Soğuk kanlı hayvanlar (yılan, kertenkele, kaplumbağa ve emsali) tabii olarak kuduza muaf olduklarından, bu gibi hayvanlar tarafından ısırılan veya yaralananlar,

c) Malûm hayvanlar tarafından ısırılan bazı hastalar ve hamileler : (ağır intanlar, altı aydan fazla hamileler, asabî ve akli hastalıkları olanlar, kaşektik kimseler); bu gibi hallerde hayvan derhal müşahedeğe alınır ve 13 günlük müşahede müddetince salim kalırsa aşı tatbik edilmez. Müşahede müddetinde hayvan kuduzdan ölürse derhal aşıya başlanır.

Vak'aya sebep olan hayvan meçhul ise bu gibi hasta şahıslara talimat gereğince aşı tatbik edilir.

d) Kuduz veya kuduz şüpheli hayvanın sütünü ve etini pişirdikten sonra yiyenlere aşı tatbik edilmez.

e) Kuduz veya kuduz şüpheli bir hayvan tarafından dalanan hayvanların etini yiyenlere aşı yapılmaz.

Not : (VAK'AYA SEBEBİYET VEREN HAYVAN NE OLURSA OLSUN ÖLDÜRÜLMEMELİ BİLAKİS MÜŞAHEDEYE ALINMALIDIR. MÜŞAHEDE MÜDDETİ 13 GÜN OLUP HAYVANIN BU MÜDDET ZARFINDA HER İKİ ÜÇ GÜNDE BİR GÖRÜLMESİ LAZIMDIR.)

KUDUZ AŞISININ ENDİKASYON ŞEMASI

Kuduz aşısı muhtemel enfeksiyonu önlemek için profilaktik olarak tatbik edilir. Teessüs etmiş enfeksiyonda aşının ve serumun tedavi edici hiç bir tesiri yoktur.

Yara ve Temasın vasfı	İsraat hayvanının hali		A ş ı t e d a v i s i (Lokal tedaviye ilâveten)
	Bulaştırma, İsırma esnasında	13' günlük müşahede esnasında	
I. İndirekt temas (1) yara yok ¹⁾ (2) yara, bere ve v.s. li deri ile	Kuduz	—	Aşlanmaz
	Kuduz	—	Aşlanır
II. Salya ile direkt temas (1) yara yok (2) yara, bere ve v.s. li deri ile	Kuduz	—	Aşlanmaz
	a) Sıhhatli	Sıhhatli	Aşlanır ²⁾ (14 günlük şema)
	b) Sıhhatli	Klinikman kuduz veya Negri +	Aşlanır, bilâhère şema ayarlanır
	c) Kuduz şüpheli	Sıhhatli	Aşlanır ³⁾
	d) Kuduz, kaçmış, öldürülmüş	—	Aşlanır
III. İsrak, yara (1) safhi	a) Sıhhatli	Sıhhatli	Aşlanır ³⁾ (14 günlük şema)
	b) Sıhhatli	Klinikman kuduz veya Negri +	Aşlanır, bilâhère şema ayarlanır
	c) Kuduz şüpheli	Sıhhatli	Aşlanır ³⁾
	d) Kuduz, kaçmış, öldürülmüş	—	Aşlanır

1) Hayvan Sağlık Zabıta Nizamnamesinde bu müddet 13 gün olarak kayıtlı olma la beraber, Dünya Literatürü ve Dünya Sağlık Teşkilâtı 10 gün müşahedeyi lî fi görmüş ve kabul etmiştir.

2) Bu husus, vücudayı gören hekimin kanaatı ile tayin edilir.

3) Aşı müşahede sonunda bürdür.

Yara ve Temasın vasfı	Isırık hayvanının hall		Aşı tedavisi (Lokal tedaviye ilâveten)
	Bulaştırma Isırma, esnasında	13' günlük müşahede esnasında	
(2) Derin, mütead veya baş, boy parmaklarda	a) Sıhhatli	Sıhhatli	Aşılanır (20 günlük şema)
	b) Sıhhatli	Klinikman kuduz veya Negri +	Aşılanır (20 günlük şema)
	c) Kuduz şüpheli.	Sıhhatli	Derhal serum, sonra aşı
	d) Kuduz, kaçmış, öldürül- müş	—	Derhal serum, sonra aşı
	e) Vahşi hayvan	—	Derhal Serum, Sonra aşı

SEMPLİ KUDUZ AŞISİNİN TATBİK ŞEMALARI

Isırık ve yaralanma vak'alarının şekli ile, vak'aya sebebiyet veren hayvanın durumuna göre Semple kuduz aşısı aşağıdaki tarzlarda tatbik edilir:

- 1 — Hafif yaralı ısırıklar ile sıyrık ve çatlaklı deriyle olan temas vak'alarında : 14 günlük şema
- 2 — Orta şiddetteki vak'alarda : 20 günlük şema
- 3 — Ağır vak'alarda : Serum ve 20 günlük şema

A : 14 GÜNLÜK ŞEMANIN TATBİK EDİLECEĞİ VAK'ALAR :

- a) Belli ve derhal müşahedeye alınan hayvanlar tarafından (yüz, baş, koyun, el ve ayak parmakları hariç) meydana getirilen sıyrıklar ve hafif yaralanmalar,
- b) Elbise üzerinden vuku bulan bütün hafif yaralanmalar,

14 GÜNLÜK ŞEMA

	<u>Günde</u>	<u>Bütün tedavide</u>
Büyüklere	2 cc	28 cc
5 yaşından küçüklere	1 cc	14 cc

B : 20 GÜNLÜK ŞEMANIN TATBİK EDİLECEĞİ VAK'ALAR :

a) 14 günlük şema tatbikini gerektirdiği halde hâdiseden sonra beş gün gecikme ile gelmiş olanlar,

b) Baş, yüz, boyun, el ve el parmakları, ayak ve ayak parmaklarından hafif ve orta şiddette yaralanmalar,

c) Vücudun her hangi yerinde olursa olsun, diğer bariz ısırılma ve yaralanmalar,

d) Vak'aya sebebiyet veren hayvanın kuduz olduğu klinik ve lâboratuvar tetkiki ile tesbit edilmiş olan her türlü vak'alar,

e) Aynı hayvan tarafından ısırılan veya yaralanan toplu vak'alar, Bunlara aşağıdaki şema tatbik olunur.

20 GÜNLÜK ŞEMA

	<u>Günde</u>	<u>Bütün tedavide</u>
Büyüklere	4 cc.	80 cc
5 yaşından küçüklere	2 cc	40 cc

NOT :

Hayvan müşahedeye alınmış ve 13 gün zarfında hiç bir kuduz arzı göstermemiş ise aşlamaya 13 cü günde son verilir.

C : SERUM VE 20 GÜNLÜK ŞEMANIN TATBİK EDİLECEĞİ VAK'ALAR

a) Kuduz veyahut kuduz olması kuvvetle muhtemel bir hayvan tarafından ağır bir şekilde (Bilhassa baş, boyun, ellerin müteaddit yerlerinden) ısırılmış ve derin yaralar husule gelmiş vak'alar,

b) Kudurmuş aynı hayvan tarafından ısırılmış olanlar arasında derin, müteaddit ve geniş yarası bulunanlar,

c) Kurt, çakal, sırtlan, tilki gibi vahşi hayvanlar tarafından ısırılanlar arasında tehlikeli yaralanma vak'aları,

Bu gibi vak'lara iptidai yara tedavisi itina ile yapıldıktan sonra evvelâ (antirabik) kuduz immün serumu sonra aşı tatbik edilir. Serum aşının yerine kaim olmaz, ancak aşıya munzam koruyucu bir madde olarak kullanılır.

SERUM + 20 GÜNLÜK ŞEMA

Serum mümkün olduğu kadar erken, ısırmaı takip eden ilk 72 saat içerisinde tatbik edilmeli ve şahıs serum tatbik eden müesseselere gönderilecekse bu müddet içerisinde sevk edilmiş olmalıdır.

Isırılmayı takip eden 24 saat içinde tatbik edilecek serumdan e iyi netice alınır. Bundan sonra serumun profilaktik tesiri sür'atle azalmağa başlar ve 72 saat geçtikten sonra tatbik edilecek serumdan artık bir fayda beklememek icap eder.

Serumun Dozajı : Klinik tecrübelerle, hayvan denemelerinden alınan neticelere göre dozaj, vücut ağırlığı nazarı itibara alınarak kilo başına ortalama 0.5 cc hesabı ile aşağıdaki şekilde tesbit edilmiştir :

<u>Vücut Ağırlığı</u>	<u>Serum miktarı</u>
20 kiloya kadar olanlara	10 cc
20 --- 40 kiloya kadar olanlara	20 cc
40 --- 80 kiloya kadar olanlara	40 cc
80 kilodan fazla olanlara	60 cc

Serum deri altı veya adele içi olarak tercihan glutal nahiyeye tatbik edilir; bütün serum hacminin bir sahaya enjeksiyonu rahatsızlık verdiği takdirde ayrı ayrı bir kaç yere şırınga edilmelidir. Isırılan nahiyeye lokal enjeksiyona müsait ise, ayrıca 10 - 20 cc serum yara civarındaki nesîç içerisinde enfiltrasyon şeklinde verilir. Serumun lokal enjeksiyonu profilaksi bakımından mühim olduğundan, yara civarı enjeksiyonu ihmal edilmemelidir.

Serumun total dozu bir günde şırınga edilir ve 24 saat sonra aşı tatbikine başlanır. SERUM TATBİK EDİLEN GÜN AŞI VERİLMEZ. Aşı 20 günlük şemanın ayındır, yani:

	Günde	Bütün tedavide
Büyüklere	4 cc	80 cc
5 yaşından küçüklere	2 cc	40 cc

NOT :

Hayvan müşahedeye alınmış ve 13 gün zarfında hiç bir kuduz arzı göstermemiş ise aşıya 13 üü gün son verilir.

Hâlen serum tatbik eden müesseseler :

Ankara Refik Saydam Merkez Hıfssısihha Enstitüsü,

İzmir liman ve Şehir Bakterioloji Müessesesi,

İstanbul Kuduz Enstitüsü ve

Bütün Vilâyet Hastanelerindeki Kuduz Aşı İstasyonları

Serum tatbik edilecek müesseselere sevkedilecek şahıslara ait mu-fassal müşahede fişleri tanzim edilir ve bir yazı ile birlikte gönderilir. Gerek kuduz aşî istasyonlarına ve gerekse serum tatbik edilecek hastaların vilâyetlere gönderilmelerinde bunların gidiş ve dönüş yollukları Umumi Hıfssısihha kanununun aşağıda yazılı 75 ci maddesine göre teminat altına alınmalıdır.

(Umumi Hıfssısihha Kanununun 75 ci maddesi: Kuduz olan veya kudunmuş olduğundan şüphe edilen hayvanlar tarafından ısırılmış olanların vakit kaybetmeden en yakın kuduz aşî müessesesine izam olunmaları mecburidir. Bunlardan fakir olanların yol masrafları belediye ve köy sandıklarınca ve bu sandıklar vermedikleri takdirde İdareyi hususilerce tediye edilir ve bunlar devlete ait umumi nakil vasıtalarından meccanen istifade ederler).

Gerek kuduz serumu ve gerekse kuduz aşısı yalnız profilaktik olarak kullanılır. **BUNLARIN TERAPÖTİK TESİRLERİ YOKTUR.** Bu sebeple kuduz hastalığı başladıktan sonra, hastalara müessese veya hastanelere gönderilmesinde hiç bir fayda olmadığı gibi, bilâkis böyle bir hareketin, etrafı bulaştırması ve yeni vak'alara sebebiyet vermesi gibi mes'uliyetli zararları da vardır. Bunlar oldukları yerde etraflarına zarar vermeyecek şekilde tecrit edilmelidirler.

SERUM TATBİKİNDE DİKKAT EDİLECEK HUSUSLAR :

Bazı şahıslar serumdaki protein maddelerine karşı hassas olduklarından, antirabik serum enjeksiyonu esnasında veya enjeksiyonu takiben bazı reaksiyonlar husule gelebilir. Bu sebeple şahsın Asthma, Anjionörötik ödem veya diğer bir allerji halinin mevcut olup olmadığı, daha önce herhangi bir maksatla serum enjeksiyonuna tabi tutulup tutulmamış olduğu araştırılır, ve antiserum tatbikine başlamadan önce, zerk edilecek seruma karşı hassasiyeti, deri veya konjonktival teste tâbi tutulmak suretiyle ölçülür.

DERİ TESTİ : Serumun 1/100 ve 1/1000 serum fizyolojik içindeki dilüsyonundan 0.1 cc intradermal olarak şırınga edilir. 10 - 30 dakika içinde reaksiyon okunur. Test pozitif ise, enjeksiyon yerinde bir vezikül veya papül teşekkül eder ve etrafı kızarır, reaksiyon yoksa test menfi kabul edilir.

KONJONKTİVAL TEST : Antiserumun 1/10 dilüsyonundan 0.1 cc konjonktiv kesesine damlatılır. Müsbet hallerde 15 dakika içinde göz kapaklarının şişmesi, kaşınması, kızarıklık ve göz yaşarması müşahede edilir. Reaksiyonu durdurmak için adrenalin ve tuzlu su ile göz yıkanır.

Her iki testde pozitif reaksiyon hassasiyetin mevcudiyetine ve tehlike derecesine delâlet etmesi dolayısıyla antirabik serumun kontrendikasyonunu gösterir. Bu gibi şahıslara serum tatbiki mutlak lüzumlu ise, antiallerjik maddelerin kullanılması veya desansibilizasyon metodunun tatbiki gibi tedbirlere baş vurmalıdır.

DESANSİBİLİZASYON : Yüksek derecede sulandırılmış serumun azdan başlayan miktarları, onbeş dakikadan az olmamak şartıyla muayyen fasülalarla şahsın tahammül derecesine göre tedricen artan miktarlarda şırınga edilmelidir. Her ihtimale karşı daima el altında adrenalin bulundurulur.

SERUM HASTALIĞI : Antirabik serum tatbikinden 5 - 13 gün sonra serum hastalığı husule gelebilir. Bu hal, şahsın serum enjeksiyonundan sonra, muahhar bir reaksiyon hali iktisap ettiğini gösterir. Başlıca âraz olarak ürtiker, fiyevr ve kaşıntı görülür. Buna karşı antihistaminik ilâçlar ve kalsium kullanılması tavsiye olunur.

SERUMUN MUHAFAZASI VE DAYANMA MÜDDETİ :

Diğer terapötik serumlarda olduğu gibi, kuduz serumuda buzlukta, zait on derecenin altında saklanmalıdır. Bu şekilde sağukta ve karan-

lıkda muhafaza edildiği takdirde iki sene müddetle aktivitesini kaybetmez.

Ambalaj şekli : 10 ve 20 cc lik şişelerdedir.

DIKKAT : Şişe çalkanmadan ve bulandırılmadan muhteviyat enjektöre çekilmelidir.

AŞIYA ARA VERENLERİN TABİ OLACAĞI ŞARTLAR

Umumi Hıfssıhha Kanununun 75 ci maddesi gereğince mecburi olan kuduz aşısının, kuduz veya şüpheli hayvanlar tarafından ısırılanlara vakit geçirmeden tatbiki lâzım geldiği gibi bu yönetmelikte yazılı esaslar dahilinde aralıksız olarak tamamlanmasıda gereklidir. Her hangi bir sebeple aşıya ara verenler veya bundan kaçanlar zabıta yolu ile getirilmelidir.

Bunlar hakkında yapılacak işlem aşağıda yazılıdır:

a) Aşılamanın hangi devrinde olursa olsun aşıya 1 - 3 gün ara verenlerin aşılalmalarına devam edilerek şemada yazılı miktarlar tamam oluncaya kadar aşı günleri uzatılır.

b) Bidayette arasız olarak aşıya on gün devam edilmiş olanlardan 4 - 10 gün ara vermiş olanlara, şemada yazılı miktarlar tamamlanmakla beraber dozlar aynı olmak şartı ile bu müddet beş gün daha uzatılır.

c) Aşılamanın 15 ci gününden evvel aşıya on günden fazla ara vermiş olanlara, ele geçirildikleri tarihten itibaren evvelce yapılmış aşıları nazarı itibara alınmaksızın hiç aşılanmamış gibi şema aynen ve yeniden tatbik edilir.

d) Vak'aya sebebiyet veren hayvan müşahede altına alınmış ve 13 günlük müşahede neticesinde salim olduğu anlaşılmış ise bu gibi vak'aların yeniden ele geçirilmeleri halinde aşıya devam etmeğe lüzum yoktur.

BİR DEFA KUDUZ AŞISI TATBİK EDİLMİŞ KİMSELERDEN

İKİNCİ DEFA ISIRILANLAREN TABİ TUTULACAĞI ŞARTLAR

1) Kuduz aşısı tatbik edilmiş olan bir kimse birinci aşı tatbikinden itibaren 6 ay geçtikten sonra ikinci defa ısırılırsa hayvan ne du-

rumda olursa olsun evvelce yapılan aşı nazarı itibara alınmaksızın ilk defa ısırılmış gibi muamele görecektir.

2) . Aşılardan itibaren ilk üç ay içerisinde vuku bulan yaralı be-reli deri ile şüpheli temaslar ve hafif ısırılmalarda aşı yapılmasına lü-zum yoktur. Ağır ısırılanlara bir hafta ara ile her biri 4 cc'lik iki en-jeksiyon kâfidir.

3) Birinci aşılardan itibaren 3 - 6 ay arasından yeniden ısı-rılanlara yukardaki iki dozluk şema yani, bir hafta ara ile 4 cc'lik iki en-jeksiyon yapılır.

SEMPLE KUDUZ AŞISININ SAKLANMASI, KULLANILMA MÜDDETİ AŞILANAN ŞAHSIN TABİ OLDUĞU ŞARTLAR VE ENJEKSİYON TEKNİĞİ

Kuduz aşısının saklanması ve kullanılması :

Aşı şişeleri buz dolabında + 10 C derecenin altında ve karanlık bir yerde saklanmalıdır. Ziya ve hararet aşıya zararlı tesir yapar. Ağır vak'alarda mümkün mertebe az bekletilmiş aşı kullanmak lâzım oldu-ğu gibi aynı şahsın aşılmasında muhtelif iki seriden aşı yapmak faydalıdır. Bilhassa aşılamanın ilk haftasında eskitilmemiş aşı tatbik edilmelidir.

Bu suretle elde ihtiyat olarak bulundurulan ve uygun şartlarda saklanan aşı, şişesinin dibine çöküntü yapar, kullanılacağı zaman şi-şenin hafifçe sallanması ve mütecanis bir emülsiyon haline getirilmesi lâzımdır.

Aşığı sık sık ve kuvvetli sallamadan çekilmelidir.

Ağız açılan aşı şişelerinin ağızlarını her defasında alevden geçirme-lidir ve tekrar kapadıktan sonra 1 asit fenikli suya batırılmış per-şömen kâğıdı ile sarmalıdır.

Hususi lâstik kapalı şişelerde bulunan aşılar lâstik kapak tentür-diyotlandıktan ve şırıngaya zerk edilecek miktar kadar hava çekildik-ten sonra iğne içeriye batırılır. Hava içeriye basılır ve aşı çekilir. Bu şişelerdeki aşı bitinceye kadar lâstik kapak açılmaz.

SEMPLE KUDUZ AŞISININ KULLANMA MÜDDETI :

Kuduz aşısı yukarıda yazılı uygun şartlarda saklandığı takdirde istihsal tarihinden itibaren 6 ay müddetle kullanılır. (Uygun şartlarla saklanmayan aşılar için ve bilhassa yaz aylarında bu müddet 4 aydır). Bu sebeple her aşı istasyonu ihtiyacını daha önceden tesbit ederek, eldeki aşı bitmeden yenilerini getirtmelidir.

NOT :

Kuduz aşısı ancak kuduz aşı istasyonlarında ve yetkili tabib mes'uliyeti altında yapılır, bunun dışında kuduz aşısının tathibine ait bütün mes'uliyet aşı istasyonunun idaresi uhdesine verilmiş olan tabibe aittir.

AŞILANACAK ŞAHSIN TABİ OLMASI LÂZİM GELEN ŞARTLAR :

- a) Yemek hususunda hiç bir perhize lüzum yoktur.
- b) Şahsın aşıya başlarken bir banyo alması ve vücudunu temiz tutulması lâzımdır.
- c) Aşılama esnasında ve hitanundan itibaren bir ay sonrasına kadar alkollü içkiler tamamen yasaktır.
- d) Sigara içmekte bir mahzur yoktur.
- e) Fazla yorgunluk ve ağır spor hareketlerinden sakınmalıdır.
- f) Fazla heyecan verecek hareketlerden, soğuk algınlığı, şiddetli güneş banyosu ve bilhassa yağmurdan ve deniz banyosundan, fazla ıslanmaktan korunmalıdır.
- g) Kuduz aşısına tabi tutulan resmi vazifeli şahıslara verilecek istirahat, aşı istasyonu tabibinin yetkisi dahilindedir.

ENJEKSİYON TEKNİĞİ :

- a) Enjeksiyon steril bir şırınga ile ve mutlaka deri altına yapılır.
- b) Şırıngalar karın cildi altına yapılır, bir gün sağ ertesi gün sol tarafa olmak üzere arahksız devam edilir.
- c) Enjeksiyon yapılacak yer tentürdiyot ve 70 derecelik alkolle temizlenir. Derisi kirli olanların şırınga yeri daha evvel eterle güzelce

silinmelidir. Eter bulunmayan hallerde sabunlu bezle silmek maksada uygundur.

Kuduz aşısı kaide olarak arıza husu'le getirmez. bazan bidayette görünen baş ağrıları ve yorgunluk gibi haller ısırılma ve aşılardan mütevellit heyecan ve ruhi bir reaksiyondan ibarettir. Aşılama esnasında bilhassa aşılamanın sonlarına doğru zuhur eden lokal reaksiyonlarında (Allerjik reaksiyon) kıymeti olmayıp bunlar mevzii pansumanlar veya kuru talk pudrası tatbiki ile izale edilebilir.

En başlıca semptomlar : Enjeksiyon yerinde kaşıntı ve bir yanma hissi, enfiltrasyon ve karıncalanma gibi hallerdir.

Bu reaksiyonlar (pek nadir ahvalde) pek şiddetli olursa bir iki gün kadar aşılamağa ara vermelidir.

e) Bazı ahvalde, asabi sistemdeki hassasiyet neticesi olarak çok şiddetli ve devamlı baş, bel, sırt ve mafsalsal ağrıları, umumî halde bozukluk, mesane vazifesinde intizamsızlık gibi haller görülebilir. Bu gibi vaziyetlerde aşılamağa muvakkat bir zaman için ara vermek ve geçince tekrar başlamak icap eder. Çok nadir de olsa sinir sisteminde husule gelmesi muhtemel komplikasyonları da unutmamak lâzımdır.

KAYIT İŞLERİ :

Kuduz veya kuduzdan şüpheli hayvanlar tarafından ısırılıp taşınmak için müracaat edenlerin o gün müşahedesini alınıp, Kuduz protokol defterine aynen kaydedilir. Isıran hayvan hayatta ise müşahede için mahalli veterinerliğe gönderilir. Onüç günlük müşahede sonunda ısıran hayvan salim ise aşısı kesilir, protokola aynen kaydedilir.

MÜŞAHEDE FİŞİ :

Her aşı tatbik edilen şahsa bir fiş tahsis edilir, protokol defterine kaydedilen müşahede, şahsın fişine de yazılmalıdır. Fişte yazılı matbu suallerin karşılıkları tam olarak kısaca cevaplandırılmalıdır. Müşahede fişinin arka tarafındaki sütunlara aşı tatbik günlerinin tarihi ve yapılan aşı miktarı yazılması icap ettiği gibi, tatbik edilen aşının seri numarasıda fişe kaydedilmeli ve bunlar aynı zamanda protokol defterine de işlenmelidir. Aşısı bitenlerin fişleri aşıyı tatbik eden tabib tarafından imzalandıktan sonra hastane baş tabibi tarafından mühürlenmelidir.

Her ayın sonunda, o ay içerisinde aşısı tamamlanmış ve muamelesi bitmiş olanların fişleri kuduz aşısına alınan vak'alara ait istatistik cetveline işlenerek bu cetvelle beraber bekletilmeden müteakip ayın ilk haftası içerisinde Refik Saydam M. H. Enstitüsüne gönderilmelidir.

Aşıdan mütevellit (Aksidan paralitik) veya kuduzdan ölüm vak'aları protokol defterine işaret edilmekle beraber yeniden tanzim edilecek bir fiş, diğerleri gibi Refik Saydam M. H. Enstitüsüne gönderilir.

Kuduz aşısına alınan vak'alara ait istatistik cetvelinin nasıl doldurulacağı aşağıda izah edilmiştir.

KUDUZ AŞISINA ALINAN VAK'ALARA AIT İSTATİSTİK CETVELİNİN DOLDURULMASI USULÜ

Vak'a olsun veya olmasın cetvel, aylık olarak doldurulacak ve bütün fişlerle birlikte bir tahrirata eklenerek ayın ilk haftası içerisinde Refik Saydam M. H. Enstitüsüne gönderilecektir.

Fişlerdeki malûmat. cetvelde sıralandığı üzere yedi bakımdan incelenmeğe tabi tutulacaktır. Cetvelin tanzimi sırasında, geçen bir ay içerisinde aşısı tamamlanan şahıslara ait her fişten meselâ, birinci kısmı doldurmak için ısırın hayvanın hastalık hali lâboratuvarca kuduz olarak tesbit edilenler bir araya toplanarak ilk boş yere, Veteriner veya bizzat hekim tarafından kuduz olarak vasıflandırılanlar ikinci sütuna, şüpheliler toplanarak üçüncü sütuna kayıt edilir. Kuduz olmadığı müşahede sonunda veya lâboratuvarca tesbit edilenler istatistiğe alınmaz. Bu fişleri (D) harfi ile işaretleyiniz ve tasniflere sokmayınız.

Aynı suretle ikinci kısmı doldurmak için (D) ler hariç bütün fişleri gözden geçirerek aynı cins hayvanların mecmuaları alâkalı sütunların altına kaydedilir.

Böylece hareket edilerek cetvelin diğer kısımları muntazaman doldurulur. Birinci kısmın 3 sütununun toplamı ile ikiden yediye kadar diğer kısımların sütunlarının toplamı birbirlerinin aynı olacaktır.

Cetvelin altına not edildiği üzere, aşı komplikasyonu, ölenler ve serum tatbik edilenlerin sayısı ayrıca alâkalı yerlere kaydedilecektir.

Bir fikir vermek üzere talimatın arkasına doldurulmuş bir fiş ve istatistik cetveli örneği ilâve edilmiştir.

TETKİK İÇİN LÂBORATUVARA BAŞ VEYA

BEYİN GÖNDERİLMESİ USULÜ

Nümunenin lâboratuvara bir günde vasıl olacağı mesafelerden veya kış mevsiminde hattâ iki günlük mahallerden, kurşunla kalbinden vurulan kuduz şüpheli hayvanın başı kesilerek ayırır; Mazbut bir ambalâj içerisine konur ve lâboratuvara gönderilir.

Lâboratuvarın uzak mesafelerde bulunduğu hallerde beyin maalesef daha laboratuvara varmadan yolda tefessüh eder. Bu gibi nümunelerden Negri cüseymatı aranmayacağı gibi, farede viruz izolasyonu da icra edilemez. Bu itibarla lâboratuvara kuduz şüpheli hayvanın başı yerine, mahalli veterinerlikle iş birliği yapılarak, hayvanın beyni (büyük hayvanlarda, beynin tercihan Corn d'ammon bölgesi yâni oksipital nahiye) çıkarılır ve içerisinde yarısına kadar steril (% 50 saf gliserin ve % 50 su) bulunan bir kavanoza konur, kapağı sızmayacak surette kapanarak bir ambalâj içerisinde lâboratuvara sevk edilir.

Kutunun üzerine :

DİKKAT

Bu kutuda **KUDUZ**'dan ölen veya kuduz şüpheli hayvan başı vardır.

ibaresi yazılmalıdır.

Memleketimizde kuduz hastalığının lâboratuvar teşhisinin yapılabildiği müesseselerin isimleri şunlardır :

İstanbul Kuduz Müessesesi,

Ankara - Etlik, Veteriner Bakteriyoloji Lâboratuvarı,

İstanbul - Pendik, Veteriner Bakteriyoloji Enstitüsü,

Elâzığ, Veteriner Bakteriyoloji Enstitüsü,

İzmir - Bornova, Veteriner Kontrol ve Araştırma Lâboratuvarı,

Samsun, Veteriner Bölge Lâboratuvarı.

Aşı yapan müessesenin ismi ve yeri :

196... Senesi

Ayı

KUDUZ AŞISINA ALINAN VAKALARA AIT İSTATİSTİK

1. Kısım	2. K i s i m	3. Kısım	4. K i s i m	5. Kısım	6. K i s i m	7. K i s i m
İsiran veya şüpheli hayvanın durumu	İsiran hayvanın cinsi	Aşı şeması	Isırık veya te- mastan itibaren aşıya kaç gün sonra başlandığı	Yaranın tıplı	Yara veya tama- nın oluş şekli	Yaranın vücudta yeri
1	Laboratuvarca kuduz	21	Köpek	3	Kedi	21
2	Kedi	3	Kedi	3	Kedi	21
3	İnsan	4	İnsan	4	İnsan	4
4	Vahşi hayvan (Kurt)	1	Vahşi hayvan (Kurt)	1	Vahşi hayvan (Kurt)	1
5	Diğer	1	Diğer	1	Diğer	1
6	14 günlük şema	6	20 günlük şema	6	20 günlük şema	6
7	Serum + 20 günlük şema	7	Serum + 20 günlük şema	7	Serum + 20 günlük şema	7
8	0 - 4 gün	8	0 - 4 gün	8	0 - 4 gün	8
9	5 - 7 gün	9	5 - 7 gün	9	5 - 7 gün	9
10	8 - 14 gün	10	8 - 14 gün	10	8 - 14 gün	10
11	15 - 21 gün	11	15 - 21 gün	11	15 - 21 gün	11
12	21 den fazla gün	12	21 den fazla gün	12	21 den fazla gün	12
13	Derin	13	Derin	13	Derin	13
14	Satın	14	Satın	14	Satın	14
15	Salya ile bereli deri teması	15	Salya ile bereli deri teması	15	Salya ile bereli deri teması	15
16	Erbise üzerinden	16	Erbise üzerinden	16	Erbise üzerinden	16
17	Çiplak deriden	17	Çiplak deriden	17	Çiplak deriden	17
18	Bacak	18	Bacak	18	Bacak	18
19	Kol	19	Kol	19	Kol	19
20	Gövde	20	Gövde	20	Gövde	20
21	Bacak	21	Bacak	21	Bacak	21

Not :

1. Aşı komplıkaşyonu varsa mahiyeti
2. Hiperimmün kuduz serumu tatbik edilenlerin ededi
3. Kuduzdan ölen insan adedi

İsiran hayvanın kuruz olmadığı sabit olan fişler istatistiğe ihbal edilmmez.

Müesseseye tabii

İsim ve imza

SEMPLİ USULLE KUDUZ AŞISI TATBİK EDİLENLERE MAHSUS MÜŞAHEDİ FİŞİ

Aşıya başlandıği tarih : 15/7/1959

Aşı şeması 14 günlük

Isırılanın	Adı ve soyadı	Ahmet Eronat
	Babasının adı	Hüseyin Eren
	Yaşı, Sanatı	18, talebe.
	Adresi	
	Geldiği yer	
	Isırıldığı tarih	14/7/1959
Yarımın	Yeri	Gövde
	Adedi	2
	Sathi veya derin olduğu	Sathi
	Çıplak cilt veya elbise üzerinden ısırıldığı	Elbise üzerinden
Isıran hayvanın	Kimyevi veya hikemî maddeler tatbik edildiyse tarihi	
	Cinsi	Köpek
	Sahipli mi?	Sahipli
	Isırıldığı zamanki halli (ses veya tabiat değişikliği)	Şüpheli
	Başka kimse veya başka hayvanları ısırıp mı?	Evet
Isıran hayvanın	İnsan ısırıp ise onlara ait fiş numaraları	346, 347
	Müşahede altına alınmış ise neticesi	
	Öldürülmüş veya ölmüş ise otopsi neticesi	Sağlam (Varsa Belediye Veterinerliği rapor tarih ve No. sı)
	Laboratuvar muayenesi neticesi	
İsırılanın	Âkıbeti	Yaşiyor.

- 1 — Aşılananların fişleri her ay muntazaman Ankara Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsüne gönderilmelidir.
- 2 — Talimatta gösterildiği üzere küçüklere arka sahifede yazılı dozların yevmiye yarısı tatbik edilir.
- 3 — Şahıs kaç günlük aşlamaya tâbi tutulmuşsa fişdeki o hanceye yevmiye miktarları ve tarihi yazılmalıdır.

Tatbik edilen aşının numarası : 1230

Aşılama günleri		Aşılama şeması	Aşılama şeması	Aşılama şeması	Aşılama esnasında tesadüf edilecek fevkalâde haller ve aşuya ara verilmiş ise sebepleri
Sıra	Tarih	14 günlük yev. 2 cc.	20 günlük yev. 4 cc.	Serum ve 20 günlük	
1	15/7/1960				
2	16				
3	17				
4	18				
5	19				
6	20				
7	21				
8	22				
9	23				
10	24				Belediye Veterinerliğinden hayvanın müşahede sonunda sağlam olduğu bildirildiğinden aşı bırakıldı.
11	25				
12	26				
13	27				
14					27/7/1960
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Isırılan şahsın aşının hitamından sonraki hali : Normal

Aşığı tatbik eden tabibin
Adı ve soyadı

Dr. Ramazan Aml

(İmza)

Aşı tatbik müessesesinin
mühür ve imzası