

T. C.
Sağlık ve Sosyal Yardım Vekâleti
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 : XII — Sayı : 3
(1952)

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

•
REVUE TURQUE D'HYGIÈNE ET DE BIOLOGIE EXPERIMENTALE

•
TÜRKISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

Voi. : XII — No : 3

Ankara, 1952

Published by
Publié par
Herausgegeben von

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSİHHA ENSTİTÜSÜ (Ankara)

tarafından neşredilir.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	Sahife
1. Prof. Dr. Bekiç ONUL ve Dr. Doğan UYSALEFE :	
Q hummasının deri testleri yasatasıyla teşhisi	185
The value of the skin test at Q fever infection	192
Der. Wert des Hauttestes bei Q Fieberinfektionon	194
La valeur des tests cutanés dans la fièvre Q	196
2. Sadık GÖREN :	
K vitamininin Haem. pertussis (boğmaca amili) ve bazı bakteri ve toksinleri üzerinde olan tesiri	198
L'action antibactérienne de la vitamine K sur Haem. pertussis et sur certaines bactéries et toxines	202
3. Prof. F. C. MINETT :	
Türkiye'de koyunlardan tecrit edilen Clostridium Welchii suşları	203
Strains of Clostridium Welchii from sheep in Turkey	210
4. Dr. Sabahattin PAYZIN :	
Aile içerisinde nefrit salgımına sebep olan bir streptokok portörü	217
5. Dr. Kemal ÖZSAN :	
Iran'da yabancı kemirici vebası ve H. racia üzerinde çalışmalar	219
6. Dr. Remziye S. HISAR :	
Mahlep üzerinde bazı incelemeler	227
Quelques études sur les graines de mahlep	237
7. Bahriye KAHYAĞLU :	
Poet - Kelly metodu ile kanda isonicotimik asid hidrazid miktarının tayini	241
8. Dr. Fikret PAMIR :	
İdrar 17 - Ketosteroidleri tayini metodları hakkında	247
9. Dr. Ragıp UNER :	
Tüberkülozda pnömoperiton tedavisinden aldığımız neticeler	253

Q - HUMMASININ DERİ TESTLERİ VASITASIYLA TEŞHİSİ [*]

Ankara Tıp Fakültesi İnan Hastahaneleri Kliniği

Prof. Dr. Behçet ONUL

Bağışst. Dr. Doğan UYSALEPE

Acta Medica Turcica "cilt (4), sayı (1-2) 1952" da yayınlanan bir yazımızla (1) Q-Hummasının deri testleri vasıtasıyla teşhisi hakkında ilk ve kısa tebliğimizi yapmış-tık; bu ikinci yazımızla da çalışmamızın tamamını bildirmek istiyoruz.

Bütün dünya memleketlerinde olduğu gibi halen memleketimizde de Q-Humma-sının teşhisi kompleman - Fiksasyon - Teşmülü (KFT) ile yapılmaktadır. Fakat bu teş-mülün bilhassa memleketimiz için pratik olmayan tarafları vardır ki, evvelki yazımızda bunlardan kısaca bahsetmiştik. Bu sebeple kliniğimizde bu hastalığın daha erken ve pratik bir şekilde teşhisi yolları aranmıştır. Bu arada Giroud'nun Afrika'da yaptığı bir Rickettsioz taramasında evvelce Q-Humması geçirmiş olanların müspet deri reaksiyonu verdiğini bildirmesi (2) dikkatimizi çekmiştir. Reaksiyonun tarafımızdan da kontrol edilerek müsbet sonuç vermesi, bunun hastalık esnasında ve hastalığın ilk günlerinde bir yardımcı teşhis vasıtası olup olmayacağı hususunun araştırılmasına yol açmıştır. Bir sene içinde bu tetkiklerimizden aldığımız neticeleri bildiriyoruz.

Materyel ve metod :

Tecrübelerimize evvelâ birçok sağlam şahıslar üzerinde başladık. Bunların kolları-na deri içine zerkedilen Rickettsia Burneti antijeni ile hiç bir reaksiyon elde edilmedi. İkinci grup kontrol olarak akciğer hastalığından, virus ve bakteri enfeksiyonla-rından, hasta bulunan şahısları intihap ettik. Ceman 30 kişi olan bu hasta kontrol şah-sularından 8 tanesi kızamık, 4 tanesi romatizmalı, 5 tanesi rie tüberkülozu, 2 tanesi bronşit, 7 tanesi kabakulak, 2 tanesi yalancık olup bunlarda evvelce Q-Humması geçir-diklerine dair hiç bir müşahede yoktu. Ayrıca kontrol şahısları arasında 3-4 sene evvel tifüs geçirmiş ve halen sıhhatte olan 2 kişi de vardı. Bunların hepsinde deri testi menfi kalmıştır. Bu şahıslarda ayrıca kompleman fiksasyon deneyleri de yapılmış ve Q-Hum-ması ile hiç bir ilgileri olmadığı kati olarak anlaşılmıştır. Bundan sonra eski ve yeni Q-Humması vakaları bulmağa çalıştık. Fakat adetlerini ancak 8 e çıkarabildik. Va-kalarımızdan 3 tanesi 1948 de Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsünde bir lâboratuvar intanına maruz kalmış kimselerdi. Teşhisleri o zaman kompleman F. teşmülü ile kati-leşmiş bulunuyordu. Vakalarımızdan bir tanesi de kliniğimizde asistan bulunan bir dok-tordur. Kendisi 1 sene evvel klinikte bakmakta olduğu hastasından intanı almış ve ser-visimizde Q-Humması teşhisi ile yatarak tedavi görmüştür. Bunda da kompleman

[*] Bu çalışma Beşinci Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

fixasyonu deneyi kuvvetli müspet netice vermiştir. Bu eski vakalardan sonra kliniğimizde bir vakayı 16. günde, bir diğerini nüksetmiş olduğu 2. ayda, bir tanesini 10. ve nihayet bir tanesini de 8. günde yakalamağa muvaffak olduk. Bu hastalar da KFT ile takip edilmiş ve teşhisleri teyid edilmiştir.

Bu çalışmalarımız için lüzum olan Rickettsia Burneti Antijeni Refik Saydam Hifzı-sahne Enstitüsünden temin edilmiştir. Bu hususta bize yardım eden Dr. Nüzhet Fişek'e burada teşekkürlerimizi bildiririz. Sal Q-Humması antijeninin hazırlanması Türk İji-yen ve Tecrübi Biyoloji Dergisinin 10. cilt No. 1, sayfa 16 da Doçent Dr. Sabahattin Payzın tarafından bildirilmiştir (3).

Enstitüden almış olduğumuz antijene bir miktar Chloromyetin ilâve ederek buz dolabında - 4 derecede 8 ay kadar muhafaza edebildik. En fazla ne kadar muhafaza edilebileceği hakkında şimdiden katı bir şey söylemek mümkün değildir. Chloromye-tinin rickettsiaları antijenik bünyelerini bozmadığı malumdur (4). Buna mukabil bu ilâç uzun müddet aktif kalabildiğinden, antijen solüsyonunun diğer bakteriler ile kirlen-mesine mani olmuş, uzun müddet kullanılmasını temin etmiştir. Antijen kesif halde ve sulandırılmadan muhafaza edilmektedir. Sulandırma işi deri testi yapılacağı vakit, ev-velce tespit edilmiş bir nispette ve kullanılacak rekor şırıngası içinde yapılır. Deri test-lerinde müspet reaksiyon verebilecek standard dozu evvelce Q-Humması geçirmiş olan-larda tespit ettik. Buna göre antijenin kullanılacağı zaman 100 defa sulandırılması icap etmektedir. Bu dilüsyon hassas olanlarda reaksiyon veren ortalama bir huduttur. Menfi deri testi alınan ve Q-Humması ile ilgili olmayı sağlam insanlara daha kesif dilüsyon-lar ile yapılan deri testleri de menfi netice vermektedir. Bu bulgular antijenin ve ver-miş olduğu reaksiyonun spesifik olduğunda şüphe bırakmamaktadır. Deri testlerinin yapılması ve kıymetlendirilmesi: Antijen 1/100 nisbetinde şırınga içinde sulandırıldıktan sonra kolun iç tarafına, ince bir iğne ile deri içine 1 diziem miktarında zerkedilir. Kon-trol olarak aynı antijen solüsyonunun yüksek devirli santrifüje (6000 devirde 1 saat) ri-kettsiaları çöktürüldükten sonra üstte kalmış berrak mayiyi kullanılmıştır. Neticeler 12-24, 48 ve 72 saat sonra okunmuştur. Şırıngayı müteakip normal şahıslarda evvelâ ufak beyaz bir kabartı olmakta ve bu sonradan bir papül tarzında hafifçe kızarmaktadır. Bu papül 6-8 saat zarfında kaybolur, ve yerinde ancak 5 mm. kadar bir çevrede kızartı kalmaktadır. Bazılarında ise bu ufak kızartı da görülmemektedir. Bu reaksiyonlar aynı şekilde kolun biraz daha alt kısma zerkedilen kontrol mayilerinde de görüldüğüne na-zaran nonspesifik reaksiyon sayılmıştır. Müspet vakalarda şırınga yerindeki ilk reak-siyonlar 10-12 saat için aynı menfilerde olduğu gibi tezahür eder. Fakat 12-24 saat sonra burada 5-6 Sm. kütürüne varabilen doku arasında enfiltrasyonla müterafık bir eri-tem teşekkül etmektedir. Umumiyetle bu reaksiyon 48 inci saatte azami hadde var-makta ve bundan sonra yavaş yavaş kaybolmaktadır. Müspet vakalarımızda 3 Sm. den ufak eritemli enfiltrasyonlara rastlamadık. Buna mukabil toksik reaksiyonlar 5 mm. yi geçmemiştir. Bu suretle 5 mm. ye kadar kuturda görülen erken tezahürler menfi adde-dilmiştir. Müsbet reaksiyonlar ise kırmızı, ödemli ve geniş kuturda eritemler halinde görülmektedir. Bu arada bazı vakalarda (bilhassa 1 sene evvel Q-Humması geçirmiş

olanlarda) genel durum dahi hafifçe bozulmuş ve bir günlük ateş de tespit edilmiştir. Çok kuvvetli müspet vakalarda 6-8 Sm. kadar olan kırmızılık 48 inci saatte gerilemeğe başlarken ortasında 1-2 Sm. kadar cesametinde koyu kırmızı renkte bir endürasyon bölgesi görülmektedir. Bu kısım eritem solduktan sonra da sert bir halde kalmakta, ancak uzun müddet sonra resorbe olmaktadır (birkaç hafta) diğerlerinde reaksiyon biraz daha hafif olup nekroz husule gelmemekte ve fazla bir iz de kalmamaktadır.

Alınan neticeler :

Kontrol olan 8 kızamak, 4 romatizma, 7 kabakulak, 2 yılanık ve 3 ric tüberkülozu vakasında reaksiyon tamamen menfi kalmıştır. 2 ric Tb., 2 bronşit vakasında 5 mm. kadar yani yukarıda bildirilen ve menfi kabul edilen reaksiyon görülmüştür. Bu toksik reaksiyon kompleman fikasyonu teamülleri de kontrol edilmiş olup en yüksek olanı 1/10 dilüsyonda hafif reaksiyon vermiştir. Memleketimizde yapılan tetkiklere nazaran KFT müspet hududun 1 : 20 den itibaren başladığından (5) dolayı bunların da menfi kabul edilmesi tabiidir. Evvelce tifüs geçirmiş ve halen sıhhatte bulunan 2 kişide ve mühim bir hastalık geçirmemiş olan diğer sağlam şahıslarda da deri testleri menfi netice vermiştir. Buna mukabil evvelce Q-Humması geçirmiş veya halen bu hastalıktan yatanlarda deri testleri yukarıda anlatılan şekilde bariz olarak müspet netice vermiştir. Bunları toplu olarak ve bir cetvel halinde kısaca takdim ediyoruz :

Cetvelde de görüldüğü gibi bir sene evvel (vaka 1) ve hattâ 4-5 sene evvel (vaka 3, 4 ve 5) Q-Humması geçirmiş olanlarda çok kuvvetli müspet reaksiyon alınmıştır. Bu hastalarda evvelce hastalıkları esnasında yapılan KFT 1/40—1/80 +++++ olduğu tesbit edilmiştir. Halen sağlam bulunan ve deri testi ile kuvvetli müspet netice alınan bu şahıslarda tekrar KFT yapılmış fakat hiç bir reaksiyon görülmemiştir. O halde bu şahısların gösterdikleri reaksiyon yalnız dokuya ait bir hususiyettir, hümoral değildir. 2 numaralı vaka komplike olması dolayısıyla enteresandır. Bu akciğerin sol üst lobunda Anat. Patolojik olarak da tespit edilen bir Ca vakasıdır. Fakat sağ akciğerde atipik pnömonilere has olan enfiltrasyona benzeyen radiolojik görünüş bizi bu hastada Q-Humması araştırmaya sevketti. Hastada KFT ile beraber bir deri testi yapıldı. Cilt testi +++ müspet netice verdi. Hasta bir Ca dan muztarıptı. Bunun üzerine bir Q-Hummasının eklenmiş olması mümkündür. Birkaç gün sonra Refik Saydam Enstitüsünde yapılan KFT neticesinin de müspet olarak gelmesi hadiseyi tamamen aydınlattı ve bu sahadaki çalışma kuvvetimizi büsbütün arttırdı. Hakikaten bu hastada tatbik edilen bir Chloromycetin küründen sonra sağ tarafındaki enfiltrasyon tamamen kaybolmuş ve genel durum biraz düzelmiştir. Soldaki Ca ya ait enfiltrasyon ise eskisi gibi kalmıştır. Bizim için asıl enteresan olan 6 inci ve 7 inci vakalardır. Zira: eski vakalarda müspet netice almıştık, fakat çalışmamızın gayesi sadece reaksiyonun spesifik olup olmadığı değil, müspet netice alınıyorsa bunun ne zaman başladığı ve hastalığın ilk günlerinde bize bir yardımcı teşhis vasıtası olup olmayacağı idi. 7 inci vakamızda 10 uncu günde ve 6 inci vakada 8 inci günde yapmış olduğumuz cilt testleri aşikâr müspet reaksiyon verdi. Bu müddetin daha da kısalmış kusalamiyacağı hakkında fazla bir söz söyleyemeyeceğiz, çün-

Író neve	Állami feladat	Értékelési szempontok	Értékelési szempontok	Értékelési szempontok	Értékelési szempontok
Változat 1 Dr. S. Átvé	Halmazok feladata	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	Közhalmazok
Változat 2 Jenőfi Károly	Állományok feladata	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	Közhalmazok
Változat 3 Dobos István Sándorfi Péter	Halmazok feladata	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	Közhalmazok
Változat 4 Dobos István	Halmazok feladata	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	Közhalmazok
Változat 5 Mészáros István	Halmazok feladata	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	Közhalmazok
Változat 6 Mészáros István	Halmazok feladata	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	Közhalmazok
Változat 7 Czifra István	Halmazok feladata	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	Közhalmazok
Változat 8 Zádori István	Halmazok feladata	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	1. számú feladat Q-0, 2. számú feladat Q-1, 3. számú feladat Q-2	Közhalmazok

kü hastalığın daha erken günlerinde cilt testi yapılmış vakalarımız yoktur. Bu arada üzerinde durulan bir noktayı da arz etmek isteriz. Bir defa yapılan cilt testinin, Cazooi reaksiyonunda olduğu gibi, bilâhare yapılacak KFT ve cilt testleri üzerine bir tesiri olup olmadığı pratik bakımından çok önemlidir. Bu maksatla kontrol olarak kullandığımız 6 hastada bu hususu da ayrıca tetkik ettik. Bunlara 3 gün ara ile aynı şekilde muhtelif defalar cilt testini tekrarladık. 5-6 defa zerk yapılmış olan bu şahıslarda zerkler esnasında, zerkler hemen müteakip ve bir iki ay sonra dahi bir değişiklik husule gelmemiş, keza KFT de bir müspetleşme görülmemiştir.

Alman neticelerin münakaşası :

Yaptığımız araştırmalara göre Q-Hummasında R. Burneti antijeni ile elde edilen deri testleri bu hastalık için spesifik bir reaksiyon vermektedir. Gerek sağlam şahıslarda ve gerekse başka hastalıklarda tatbik edilen bu testten menfi netice alınmıştır. Umumiyetle Q-Hummasında KFT titresinin şifadan 3 ay - 1 sene kadar sonra normal addedilebilecek hudutlara düşmesine mukabil, cilt testleri daha çok uzun bir müddet reaksiyon verebilmektedir. Bu reaksiyon müddetinin daha da uzun, yani belki bütün hayat boyunca devam edip etmediği ayrıca tetkik edilmeğe değer. Evvelce Q-Humması geçirenlerde KFT'nün şifadan sonra (3 ay - 1 sene kadar) normal, yani sağlam şahıslardaki gibi menfi netice vermesi dolayısıyla bir memlekette bu reaksiyon ile tam bir Q-Humması taraması yapılamaz. Halbuki cilt testlerinden bu bakımdan çok istifade edilebilir.

Deri testinin kıymetli bir tarafı da hastalığın ilk günlerinde (klinikte insanlarda 8 gün, kobaylar üzerinde yapılan deneylerde 3-5 günlerde) müspet reaksiyon verebilmesidir. Bu suretle Q-Hummasının erken teşhisi vasıtaları arasında çok iyi bir yer alabilir. Deri testlerinin bu kadar erken müspet netice vermesi bu hastalıkta kuluçka devresinin nispeten uzun oluşu ile izah edilebilir.

Rikettsia Burneti dolaşım yolu ile vücuda yayılır. Organizmada yapmış olduğu patolojik değişmeler arteriyollerin etrafında enterstisiyel enflitasyonlardan ibarettir. Q-Hummasında, enfeksiyonun ilk gününden itibaren vücudun müdafa mekanizması, dolaşımında bulunan âmil ile temas halindedir. Bu durum antikor teşkilini kamçılar. Fakat Rikettsiya Burnetiye spesifik olan bu antikorlar uzviyeti mikroorganizmin savetine karşı tam koruyucu vasıfta değildirler. Rikettsia hastalıklarının birçokları hayat müddetince devam eden bir bağışıklık sağlamaktadırlar. Halbuki yine bir rikettsiya hastalığı olan Q-Hummasında, bağışıklık ancak kısa sürebilir. Hayat boyunca müteaddit reenfeksiyonlar görülmektedir. O halde bunun uyandırdığı bağışıklık kâfi gelmemektedir. Hastalığın akciğer enflitasyonları göz önüne alınırsa bunu yapan mekanizmanın, teşekkül eden kısmi immünite neticesinde, âmilin tahdidine savaştan bir vücut müdafaası, bir allerji olduğu düşüncesine varılabilir. Hastalığın bariz belirtisi olan akciğer enflitasyonları, enfeksiyonun 3 üncü haftasında, yani iki haftalık kuluçka devrinden sonra teşekkül etmektedir. 3 haftalık bu müddet allerjinin teşekkülü için kâfi bir zamandır. Uzviyetin kazanmış olduğu bu hassayı, tecrübe yolu ile, yani Rikettsia Burneti emülsiyonlarını deri içine zerk etmek suretiyle de anlamak mümkündür. Tetkik ettiğimiz bu

deri testini de allerjik bir reaksiyon olarak kabul edebiliriz. Hastalık normal seyirini yaptıktan sonra spesifik antikorlar, diğer hastalıklarda olduğu gibi kandan çekilirler, hücrelere yerleşirler ve orada uzun müddet muhafaza edilirler. Q-Humması geçirenlerde humoral reaksiyonun 1-2 ayda kayıp olmasına rağmen birçok seneler müsbet deri testi elde edilmesi, hatta bazan genel reaksiyonla birlikte görülmesi, dokuya ait allerjinin uzun devam ettiğine en kuvvetli delildir. Buna dayanarak evvelce Q-Humması geçirmiş olanları deri testleri ile kolaylıkla teşhis etmek mümkün olacaktır. Bu gibi şahıslarda ileride vuku bulacak herhangi bir akciğer hastalığı esnasında deri testinden istifade az olacaktır. Zira müsbet çıkacak bir reaksiyon evvelce geçirilen bir Q-Hummasına mı ait yoksa halen geçirilmekte olan intana mı ait olduğu tekrar edilemeyecektir. Mamafih böyle hastalarda iyi alınan bir anamnez, yanlış teşhis konmasına mani olabilir. Keza, reaksiyon, menfi netice verdiği takdirde, hastanın evvelce Q-Humması geçirmediğini ve halihazır hastalığının da başka bir intana bağlı olduğuna göstermesi bakımından yine faydalıdır.

Enfeksiyon hastalıklarının bir çokları göstermiş oldukları belirtilerle teşhise imkân verirler. Fakat bariz bir organ determinasyonu göstermeyen enfeksiyonların teşhisi ancak muhtelif ve kompleks araştırmalarla mümkün olur. Q-Humması da bunlardan biridir. Hastada ateş, hafif gripal görünüş ve çok enfeksiyonlarda münterak olan bu ağrımandan başka bir belirti yoktur. Kati teşhis, ancak bir hafta sonra meydana çıkan radyolojik arazlar ve bunları bir müddet sonra teyid eden KFT ile olur. Halbuki akciğer enfiltrasyonu ile aynı zamanda teşekkül eden deri allerjisi, Q-Hummasının 2-3 gün içinde teşhisini sağlar. Bundan başka tüberküloz enfiltrasyonları virüs ve mantarlardan ileri gelen diğer atipik pnömoni enfiltrasyonları cilt testi vasıtasıyla kolayca Q-Hummasından ayrılabilir. Gerci Q-Hummasında KFT ile de teşhis temin edilirse de, bu teamülün yapılması ayrıca bir laboratuvar ve laboratuvar tekniğine ihtiyaç gösterir. Halbuki deri testi ile her klinikte bulunması mümkün ve herkes tarafından tatbiki kolay basit bir antijen ile teşhise varmak kabil olacaktır.

Tecrübelerimizden edindiğimiz kanaat ile bu deri testinin Q-Hummasında faydeli pratik bir teşhis yardımı olduğunu bildiriyoruz. Ve bu testin tatbik ve tetkik edilmesini teklif ediyoruz.

Hulâsa :

Rickettsia Burneti antijeni ile yapılan deri testlerini Q. H. için spesifik bir reaksiyon verdiği yapılan araştırmalarla anlaşılmıştır. Q-H. geçirmiş ve geçirmekte olanlarda müsbet deri testi elde edilmesine mukabil diğer hastalıklarda ve sağlam şahıslarda bu test menfi kalmaktadır. Bu spesifik reaksiyon hastalığın 3-8 günü gibi erken bir safhasında başlayabildiği için kıymetli bir teşhis vasıtası olmaktadır. Deri testi hastalık geçtikten 4-5 sene (belki de hayat boyunca) dahi müsbet netice verebilmekte böylece retrospektif teşhislerde ve Q-H. taramalarında ayrıca bir kıymet kazanmakta zira K.F.T. Titresi bir kaç ay nihayet 1, 16 sene sonra tamamen normale düşmektedir. Yapılan

deri testinin K.F.T. ile bilâhara yapılacak deri testleri üzerine bir tesiri olmamaktadır. Böylece diğer bütün teknik kolaylıkları ile beraber çok pratik bir teşhis vasıtası olmaktadır. Bu testin bir mahzuru evvelce Q-H. geçirmiş olanlarda deri testinin müspet çıkacağına göre ileride husule gelecek herhangi bir hastalık esnasında fazla bir kıymet ifade etmemesidir. Mamafih iyi bir anamnez alındığı takdirde bu da bertaraf edilebilir. Ve yanlış teşhis koymaktan sakınılmış olur.

Bu test tamamen allerjik bir hadise olarak kabul edilmekte reaksiyonun erkenden görülebilmesi bu hastalıkta enkübasyon devresinin nispeten uzunluğu ile izah edilmektedir.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — Helm: *Opel* — *Acta Medica Scandinavica* Vol. 1, sayı 1-2, 1952.
- 2 — P. Giroud — *Les Raketttests en Afrique*. Bull. de l'Organisation Mondiale de la Santé, Vol. 1, 4, 1951.
- 3 — S. Poyraz — Türk Jüven ve Tıbbi Bilimleri Derneği. Cilt 10, No. 1, Sayfa 6.
- 4 — Blument — *Arch. u. d. Haut* — *Charlieb Inst.*, Frankfurt. (M. 1950) No. 48, 57, 103.
- 5 — S. Poyraz — *Virus ve Bakteriyel Hastalıklar*, 1952. Ders kitabı.

THE VALUE OF THE SKIN TEST AT Q-FEVER INFECTION

After the experiments in our clinic we received a specific skin-reaction with *Rickettsia Burneti* at Q-fever infection. The positive reaction starts already at the 3-3 day of the illness and lasts 4 years (perhaps for always) after the illness. The persons used for checking who are healthy or have other diseases than Q-fever show a negative reaction. Therefore the skin-test is an important and easy possibility for the early diagnosis and for the certification of the Q-fever disease after it is finished. The skin-test was in every case combined with the Reaction of Complement Fixation (RKF). Generally spoken the results are the same, but the RKF gets his high levelled titer not before a few weeks and this titer keeps on only for a few months, not more than one and half year. After this time the titer goes down to normal figures.

The necessary antigen for the experiment was made purely of cultures in breeded eggs (it was supplied by the Refik Saydam Institution.) It was conserved with Chloromycetin in the Refrigerator. The original emulsion was diluted 1/100 in the syringe shortly before using it and then 0.1 cm² was injected intracutaneous in the forearm with a thin needle. For checking the same 1/100 diluted emulsion was centrifuged with 6000 r.p.m. for one hour and the remaining liquide without the remaining agglutinated *Rickettsia* was used.

The result was observed after 12-21 and 72 hours. After the injection healthy persons and such who have not previously suffered from Q-fever show little white papels, at first, becoming reddish later and disappearing again after 6-8 hours.

There remains occasionally an area of redness of the order of 5 mm. in diameter, generally this disappears completely. The injection for checking shows the same reaction. This reaction therefore was regarded as a non-specific toxic reaction.

In "positiv" cases the same development is observed during the first 10-12 hours as in negativ cases. But after 12-24 hours an infiltrativ Erythem appears at the same spot with a diameter of 5-6 cm. The reaction reaches its maximum after 40 hours and disappears slowly afterwards. All the reactions at the positive cases the diameter were over 3 cm. The toxic reactions always stayed under 5 mm. Therefore up to 5 mm. in diameter they are considered as negativ. In some cases, having had Q-fever some years ago, the general health condition was disturbed by the skin-test and a short fever was observed. At strong reactions, with a diameter of 6-8 cm., appeared an induration of 1-2 cm. in the middle of the erythems, after 48 hours. This stayed on for a long time and it took a few weeks after the erythems had disappeared

fore a complete resorption. At the other cases the reaction passed a bit bilder and neither a necrosis nor a scar remains.

The skin-test has no influence on the RKF and on later skin-tests. For all this reasons and its practicability is the skin-test for Q-fever a useful method of diagnosis. It has to be observed that one illness of Q-fever gives a positive result for ever. In such cases one has to be cautious with later illnesses as it could be a different disease. A good anamnesy can protect there to make a wrong diagnosis. The skin-test is being assumed as an allergic reaction and the positive result already on the 3-8 day of illness is explained with the rather long period of incubation.

DER WERT DES HAUTTESTES BEI Q-FIEBERINFEKTIONEN

Nach den in unserer Klinik durchgeführten Untersuchungen erhielten wir eine spezifische Hautreaktion mit *Rickettsia burneti* bei Q-Fieber-Infektionen. Die positive Reaktion fängt im allgemeinen schon am 3. Krankheitstage an und dauert 1-5 Jahre (vielleicht auch für immer) noch nach der Krankheit. Bei den Kontrollpersonen, also bei Gesunden und anderen Krankheiten erhielten wir immer negatives Ergebnis. Dieser Hauttest ist deshalb ein wichtiges und sehr praktisches Früh- bzw. Spätdiagnosemittel. Der Hauttest ist jedesmal mit der Komplement-Bindungs-Reaktion (KBR) zusammen durchgeführt worden. Im allgemeinen deckten sich die Ergebnisse. Aber die KBR bekommt ihren hohen Titer einige Wochen später und bleibt nur für einige Monate höchstens 1-1,5 Jahre bei diesem Titer. Dann sinkt der Titer wieder zu normalen Werten.

Das dazu nötige Antigen wurde im "Refik Saydam Hüfesshha Enstitüsü zu Ankara" aus gekochte Tierrkulturen rein erhalten. Wir bewahrten es im Eisschrank und mit Chloromycetin auf. Die Stammemulsionen wurden kurz vor Gebrauch im Verhältnis 1/100 erst in der Rekord-spritze verflüssigt und dann mit einer dünnen Nadel am Vorderarm (antweder 1. oder 2. Interdigitalraum) eingespritzt. Zur Kontrolle wurde dieselbe, im Verhältnis 1/100 verdünnte Emulsion erst bei 6000/Min. 1 Stunde lang zentrifugiert und die darüber stehende Flüssigkeit gebraucht.

Das Ergebnis wurde nach 12-24 und 72 Stunden abgelesen. Nach der Einspritzung entsteht bei gesunden Personen und die früher niemals an Q-Fieber erkrankt sind, zuerst eine kleine weiße Papel, die später eine rötliche Farbe annimmt, und dann nach 6-8 Stunden wieder verschwindet.

Manchmal bleibt eine rötliche Zone von 5 mm. zurück. Bei manchen verschwindet sie spurlos. Bei der Kontrolle ist dieselbe Reaktion zu sehen. Deshalb wurde diese Reaktion als eine unspezifische, toxische Reaktion angenommen.

Bei positiven Fällen ist in den ersten 10-12 Stunden derselbe Verlauf zu beobachten, wie bei den Negativen. Dann aber, nach 12-24 Stunden entsteht an derselben Stelle ein infiltratives Erytem bis 5-6 cm. Durchmesser. Die Reaktion erhält in 48 Stunden ihren Höhepunkt, um dann wieder langsam zu verschwinden. Bei anderen positiven Fällen waren alle Reaktionen über 3 cm. Durchmesser. Die toxischen Reaktionen blieben dagegen immer unter 5 mm. Deshalb wurden solche bis 5 mm. Durchmesser als negativ bezeichnet. Bei manchen Fällen, die vor einigen Jahren Q-Fieber durchgemacht hatten, wurde mit dem Hauttest sogar das Allgemeinbefinden gestört und kurzfristiges Fieber beobachtet. Bei starken Reaktionen mit einem Durch-

messer von 6-8 cm. entstand nach 48 Stunden in der Mitte des Eritems eine Induration von 1-2 cm. Dies blieb lange bestehen und brauchte, nachdem das Eritem verschwunden war, noch einige Wochen für eine absolute Resorption. Bei den anderen Fällen verlief die Reaktion etwas milder und es entstand keine Nekrose und es blieb auch keine Spur zurück.

Der Hauttest hat keinen Einfluss auf die KBR und auf spätere Hautteste. Aus all diesen Gründen und seiner praktischen Durchführung ist der Hauttest beim Q-Fieber ein wertvolles Diagnosemittel. Zu beobachten ist nur, dass einmaliges Erkranken an Q-Fieber für immer ein positives Ergebnis gibt. Bei solchen Fällen muss man bei späteren Erkrankungen vorsichtig sein, denn es kann sich um eine andere Krankheit handeln. Eine gute Anamnese kann uns hier hüten, eine falsche Diagnose zu stellen. Dieser Hauttest wird als eine allergische Reaktion aufgefasst und der positive Befund schon am 3-8 Krankheitstage, mit der ziemlich langen Inkubationszeit erklärt.

LA VALEUR DES TESTS CUTANÉS DANS LA " FIEVRE-Q "

D'après les recherches, on a vu que le teste cutané effectué, avec l'antigène de qui ont souffert auparavant de la fièvre Q, et ceux qui en souffrent, le teste cutané est positif; mais chez les sujets sains reste négatif. Cette réaction spécifique, se révélant positive au 34^e jour, c'est à dire à une période assez précoce de la maladie, se montre comme précieuse moyen de diagnostic. Le teste cutané pouvant rester positif même pendant 4-5 années qui suivent la maladie (peut-être durant toute la vie) a donc une valeur encore dans le diagnostic retrospective et pour les explorations et parce que la titre de la réaction de fixation de coagulation redvient à la normal après quelques mois, au plus après 1-1,5 ans.

L'antigène nécessaire pour l'exécution du teste cutané est obtenu des oeufs fécondes, en état d'une pureté complète et est conservé à froid en présence de la Chloromycétine. La solution mère est diluée d'abord à 1/100 dans la (séringue), et puis on en injecte 0.1 cc, avec une aiguille très mince sur la partie médiane de l'avant bras et dans le derme. La même solution est centrifugée pendant une heure sur un centrifuge à 6000 tours après quoi les rickettsies s'agglutinent au fond, et le liquide surnageant est employé comme contrôle. Les résultats sont étudiés après 12, 24, 48 et 72 heures. Chez les sujets normaux, après les heures qui suivent l'injection il se produit d'abord une petite saillie blanche, qui à la longue rougit légèrement, simulant une papule, cette papule disparaît pendant 6-8 heures, et ne reste à sa place qu'une rougeure de 5 mm. de diamètre. Chez d'autres, cette petite rougeure même fait défaut. Cette réaction pouvant s'observer aussi avec les liquides de contrôles injectés un peu plus bas sur l'avant bras, est admise comme une réaction toxique et non spécifique. Dans les cas positifs, durant 10-12 heures, les réactions primaires observées sur le point de l'injection se montrent tout à fait semblables à celles observées chez les négatifs. Mais après 12-24 heures, il s'y produit une érythème pouvant atteindre 5-6 cm. de diamètre et qui s'accompagne d'une infiltration intransmissible. En générale, cette réaction atteint à sa maximum dans 48 heures, et puis disparaît lentement. Chez nos cas positifs nous n'avons rencontré aucune infiltration érythémateuse qui soit plus petite de 1 cm. de diamètre. Par contre, les réactions toxiques n'ont jamais dépassé 5 mm. de diamètre. C'est ainsi que les manifestations précoces jusqu'à 5 mm. de diamètre sont considérées comme négatifs. Dans certains cas et surtout chez ceux qui ont souffert de la Q-fièvre avant quelques années, l'état général est légèrement altéré, et une fièvre d'un jour est observée. La rougeure qui peut atteindre jusqu'à 6-8 cm. chez des cas fortement positifs, commence à s'étendre à la 48 heure, et à ce moment on voit au centre une zone d'induration, rouge foncée de

1-2 cm). Cette zone reste dure même après la disparition de l'érythème et ne se resorbe qu'après longtemps. Chez d'autres, la réaction restant un peu plus légère, la nécrose ne survient pas, et il n'en reste aucune trace.

Les tests cutanés effectués n'ont aucune influence sur la KFH et sur les tests futurs. C'est ainsi que en dehors de ses facilités techniques il est un moyen de diagnostic très pratique.

Il reste un inconvénient à tenir compte, c'est que, chez ceux qui ont souffert de la Q-fèvre le teste cutané se trouvera positif pendant une future infection quelconque: donc pas de grande valeur à ce temps. Mais ceci aussi peut-être éliminé si l'anamnèse est bien conduite.

Le teste cutané est considéré comme une réaction allergique. Les réactions positives, déjà pendant le 1-2^e jour, se peuvent expliquer avec l'incubation assez longue dans cette infection.

K VİTAMİNİNİN HAEM. PERTUSSIS (BOĞMACA AMILI) VE BAZI BAKTERİ VE TOKSİNLERİ ÜZERİNDE OLAN TESİRİ

Sadık GÖREN

Tıbbi Mikrobiyoloji Sıhhi Müdahaleleri

Boğmaca'da K vitamininin son derece iyi neticeler verdiğine dair İspanyol ve Güney Amerikalı otoriteler yazılırları okuduk. Entere uyandırılan bu yayımlar dolayısıyla K vitamininin bazı bakteriler ve toksinleri üzerindeki tesirini bir seri kontrol araştırmalara tabi tuttuk.

Bünyemizde üzere K vitamini 1939 senesinde antropik olarak bulunmuş bir yapıdır. Bu vitamini, ilk önceleri tedavide bilhassa prothrombine teşekkülü üzerindeki tesirinden faydalanılmaya başlanmıştır. Ve bu devam edegelmektedir. Aradan bir kaç yıl sonra diğer hastalıklara dair dikkat uyarısı çeken yayımlar yapıldı. Bunlar arasında antibakteriyel tesir, hakikaten bir çok araştırmaların kontrollama zemin teşkil ettiği gibi bizde de ilgi uyandırdı.

Amerikalı L. S. Foadick gibi W. D. Armstrong ve J. W. Knutsen de K vitamininin bazı bakterilerin üremesini engelleme ettiğini görmüşlerdir. W. D. Armstrong, W. W. Spink ve J. Kahne, K vitamininin (2-methyl-1,4 naphthoquinone) 0.5 mg. 100 cc. lik konsantrasyonda stafilokoklara, 0.2 mg. 100 cc. lik konsantrasyonda streptokokların üremesini durdurduğunu, fakat koli basili üzerinde müspet bir tesir olmadığını bildirmişlerdir.

J. E. Page ve F. A. Robinson 1,300,000 konsantrasyonun stafilokok (*aureus*) ve 15,000 konsantrasyonun koli basili için bakteriyostatik olduğunu kaydetmişlerdir.

Bu tecrübelerin yapıldığı 1943 senesinden sonra zamanımıza kadar muhtelif yıllarda çeşitli mikroplar üzerinde araştırmalara mazhar olan K vitamininin gram alan ve almayan bazı bakterilere bakteriyostatik ve bakterisid ve bundan başka fungostatik tesiri olduğu işaretlenmiştir.

Koli basili üzerine, hafif konsantrasyonların üremeyi daha eyleyici kaldığı, halbuki 10^{-4} gibi kuvvetli konsantrasyonun bakteriyostatik tesir yaptığını 1945 de A. Vincent bildirmiştir.

Stafilokoklar (*aureus*) üzerine olan tesiri 1946 da G. del Vaccchio, V. del Vaccchio ve R. Arzenziano tarafından tekid edilmiştir.

F. Mulé difteri ve menengokoklara karşı antibiyotik kudretini işaret etmiş ve bu yazın 1948 senesinde K vitamininin in-vitro difteri ve tetanoz toksinlerini nötralize et-

üçü, M. Rapellini ve P. Sardi, vitamini diyeti kültürü zerkedilen tavşanların, şahitlerine nazaran daha uzun hayatta kaldıklarını bildirmişlerdir. Gene F. Mulé ve P. Sardi safilokok tokeminin emolitik kudretini de nötralize ettiğini görmüşlerdir.

G. Schwastruma, stafükok, pnömokok, koli basıl ve salmonella ve fridlander basılı ile menenjikollara karşı antibakteriyec olduğunu tekni etmiştir.

İnsan tipi tüberküloz basılı için bakteriyostatik olduğunu W. Alcañy, C. N. Haand müşahede etmiş ve A. Kimler bilhassa NH₂ gurulana (pos. 3) malik bulunmuş bu kudretinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Sizozoma mansoni'nin üremesini dardığı (E. Bueding, L. Peters; A. D. Welch), torula histiolitika, trikofiton mentagroti ve mikrosporuzi gibi cesüli dermatofülere vazih bir fungistatik tesiri bulunduğunu (A. M. Klimman, W. Rosenzweig, K. A. Oster, M. J. Golden, R. Pratt, P. P. T. Sah, J. Dufrenoy, V. L. Pickering, A. E. Arca Lera, A. da Rocha Furtado) bildirmiştir.

K vitaminiin, yerek penisillini, yerekse P-amino benzoik asidu haem, perussis ve tüberküloz basiline olan bakteriyostatik tesitirü aşikâr surette arttırdığı (I. Pisu) da işaret edilmiştir.

Klinik müşahedeler arasında boğmaca'ya olan tesirine dair yayınlar bilhassa entressandır. İspanyol, Portekiz ve Güney Amerikan yayınlarında boğmacaya karşı kullanılan ilaçlar arasında E vitaminiin son derece aktif tesiri tebarüz ettirilmiştir. İlk defa Portekiz'li hekim Acaçio de Abreu Faria, 1943 de K vitamini ile tedavinin boğmaca öksürüğü akselerine karşı son derece hayrete şayan iyi tesirleri bulunduğunu bildirmiştir. Bu zata göre K vitamini yüksek dozlarda bile tamamen zararsızdır. Ve 12 boğmacalı çocukta öksürük akseleri 5-7 günde kaybolmuştur. Tesir tarzı izah edilememiştir. Sonra İspanyol hekim E. Jardim Ron, boğmacada kandaki protrombin nisbetinin azaldığı ve bu noksanın telâfisinde K vitaminiin rolünü ve böylece terapötik muvaffakiyetini izaha kalkışmışsa da, diğer otörler bunu kabul etmemiştir.

71 inci pediatri kongresinde J. Ba:reiro Laurica yaptığı bu tebliğde 17 boğmacalıda (konvülsif devre) her gün 7 mg. K vitamini vermiş ve % 88,2 vakada 6-7 günde şifa sağladığını bildirmiştir.

Eduardo Jardim Ron bu vitamini günde 5 mg. lik doz üzerinde deri altı yolu 3 gün zerketmiştir. 39 tanesi konvülsif ve 23 tanesi katarral devirde belsuan 62 boğmacalıdan heesinde iyada görmüş, bunlardan 48 hastanın (% 77) 6 günde şifa bulduğunu müşahede etmiştir. Bu yazara göre ilacın tesiri cabuk sürkedilmekte, ikinci günde akselerin miktar ve şiddeti azalmakta imiş.

Genel olarak kullanılan ilaçların tesirsiz kaldığı boğmacanın konvülsif devrinde K vitamini 5 küçük vakada, günde 5 mg. üzerinden parenteral yolla deümiş olan A. Gimenez Roldan da muvaffakiyetin derhal husule geldiğini, öksürük akselerinin aralacılığı ve şiddetinin azaldığını, hastalık süresinin de hissedilir derecede kıaldığını kaydetmiştir.

1949 da Ramon C. Davila ve Raul Vargas Velez, günde 10 mg. lik zerklerle boğmacanın çabuk iyileştiğini, öksürük akselerinin sayı ve şiddetinin azaldığını, çocukların rahat uyduklarını müşahede etmişlerdir.

J. Diago Merlano, hepsi 50 mg. lik kürlü öksürük akselerinin miktar ve şiddetinin önemli surette azaldığını bildirmiştir. Walfredo dos Anjos zerkın 2-3 üncü günü genel olarak gece öksürüklerini kaybolduğunu ve 10 günde şifanın husule geldiğini yazmıştır.

José Nemirovsky ve Abraham B. Glasserman, günde 6 mg. lik adale içi zerle 44 boğmacalıda K vitamini kullanmışlar. 33 vakada (% 75) 5-7 günde vazih bir iyileşme müşahede etmişlerdir.

1951 yılında W. B. Pereira da Silva, boğmaca tedavisinde K vitamininin mutlak verilmesini işaret edecek kadar mükemmel sonuçlar aldığını bildirmiştir. Buna mukabil J. Arslanian ve M. Aboussouan ise K vitamini kullandıkları 18 boğmacalıda hiçbir iyi tesir görememişlerdir.

K vitamininin boğmacaya iyi tesir ettiğine dair olan bu klinik müşahedelerde muvaffakiyeti izah edecek yolun, antibakteriyen tesirinde aranması daha doğru olacaktır. Biz burada boğmaca âmili olan haem. pertussis muvacehesinde yaptığımız araştırmayı telhisen arzedeceğiz. Sonra diğer bazı bakteri ve toksinleri ile yaptığımız araştırmaların sonucunu bildireceğiz.

Tecrübelerimizde K vitamini olarak Roche fabrikasının Synkavite'i ile çalıştık. Bu preparatın imalât serisi 8502255 numarası taşıyordu. Lieber cc. suda 0.01 gr. suda münhal 2-methyl-1,4-naphtohydrochinone'un difosforik esterini havidir.

K vitamininin haem. pertussis üzerindeki üremeyi enhibe edip etmediğini orijinal Bordet-Gengou vasatı üzerinde kontrol ettik. Ancak bu vasatta tavşan kanı yerine beygir kanı kullanılmıştır.

K vitamininin vasata katıldıktan sonra 1 5.000 — 1 10.000, 1 20.000, 1 50.000, 1/100.000, 1/300.000 ve 1/500.000 gr. konsantrasyonları tetkik edilmiştir.

Sonuçlar şöyle alınmıştır :

1 — Aynı seri vasat üzerinde vitaminsiz tüplerde, yani kontrollarda üreme her zamanki gibi 48 saatte muntazam olmuştur.

2 — 1/500.000 — 1/5.000 konsantrasyonda K vitamini ihtiva eden tüplerde 48 saatte üreme olmamıştır.

3 — 3 üncü gün 1/20.000, 1/10.000 ve 1/5.000 konsantrasyonda K vitamini ihtiva eden tüplerde üreme olmamıştır. Buna mukabil 1/500.000, 1/300.000, 1/100.000 ve 1/50.000 konsantrasyonlarda üreme görülmüştür. Bu üreme mutada nazaran 24 saat tehirle husule gelmiştir. Hatta çeşitli suşlarla çalışıldığından, suşların bazıları 1/50.000 konsantrasyonda ancak 4 üncü günü üreyebilmişlerdir.

4 — 1/20.000 konsantrasyonda üreme 4 üncü gün tesbit edilmiştir. Mutada nazaran 48 saat tehirle vukua gelmiştir.

5 — 1/10.000 ve 1/5.000 konsantrasyonlarda 8 inci günde de üreme görülmemiştir. Esasen haem, pertussis'ün etüvdeki hayatıyeti ancak bu kadar olduğundan tecrübeye burada son verilmiştir.

6 — 1/10.000 ve 1/5.000 konsantrasyonlu tüplerden 3 üncü gün üreme müşahede edilmeyince, aynı seri fakat vitaminsiz vasatlar üzerine repikajlar yapılmıştır :

a) 1/10.000 den yapılanlarda mutad vechile, 48 saatte bol kültür elde edilmiştir.

b) 1/5.000 konsantrasyonlulardau yapılan repikajlarda ise asla bu üreme tespit edilememiştir.

K vitamininin koli basil, stafilokok (aureus) ve haem, enfluenzae üzerindeki tesirini de mütalâa ettik. Bu araştırmada da 1.500.000 — 1.500 konsantrasyonları kullandık. Şöyle sonuç alınmıştır:

1/5.000 konsantrasyon haem, enfluenzae'nın üremesini 24 saat geciktirmiş, fakat gerek koli basil, gerekse stafilokok ve gerekse haem, enfluenzae bütün konsantrasyonlarda kontrolleri gibi yaşmadan ve asla nazarı dikkati çekmeyecek bir tarzda üremişlerdir. En kuvvetli konsantrasyon olan 1.500 den yapılan repikajlarda (3 gün sonunda) ve mikroskopilerde kaydedilecek bir şey görülmemiştir.

250 gr. lık kobaylar üzerinde 1 M L D difteri ve 350 gr. lık kobaylarda 1 M L D tetanoz toksini ile aynı zamanda, fakat ayrı noktalara deri altı yolu ile 0.0001 ve 0.0002 gram K vitamini zerkedilmiş kobaylar vitaminsiz toksin şahitleriyle birlikte aynı zamanda ölmüşlerdir. Aynı miktar sadece K vitamini alan diğer kontrol kobaylarda herhangi bir gayri tabülik müşahede edilmemiştir.

Bunlara nazaran :

1 — K vitamini, 1.500.000 konsantrasyonda haem, pertussis'ün üremesini 24 saat geciktirmiştir.

2 — Yüksekçe konsantrasyonda (1/20.000) bu geciktirme 48 saatte çıkmıştır.

3 — 1/10.000 ve 1/5.000 konsantrasyonları üremeyi tamamen enhibe etmiştir.

4 — 1/5.000 konsantrasyon üzerindeki tohum kültürün repikajı steril kalmıştır.

5 — Bizim denediğimiz K preparatı ve kullandığımız konsantrasyonlarda bu vitaminin koli basil, stafilokok (aureus) ve haem; enfluenzae için müspet bir tesiri tespit edilmemiştir.

K vitamini haem, pertussis için hakikaten enhibe edici tesirden başka bakterisid tesir de göstermiştir. Bu sonuçlar klinikte boğmaca tedavisinde bu vitaminin müspet tesirini tekid eder mahiyettedir.

L'ACTION ANTIBACTERIENNE DE LA VITAMINE K SUR HEM. PERTUSSIS ET CERTAINES BACTERIES ET TOXINES

Ici nous donnons les résultats de nos recherches faites sur l'action antibactérienne de la vitamine K, pour hem. pertussis et certaines bactéries comme staphylocoque (aureus), colibacille, hem. influenza et certaines toxines comme diphtérique et tétanique.

Dans nos expériences nous avons employé la vitamine K de la Maison Roche (Sykavite).

1 — Pour hem. pertussis, sur le milieu de culture de Bordet-Gengou (avec le sang de cheval au lieu de lapin) additionnée de la vitamine K :

a) à la concentration de 1/500.000 arrête le développement de la culture pour 24 heures.

b) une concentration plus forte (1/20.000) inhibe la croissance pour 48 heures.

c) en concentration de 1/10.000 — 1/5.000 elle a une action nettement bactériostatique. Puisque pendant 3 jours aucune culture n'est pas marqué.

d) la semence raclée à la fin de 3 jours sur les tubes qu'ils contenaient une concentration de 1/5.000 et repiqués sur les milieux de même série sont restés stériles.

2 — Le colibacille, staphylocoque (aureus) et hem. influenza ne sont pas influencés de la vitamine K à la concentration de 1/500.000 — 1/5.000, seulement la concentration de 1/5.000 inhibe la croissance de hem. influenza pour 24 heures.

3 — La vitamine K injectée aux cobayes à la doses de 0. gr 0001 — 0. gr. 0002 n'exerce aucune action pour une D.M.M. de la toxine diphtérique et tétanique. injectés en même temps, mais dans les régions séparées.

De ces résultats nous pouvons conclure que la vitamine K a une action inhibitrice et même bactéricide pour hem. pertussis. Ceci explique l'influence favorable de la vitamine K obtenus par les cliniciens, dans le traitement de la coqueluche.

TÜRKİYEDE KOYUNLARDAN TECRİT EDİLEN CLOSTRIDIUM WELCHII SUŞLARI

Yazan : Prof F. C. MINETT (*)

Türkiyede kısa ikametim esnasında toplayabildiğim malûmata göre bu memlekette koyunlarda Clostridium Welchii tarafından tevhit edilen hastalıklar hakkında müsbet bilgi pek azdır. Bu hastalıkların Türkiyede de mevcut olduğuna şüphe yoktur. Filhalkika Pendik Enstitüsü uzun zamandanberi koyunlarda bradost ve icterohemoglobinuriya karşı profilaktik hazırlanmaktadır. Keza Türkiyede sarbon aşısının her sene geniş ölçüde tatbik edilmesine rağmen daima beklenen muvaffakiyeti göstermemesi ve sarbon vakalarının übar edilmesi bunlardan hiç olmazsa bir kısmının Clostridium utanlarından mütevellit ölümler olması ihtimalini düşündürmesi tabiidir. Yukarıdaki mülâhazalar ve bu hususta daha fazla bilgi tahibi olmanın temin edeceği pratik faydalar göz önüne alınarak, Türkiyede hayvan hastalıkları ile ilgili Welchii suşlarının daha etraflı olarak tetid edilmesi arzuya şayan görüldü. Bu tetikler arasında maalesef yeni suş tecridi fırsatına nail olamadık. Sadece Pendik Enstitüsü direktörünün lütfen bize gönderdiği aşağıda adları yazılı dört eski laboratuvar suşunu tetik edebildik.

- (11) Bradost, suş Uzunköprü, Trakya.
- (12) Bradost, suş Kandıra, Kocaeli.
- (13) Icterohemoglobinuria, suş Yalova, Kocaeli.
- (14) Icterohemoglobinuria, suş Hasan, Kocaeli.

Bu suşlardan dördü de 1935 senesinde merhum Raif Köylüoğlu tarafından koyunlardan tecrit edilmiştir. Bu suşlar, bu yazıda kolaylık olması için, 11, 12, 13, 14 sayıları ile ifade edilecektir. Bize bildirildiğine göre 11 ve 12 numaralı suşlar Clostridium Welchii Tip C dir. Bu suşların idantifikasyonu için çalışmalarım Etlik Enstitüsünde başlamış İngilterede tamamlanmıştır. Wellcome taharriyat laboratuvarından Dr. C.L. Oakley'ye bana standart Welchii serumları gönderdiğinden ve aldığım neticelerin bir kısmı üzerinde tetikler yaparak tecrübelerimi teyit ettiğinden dolayı teşekkürü borç bilirim.

Morfoloji ve kültür vasıfları : Kùltürler bana beyin vasatında gönderildi. Bunları muhafaza için Robertson'un et vasatına pasaj yapıldı. Bütün suşlar bu vasatta bol miktarda gaz yaptı ve vasat sathı müstesna diğer kısımlarda eti kızarttı. Kùltürde aerobik kontaminantlar bulunup bulunmadığını tesbit için suşlar yatık jeloza çekildi. Tüpün dibinde cam ile agar arasında üreme görüldü ve bu kısımda agar parçalandı. Bu hal bu dört suşun kati anaerop vasfında olmadığını gösteriyordu.

[*] Dr. Nusret H. Fişek tarafından Türkçeye çevrilmiştir.

Altı günlük et vasatı kültürü 65 derecede 30 dakika tutulduktan sonra et vasatına ekilince de aynı şekilde üreme görüldü. Mikroskopik olarak organizm tipik Clostridium Welchii görünüşünde —kısa ve kalın çomak, uçları dört köşe— ve gram müsbet idi. Kültürün temizliğini tahkik için ayrıca ısıtılmış et buyyonu kültürü yatkı kanlı agara (at kanı ile yapılmış) ekilmiş ve 37 derecede anaerop kavanozda inkübe edilmiştir. 24 saatte bol üreme elde edilmiştir. Tek düşen koloniler kabartık, emles, kenarları yaygın ve gayri muntazam idi. Hafif hemoliz vardı. Turnusollu sütte bütün suşlar asit ve gazet siddetli tipik fermentasyon gösterdiler.

Hayvanlara zerk : Cilt altına 11, 13 ve 14 numaralı suşların et buyyonundaki 24 saatlik kültürlerinden birer santimetre küp zerkedilen kobaylar 24 saat zarfında ölmüştür. 14 numaralı suş hastalık arazi tevhit etmiş ise de bu kobay dört gün içinde ölmemiştir. Ölen hayvanların otopsisinde zerk yerinde geniş lezyon görülmüştür. Karın ciğerlerinde geniş bir gaz cebi vardı. Adaleler yumuşamış ve kolaylıkla kopuyordu. Az miktarda ve kahve rengine çalar renkte eksuda vardı. Zerk yerindeki kıllar dokununca dökülüyordu. Periton koyu renkli idi ve periton boşluğunda hemorajik eksuda vardı. Kan ve eksudada tipik morfoloji gösteren organizmler bol miktarda mevcuttu.

Bu patolojik hal daha ziyade zerkedilen kültür filtratındaki toksinden mütevellit idi. Çünkü 1cc. kültürdeki yıkanmış organizmler zerkedildiği zaman sadece mevzii lezyon (13 numaralı suş ile) veya 3 gün sonra ölüm (11 numaralı suş ile) görülmüştür.

Toksin nötralizasyon deneyi :

Suşların tefriki için en pratik yolun bu olduğu malumdur. Muhtelif tip Clostridium Welchii'lar muhtelif toksin varyeteleri (toksik komponentler) ihtiva ederler. Bunlardan her biri kendine has antitoksin ile nötralize olur. Tabii olarak Clostridia enfeksiyonlarında ölüm toksemiden mütevellittir. Kullanılan profilaktikte intanı tevhit eden suşun toksinine uyan toksinden müstak anatoksin yok ise tabiatı ile bu profilaktiğin immünizasyon bakımından değeri yoktur.

İngilterede Wellcome Taharriyat Laboratuvarında çalışanlar Welchii grubunun toksinlerini ayırt etmek için çok çalışmışlardır (Oakley, 1943). Malûm olan Welchii toksinlerinden başka, son senelerde yeni bazı toksinler de bulunmuştur. Aşağıdaki tabloda başlıca tiplerin tevhit ettiği belli başlı toksinler görülmektedir :

Kültür tipi	Toksinler								
	α	β	γ	δ	ϵ	η	κ	ι	λ
A	+++	-	-	-	-	+	++	-	-
B	+	+++	+	+	+	-	-	-	+
C	++	+++	+	++	-	-	-	-	-
D	+	-	-	-	++	-	-	-	-

Tip A mutaz olarak insanlarda gazlı gangren vakalarında, tip B kuzu dizanterisinde, tip C ve D koyunların enterotoksemisinde, tip D kuzuların böbrek hastalığında görülür.

α ve β toksinleri genç kültürlerde 37 derecede 18 inci saate kadar teşekkül eder. Bundan sonra β toksini süratle harap olur. α toksini ise 37 derecede 3-5 günde teşekkül eder ve daha stabildir. Toksinlerin çoğu fare ve tavşanları öldürür. Bazıları nekroz yapar. Bir kaçı hemolitikdir. α toksininin spesifik bir lesitinaz olduğu isbat edilmiştir. (McFarlane, Oakley ve Anderson, 1941). γ toksini kollegenazdır (Oakley, Warrack ve Warren, 1945).

Clostridia (*Clostridium Welchii*, *Clostridium oedematiens*) toksinlerinin antijenik analizi oldukça maharet isteyen bir usuldür. Kâfi tecrübe sahibi olmayanlar bu işi iyi bir surette başaramazlar. Bununla beraber elde ünitesi malûm tip serumlar bulunduğu takdirde mühim olan toksin komponentlerini tesbit ile tiplendirmek zor değildir.

Toksinler saklanmak istenirse amonium sulfat ile çöktürülmeli ve kurutulmalıdır. Bazıları bu şekilde kurutulmalarına rağmen iyi saklanamazlar. Bu çalışmada erken ve geç teşekkül eden toksinler için ayrı iki vasat kullanılmıştır. (a) Yüzde bir pepton ve yüzde 0.5 tuz ihtiva eden pH 7.8 siğir kalbi enfüzyonu buyyonu : Vasat 0.8×16 cm. ebadındaki tüplere 15 er cc. olarak taksim edilmiş ve ekilmeden evvel kaynatılmış ve soğutulmuştur. Ekilmiş tüpler Rosenthal'in (1937) krom usulüne göre hazırlanan anaerop kavanozda ve 37 derecede 16 saat enkübe edilmiştir. (b) Yukarıda bildirilen vasat 1.6×22 cm. ebadında tüplere takriben yirmişer santimetre küpü olarak taksim edilmiş içine tübün dibinde 2 cm. yükseklikte bir depo yapacak kadar et kıyması ve tebeşir tozu konmuştur. Vasat ekilmeden evvel kaynatılmış ve soğutulmuş ve ekilen vasat 37 derecede 3 gün inkube edilmiştir.

Her iki halde de mebzul ve gaz teşekkülü ile müterafik üreme görülmüştür. Kültür filtratları veya santrifugatları dayanıksız olması ve titrasyona yetecek kudrette olmadığı için toksik komponentler amonium sulfat ile teksif edilmiş ve kurutulan çöküntü belâda muhafaza edilmiştir. Kullanılan teknik şöyledir. Muhtelif tüplerde üreyen kültür 80-120 cc. lik seriler halinde toplanmış ve soğuk bir santrifüjde 15 dakika 2000 r.p.m. de santrifüj edilmiştir. Üstte kalan mayı aktarılmış ve % 70 meşbu olacak şekilde meşbu amonium sulfat mahlülü ile karıştırılmıştır. Buz dolabında bir kaç dakika kaldıktan sonra üstte toplanan tabaka alınmış ve bir saat camına konmuştur. Bu da havası tahliye edilmiş ve buz dolabına konmuş bir desikatorde bir saat veya daha fazla bir zaman zrfında kurutulmuştur. Bundan sonra kuruyan kütle toz edilmiş ve darası alınmış küçük bir tübe konmuş ve tübün ağzı gevşek olarak pamuklanmış ve havası tahliye edilmiş bir desikatorde ve buz dolabında saklanmıştır. Amonium sulfat ile muamele edilmiş santrifugatu geri kalan kısmı santrifüj edilmiş çöken kısım da aynı şekilde kurutulmuş ve muhafaza edilmiştir. Bu suretle çöken madde çok az olduğundan bunun ayrılmasından sarfinazar edilebilir. Çöküntü ve üstte yüzen tabakadan kurutulan tozdan mündil miktarda kuru madde orijinal hacmin $1/10$ u kadar tuzlu suda eritilir ve bununla fareler üzerinde bir ihzari deneme yapılır. Bu deney memnuniyet verici sonuç verirse tozun geri kalan kısmı suda eritilir ve nötralizasyon deneyi yapılır. Farelere zerkten evvel toksin mahlülünde erimeyen parçaları çöktürmek için mahlülün hafifçe santrifüj edilmesi

tavsiyeye değer. Saklanan toksinin inaktivasyonunu önlemek için çöktürülmesi, süratle kurutulması ve soğukta, havasız yerde saklanması çok önemlidir.

Nötralizasyon deneyi için Dr. Oakley'den temin edilen standard serumların ünite-leri aşağıdaki cetvelde görülmektedir :

Cl. Welchii serumu	Antitoksin değerleri					
	α	β	τ	ϵ	θ	κ
A tipi	340	—	—	—	9	500
B tipi	29	1250	2,1	105	45	—
C tipi	130	1800	9,5	<1	21	—
D tipi	85	<1	<0,5	240	1	—

Bu tecrübelerde kullanılan fareler Refik Saydam Enstitüsünden verilmiştir. İhvari deney müstesna toksin aktivite deneylerinde her mahlül için daima iki fare kullanılmış zerkler verit içine yapılmış ve miktar 0,65 cc. ye çıkarılmıştır. Elde yeter miktarda fare bulunmaması toksinlerin kudretlerinin tayiminin nötralizasyon deneyleri için gereken de-dercede dakik yapılmasına imkân vermemiştir.

Bütün deneyleri teferruatı ile bildirmek lüzumsuzdur. Eski kültür santrifugatlarında neticeler daima menfi idi, yani ϵ toksini mevcut değildi. ϵ toksini tayini için zerkedilen miktar 11 ve 13 numaralı suşlar için orijinal kültürün 2,5 cc. sine muadildi. 12 ve 14 numaralı suşlarda ise miktar 5 cc. santrifugata muadildi. Genç kültürler fareler için toksik olduğundan bunların yaptıkları toksinin mahiyeti hakkında sistematik bir araş-tırma gerekiyordu.

11 numaralı suşla 29. 1. 1952 de yapılan ilk deneyde aşağıdaki neticeler alınmıştır. Çöktürülmüş toksin mahlülünün 0,25 cc. i — 2,5 cc. orijinal kültüre muadil — bir fareyi 10 dakikada öldürmüştü fakat bu miktarın 1/5 i fareyi öldürmemiştir. Üç gün sonra ya-pılan nötralizasyon deneyinde — ki bu esnada toksin kuru olarak, havası tahliye edil-miş ve buz dolabına konmuş desikatorde muhafaza edilmiştir. — C ve A tipi serumlar kullanıldı. Alınan neticeler tabloda görülmektedir.

Tip C serumu Dilusyon			Tip A serumu Dilusyon			Kontrol Serumuz
45	325	1125	8,5	42,5	212,5	
Her bir fareye verilen antitoksin miktarı						
β 10	2	0,4	α 10	2	0,4	
α 0,72	0,14	0,03	k 14,7	2,94	0,59	
L	D 10 dak.	D 10 dak.	L	L	D 1 saat	D 10 dak.
L	D < 6 saat	D < saat	L	L	D 12 saat	D < 6 saat

Bu deneyde 0,75 cc. serum dilusyonu (kontrollarda tuzlu su) 0,75 cc. çöktürülmüş toksin mahlülü ile karıştırılmış ve yarım saat oda derecesinde bekletildikten sonra bu mahlütten iki fareye yarıncar santimetre küp zerkedilmiştir. (Tabloda 1. yaşayan, D ölen fareleri göstermektedir.)

Bu deney kültürlerin toksisitesinin β toksininden değil α toksininden veya kısmen α toksininden ileri geldiğini göstermektedir. Esasen zerk yapılan kobaylarda adalelerin fazla derecede yumuşaması α toksini mevcudiyetini de düşündürür. Bu sebeple 11 numaralı suş ya A tipi veya ϵ toksinini kaybetmiş bir D tipi olabilir.

18/2/1952 de aynı şekilde bir deney 14 numaralı suşla yapıldı. 0,5 ve 0,4 cc. çöktürülmüş toksin mahlülü —ki 5 ve 4 cc. orijinal kültür santrifugatına muadildi— iki fareyi de 5 dakikada öldürmüştür. Buna mukabil 0,05 cc. farelerden birini 9 saatte öldürmüş diğer fare hayatta kalmıştır. Nötralizasyon deneylerinin sonucu aşağıdaki tabloda görülmektedir.

Tip C serumu Dilusyon			Tip A serumu Dilusyon			Kontrol Serumsuz
90	450	2250	17	85	425	
Her bir fareye verilen antitoksini miktarı:						
β 5	1	0,2	α 5	1	0,2	
α 0,36	0,072	0,0144	k 7	1,4	0,28	
D < 10 dak.	D < 10 dak.	D < 10 dak.	T+	L	D 3 saat	D < 5 dak.
D 2 saat	D < 1 saat	D < 10 dak.	D 18 saat	L	D 6 saat	D < 5 dak.

Deneyde 0,75 cc. serum dilusyonu veya tuzlu su müsavi miktarda çöktürülmüş toksin mahlülü ile karıştırılıp yarım saat bekletildikten sonra her fareye bu mahlülden 0,65 cc., yani her fare 0,4 cc. toksin ve 0,25 cc. serum mahlülü verilmiştir. Toksin, 5 ünite β antitoksin ile nötralize olmamış fakat bir ünite veya daha az α antitoksini ile nötralize olmuştur. Bu sebeple toksin β toksini ihtiva etmemekte α veya α veya α ve α toksinlerini ihtiva etmektedir ki, bu da bundan evvelki suş gibi A veya ϵ toksini tevhit vasfını kaybetmiş D tipidir.

21/2/1952 de aynı şekilde bir deney 13 numaralı suşla yapılmıştır. 0,4 cc. çöktürülmüş toksin mahlülü 3 fareye zerkedilmiş farelerden üçü de derhal ölmüştür. 0,05 cc. toksin alanlara hiç bir şey olmamıştır. Bu sebeple bu toksin diğerlerine nisbetle daha kuvvetli görünmekte idi. Filhakika nötralizasyon deneyinde de 5 ünite α antitoksini ile karıştırılmış toksin alan iki fare müstesna hepsi derhal ölmüştür. Derhal ölmeyen bu fareler de bitkin vaziyette idi ve 24 saat sonra bunlar da ölmüştür. Bu deneyi teyit için ertesi gün tekrar bir tecrübe yapılmıştır. Bu deneyde aynı miktarda toksin kullanılmış fakat antitoksin miktarı iki misline çıkarılmıştır. 10 ünite α antitoksini alan fareler yaşamış aynı miktarda β antitoksini alanlar ise yarım saat içinde ölmüştür. Binaenaleyh 13 numaralı suş da 11 ve 14 numaralı suşlara benzemektedir.

26/2/1952 de 12 numaralı suşla yapılan deney ile netice alınmamıştır. Çünkü üç defa teşebbüs edilmesine rağmen tefrikanetle kifayet edecek bir toksin kesafeti elde edilememiştir. Bununla beraber neticeler bu suşun da C den ziyade A ya benzediğini telkin etmektedir.

Welcome Taharriyat Lâboratuvarında yapılan teyit deneyleri :

Dört suşla da rutin ve müstakil analizler yapılmıştır. Alınan neticeler aşağıdadır:

Suş	toksin								
	α	β	δ	ε	θ	κ	ι	λ	μ
11	+	-	-	-	-	+	-	-	++
12	+	-	-	-	-	+	-	-	-
13	-	+	-	-	+	+	-	-	+++
14	+	-	-	-	-	+	-	-	+++

Toksinlerin tayininde kullanılan usuller şunlardır :

- (a) α toksini için lesitovitellin deneyi
- (b) α , θ ve δ toksinleri için koyun alyuvarları ile hemolitik deney.
- (c) α , β , ε toksinleri için nekroz deneyi
- (d) κ ve λ toksinleri için Azocoll ve collagen kâğıt deneyleri.
- (e) μ toksini için hyalürinic asit ile "ACRA" deneyleri.

Toksinler tebit edildikten sonra spesifiteleri serum nötralizasyon metodu ile denemiştir. Bu usulün tafsilâtı yazının sonunda bildirilen makalelerde neşredilmiştir.

Münakaşa ve sonuç :

Yukarıda bildirilen sonuçlar suşlarda önemli yeni bir toksinin, μ (Oakley, Warrack, 1951) mevcudiyeti ve adaleleri yumuşatan κ toksin ile γ toksini hakkında bilgi vermiştir. Şu nokta işaret edilmelidir ki, μ toksini umumiyetle B tipi tarafından tevlit edilmektedir. Mafatih bazı A ve D suşları da μ toksini tevlit edebilir. Şimdiye kadar C tiplerinde bulunmamıştır. κ toksini yalnız A tipinin değil C tipinin de vasıflarındandır. Eser miktarda D tipi tarafından da tevlit edilebilir. 11, 12, 13, 14 numaralı suşların analizi göstermektedir ki, bu suşlar eskiden ne olursa olsun bugün için A tipidirler. Bunların eskiden B tipi olması ihtimali pek yoktur. Çünkü 11, 13, 14 numaralı suşlar β toksini yapmamakta μ toksini yapmaktadırlar. Eskiden C suşu olmaları da muhtemel değildir. Bunlar hayvani menşeli oldukları göz önünde tutulursa en büyük ihtimal bunların ε toksini yapma kudretlerini kaybetmiş D tipi olmalarıdır. Borthwick (1937), D tiplerinin müteaddit pasajlardan sonra ε toksini yapma kudretlerini kolayca kaybetliklerini göstermiştir.

12 numaralı suşun durumu diğerlerinden biraz farklıdır. Çünkü o μ toksini tevlit etmemektedir. Bu sebeple β toksini tevlit vasfını kaybetmiş bir C suşu olabilir. Bu suşın da ε toksini yapma kudretini kaybetmiş ve μ toksini yapmayan bir D tipi olması ihtimali az olsa da mevcuttur. Bu suşların toksinlerinin azalması kobay ve fareler için patojenitelerinin azalması ile de müterafik olduğu da kaydedilmelidir.

Bu etüdden çıkarılacak bir diğer netice de maalesef hayvanlar için bu suşlarla hazırlanan profilaktik aşuların hiç bir değeri olmayacağıdır. Bu suşlar çoktan ekarte edil-

meli ve yerlerine antijenik bünyeleri tam olan C ve D tipi suşlardan, Türkiyede C ve D tiplerinden hangisinin çok görüldüğü tayin edildikten sonra, biri veya ikisi de ikame edilmeli idi.

Bu konuda süratle araştırmalara geçmenin ekonomik önemi olduğu aşikârdır.

M E H A L L A R

- Borthwick, G. R. (1937). Brit. Jour. Exper. Path. 18, 475. Observations on B. Welchii type D: its occurrence in normal animals and variation in antigenic character of its toxin.
- MacFarlane, R. G., Oakley, C. L. and Anderson, C. G. (1941). Jour. Path. and Bact. 52, 99. Haemolysis and the production of opalescence in serum and lecithin-vitellin by the toxin of Clostridium Welchii.
- Oakley, C. L. (1943). Bulletin of Hygiene 13, 781. The toxins of Clostridium Welchii. A critical review.
- Oakley, C. L. and Warrack, G. H. (1931). Jour. Path. and Bact. 43, 45. The ACRV test as a measure of estimating hyaluronidase, deoxyribonuclease and their antibodies.
- Oakley, C. L., Warrack, G. H. and van Heyningen, W. E. (1946). Jour. Path. and Bact. 58, 229. The Collagenase (toxin) of Cl. Welchii, type A.
- Oakley, C. L., Warrack, G. H. and Warren, M. E. (1948). Jour. Path. and Bact. 60, 495. The Kappa and Lambda antigens of Clostridium Welchii.
- Rosenthal, L. (1937). Jour. Path. and Bact. 34, 317.

STRAINS OF CLOSTRIDIUM WELCHII FROM SHEEP IN TURKEY

By Professor F. C. MINETT

So far as could be gathered during my brief stay in Turkey, there is little definite knowledge in that country of sheep disease caused by the *Clostridium Welchii*. Of the existence of such diseases there can be no doubt. The Pendik Institute has long prepared prophylactic agents against what are designated "bradsot" and "ietero-haemoglobinuria" in sheep. It also seems reasonable that some of the deaths ascribed to anthrax are in reality due to *Clostridium*, particularly since it is said that the anthrax vaccine that has been widely used annually in Turkey does not always achieve its purpose.

In view of these surmises and of the obvious practical value of gaining more information, it was desired to obtain for closer examination *welchii* strains known to have been associated with animal disease in Turkey. Unfortunately, however, there was no opportunity of isolating fresh strains, and the only ones available were four old laboratory strains, placed at my disposal most kindly by the Director of Pendik. These were.

- (11) Bradsot, strain Uzunköprü, Trakya.
- (12) Bradsot, strain Kandıra, Kocaeli.
- (13) Ietero-haemoglobinuria, strain Yalova, Kocaeli.
- (14) Ietero-haemoglobinuria, strain Hasan, Kocaeli.

All were isolated in 1945 from sheep by the late Raif Köylüoğlu. For descriptive purposes in this paper, they are designated strains 11, 12, 13 and 14, of which according to the statement supplied numbers 11 and 12 were regarded as of *Cl. welchii*, type C.

Work on the identification of these strains was begun at Etilik and completed after my return to England. I am also indebted to Dr. C. L. Oakley of the Wellcome Research Laboratories, Beckenham, Kent for supplying standard *welchii* sera of given unitage and for confirming and extending certain of my results.

Morphology and culture. The cultures were supplied in brain medium and were transferred for storage to Robertson meat medium. In this, they all produced abundant gas, with reddening of the meat except at the surface. A loopful implanted on agar slope revealed no aerobic contamination, but the organism grew between the agar and the glass, the lower end of the slope being split by gas. Evidently, the four strains were not behaving as strict anaerobes.

A similar type of growth was also obtained in meat medium after seeding with six-day meat medium cultures which had been heated at 65°C for 30 minutes. Microscopically, the organism has the typical *welchii* appearance—short stout rods, with square ends—and was gram positive. As a further check on the purity of the four strains, the heated meat broth cultures were subinoculated to horse blood agar slopes and incubated at 37°C in an anaerobic jar. Cultures developed well within 24 hours. Isolated colonies showed slight haemolysis, were domed and smooth, with spreading edges and irregular margins. In litmus milk, all the strains gave typical stormy fermentation, with acidity.

Animal inoculation. Strains 11, 13 and 14 were fatal within 24 hours for guinea-pigs in dose of 1.0 cc. 24 hours' meat medium culture subcutaneously. Strain 12 produced some illness but failed to kill the guinea-pig within four days. In the dead animals there was an extensive local lesion at the point of inoculation over the abdominal wall, consisting of a large gas pocket, very soft and friable muscle and small amount of brownish exudate. The hair on the lesion fell away at a slight touch. The peritoneal surface was dark in colour and the cavity contained some haemorrhagic exudate. Organisms of characteristic morphology were numerous in blood and exudate.

The effects were largely due to toxin in the culture fluid inoculated. Thus when washed organisms from 1.0 cc. meat culture were inoculated, the guinea-pig survived after showing a local lesion (culture 13) or death was delayed for 3 days (culture 11).

Toxin neutralisation tests :

It is now well known that this is the only practical basis on which cultures can be differentiated. Cultures of the various types of *Cl. welchii* contain a variety of toxins (toxic components), each neutralised by the appropriate antitoxin. Death in nature from clostridial infections is due to toxæmia and, unless the prophylactic in use contains toxoids derived from the right kinds of toxin, it is likely to be of no value for immunisation. Workers at the Wellcomes Research Laboratories in England have done much towards differentiating the toxins of the *welchii* group. (Oakley, 1943), and apart from the better known ones a number of new toxins have been added in recent years. The following table shows the main toxins produced by the principal types.

Culture type	Toxins								
	α	β	γ	δ	ϵ	θ	K	z	λ
A	+++	—	—	—	—	+	++	—	—
B	+	+++	+	+	+	—	—	—	+
C	++	+++	+	++	—	—	+	—	—
D	+	—	—	—	++	—	—	—	—

It is recalled that type A is usually associated with gas gangrene in man, type B with dysentery in lambs, types C and D with enterotoxaemia in sheep, and type D pulpy kidney disease in lambs.

The α and β toxins are formed in young cultures say up to 18 hours at 37°C, after which β toxin quickly deteriorates. The ε toxin on the other hand appears late, after 3-5 days at 37°C, and is more stable. Many of the toxins have a lethal action on mice and rabbits: some are necrotising; a few are haemolytic, notably the α toxin which is proved to be a specific lecithinase (MacFarlane, Oakley and Anderson, 1911). The K toxin is a collagenase (Oakley, Warrack and v. Heyningen, 1946), while the γ toxin has an action rather like that of K (Oakley, Warrack and Warren, 1948). The finer technique of antigenic analysis for toxins of the clostridia (*Cl. septicum*, *Cl. oedematis*) and the accurate titration of the toxic components of a mixture are highly skilled procedures, and cannot be undertaken usefully without much training and experience. On the other hand, the mere identification of the **better known** toxins and the allocation of strains to type is not difficult when sera of known antitoxin titer are at hand.

If toxins have to be stored, they should be precipitated with ammonium sulphate and dried; even so, some of them keep badly. In this work two media were used for the identification of early and late growth toxins respectively. (a) Beef heart infusion broth, containing 1.0 per cent. peptone and 0.5 per cent. sodium chloride, at pH 7.0. The medium was distributed in about 15 cc. amounts in tubes 16×0.8 cm., boiled and cooled before seeding, and incubated at 37°C for 16 hours in an anaerobic jar using Rosenthal's chromium method (1937). (b) Infusion broth as before, about 20 cc. amounts in tubes 22×1.6 cm., with addition of chalk and of meat particles to give a deposit about 2 cm. deep. The medium was boiled and cooled before seeding and incubated at 37°C for 3 days.

In both cases growth were luxuriant, with gas production. Since filtrates or centrifugates are fragile and often too weak for titration it is necessary to concentrate the toxic components with ammonium sulphate and to store the dry precipitates *in vacuo*. The technique adopted was as follows. Growths from several tubes to give a volume of 80-120 cc. were collected in chilled centrifuge tubes, centrifuged for 15 minutes at 2,000 revolutions per minute, ammonium sulphate stirred with the supernatant to give 70 per cent saturation. After a few minutes in the refrigerator, the surface scum was removed to a watch glass and dried off for an hour or so in a desiccator *in vacuo* in the cold, it was then broken up, transferred to a small weighed tube fitted with a loose fitting plug, and immediately replaced in the desiccator *in vacuo* in the cold overnight. The deposit obtained by centrifuging the 70 per cent. saturated supernatant was similarly treated, though as the amount is relatively small this can probably be omitted. A representative mixed sample of dry scum and deposit was dissolved in saline at one-tenth of the original volume for a preliminary test on mice. If this was satisfactory, the remainder of the powder in the two weighed

tubes was brought into solution for use in toxin neutralisation tests. Brief centrifuging of the dissolved toxins is advisable to remove insoluble material before injection of the mice. To minimise inactivation of the stored toxins, it is important that the precipitated toxins should be rapidly dried, kept cold and not exposed to air.

For the toxin neutralisation tests, standard sera of the antitoxin values (units per cc.) shown were kindly supplied by Dr. Oakley. These were:

Cl. welchii serum		Antitoxin values					
Type	A	α	β	δ	ε	θ	K
"	B	340	-	-	-	0	200
"	C	29	1260	2.1	105	45	-
"	D	130	1800	9.5	<1	21	-
"	E	85	<1	<0.5	240	1	-

Mice for inoculation were kindly provided from the Refik Saydam Institute, Ankara. Except in preliminary tests of the activity of the toxin, mice were always used in pairs, amounts up to 0.65 cc. being given slowly intravenously. A satisfactory toxin should kill within 30-60 minutes, but shortage of mice precluded any attempt to assess at all closely the potency of toxins required for neutralisation tests.

It is unnecessary to describe the individual experiments in detail. In the late culture centrifugates, the tests were invariably negative, pointing to the absence of ε toxin. With strains 11 and 13 precipitated toxin corresponding to 2.5 cc. original culture and with strains 14 and 12 twice this amount were used in the examination for ε toxin. On the other hand, early cultures were toxic for mice and it was necessary to identify the toxin or toxins present by systematic examination of the four strains.

In a first experiment with strain 11 (on 29.1.1952) the following results were obtained. The precipitated toxin killed within 10 minutes a mouse in dose of 0.25 cc., corresponding to 2.5 cc. original culture, but not in one-fifth of this amount. In a neutralisation test 3 days later, the toxin in the meantime being stored cold *in vacuo*, type C and type A sera were used, with results shown.

Type C serum			Type A serum			Control/no serum
Dilution	40	225	1125	8.5	42.5	
Units of antitoxin to each mouse						
β	10	2	0.4	α 10	2	0.4
α	0.72	0.14	0.03	k 14.7	2.94	0.59
L.	D 10 min.	D 10 min.		L.	L.	D 1 hr
L.	D < 6 hr	D < 6 hr		L.	L.	D 12 hr
						D < 6 hr

In the test 0.75 cc. of serum dilution—or saline with the controls—was mixed with 0.75 cc. precipitated toxin solution and allowed to stand at laboratory temper-

nature for 30 minutes before injecting 0.5 cc. of each mixture into each of two mice. (L. = lived. D = died in time shown).

This test indicates the toxicity of the culture is due, not to β toxin but to α toxin, perhaps with some K. Incidentally, the formation of K toxin would be suggested by the extreme softening of muscle observed in the inoculated guinea-pigs. Strain 11 should therefore be either a type A or a type D degraded through loss of α toxin.

19.2.1952. A similar experiment with strain 11 was carried out. 0.5 cc. and 0.4 cc. of the solution of precipitated toxin, corresponding to 5 and 4 cc. of the original centrifugate, killed two mice within 5 minutes of injection, while 0.05 cc. killed one of two mice in 9 hours and failing to kill the other. A neutralisation test resulted as follows.

Type C serum			Type serum			Control no serum	
Dilution	90	450	2250	17	85	425	
U. for of antitoxin to each mouse							
β	5	1	0.2	α	5	1	0.2
α	0.36	0.072	0.0144	k	7	14	0.28
D < 10 min	D < 10 min	D < 10 min	L	L	L	D 3 hr	D < min
D 3 hr	D < 1 hr	D < 1 hr	D 18 hr	L	D 6 hr	D < min	

In the test, 0.75 cc. serum dilution or saline was mixed with an equal volume of precipitated toxin solution and after 30 minutes each mouse was given 0.65 cc., that is, 0.4 cc. toxin and 0.25 cc. serum dilution. The toxin is not neutralised by 5 units of β antitoxin but is neutralised by one unit or less of α antitoxin. The toxin therefore contains no β toxin but does contain α or K or both, meaning as before that the strain is either a type A or a type D, degraded by loss of α toxin.

21.2.1952. An experiment on almost identical lines was carried out with strain 13. 0.4 cc. precipitated toxin solution caused immediate death in three mice, while 0.05 cc. was without effect. The toxin was therefore relatively strong and indeed in the neutralisation test all the mice died immediately, except the two getting 5 units α antitoxin which though completely pre-treated survived for 24 hours. A confirmatory experiment carried out on the following day using the same dose of toxin but double amounts of antitoxin, gave survival of a mouse getting 10 units α antitoxin and death within 30 minutes of the one getting the same amounts of β antitoxin. It seems therefore that strain 13 resembles strains 11 and 14 in its make up.

26.2.1952. An experiment with the remaining strain, no. 12, was a partial failure, because in spite of three attempts on the same day a suitable strength of toxin to give differentiation in the neutralisation test was not attained. There was a suggestion of better neutralisation by type A serum than by type C serum.

Confirmatory experiments at Wellcome Research Laboratories :

The four strains have been subjected to a routine and independent analysis, with final results as follows.

Strain	Toxin								
	α	β	δ	ε	θ	κ	ι	λ	μ
11	+	—	—	—	—	+	—	—	++
12	+	—	—	—	—	+	—	—	—
13	+	—	—	—	+	+	—	—	+++
14	+	—	—	—	±	+	—	—	+++

The methods used for detecting the toxins were the following :

- Lecitho-vitellin tests for α toxin.
- Haemolytic tests with sheep cells for α , θ and δ toxins.
- Neerotising tests for α , β , ε and ι toxins. Filtrates were examined before and after activation with trypsin.
- Azocoll and collagen paper tests for κ and λ toxin.
- "ACRA" tests with hyaluronic acid for μ toxin.

After toxins had been detected, they were examined for specificity by serum neutralisation tests. Details of all methods used are described in the articles named at the end of this paper.

Discussion and Conclusions :

In the final results just mentioned, identification of an important new toxin, μ (Oakley and Warrack, 1951) is added, as well as specific information regarding the muscle-softening κ toxin and the λ toxin. It is to be noted that μ toxin is produced by type B strains and by some A and D strains; it has not so far been found with type C strains. κ toxin production is a character not only of type A but also of type C and traces of it may be formed by type D. The analysis of strains 11, 12, 13 and 14 indicates that, whatever they once were, they are now ordinary type A strains. It seems mostly unlikely that they could ever have been B strains. Since strains 11, 13, and 14 produce no β toxin but do produce θ toxin, it also seems unlikely that they can ever have been C strains. The most likely explanation, in view of their animal origin, is that strains 11, 13 and 14 are degraded D strains, degraded in that they have lost their power to produce ε toxin. In this connection, Borthwick (1937) has shown that type D cultures on repeated subculture readily lose power to produce ε toxin.

The position regarding strain 12 is slightly different in that, since it does not produce μ toxin, it could be a derivative of type C, degraded in having lost its power to produce β toxin. This again seems much less likely than that strain 12 also is a type D strain, which does not produce μ toxin and is at the same time degraded in

respect of ϵ . In any case the reduced toxicity of this strain is in accord with its lower pathogenicity for guinea-pigs and mice.

One other conclusion from this work is unfortunately very clear, namely that these strains must now be of little value for producing prophylactic vaccines for use in animals. They should in fact have been discarded long ago and replaced with antigenically complete type C or type D cultures, depending on whether one or both of these types are established as a prevalent source of animal disease in Turkey. In the economic interest, up-to-date research on these matters is obviously a matter for urgent attention.

REFERENCES

- Borhwick, G. H. (1937). *Helv. Jour. Exper. Path.*, **18**, 175. Observations on *B. septicus* type D: its occurrence in normal animals and the variation in antigenic character of its toxin.
- MacFarlane, H. G., Oakley, C. L. and Anderson, C. G. (1941). *Jour. Path. and Bact.*, **52**, 99. Haemolysis and the production of opalescence in serum and lecithin-vitellin by the toxin of *Clostridium septicum*.
- Oakley, C. L. (1943). *Bulletin of Hygiene*, **18**, 781. The toxins of *Clostridium septicum*. A critical review.
- Oakley, C. L. and Warrack, G. H. (1971). *Jour. Path. and Bact.*, **62**, 45. The ACHA test as a measure of estimating hyaluronidase, deoxyribonuclease and their antibodies.
- Oakley, C. L., Warrack, G. H. and van Heerwynck, W. E. (1940). *Jour. Path. and Bact.*, **58**, 229. The collagenase (toxin) of *Clostridium septicum*, type A.
- Oakley, C. L., Warrack, G. H. and Warren, M. E. (1948). *Jour. Path. and Bact.*, **60**, 403. The Kappa and Lambda antigens of *Clostridium septicum*.
- Rosenthal, L. (1937). *Jour. Path. and Bact.*, **54**, 317.

AİLE İÇERİSİNDE NEFRİT SALGININA SEBEP OLAN BİR STREPTOKOK PORTÖRÜ

Sabahattin PAYZIN

Ankara Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve
Salgınlar Bilimi Doçenti

Bir ailede birkaç vak'adan ibaret ve aile üyelerinin bir çoğuna musallat olan bir nefritis salgını çıkmıştır.

Birisi hariç, diğerleri yalnız birer kere hastalanmışlar ve hepsi şifa ile sona ermiştir. Hastalığın kaynağı bakımından enteresan olan bu salgını yayınlamağı uygun görüyoruz.

Olgu: 1 — 1951 yılı sonuna doğru ve yakınlarımızdan olan A ailesinin 15 yaşındaki kızı birdenbire anjine yakalanmış ve sulfonamid tedavisine rağmen göz kapaklarında ödem ve albüminüri, hematuri dikkati çektiğinden had "nephritis" teşhisiyle Gülhane Hastahanesi'ne yatırılmıştır. Penisilin ve diyet tedavisinden sonra tam şifa ile hastahanedен çıkmıştır.

Olgu: 2 — Birinci olgu G. A. nin büyük annesi Bn. Y. İ. 3 ay sonra aynı şikâyetlerle hastalanmış ve tam ve klâsik nefritis tablosu ile aynı kliniğin ve bilâhare de bizim tedavi ve gözlemimiz altında kalmıştır. Hematüri, tansiyon yüksekliği ve edem çok sürmemekle beraber albuminüri iki ay kadar devam ettikten sonra bu hasta da tam bir şekilde iyileşmiştir.

Olgu: 3 — Olgu 2 nin başka bir evde oturan oğlunun 10 yaşındaki kızı Z. İ. anjin olduğundan —ninesinden iki ay sonra— muayeneye çağırıldık. İki taraflı kriptik anjin tesbit edildi. İhtiyaten sulfonamidle penisilin ortaklaşa kullanıldı. 3 gün sonra çok hafif bir albüminüri ve hematuri, göz kapaklarında edem görüldü. Penisilin ve diyet tedavisi ile bu belirtiler dört günde kayboldular.

Olgu: 4 — Bu kızın babası bir gece aniyen et yıkantı suyu gibi içmiş, ateş ve anjin ile hastalandığından muayeneye çağırıldık. Hastalık tablosu yukarıdakilerin aynı idi ve aynı şekilde tedavi altına alındı. Aile içinde nefritisin salgın halinde patlak vermesi bir bulaş kaynağı bulunduğunu düşündürdü. Bütün aile halkından streptokok taşıyanlığı (porteure) aramağı ihmal etmedik. Buna ait sonuçlar aşağıda verilecektir. Bu hastada da yapılan penisilin ve sıkı diyet tedavisi iyi sonuç verdi ve nefrit kronik hâl almadan şifa elde edildi.

Olgu: 5 — Sonuncu hastanın eşi: Bu hastaya da 8 ay önce aynı şikâyetler üzerine çağırıldım. Kızından bir buçuk ay sonra hastalanmıştı. Muayenede aynı peyler tesbit edildi ve sidik muayenesi de tipik nefritis buluntularını gösteriyordu. Hastada

tansiyon yükselmesi olmamıştır. Tipik bir anjin hali yoktu. Et yıkantı suyu gibi kanlı sidik hastayı şiddetle korkutmuştu. Bu hasta da aynı şekilde tedavi edilmişti; fakat bu tarihten dört ay önce (Mayıs 1950) Bn. B. I. aynı şekilde yeniden hastalanmış ve tedavi ile şifa elde edilmiştir.

Olgu: 6 — Bn. S., o evin evlâtlığı: Sadece anjin ile olgu 5 in ilk hastalığından biraz sonra hastalanmış fakat sadece anjin tesbit edilmiş, böbreklerde karmaşık olmamıştır.

Klinik tablo anjin, göz kapakları ve ayak bileklerinde edem, başlangıçta yüksek ateş, et yıkantı suyu gibi sidik buluntuları ile tarif edilebilir.

Sidikte: Albumin 1-3 gr. civarında —yalnız ikinci olguda 10 gr. bol al ve akyuvarlar, yuvarlak epitel hücresi ve bir iki lökosit ve granüle üstüvaneden ibaret oluyordu. Dikkatli mikroskopik muayenede sidikte streptokok zincirleri bulunduğu da dikkati çekiyordu.

Salgınlar bilimi yönünden araştırma :

A. ve I. aileleri iki kardeşe ait idi. Her iki kardeşin annesi ikinci olgumuz, Y. I. idi. Her iki ailenin ikişer çocuğu evde bulunuyor ve anne Y. I. her iki eve de sık sık girip çıkıyordu. Bu hasta 66 yaşında olup yakın zamanlara kadar anjinden şikâyeti olmamıştır.

A. ailesinde karı, koca, iki çocuk. I. ailesinde ise karı, koca, 10 yaşında kız, 6 yaşında erkek çocuk. Bn. Y. I. (büyükanne) ve bir de evlâtlık —21 yaş— bulunuyordu.

Bütün aileden β hemolitik streptokok aranmak üzere üç kere boğaz kültürü yapıldı. Her seferinde hiç hasta olmayan 6 yaşındaki çocuk T. I. de bol miktarda β hemolitik streptokok üremiştir. Diğerlerinde hastalık arasında kültürde β hemolitik streptokok üremiş, fakat sonradan üretilmemiştir.

T. I. ailenin en küçük erkek çocuğu idi ve bir yaşında poliyomyelitis geçirmiş olduğundan sağ bacağı felçli olup çok ihtimam görüyordu. Nadiren anjine oluyordu.

Bu çocuğa genel ve yerel penisilin ve sülfonamid tedavisi yapılmasına rağmen streptokok taşıyanlığı giderilememiştir. Sonradan 1952 kışı içerisinde boğmacaya yakalanmış ve avreomiçin tedavisi görmüş ve buna rağmen streptokok saçmakta devam etmiştir. Poliyomyelitis geçirmiş olması ve büyük bademcikler bulunmaması sebebiyle tonsillektomi tavsiye edilememiştir. İhtimal ki annesi ikinci defa olarak çocuğundan bulaşmıştır. Bu çocuğun ablası 8 yaşında iken kızıl geçirmiş, fakat nefrit olmamıştır. T. I. o zaman dört yaşında bulunuyordu ve kızıl yakalanmamıştı.

Sonuç :

İngilterede yayımlanan "epidemik nefritis" olguları ile tam bir benzerlik olmasa bile bir taşıyanın sebep olduğu aile nefrit salgını hahis konusudur. Dikkate değer olan nokta taşıyanlığın antibiyotikler ile giderilememiş olmasıdır. Bu gibi vakaların çevresi için nasıl bir tehlike teşkil edeceğine iyi bir örnektir.

İRAN'DA YABANI KEMİRİCİ VEBASI VE H. RACIA ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR [*]

Dr. Kemal ÖZSAN

Refik Saydam Enstitüsünde Mütahhas

Kürdistan Valisi 1947 senesi başlangıcında, dağlık bir araziden katırla gelen bir buğday tacirinden, "kan tükürten bir akciğer hastalığı" neticesi ağır telefata veren bir köyün mevcudiyetini öğrenir öğrenmez muntakaya hemen bir doktor gönderiyor ve ondan aldığı rapor üzerine eski bir doktor olması hasebiyle, hiç akciğer vebası görmemiş olmasına rağmen telle muntakada veba olduğunu Sağlık Bakanlığına bildiriyor.

Paster Enstitüsünün emrine derhal bir tayyare tahsis ediliyor ve bununla bir doktor hemen bölgeye gönderiliyor: Ordunun da tahsis etmiş olduğu vasıtalara rağmen (Jeep, kamyon, at) arazinin arızalı olması dolayısıyla ancak ertesi gün kontamine köyler bölgesine varılıyor. Birbirlerine yakın ve muhitten jeografik olarak izole olan 7 köyde 54 ü ölmüş olan 56 vaka tesbit olunuyor.

Epidemi sönmeye yüz tutmuş olup, evolüsyon halinde olan 2 vaka müşahedeye alınıyor: hastalar araz olarak :

- 1 — Kanlı balgam.
- 2 — 40° nin üstünde ateş.
- 3 — Prostration.

gösteriyorlar: balgamda bipoler basiller mebzul miktarda tesbitle kobay ve fare zerkleri yapılarak veba basili idantifiye ediliyor.

Epideminin hikâyesi şu şekildedir: Septisemik olan vebalının bir gün evvel yanında bulunan genç bir şahıs 5-6 gün sonra hastalanıyor, pülmoner komplikasyon ve pnömoni pestöz gösteriyor. Diğer bütün vakalar kontakt neticesi husule gelmiş saf pülmoner vebadırlar. Derhal lüzumlu tedbirler alınıyor. Profilaktik olarak da sulfamid veriliyor. Bundan sonra tek bir vaka daha oluyor. Böylece 25 gün devam eden epidemide 55 i ölümlü neticelenen 57 vaka ile nihayet buluyor.

Bu küçük epideminin sebebini araştırmak üzere, Tahran'a dönüşte, yabancı kemiricilerin mütalâası için bir mission hazırlanıyor.

[*] Çalışmalarını yerinde görmek üzere, İran Paster Enstitüsünün çok nazik daveti üzerine, İran'da kaldığımız bir ay zarfında, başta Enst. Direktörü Sayın Gallazard olmak üzere bütün Enstitü mensuplarından görüldüğümü çok yakın alakaya teşekkürlerinizi sunmayı bir borç sayarız.

Tam bu esnada eski mihraktan 100 Km. kadar (kuş uçuşu) mesafede 2'inci bir epideminin mevcudiyeti ihbar ediliyor.

Bu epideminin hikâyesi de birinciye benzemektedir. İlk vaka pulmoner komplikasyon gösteriyor. Diğerleri pülmoner yolla kontamine oluyorlar. Burada da epidemi spontan olarak sönmek istidadını gösteriyor. Saniter kordon, hastaların izolmanı, sülfamidlerle profilaksi katı olarak hastalığı durduruyor ve neticede 25 günde 21 i ölümlle biten 22 vaka tesbit ediliyor.

Derhal köyde, tarlalarda, civar dağlarda kemiriciler üzerinde ankete başlanıyor. Hiç sıçan bulunamıyor. Domestik kemiricilerden *Mus Musculus - batorinus*, az adette evde tesbit ediliyor. 22 vebalı evden yakalanan 40 fare enfeksiyondan tamamen arı bulunuyor. İnsan sığınakları ile yabani kemiriciler arasında yegâne münasebet kurabilecek olan hamster "*Cristellus migratorius izobellianus*" dır ki, tarlalarda yaşadığı gibi evlerde de bulunabilir (1). İran'ın diğer mntakalarında çok yayılmış olmasına rağmen bu "foyer" de bulunamamıştır. Köy civarında yakalanan tek bir Hamsterde de hastalık tesbit edilememiştir.

Köy etrafında 10-20 Km. sahada yapılan çok sıkı tongoeur araştırmalarında ancak merionlar bulunmuştur.

Bunlar da:

Meriones persicus persicus,

Meriones libycus erythroua,

Meriones shawi tristrami dirler.

Hastalığın menşei kat'i olarak, değirmenci olan amcasının yanına gelerek buğday çuvalları yanında oynayan çocuğa dayanmaktadır. İnsan ikametgâhlarından uzak, izole bir vadide bulunan bu değirmen civarında yapılan derin incelemeler bunu göstermiştir. Değirmenci oraya haftada en çok bir kere gelmekte ve muhtemelen diğer günlerde merionlar üğüntü bakiyelerini yemek için gelmektedirler.

Başlangıçta böylece çıkan epideminin sebebini araştırma için yapılan mütalâalar, bilâhare genişleyerek yabani kemirici vebası hususiyetlerini tetkik ve bu işte âmil olan kemiricileri sistematik olarak araştırma ve İran'daki foyerleri tesbitle hudutlandırmaya inkılap etmiştir.

Bu iş için de şimdiye kadar (1947 den) 35 kadar mission teşkil edilmiştir. Yapılan çalışmalarda insanlarda enfeksiyonun daima aynı mntakada meydana geldiği görülmüştür. Bundan 80 sene evvel Tholozan'ın tesbit ettiği ve balen de Enstitü Pasteur'ce yapılan araştırmalarla hudutlandırılmaya çalışılan mihraklarda sıçan ve domestik kemiricilerin (bunlar insana hastalığı nakletmeye kadirdirler.) bulunmadığı meydana konmuştur. Hastalık daima yabani kemiricilerde bulunmuştur ki, yaşayış tarzları, onları ikametgâhlardan uzak bulundurmaktadır.

Bu çalışmalarda yakalanan hayvan cinsleri (Rongeur ve carnivore) ve miktarları hakkında bir fikir vermek üzere 1947 den 1951 e kadar yalnız foyer ve civarında bulunanlara ait bir listeyi sunuyoruz.

Famille (Sous-Famille)	Genre	Espère	Adet
R o n g e u r s			
Sciuridae	Citellus Spermophile	fulvus emmend	1.352
Dipodidae (Sipodinae)	Allactaga Gerbilline	elater indica williamsi	954
Muscardinidae	Dipodomys Lair	nitidulus phrygius	1
Muridae (Murinae)	Mus Souris	musculus bactrianus	130
	Neomys Haudley	indicus indicus	336
(Cricetinae)	Cricetulus Pitt-Hauster	auratorius isabellinus	115
	Mesocricetus Hauster doré	auratus brandti raddii	118
(Gerbillinae)	Talera Gerbille	indica	101
	Meriones Mérion	persicus persicus shawi tristrami libycus erythronna crassus charon	4.082 4.714 384
(Microtinae)	Arvicola Grand-Campagnol	terrestris persicus	165
	Microtus Campagnol	rami trani	1.542
	Fibulius Rat-Tanque	infimus	150
C a r n i v o r e s			
Mustelidae	Mustela Belette	erinea	40
	Vulpes Loup	Peregrina alpherakii Yekün	1 11.376

1947 den 1951 e kadar yakalanan Rongeur ve Carnivore yekünü (yalnız foyer ve civarında yakalananlar) (1).

Yalnız mihraktan yakalanan hayvanların yekünü 9.119 dur. Bunlar içinde yalnız aşağıda yazılı espcce: enfekte bulunmuştur.

İzole edilen suş

Meriones persicus persicus	69
Meriones shawi tristrami	
Meriones libycus erythroua	
Allataga elater indica	2
Elobius lutescens	1
Mustela altaica	1

Burada görülüyor ki pratik olarak enfeksiyonun portörü merionlardır. Diğer hayvanlar kazaen hastalanmışlardır (1).

Merionlardan veya veya terrierlerinden ve diğer hayvanlardan yakalanan pireler şu "gente" lara aittirler.

Xenopsylla (Conformis gurubu)
Nosopsyllus
Stenoponia (insperata?)

Pire indeksi mevsimine göre değişmekte olup Enstitüce yapılan müşahedelerde azamiine Aralık ayında ulaşmaktadır ki, burada maximum 100 pire terrierden, 70 pire hayvan üzerindedir. Bu pirelerde vasatı nisbeti xenopsyllalar lehinedir. (1)

Xenopsylla % 60—70
Nosopsyllus % 25—35
Stenoponia % 5—15

Kürdistan'da kemiricilerde (Rongeur) yakalanan pireler vahşi kemiricilere aittirler; fakat insanı da sokabilirler. Kürdistan vebasında (veba mihraklarında) bir çok reseptif rongeur bulunmasına rağmen (bazı mntakalarda bilhassa spermofil) rezervoar olarak merionlar tesbit olunmuştur.

Yabancı veba (sauvage peste) bakımından bu zamana kadar merionlar konu dışı yapılmakta idi ve buna sebep de tecrübi hassasiyetinin düşük olması idi. Bununla beraber Rus müellifleri merionun tabii enfeksiyonu göstermişlerdi.

Tikhomirova (1), Hazar Denizi şimalinde Volga ile Ural arasındaki kumsal bölgede yaptığı çalışmalarda en çok meriona raagelmış ve bu hayvanı başlıca rezervoar rolünü oynayan olarak düşünmüştür.

Baltazard (1) neşriyatında ve hususî olarak yaptığımız konuşmalarda "Blanc" ile beraber hangi hayvanların virus rezervoar'ı olabileceğine ait conception'larını izah etmiştir. Enfeksiyondan sonra geniş ölçüde ölüme maruz kalan hayvanlar bu enfeksiyonun

reservoir'ı olmazlar veya daha başka bir ifade ile bir enfeksiyonun rezervoar'ı hassas hayvanlar arasından aranmamalı, virusa daha mukavimler arasından aranmalıdır. Bu hayvanlar ta orijinindenberi virusun temadisini temin edecekler, kendileri de hastalık neticesi toptan ölmeyecek, ortadan kaybolmayacaklardır.

Bu fikre istinaden de uçan ne evlece ve ne de, şimdi vebanın orijinel sahibi olmamış ancak onun dağıtıcısı olmuştur (1).

Baltazard ve arkadaşlarına göre "peste" sensibilitesi düşük espece de aranmalıdır.

Şimdi bir muntakada andemik veba tetkikatının nasıl yapıldığını izah edelim:

Bir kamyona taharriyat için lüzumlu malzeme yüklendikten sonra tetkikat mahalline gidilmekte ve orada bir merkez kurulmaktadır.

En kısa zamanda yerleşildikten sonra, jeep'le köylere gidilerek köye ait araziden kemircilerin yoklanması köylülere söylenmekte ve diri her hayvan için 75 kuruş ve ölü için de 50 kuruş verileceği bildirilmektedir. Bunun için de köye bir miktar kafes bırakılmaktadır. Ertesi gün jeep'e ihtiyaten bir miktar daha kafes alınarak köy köy dolaşmakta ve yakalanan rongeurler yakalanma yerleri çok sarıh olarak kaydedilerek merkeze getirilmektedir.

Merkezde ölü hayvanların hemen otopsüleri yapılarak dalaklarından kesilen parçalar kobayların epile edilmiş cildlerine sürülmekte ve yine bu parçaların lam üzerine sürülmesiyle elde edilen frotis'ler metilen mavisi ile boyanarak mikroskopik muayenesi yapılmaktadır. Bu şekilde epile kobay cildinden diğer mikroplar geçmemekte, veba basilleri geçerek hayvanı öldürmektedir. Yani cilt diğer mikrop için bir süzgeç vazifesi görmektedir.

Firiksiyon muntakasında içi basıl dolu filiktenler teşekkül eder. Ganglionlar çabucak şişer. Enfeksiyon kan yolu ile umumleşir. Hayvan 2—6 günde ölür.

Otopside hemorojik, septisemik lezyonlar müşahede edilir. Suffusions intestinals, serozların kanlı epanşmanı, splenomegali görülür. Dalak ve karaciğer frotilerinde, kanda, ganglionlarda basiller bulunur.

Kalp kanının jeloza ekilmesiyle izolman yapılmaktadır.

Dalaktan yapılan frotide eğer veba basili şüphesi veren bipoler basiller görülüyorsa, o zaman bundan emülsiyon hazırlayarak bir kobayın karın cildi altına zerkedilmektedir. 1-2 gün içinde gittikçe büyüyen bir plaktar teşekkül etmekte ve nihayet hayvan jeneralize enfeksiyonla ölmektedir.

Yakalanan bütün hayvanların sistematik olarak pireleri aranmakta, ayrılan pirelerin hastalıklı olup olmadıkları, salim, hassas hayvanlar üzerinde aranmaktadır. Veya bir santrifüj tüpünde cam bir bagetle ezildikten sonra üzerine biraz tuzlu su ilâvesinden sonra kobaylara cilt altı zerkedilmektedir. Aynı şekilde rongeur'lerin terrier'leriyle evlerden yakalanan pirelerden de suş izolmasına çalışılmaktadır.

"Hayvanlardan pire ayrımı şu şekilde yapılmaktadır. Kollum pensi ile kulaklarından yakalanan hayvanın arka ayakları tutulduktan sonra, içerisine su konmuş beyaz emaye bir küvet üzerinde ufki olarak tutulmakta ve muntazam üflemelele pireler suyun üzerine düşürülmektedir. düşmeyenler de bir kornea pensi ile alınarak suya bırakılmaktadır. Bu suretle su üzerinde biriken pireler mütalâaları için 40 Cm. kadar irtifada, içerisnde kepeği havi bir cam kaba konmaktadır ki, ağız tel kafesli bir kapakla örtülmüştür. Tecrübe maksadıyla pire almak için bir pensle tutulmuş içi su dolu petri kutusu bu kabın içine sarkıtılmakta, sıcrıyarak suyun içine düşen pireler de alınarak mütalâa edilmektedir.

Terrier'den pire ayrımı da, terrier'den alınan topraktan kornea pensi ile alınan pireyi su dolu küvete koymakla yapılmaktadır.

Hummaı racia üzerinde çalışmalar :

Rafıy İran'daki kemiricilerin kan ve dimağında bir spiroket izole etmiş ve buna Spirok (B. Microti) demiştir. Baltazard ve arkadaşları bu spirokellerin İran'ın şimal ve cenubundaki rongeur'lerin terrier'lerindeki *Oonithoclorrus erraticus* larıda mevcudiyetini göstermiştir.

Or. erraticus larını 2 nev'i vardır: Büyük ve cüce (naine). Her iki *ormistho* dorusta tabiatda daima spirokelle enfekte bulunmaktadır. Büyük varyete sp. *Hispanica* (espece type) ile naine olanı ise; *crociduræ*, *microti*, *merionesi* grup spiroketlerle enfekte bulunmaktadır. Tecrübeler göstermektedir ki, her iki varyete spirokette tabiatda naklettiği spiroket için bir spesifite arz etmektedir ve pratik olarak diğer varyete tarafından nakledilen spiroketi nakletmeye kadır değildir. Baltazard ve arkadaşlarına göre bu hadise tabiatdaki spiroket tevziini izah etmekte ve iki *espece*'si ayıran esas karakteri meydana getirmektedir.

Büyük varyete tabiatda daima *B. Hispanica*'nın nakilidir ki, bulunduğu muntaka f. *recurrent-Hispano-nord-african*'in bulunduğu saha tekabül eder.

Halbuki naine varyete *S. Hispanica*'nın hiç bir zaman nakili olarak bulunmamıştır. Bu da uzviyetinde bir spiroket barındırır ve onu nakleder ki ismi bulunduğu yere göre değişmektedir. *B. crociduræ* (Dakar), *B. microti* (İran), *B. Merionesi* (Fas), *B. recurrentis* vektorü olarak İran'da bir de *Or. Tholozani* mevcuttur ki, ahır hayvanatının parazitidir, köy evlerinde fazla miktarda yaygındır. Yani insan paraziti olarak da kendini göstermektedir.

Baltazard ve arkadaşlarına göre İkinci Dünya Savaşı esnasında husule gelen *F. recurrentis* pandemisi artık tamamen sönmüştür. Birinci Dünya Savaşından sonra da aynı hal vaki olmuştu. İnsanlar arasında büyük bir kargaşalık çıkmadığı takdirde sivilize dünyada bu hal devam edecektir.

B. recurrentis'in etüdünde maymun hariç, reseptif bir hayvanın mevcut olmaması salgınlar dışında karanlık noktaların mütalâasını çok güçleştiriyordu. Daha doğrusu etüdler yalnız salgın zamanlarına inhisar ediyordu.

1947 de Baltazard ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalar bu işe bir hal çaresi bulur gibi olmuştur. Bu müellifler yeni doğan rongeur'leri bu spirokete karşı büyük reseptivitesini göstermişlerdir.

Yeni doğan beyaz fare şiddetli, öldürücü bir hastalık göstermektedir. Beyaz sıçan da enfeksiyon 6 gün kadar uzamakta ve dehqçeli bir spiroket çoğalması göstermektedir.

Grenier tarafından 1914 de zikredilmiş olan yeni doğmuş tavşanın reseptivitesi Baltazard tarafından çok yüksek bulunmuştur. Cildi altına insan kanı zerkedilen yeni doğmuş tavşanlar (birinci veya ikinci aksenin 4-8 inci günlerinde alınarak karanlık sahada 5-50 spiroket gösteren) 18-36 saatlik bir enkübasyondan sonra sıklık bir enfeksiyon göstermekte, 4 günde sahada 200 spirokete ulaşan durumu yükselmekte sonra 5-8 günde azalmakta ve kaybolmaktadır.

Enfeksiyonun uzun zaman devam etmesi, spiroketlerin kanda çoğalması, canlı hayvan jugulerinden 1 cc. kanın kolayca alınabilmesi ve nihayet hayvanın boğazını keserek 3 cc. kan alınabilmesi süşun idamesi için pasaja imkân vermektedir. Bu şekilde süş muhafazası yeni doğmuş tavşanda maymundan daha iyi olmakta ve tavşan faikiyetle maymun yerine kaim olmaktadır.

Bitin de yeni doğan tavşanlara kolayca adapte olabilmesi ve bit spirotestozunun ona aşlanması eskidenberi akserelezi izah eden antijenik yapı değişik spiroket meselesini ele aldırmiş ve muhtelif akseler esnasında izole edilen spiroketlerin yekdiğerinin tamamen aynı olduğu ve birinin diğçrine tam premoniton yarattığı göstermişir (7). (144 hayvan kullanıldı).

Baltazard ve arkadaşları bundan şu neticeyi çıkarmaktadırlar ki, ric. fièvre'de yeni bünyede jermiler meydana gelmesi fikri kıymet taşımamaktadır.

Netice olarak Baltazard ve arkadaşlarının laboratuvarda saktıadıkları *Sp. recunotis* süşunun karakterleri tamamen sabit kalmış ve virulansı da izolandakinden bir aralık göstermemişir. Spiroketin ayrıca insandaki enkübasyon müddeti aranmış (P. G. lilerde) husule gelen enfeksiyonun insan için virulansında mevsime tâbi bir sıklık mevcudiyeti müşahede edilmiştir (7).

Terrier (kemiricilerin yuvası) den kene aranması :

Lüzumlu şeyler :

Küçük bir çapa

Küçük bir kürek

Tübler (Gazlı bezle örtülü ,pamukla kaplı)

Elek

Beyaz emaye kaplar.

1 — İlk önce terrier'in ağzındaki toprak çapa ile çekilir ve emaye kaba doldurulur. Eğer bu toprak üzerinde keneler görülüyorsa kornea pensi ile alınarak tübe dol-

durulur. Eğer bir şey tesbit olunmuyorsa kuvetteki toprak eleğe aktarılarak elenir ve bakiye toprak tekrar kuvete dökülerek aynı şekilde aramaya devam olunur.

2 — Ev ve ahırlardaki köşe ve duvarlardaki çukur ve çatlaklardan ya toprağı kazmak veya sıvası düşürülerek alınan materyel de yukarıdaki muameleye tâbi tutulur.

Kenelerin muhafazası 28 derecelik etüvde yapılmaktadır.

Kenelerden suş izolmanı için, emaye bir kuvet içerisine su konduktan sonra, dibine beyaz bir filtre kâğıdı konmuş bir beher glasta bunun ortasına konmakta ve bu beher glasa da yeni doğmuş bir tavşan yavrusu baş tarafı yukarı gelmek üzere yerleştirilmektedir. (Mesanesini tazyikle idrarını çıkardıktan sonra). Sonra tüblerdeki keneler (dilenen şekilde olmak üzere tek tek veya grup halinde) kornea pensi ile yavru tavşanın üzerine bırakılmakta ve beher glasin ağız bir gazlı bezle örülmektedir. Gaz beher glasa lastikle (halka şeklinde) tutturulmaktadır. Kan emme durumları beher glasin dibine düşme veya şişmeleriyle tesbit olunan keneler tekrar tüblerine konmakta ve tavşan yavrusunun da müteakip günler kulağını kesmek suretiyle alınan kan (yeti hemen koterize edilmektedir) ultramikroskopide kontrol edilmektedir.

B I B L I O G R A F I

- 1 — Le Foyer de peste du Kurdistan. Baltazard (M), Bahmanyar (M), Moïdi (eh), Seydian (B). Bulletin organisation mondiale Santé, 1952, 6, 441-472.
- 2 — Sur la peste inapparente des rongeurs sauvages. Baltazard (M), Moïdi (eh), présenté par Jean Tridon. Extrait des comptes rendus des séances de l'Académie de sciences. T. 231, P. 771-773, séance du 9 octobre 1950.
- 3 — Ornithodora erraticus et Plevre recurrens. Baltazard (M), Bahmanyar (M), Moïdi (eh) Bulletin de la Société de Pathologie exotique extrait du tome 43, No. 10, Sep.-Oct. 1950 (Pages 595 à 601).
- 4 — Sur la transmissibilité des sprochetes recurrens par le pou. Baltazard (M), Moïdi (eh), Bahmanyar (M), Seydian (B) et Habibi (A). Bull. de la Soc. de Path. exotique. Extrait de tom 43, No. 3-4, Mars-Avril 1950 (Pages 176 à 180).
- 5 — P. recurrens Humains, leur transmissibilité par le pou. Baltazard (M), Bahmanyar (M), Habibi (A), Moïdi (eh), Seydian (B). Imprimé avec le périodique Bulletin de la Soc. de Path. Exot. extrait du tome 43, No. 5-6, Mai-Juin, 1950 (Pages 309-316).
- 6 — Solution au différends de l'experimentation avec le sprochete Obermair, S. recurrens, agent de la fièvre recurrens à pou. Baltazard (M), Moïdi (eh), Bahmanyar (M). Extrait des comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences. T. 224, PP. 1858-1860, séance des 30 Juin 1947.
- 7 — Données expérimentales nouvelles sur la fièvre recurrens épidémique humaine. Baltazard (M), Seydian (B), Moïdi (eh), Bahmanyar (M). Imprimé avec le périodique Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine. Extrait des Nos. 13 et 14, 1949, P. 284.

MAHLEP ÜZERİNDE BAZI İNCELEMELER

Doç. Dr. Remziye S. HISAR

Giriş — Bu satırların muharriri, Refik Saydam Merkez Hizmetleri Müessesesi Farmakodinami bübesinde çalıştığı altı sene zarfında, muayeneye gönderilen nümuneler üzerindeki gündelik mesaisinden vakit bulduğu nispette halk arasında şüpheli olarak tanınan otların ve muhtelif maddelerin kimya bakımından incelemelerini yapmağa çalışmış ve o zaman ne yazık ki fırsatını bulamadığı bazı tetkiklerin neticesini Enstitüden ayrıldıktan bir kaç sene sonra Direktörlüğün gösterdiği kolaylık ve Müessesenin değerli mütehassıplarından D. Bay S. B. Golem'in deisletileyle Enstitünün derhisinde yayınlamıştı : Memleketimiz sebze ve meyvelerinde C vitamini miktar tayinleri, Anamur figlerinin zehirliliği (Lathyrisme), Yapıkan otu (Parietaria Officinalis) üzerinde incelemeler gibi. Aşağıda mahlep tanelerine dair yazdığımız araştırmalar da bu istikametdeki çalışmalarımız arasında ilk başladıklarımızdandır (1939-1942). Bilhassa mahlep tanelerinin yağları, steroller ve alkaloidleri üstünde tetkif etmek istediğimiz bu incelemelere, gerek lüzumlu miyar, malzeme ve literatürün tedarik edilememesi, gerek Enstitüden ayrıldıktan sonra Eczacı Mektebindeki öğretim vazifesimizin çok yüklü olması dolayısıyla ara vermek zorunda kalmış; bir müddet sonra İst. Üniv. Smaî Kimya Enstitüsünde o zaman doçent bulunan bir arkadaşımıza müracaat ederek vakit buldukça oradaki laboratuvar ve vesaitten istifade ederek mahlep üzerindeki çalışmalarımı tamamlamak istemişim. Fakat binaların birbirinden uzaklığı ve talebe laboratuvar mesaisinin, yoklama ve imtihanların fazla vakit alması yüzünden araştırmalarımıza devama imkân bulunamamıştır. Bu sebeptendir ki, muharririn aşağıda vermesi neticeler mevzuu gerektirdiği gibi derinleştirememiştir. Bu yazılar ancak ilardaki çalışmalar için başlıca inceleme istikametlerini gösteren sematik bir meshiyet taşımaktadır. Bu mevzu için gerekli literatür ve teknik vasıtalar ya bir Eczacı Fakültesinin, veya bir Bio-Kimya Enstitüsünün ilmi araştırma laboratuvarlarında, yahut da Refik Saydam Euz. gibi hem kimyevî incelemelere, hem de fizyolojik kontrollere imkân veren, aynı zamanda da biokimya, biyolojiye ait periodik ve literatürü zengin olan müesseselerde verimli olarak tetkik edilebilir. Bu maksatlardır ki, başladığı çalışmaların tamamlanabilmesi ve şüpheli noktaların aydınlanması için muharrir, on seneden fazla bir zamandanberi defterinde kalmış olan müşahede ve tetkiklerini, arzu ettiği gibi tamamlamış ve derinleştirememiş olmasına rağmen, Enstitü Mecmuasının ilmi araştırmalarıla ilgili okuyucularına sunmayı faydalı saymıştır.

Mahlep, botanik edebiyatında Prunus Mahallebus adile kayıtlı olan ve halkımız arasında "İdris" denilen, yabancı vişnenin çekirdeklerinin içidir. Yağlı olan bu çekirdekler başka bir çok meyvelerinki gibi hidroliz neticesinde siyanidrik asidi veren hetero-

sidleri ihtiva etmediği ve aynı zamanda da aromatik bir madde olan kumarin (coumarine) i havi oldukları için çok makbuldür.

Kullanılışı — Yabancı memleketlere yağlı tohumlar arasında ihrac ettiğimiz mahlebin oralarda ne için kullanıldığı hakkında bir bilgimiz yoksa da güzel kokulu ve yarı kuruyan yağının vasıfları dolayısıyla gıda ve teknik maksatlarla kullanılması muhtemeldir. Memleketimizde mahlep, 1) — İçindeki kumarin dolayısıyla muhtelif yağlı kurabiye ve çörekleri kokulandırmakta kullanılır. Paskalye çöreklerine de konulur. 2) — Kökcülerde ev ilacı olarak satılır. Halk arasında mahlep ilaç olarak iki maksatla kullanılır: a) Zayıf bünyelileri kuvvetlendirmek ve şişmanlatmak için. Döğülen mahlep toz şekerle karıştırılarak günde bir kaç kahve kaşığı yenilir. b) — Şekerli diabete karşı kaynatılıp suyu içilmesi tavsiye edilir. c) — Bu iki şekle bir de muharririn ainesinden iştittiği ve haşkaları tarafından tatibi; edilip edilmediğini bilmediği şu kullanım tarzını da ilâve etmek lâzımdır: emzikle büyütülen çocukların sıkıca (raşitik) olmamaları için süte kaynatıldığı zaman kabardığı sırada kabaca döğülmüş bir kaç mahlep tanesi ilâve edilir ve bir taşım kaynatıldıktan sonra süt bir tülbentle süzülür. Böyle bir sütle beslenen bebeklerin kemik hastalığına tutulmayacakları, eğer hastalık başlanırsa, mahlepli sütle kısa bir zamanda iyileşecekleri kabul edilir. İşte muharriri mahlep üzerinde çalışmaya sevk eden sebeplerden biri de aileden iştittiği bu antirashitik hassasın mahlep tanelerinde hakikaten mevcut olup olmadığının tahkiki arzusu olmuştur. Orta tahsülün ilk heyecanları arasında "kocakarı ilacı" diye küçümseydiğimiz bir çok ampirik bilgiler arasında yanlış, gayri sihi hatta tehlikeli olanlar bulunabildiği gibi, ciddi araştırmalara ihtiyaç gösteren önemli mevzuların da bulunduğu şüphesizdir. Bunun için "bir kaç mahlep tanesine" atfedilen bu tesirin pek küçük dozlarda kullanılan antirashitik faktörle, D vitamini ile bir münasebeti olabileceğini düşünen muharrir, mahlebi bu bakımdan da incelemeye değer saymıştır. Gerçi D vitamini üzerindeki ilk araştırmalar, doğrudan doğruya antirashitik tesiri olan sterollerin hayvani menşeden balık yağından, elde edildiklerini, nebati sterollerin ise yalnız provitamin karakterinde olduğu ve ancak ultraviyole ile ziyalandırma suretiyle (ergosterolden kalsiferole geçiş) antirashitik faktöre tahavvül ettiğini göstermişse de sonraki araştırmalar bu ikiliğin samıldığı kadar kesin olmadığını naeydana çıkarmış ve bazı hayvani yağlardan da ergosterol elde edilmiştir. Demek ki mahlebin sterolünün veya sterollerinin belki de ultraviyole ile ziyalandırma ihtiyacı göstermeden antirashitik hasaya malik bulunan bir molekül yapısına sahip olamayacağına bizi önceden kabule sevk edecek ilmi bir sebep yoktur. Meselenin en kestirme tetkik şekli, şüphesiz kimya usullerile çalışmaktan ziyade fiziolojik metodları kullanmak ve bir rashitojen rejimle D vitamininden mahrum edilen büyük beyaz açanlar üzerinde mahlep tanelerinin kütatifi tesirlerini araştırmaktır. Fakat Enstitüde çalıştığımız senelerde D vitaminli müstahzarların yalnız toksisite müayeneleri yapılmakta ve antirashitik faktörün hasta hayvanlardaki kemik tegayyürlerini X ışınları ile incelemesini gerektiren tesirler mevcut bulunmamakta idi. Bu sebeplerle mahlebin antirashitik bir faktör ihtiva edip etmediği, var ise miktarının tayini fiziolojik metodlarla yapılamamış; bütün diğer vitaminlerle olduğu gibi —spektrofotometrimiz de bulunmadığı için— kat'i hüküm biolojik metodlara bırakılmak üzere, kimya reaksiyonları ile çalışmıştır.

Mahlep tanelerinin terkibi hakkında bazı incelemeler :

Elimize geçen botanik literatüründe Prunus Mahallebus'ü'nün terkibi hakkında bulduğumuz başka malûmat şundan ibarettir :

Meyvesi 1 Kg. da 0,1 - 0,5 mg. serbest salisilik asid ihtiva eder. Bundan başka malik, sitrik ve tartrik asitlerini havidir. Amilaz ve envertin bulunmuştur. Çekirdeklerinde kumarin vardır. Kül nisbeti % 6,71 dir. Külde % 80,9 CaO mevcuttur.

Yaptığımız analizler :

Mahlep tanelerine hububat tanelerinin analizinde kullanılan metodlar tatbik edilmiş ve aşağıdaki neticeler bulunmuştur :

Mahlep tanelerinin asitliliği :

2,5 gr. mahlep - 40 cc. 95° lik nötürleştirilmiş alkol, 24 saat laboratuar sıcaklığında bırakıldıktan sonra 20 cc. alınarak N. 10 KOH ile fenoltalein muvacebesinde titre edilmiş ve neticeler % H₂SO₄ olarak ifade edilmiştir. Bulunan kıymetler % 1,96-2,35. Tanelerin asitliliği mahsulün bayatlığı ile artmaktadır.

Mahlebin şekerleşebilen hidrokarbonlu maddeleri :

5 gr. mahlep + 50 cc. H₂O + 20 damla K.H₂SO₄ dört saat su hamamı, süzme, Courtonne ile defekasyon, Fehling ile titraj. Glüköz hesabına neticeler: % 8,8-9, 0-8,6. Hidroliz mahsulü KOH ile nötürleştirildikten sonra asid asetikli vasaitte phenylhidrazin ile sıcakta eriyen ve eriyik soğumya bırakılınca billûrlaşan bir ozazon vermektedir. Bu ozazonun şekli mikroskofta laktozozazona benzemektedir.

Mahlebin proteik maddeleri :

1 gr. mahlep tanelerinin bütün azot miktarı Kjeldahl metodu ile tayin edilerek netice 6,25 ile çarpılmıştır. Bulunan kıymetler nümunelere göre değişmektedir:

% bütün azot 4,69 . Prot. Mad. : 4,69 × 6,25 = 29,36

“ 3,04 - “ : 3,04 × “ = 18,98

Kül :

5 gr. mahlebin külleştirilmesinde şu neticeler bulunmuştur :

% kül miktarı : 3,68 - 3,99 - 5,0

Külde fosfor miktarı :

5 gram mahlep tanesine tekabül eden kül + 20 cc. H₂O + 20 damla HNO₃ yarım saat su hamamında suslandıktan sonra NH₃ ile nötürleştirilerek HCO.CH₃ ile asitlendirilip ayarlı Uranyl Nitrat eriyiği ile titre edilmiştir. 1 cc. uron eriyiği 0,00643 P₂O₅e tekabül etmektedir.

Sarıdilen 10,7 cc. % $P_2O_5 = 1.34$ (mahlep tanelerinde)
33,36 (mahlep külünde)

Mahlebin yağlı maddeleri :

5 gr. mahlep 10 gram kuartzla porselen havanda iyice ezildikten sonra bir cam alonjda eterle tüketilmiş ve eterli ekstre adı sıcaklıkta H_2SO_4 lü desikatörde buharlaştırılmıştır. Bakiye zeytî kıvamda açık sarı renkli, güzel mahlep kokulu bir yağdır. Bulunan miktarlar :

% yağ miktarı : 33,94 - 27,90

Mahlep yağının bazı karakterleri :

Kesâfet. Şişe metodu ile : $D_{20}^{20} = 0,9266$, $D_{15}^{15} = 0,9324$

Konsantre asidlerin tesiri :

- I. — 1 hacim yağ bir kaç dakika sonra esmerleşip + 1 hacim HNO_3 ($D = 1,40$) katılarak oksürük pastiller, manzarasını renksiz alıyor. *
- II. — 1 hacim yağ + 1 hacim $K_2H_2SO_4$ + HNO_3 .

Yağ tabakası derhal katılıp kahve rengi oluyor ve kendi haline bırakılınca tüpün içerisindeki sulp kitle yavaş yavaş tüpün ağzına doğru yükselerek nitroz buharlar neçrediyor.

Başka yemeklik yağlarda görünmeyen kesif asidlerin bu ciddetli tesiri ve yağın kısa bir zaman sonra katılması bu maddenin oksidasyon ve polimerizasyon kabiliyetinin yüksek olduğunu göstermektedir. Aşağıda görüleceği gibi iod endisi, bezir veya ceviz yağları gibi çok yüksek olmayan mahlep yağının nitrik asid tesirindeki bu süratli katılması içindeki doymamış yağ asitlerinin mevcudiyeti ile tamamenle izah edilemez. Çünkü iod endisi bakımından mahlebe yaklaşan başka yağlar, meselâ haşhaş yağı aynı şartlarda çok daha yavaş değişmektedir. Hakikaten mukayese maksadile iki ayrı tüpe konulan haşhaş ve mahlep yağlarına aynı miktar $1,40-1,42 HNO_3$ veya $HNO_3 + H_2SO_4$ karışımı ilâve edilince haşhaş yağında daima bariz iki tabaka görülmekte, asid tabakası renksiz kalmakta yağ tabakası ise gayet yavaş esmerleşmekte ve uzun müddet mayiliğini muhafaza etmektedir; halbuki mahlep yağı kısa bir müddet sonra tamamen koyu kahve rengi ve sulp bir hal almaktadır. Bu kolaypolimerleşme ve oksitlenmeyi bir iki sebebe atfetmekteyiz. 1) eterde muhal olan kumarin yağlarla beraber bulunmaktadır. Bu madde çok kolay reçineleşebilen, asid ortoksi-tonamük'in dahilî bir esteridir. 2) yağın ekstraksionunda kullanılan sülfürik eter peroksid ihtiva edebilir. Bu da gerek doymamış asidlerin, gerek kumarinin oksidasyon ve polimerizasyonunu katalize edebilir. Hakikaten içerisine eser miktar eter kattığımız aynı haşhaş yağı nümunesinden bir kısım, kesif asidlerle muamele edilince, mahlep yağından daha yavaş bir süratle, fakat o da kahve rengileşip katılmaktadır.

Mahlep yağının bazı karakteristikleri :

Sabunlaşma endisi : 5 gram mahlep yağı 25 cc. alkollü potasla sabunlaştırılmıştır.
KOH'nin ayağı : 29,5. Bulunan :

$$\left(\frac{29,5 - 14,6}{5} \right) 56 = 168,7$$

Yağ asidlerinin ortalama Mol ağırlığı :

$$\frac{56000}{15} = \frac{56000}{168,7} = 332$$

Iod endisi (Hübl metodu) : 0,5 gr. mahlep yağı + 20 cc. I (% 5)

+ 20 cc. HgCl₂ (% 30).

Şahit 79 cc. N/10 Na₂S₂O₃.

Yağ 29 "

$$I_{10} := (79 - 29) 0,0127 \times 200 = 50 \times 2,54 = 127$$

Sabunlaşmayan miktar : 5 gr. mahlep yağının sabunlaştırılmasından sonra eterle tüketilen ve eterin buharlaştırılması ile elde edilen bakiye 0,081 gr.
% sabunlaşmayan = 1,62

Mahlep yağında ve sabunlaşmayan kısımda D₂ (kalsiferol) reaksiyonlarının aranması :

Kristalize Kalsiferol bulamadığımız için renkli reaksiyonları mukayese edebilmek için, Vigantol, Ostelin gibi 1 cc. deki D vitamini miktarı üzerinde yazılı olan müstahzarlar kullanılmıştır.

D vitamini ve Ergosterolün başlıca reaksiyonları :

1.) D vitamininin kloroformdaki mahl. (0,2 cc.) + 4 cc. SbCl₅ (kloroform mahl.) esmer sarı bir renk. 500 m μ de karakteristik absorpsiyon yeri gösterir. (Brockmann)

Ergosterol aynı miharla aynı şartlarda kırmızı bir renk verir.

2.) Kalsiferolün kloroformdaki mahlülüne triklorasetik asidinin şurup kıvamındaki eriyiği ilâve olunursa evvelâ koyu sarı sonra kırmızımsı esmer bir renk elde edilir.

Ergosterol aynı şartlarda derhal kırmızı bir renk verir ve sonra arayışıl bir renkten geçmeden sebatlı maviye döner. Bu renk kolorimetre ile ölçülebilir (Rosenheim).

3.) Eğer küçük bir miktar ergosterol 0,5 gr. Kloral hidratla su hamamında eritilecek olursa karmen kırmızısı bir renk elde edilir. Bu renk yavaş yavaş yeşilleşir ve sebatlı koyu mavi renge döner (Rosenheim). Esterler aynı reaksiyonu verir. Kalsiferol ve diğer steroller aynı şartlarda renksiz kalır.

4.) Ergosterolün kloroformdaki mahlülü kesif H_2SO_4 ile renklenmez. Aynı şartlarda kolesterol kan kırmızısı bir renk verir.

5.) Kalsiferol ve ergosterol Liebermann ve Buchard reaksiyonunu verir.

Mahlep yağının renkli reaksiyonları :

Mahlep yağının kloroformdaki mahlülü ile çalışılmıştır. Salkowski, Liebermann reaksiyonları gibi kesif sulfurik asid muvacehesinde yapılan renkli reaksiyonlar bu yağın yukarıda anlattığımız vasıfları dolayısıyla karakteristik bir renk vermeyenekte, kitle hemen kahve rengini alarak katılaşmaktadır. Fakat önce kan kırmızısı bir renk tegekkül etmektedir. Bu renk sterollerden ileriye gelebileceği gibi doymamış asidlere de ait olabilir.

I. SbCl reaksiyonu. Brockmann'ın Kalsiferol ve balık yağında D vitamini miktarının tayini için tavsiye ettiği bu miyar mahlep yağının kloroformdaki mahlülü ile eşvelâ sarı sonra turuncumsu bir renk almaktadır. Miktar hakkında elimizdeki iptidai vesaitle şu şekilde bir fikir edinilmiştir :

0.3 mg. Kristalize Kalsiferol ihtiva eden 1 cc. Vigantol 5 cc. Kloroformda erütülme ve alınma 0.2 cc. mahlüle 4 cc. SbCl miyarı konulmuştur. Aynı şartlarda aynı şiddette bir renk elde etmek için 1 cc. Mahlep yağına 100 cc. Kloroformda eritmek icap etmiştir. Demek oluyor ki, bu renk eğer D vitaminden ileriye geliyorsa 1 cc. mahlep yağının 1 cc. Vigantolden 20 defa daha konsantre olması, yani $0.3 \times 20 = 6$ mg. vitamin D ihtiva etmesi icap etmektedir. 100 Gr. mahlep tanesi ortalama olarak 30 cc. yağ verdiğiğine göre 100 gram mahlebin takriben 180 mg. D vitamini ihtiva edeceği neticesine varılmaktadır.

II. Triklorasetik reaksiyonu. Sarı esmer renk. Zımnında kırmızısı çıkar oluyor.

III. Kloral Hidrat reaksiyonu. Renksiz. (ergosterol menfi).

Mahlep yağındaki yağ asitlerinde ve sabunlaşmayan kısımda SbCl reaksiyonu :

D Vitamini için karakteristik sayılan SbCl reaksiyonunu sabunlaşmayan kısım ile yağ asitleri ayrılınca nasıl bir değişikliğe uğradığını anlamak için yağın sabunlaştırdık. Ancak diğer steroller üzerinde yapılan bir çok araştırmalar muvafik kimya muameleleri sırasında bünyeleri bozulabilen ve toksik veya antirastik diğer sterollere tahavül edebilen bu maddelerin mol yapılarını sabunlaşma usullerine hasas olduğunu gösterdiği için tatlık ettiğimiz usulün tekniğini kısaca bildiriyoruz :

17 gr. Mahlep yağı + 150 cc. % 5 KOH lı metil alkol ile su hamamında 8 saatte sabunlaştırıldı. Sabun mahlülü eterle tüketildi ve eter uçurularak sabunlaşmayan kısım tefrik edildi. Tartı % 1.62 sabunlaşmayan kısmın kloroform eriyiği Vigantol ile takriben aynı renk şiddetinde olan bir SbCl reaksiyonu vermektedir. Yani yağda görülen renk şiddeti sterollerde ortacağına takriben 20 defa azalmaktadır.

Mahlep yağının bazı karakteristikleri :

Sabunlaşma endisi : 5 gram mahlep yağı 25 cc. alkollü potasla sabunlaştırılmıştır.
KOH'nin ayağı : 29,5. Bulunan :

$$\left(\frac{29,5 - 14,6}{5} \right) 56 = 168,7$$

Yağ asidlerinin ortalama Mol ağırlığı :

$$\frac{56000}{15} = \frac{56000}{168,7} = 332$$

İod endisi (Hübl metodu) : 0,5 gr. mahlep yağı + 20 cc. I (% 5)
+ 20 cc. HgCl₂ (% 30).

Şahit 79 cc. N:10 Na₂S₂O₃

Yağ 29 " " "

$$I_{10} = (79 - 29) 0,0127 \times 200 = 50 \times 2,54 = 127$$

Sabunlaşmayan miktar : 5 gr. mahlep yağının sabunlaştırılmasından sonra eterle tüketilen ve eterin buharlaştırılmasıyla elde edilen bakiye 0,081 gr.
% sabunlaşmayan = 1,62

Mahlep yağında ve sabunlaşmayan kısmında D₂ (kalsiferol) reaksiyonlarının aranılması :

Kristalize Kalsiferol bulunmadığımız için renkli reaksiyonları mukayese edebilmek için, Vigantol, Ostelin gibi 1 cc. deki D vitamini miktarı üzerinde yazılı olan müstahzarlar kullanılmıştır.

D vitamini ve Ergosterolün başlıca reaksiyonları :

1.) D vitamininin kloroformdaki mahl. (0,2 cc.) + 4 cc. SbCl₅ (kloroform mahl.) esmer sarı bir renk. 500 m μ de karakteristik absorpsiyon şeridi gösterir. (Brockmann)

Ergosterol aynı miktarda aynı şartlarda kırmızı bir renk verir.

2.) Kalsiferolün kloroformdaki mahlülüne triklorasetik asidin şurup kıvamındaki enjiyi ilâve olunursa evvelâ koyu sarı sonra kırmızımsı esmer bir renk elde edilir.

Ergosterol aynı şartlarda derhal kırmızı bir renk verir ve sonra arayışıl bir renkten geçmeden sebatlı maviye döner. Bu renk kolorimetre ile ölçülebilir (Rosenheim).

3.) Eğer küçük bir miktar ergosterol 0,5 gr. Kloral hidratla su hamamında eritilecek olursa karmen kırmızısı bir renk elde edilir. Bu renk yavaş yavaş yeşilleşir ve sebatlı koyu mavi renge döner (Rosenheim). Esterler aynı reaksiyonu verir. Kalsiferol ve diğer steroller aynı şartlarda renksiz kalır.

Bir yağ asidinin tecridi : (*)

Sabun mahlülü dilüe H_2SO_4 ile asitlendirildikten ve eterle tükendikten sonra eterli mahlül vakumda kuruluğa kadar tephir edilerek sarımsı sulp bir bakiye elde edilmiştir. Bütün yağ asitleri karışımı olan bu bakiye kloroformda eritilince, $SbCl_5$ ile, küçük el spektroskopunda kırmızı ile yeşil arasında bir absorpsiyon yeri gösteren sebatlı bir turuncu renk vermektedir. Triklorasetik asidi ile de kırmızının bir renk görülmektedir.

3 gr. asid karışımı + 25 cc. saf metil alkol, bir gece frijiderde bırakılınca içerisinde sedef manzarasında, teması yumuşak, beyaz, güzel billürler ayrılmıştır. Mayi kısımdan tefrik edilip metil alkol ile yıkanan ve sünger kâğıdı arasında kurutulan bu billürlerin erime noktası $43,5^\circ$ dur. (literatüre göre laurik ve elaidik asitlerin erime noktaları bu civardadır. Koleksiyonumuzda yağ asitleri bulunmadığı için bu asidin teşhisi sonraya bırakılmıştır.)

Gerek bütün yağ asitleri karışımı, gerek tasfiye ve tefrik edilip $43,5^\circ$ de eriyen billüri asid mahlep yağının verdiği ve D vitaminine atfedilen reaksiyonları üddetle vermektedir. Yani sabunlaşmayan kısımda konsantrite olmasını beklediğimiz müessir madde bilakis yağ asitlerle sürüklenmiş görünmektedir. İlk bakışta balık yağının sabunlaştırılması D Vitaminine ait renkli reaksiyonların sabunlaşmayan kısımd müşahede edilmesi keyfiyeti, mahlep yağının verdiği bu netice ile birbirine uymamaktadır. Fakat şurasına da işaret edelim ki, bir çok tecrübecilerin lububat taneleri yağları üzerindeki araştırmaları, sterollerin mühim bir kısmını sabunlaşmadan sonra, sabunlaşmayan kısımla de-ğil, fakat yağ asitlerle sürüklediklerini göstermiştir.

Sabunlaşmayan kısım, metil alkolde tasfiye edildikten sonra, beyaz sedef manzarasında, teması yumuşak billüri bir madde elde edilmiştir. Bu maddenin kloroformdaki mahlülü Salkowski, Liebermann reaksiyonlarını vermekte, $SbCl_5$ ile çam-turuncu yerine pembeimsi, Triklorasetik asidi ile de pek hafif yeşilimsi bir renk vermektedir. Yani tasfiye edilmeden evvel, çok keskin olmamakla beraber, D vitaminine atfedilen renkli reaksiyonlar görüldüğü halde, tasfiyeden sonra bunlar kaybolmakta ve yerine bazıları kolesterolünkine benzeyen teamüller görünmektedir.

Tasfiye ve tecrid edilen $43,5^\circ$ dakki yağ asidi ise H_2SO_4 ile asid tabakasında kan kırmızısı bir renk, Liebermann reaksiyonile de karakteristik olmayan bir kahve rengi ver-

(*) Ankara'dan İst. Eczacı Okuluna geldiğime zaman yukarıda işaret ettiğimiz gibi, laboratuvarımıza ilmi çalışma makûlünü bulunan arkadaşımı Bayan Saffet Rıza Alpar'a mahlep üzerindeki çalışmalarını anlatmış; her türlü ilmi rastırma vasıtalarının mahrum olduğundan kendisinin laboratuvarının istifade edilebilirliğini için beraber çalışmamızı teklif etmiş ve o zamana kadar elde ettiğim ve bu müddetle esas hatlarını yayınladığımız ve mahlep yağ asitleri karışımından metil alkoldeki eriyiğin soğutulmasıyla $43,5^\circ$ da eriyen billüri bir asidin tecrid edildiği neticesini de İltifa eden defterlerimi kendisine bırakmışım. Halen Profesör olan sayın arkadaşım, o sıralarda lüzumlu niyazların harcı dolayısıyla teslikine mukân olmadıği için araştırmalarını şimdiden mesrederek mahlep üzerine ilikkali çabucuklığı tavsiye etmiştir. Bülhâre İst. Üniv. Sımal Kınyası Enstitüsünü yayınları arasında mesrettığı ve bana da bir tane göndermek nezaketini gösterdiği bir broşürde 30 Ocak 1948 tarihli ve (Mahlep yağ asidi) başlıklı araştırmalarında bu mevzulaki çalışmalarını bildiği ve ilk önmüne ve mahlep ile ilgili bilgileri kendisine tarafımızdan verildiği halde, ilmi çalışmalarında adet olduğu üzere bu noktaları işaret etmeği nasıbu unuttumuzdur.

mekte $SbCl_3$ ile de evvelâ sarı sonra turuncu ve sebatlı bir renk göstermektedir. Bu turuncu eriyiğin, taksimatı bulunmayan basit bir el spektroskopunda yeşil ile kırmızı arasında bir absorpsiyon şeridi verdiği görülmüştür ki, bu da D vitamini için Brockmann'ın bildirdiği 500 m μ bölgesi civarındadır.

Mahlep yağlarının eterden başka organik eritgenlerle (kloroform, benzen, petrol eteri, aseton ve 95° alkol) hazırlanan nünuneleri, $SbCl_3$ ile daima sarı turuncu renk vermektedir. Vigantol ile yaptığımız takribi mukayesede aynı miktar yağın verdiği renk, alkol ekstresinde daha koyu, diğer eritgenlerden elde edilen yağ nünunelerinde ise hemen hemen aynıdır.

Alkaloid araştırmaları :

1) 50 gr. mahlep tanelerinin su hamamında % 2 H_2SO_4 ile tüketilmesi elde edilen mahlülün kalevilendirilip distile edilmesi,

2) 50 gr. mahlebin Tartrik asıdılı alkol ile 60° de Staats-Otto metoduna göre çalışılması ve lüzumlu tasfiyelerden sonraki kalevi etarin Na_2SO_3 ile deshydrate edilerek vakumda tephirinden sonra,

Renksiz, hafif acımsı kokulu, zeyti bir madde elde edilmiştir. Bir uçucu ve mayi alkaloid karakterindeki bu maddenin başlıca reaksiyonları şunlardır :

Suda hemen hemen erimemekte ve su ile sütümsü manzarada bir emülsiyon teşkil etmektedir. Alkoldeki eriyişi zamanla sarılaşmaktadır. Zeyti madde havada reçineleşerek esmerleşmektedir.

Renkli reaksiyonlar :

Kesif H_2SO_4 : Soğukta: evvelâ esmer kahve rengi, yavaş yavaş kırmızılaşıyor; nihayet kırmızı-menekşe renk.

Fröhde miyarı : Evvelâ esmer, sonra kirlî menekşe, nihayet kenarları yeşillenerek en sonunda koyu yeşil.

Marquis miyarı : Müphem bir menekşe renk.

$H_2SO_4 + K_2Cr_2O_7$: Bir müddet sonra yeşil renk

Yukarıda kaydettiğimiz müşahedeler bu alkaloidin karakterlerinin tamamile değilse de Sparteininkilere çok yaklaştığını göstermektedir. Hakikaten bir Spartein sulfatın suda eriyişi aşağıdaki reaksiyonları vermektedir :

Eriyik NaOH ile kalevilendirilip açığa çıkan alkaloid eterle alınarak eter uçurulunca renksiz, zeyti kıvamda bir mayi elde edilmektedir. Bu madde havada bırakılınca acımsı bir koku nışrederek esmerleşmektedir. Bu koku, mahlepten elde edilen alkaloidin kokusuna benzemektedir. Eterin uçurulması ile elde edilen spartein suda ince

damlacıklar halinde dağılmakta ve bu damlacıklar bir müddet sonra birleşerek suyun yüzünde ayrı bir tabaka teşkil etmektedir. Ayrı tabaka halindeki serbest baz, dilüe H_2SO_4 ile sulfat haline getirildikten sonra yeniden NaOH ile bazı serbest hale getirilince su ile koloidal bir emülsion teşkil etmektedir. Bütün bu fiziki karakterler, gerek distilasyon gerek Staas-Otto metodları ile mahlepten elde edilen mayi alkaloidin karakterlerine pek benzemektedir. Spartein Sulfatın renkli reaksiyonlarına gelince: Kesif H_2SD_4 ile renksiz kalmakta ve katılaşmakta, Fröhde ile evvelâ renksiz yavaş yavaş soluk pembe, nihayet kenarları mavi ve merkezi pembe olmaktadır. $T_2SO_4 + K_2Cr_2O_7$ ile spartein sulfat evvelâ esmer, sonra kirli yeşil, nihayet çayır yeşili bir renk vermektedir. Bu renkli reaksiyonlar, mahlepten ayrılan alkaloidin verdiklerini tamamen aynı değilse de başka mayi alkaloidlerin reaksiyonlarından fazla sparteininkilere benzemektedir. Ancak pek saf numuneler üzerinde teşhis imkânını veren bu renkleri, mahlepteki gibi yağlı bir maddeden yapılan ekstraksiyonda elde edilen çok küçük bir miktar üzerinde tasfiye etmeliğimiz mümkün olamamıştır. Hakikaten 50 gr. mahlepten ancak bir büyük damla mayi alkaloid teedit edilmiştir. Teşhisin kesinliği ve alkaloidin incelenmesi için çok daha büyük miktarlar üzerinde çalışmak lâzımdır. Bu takdirde de fazla miktarda ekstraksiyon mayilerinin muamelesi gerekeceğinden uzun tefrik, tasfiye ve tephir işleri esnasında oksidasyonu önleyici vasıtalarla çalışılması, âdi sıcaklıkta ekstrahelerin vakumda konsantrasyon ve tephiri için gerekli distilasyon tertibatını kullanılması icap etmektedir.

Saponinlerin bulunması ihtimali :

Eter veya petrol etrile tüketilmiş yağsız mahlep taneleri nötr su ile 50° de muamele edilip süzildükten sonra frijiderde istirahatete bırakılınca boz renkte bir toz çökmektedir. Bu toz süzülüp kurutulunca lezzetsiz, kokusuz, sakız gibi bir madde elde edilmektedir. Bu sakızimsı maddenin saponin ihtiva eden bir heterosid olması ihtimali vardır. Hakikaten bu madde bir taraftan şekerlere mahsus umumî bir reaksiyonu, Molisch reaksiyonunu vermekte, diğer taraftan da suda eritilip çalkanınca sebatlı bir köpük husule gelmektedir.

Keza doğrudan doğruya mahlep taneleri üzerinde nötr su ile yapılan bir ekstraksiyonda, elde edilen mayi frijidere terkedilince sakızimsı bir madde dibe çökmektedir. Bu madde süzülüp alkol ile yıkanarak havada kurutulunca esmer bir toz haline geçmektedir. Bu toz suda şişerek koloidal bir mahlül vermektedir. 1 gr. toz 50 cc. H_2O ve 20 damla H_2SO_4 ile su hamamı üzerinde hidrolize edilince sebatlı bir köpük vermektedir. Tozun sudaki koloidal eriyiği Fehlinge hafifçe redüktördür. Redüksiyon kıymeti hidrolizden sonra takriben % 20 artmaktadır.

C vitamini :

Tanelerdeki redüksiyonun C vitaminine ait olup olmadığını araştırmak üzere tanelerin soğuk ve sıcaktaki sulu ekstraheleri asetikli vasatta 2-6 diklorofenol indofenol ile titre edilmiş ve bu miyara tesirin çok hafif olduğu, 100 gram maddede ancak bir kaç

miligram C vitamini tekabül edecek reduksiyon tespit edilmiştir. Şu halde şekerleşebilen maddelerin ölçülmesinde Fehliye karşı görülen tesir, hidroliz neticesi açığa çıkan glüsidi ya bir poliyos, ya da bir heterosidden ileriye geldiğini göstermektedir.

Neticelerin münakaşası :

Mahlebin terkibi hakkında elde ettiğimiz bu ilk neticeler halk arasında ev ilacı olarak kullanılmasına hak verecek mahiyettedir :

a) Güzel kokulu olan taneler, ihtiva ettikleri zengin yağ, proteik maddeler, şeker fosfor ve kalsiyumu ile kuvvet ilacı olarak yenilmesini hakk gösterecek bir besleyici kaymet taşımaktadır. Yalnız mahlebin yağı havada çok çabuk okside olduğundan büyük miktarların döğülmemesi ve şekerle karıştırılan mahlep tozunun da ağız sıkıca kapalı cam kaplarda muhafazası lâzımdır. Yağ nisbeti yüksek ve bir de alkaloid ihtiva ettiği için fazla yenilmemelidir.

b) Mahlepte küçük miktarda sparteine benzeyen bir alkaloidin mevcudiyeti, yine halk tarafından şeker hastalığına karşı kullanılan yapışkan otu üzerinde bulduğumuz neticeyi bize hatırlatmaktadır. Mahlebin de kaynatılıp suyunun içilmesi şeker hastalığına iyi geldiği kanaati halk arasında yayılmıştır. Yine antidiabetik bir hassa atfedilerek ev ilacı olarak kullanılan kara dut yapraklı ve bu gacın kabuklarında da, bu sırtın muharrihi, küçük miktarda mayı alkaloidler bulmuştur. Eğer bu neticeler bir tesadüften ibaret değilse çok kolay okside olabilen ve birer asabi sistem zehiri olan bu alkaloidlerin, menşei asabi olan diabetlerde glüsüd metabolizmasını tanzim edici bir tesiri olacağı neticesi belirmektedir.

c) Bir kaç mahlep tanesinin aile geleneğine göre antirastik olarak çocuk sütüne ilavesi hakkındaki kanaatin hakkı olabileceği de şu delillere dayanılarak söylenebilir: 1) mahlepte kalsiyum ve fosfor ahenkli bir nispette bulunmaktadır. 2) Mahlep yağı, $SbCl_5$ ve CCl_3CO_2H ile Vigantol'ün verdiği renkli reaksiyonları takriben 20 defa daha kuvvetli olarak vermektedir. Ancak bu renkli reaksiyonlara bakarak mahlepteki antirastik faktörün ergosteroiden elde edilen D_2 (kalsiferol) bünyesinde mi, yoksa balık yağından tecrid edilen D_3 (7—Dehydrokolesterol) bünyesinde mi, yahut da Sitosterolün ultraviole ile ziyalandırılması ile elde edilen D_3 bünyesinde mi olduğunun, veya bünyesi bunlara yakın ve mahlebe ait başka bir sterolün inü bahis mevzuu bulunduğunun incelenmesi icap etmektedir. Eğer sıcanlar ve piliçler üzerinde yapılacak bir biolojik tetkik kimya reaksiyonlarını teyid edecek olursa, o zaman mahlepteki D vitamininin kromatografi veya diğer munasip usullerle tecrid edilerek dimitrobenzoat, malat yahut asetat gibi taşıyıcı edilmiş kristalize bir esterinin ergime noktasını tayin ederek karakterize etmek lâzımdır. Biolojik kontrol menfi netice verdiği takdirde, $SbCl_5$ ile elde edilen sarı turuncu rengin Brockmann'ın teklifi gibi, D vitamininin miktar tayininde kullanılacağı ve mahlepte bulunan ve 43.5° da ergiyen yağ asidinin —eğer bu asid, elaidik asidi ise— doymaması molekölünün $SbCl_5$ kalsiferol ile elde edilen aynı sebati sarı-turuncu rengi verdiği neticesine varılması olacaktır.

QUELQUES ETUDES SUR LES GRAINES DE MAHLEP

Les graines de mahlep, sont des noyaux du *Prunus Mahallebus*, d'une espèce de cerise aigre, assez répandue dans notre pays. Elles sont utilisées pour aromatiser les brioches à cause de la coumarine qu'elles contiennent et sont également employées comme "remède de bonie femme" : 1) contre la faiblesse générale comme fortifiant en les pulvérisant et mélangeant avec du sucre en poudre. 2) Contre le diabète sucré à l'état de décoction. 3) Dans la tradition de la famille de l'auteur, contre le rachitisme, en faisant bouillir quelques graines de mahlep grossièrement pulvérisées avec le lait destiné aux bébés élevés au biberon. Un lait préparé ainsi exercerait même une action curative chez les enfants atteints du rachitisme et préserve les bébés de devenir rachitique.

Le présent travail a été donc entrepris pour voir si les graines de mahlep renfermaient quelques principes physiologiquement actifs, pouvant justifier ces convictions populaires.

Les recherches de l'auteur étant interrompues par suite de son départ de l'Institut Central d'Hygiène d'Ankara, néanmoins nous donnons certains résultats notés il y a déjà plus de dix ans, dans l'espoir de servir comme points de repère aux recherches ultérieures.

Analyse sommaire des graines :

Acidité des graines (exprimé en H_2SO_4)	1,96—2,3 %
Elle augmente avec le vieillissement du produit.	
Matières protéiques (Azot total : 3,04—4,69 %)	18,98—29,36 %
Matières hydrocarbonées saccharifiables (calculées comme glucose)	8,8—9,0 —8,6 %
Cendres (renfermant calcium)	3,68—3,99—5,0 %
Phosphore dans les cendres (calculé comme P_2O_5)	33,36 %
Phosphore dans les graines (calculé comme P_2O_5)	1,36 %
Matières grasses (extrait avec l'éther suff. à froid)	27,9—33,9 %

La teneur diminue avec le vieillissement des graines.

Etude des matières grasses :

C'est une huile de couleur jaune, possédant l'odeur agréable de la coumarine. Avec le vieillissement elle se solidifie même dans les flacons bouchés à l'émeri et

gardés dans l'obscurité. En même temps son odeur aromatique change et de vient nauséabonde.

Les principaux caractères de l'huile de mahlep :

Sous l'action de HNO_2 ($D=1,10$) et de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$, elle se transforme en une masse solide marron, qui, avec le temps monte à l'orifice du tube en se dégageant des vapeurs nitreuses. Ce fait n'est pas constaté avec les autres huiles comestibles. Il peut être attribué à l'aptitude spéciale de l'huile de mahlep soit à la polymérisation soit à l'oxydation, catalysée probablement par la présence de la coumarine, corps facilement résinifiable, ou bien par l'action des traces de peroxyde d'éther que pouvait contenir l'éther sulfurique, utilisé dans son extraction.

Densité (méthode de Hacon) $D_4 = 0,9266$ calculé pour $D_{15} = 0,9324$

Indice de saponification = 168,7

Insaponifiable = 1,62 %

Indice d'iode (méthode de Huble) = 127,0

Réactions colorées de l'huile de mahlep :

0,2 cc. sol. Chlorof. (1 cc. d'huile + 100 cc. CHCl_3) + 4 cc. sol. chlorof. de SbCl_5 donne une coloration jaune devenant orangée, qui montre dans le petit spectroscope à main une bande d'absorption située entre le rouge et le vert. Une solution chloroformique de Vigantol, utilisée comme terme de comparaison et qui contenait 0,3 mg. de calciférol cristallisé dans 1 cc. dissous dans 5 cc. de CHCl_3 donne la même réaction colorée, à peu près de même intensité. Donc si cette réaction se rapporte au facteur antirachitique de l'huile de mahlep, elle serait environ 20 fois plus riche de ce facteur que le Vigantol.

Avec $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ sirupeux on obtient d'abord une coloration jaune brune qui devient rougeâtre mais ne donne pas une couleur bleue persistante comme le ferait ergosterol (Rosenheim).

Produits de saponification de l'huile de mahlep :

Saponifiée avec l'alcool méthylique à 5 % de KOH, les réactions précédentes se montrent affaiblies dans l'insaponifiable, elles conservent à peu près leur intensité dans le mélange des acides gras séparé. Ce mélange dissous dans l'alcool méthylique et refroidi dans le frigidaire, laisse déposer un corps blanc cristallisé d'aspect nacré, purifié dans l'alcool méthylique, séché, il fond à $43,5^\circ$. Dans la littérature ce point de fusion se rapporte à deux acides : l'un l'acide laurique (saturé), l'autre l'acide élaïdique (non saturé) par suite de l'interruption de nos recherches, caractérisation de cet acide n'était pas fait.

Quant à l'insaponifiable purifié dans l'alcool méthylique, il donne cette fois avec $SbCl_5$ une coloration rose, avec CCl_3CO_2H une légère coloration verte et fondu avec l'hydrate de chloral reste incolore (absence de l'ergostérol). Donc, le corps responsable de la réaction colorée de $SbCl_5$, après la saponification de l'huile, au lieu d'être dans la partie insaponifiable, comme cela se faisait dans les huiles de poisson, se trouve entraîné avec les acides gras. Un fait analogue est d'ailleurs observé par certains chercheurs lors de l'étude des stérols des huiles de certaines graines de céréales.

L'huile de mahlep extrait des graines par les autres solvants organiques (benzène, chloroforme, éther de pétrole, acétone et l'alcool à 95°) montre les mêmes réactions; seulement l'extrait alcoolique, pour la même quantité d'huile donne une coloration plus intense avec $SbCl_5$.

Recherches des alcaloïdes :

1) Les graines de mahlep épuisées par l'eau acidulée, alcalinisée et distillée donnent une couche huileuse rassemblée à la surface du distillat.

2) Des graines traitées par l'alcool tannique suivant la méthode Staas-Otto, après les séparations et purifications, donnent un résidu huileux, incolore, odorant, qui laissé à l'air brunit et se résinifie. Ses caractères physiques et chimique ressemblent beaucoup à ceux de la sparteïne. Seul, la coloration obtenue par la réaction de Fehling est incertaine. Ceci peut être due à l'insuffisance de la purification. En tous cas s'il ne s'agit pas de la sparteïne, il s'agit l'un de ses dérivées, ou bien un autre alcaloïde liquide donnant des réactions analogues.

Autres observations :

L'extrait aqueux neutre du mahlep, soit directement des graines, soit sur leur résidu dégraissés, abandonné au frigidaire, laisse déposer une poudre blanche. Après le séchage elle devient grisâtre, pommueuse. Dans l'eau elle gonfle et donne une solution colloïdale. Hydrolysé par les acides étendus son pouvoir réducteur augmente vis à vis du réactif de Fehling. En même temps cette solution hydrolysée donne par agitation une mousse persistante. On peut penser qu'il s'agit d'un hétéroside qui par l'hydrolyse libère un glucide réducteur et une saponine.

Discussion des résultats et conclusion :

a) Mahlep, est un produit de valeur nutritive élevée, renfermant le phosphore, le calcium, riche en matière grasses et protéiques. L'analyse des graines paraît donc justifier son emploi populaire comme fortifiant et nutritif.

b) L'existence d'une minime dose d'un alcaloïde liquide rappelle le résultat analogue déjà obtenu par l'auteur sur la pariétaire, utilisée également par le peuple

contre le diabète sucré. Si ce n'est pas là un hasard, une intervention de ces alcoïdes liquides dans la régularisation du métabolisme des glucides est à noter.

e) L'huile de mahlep donne les mêmes réactions colorées que la Vigantol et l'huile des poissons, indiquée pour la détermination quantitative de la vitamine D par Brockmann et cela plaide en faveur de son emploi comme un "remède de bonne femme" contre le rachitisme. Mais le résultat concluant sur ce point ne peut être obtenu que par la méthode biologique. Si l'étude physiologique affirme l'existence d'un facteur antirachitique, il faut étudier la nature chimique de ce Facteur: D₂, D₃ ou D₄? Ou bien un autre D. contenu dans le mahlep? Dans le cas où le contrôle physiologique sera négatif, il faudra conclure alors que la coloration jaune donnée par SbCl₅ chloroformique n'appartient pas seulement au facteur antirachitique mais qu'elle est donnée également par l'acide gras solide, fondant à 43,5°, isolé de l'huile de mahlep.

BIBLIOGRAPHIE

J. Stencljan — *Chimie des Vitamines et des Hormones.*

Wallier et Steiner — *Chimie Végétale.*

P. Thoma — *Chimie Biologique.*

Les publications de A. Wörndtz, Schenk, Wörler et surtout de Hans Brockmann de 1934-1937 dans *Zellulose, V. Phys. Chemie.*

POET - KELLY METODU İLE KANDA ISONICOTİNİK ASİT HİDRAZİD MİKDARININ TAYİNİ

Kımyager Bahriye KAHYAOĞLU
Reflik Baydan Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

Son zamanlarda isonicotinic asit hidrazidi ile tüberküloz tedavisi günlük gazetele-
rin gayreti ile büyük bir heyecana sebep olmuş ve yurdumuzda da geniş ölçüde kulla-
nılmağa başlanmıştır; yalnız bazı hastalarda tali tezahürlerin görülmesi ve bazılarının
gereken faydayı görmemesi bizi hastaların kanında isonicotinic asit hidrazid miktarını
tayin ederek şahsi itrah farkları sebebiyle istenilen seviyenin teessüs edip etmediğini
veya lüzumlu seviyenin çok üstüne çıkılıp çıkmadığını tayin ederek memleketimizde de
tedavi dozlarını kontrola yardım etmeği düşündürmüştür.

Isonicotinic asit hidrazid miktarı tayini için kullanılan Poet-Kelly (1) ve Dan Wj,
Handler, P-Mueller A, Fox SH. (2) metodlarından Poet-Kelly metodu daha spesifik
olduğundan bu usul tercih edilmiştir.

Usul :

Prensip: Nümunede mevcut isonicotinic asit hidrazidi, isoamilalkol-Eter-amonyom
sulfat sisteminden 0,1 N HCL fazına çekilerek, asit fazındaki isonicotinic asit hidrazidi
spektrofotometrik veya kolorimetrik olarak tayin edilir. Orijinal yazıda Beckman ku-
artz spektrofotometresi kullanılması tavsiye edildiğinden tayinlerimiz bununla yapı-
lmıştır. Kolorimetrik metodu 1 cm. lik küvette diğer kolorimetrelerde de yapılabilir.

Lâzım olan miyarlar :

1. Amonyom sulfat miyar saflığında.
2. 0,5 N. NaOH.
3. HCL 0,1, 1, 6, 12, N.
4. Iso amil alkolün eterdeki % 20 lik solüsyonu: iso amil alkol üç defa kendi hac-
mine eşit miktarda 2,5 N. HCL ile, sonra da aynı hacimde 2,5 N. NaOH ile yıkanır.
Sonra müteaddit defalar yıkama suları nötral bir reaksiyon verinceye kadar taktir suyu
ile yıkanır; eterdeki % 20 solüsyonu hazırlanır.

(1) American Review of Tub. 65, No. 4, 429-464.

(2) a. Mueller, A. Fox SH. "Determination of nicotinic acid in pharmaceutical product"
J. Amer. Pharm. Assoc. sci. ed. 1951, 15, 518.

b. Dan. W. J. Handler P. "The quantitative estimation of nicotinic acid in animal tis-
sues" J. Biol. chem. 1941, 140, 201.

5. P. Dimethylaminoobenzaldehid miyarı: 1,2 gr. P. Dimethylaminobenzaldehid 20 cc. Mutlak alkolde halledilir, 2 cc. 12 N. HCL ilâve edilir. Miyar her defasında günlük taze olarak hazırlanmalıdır.

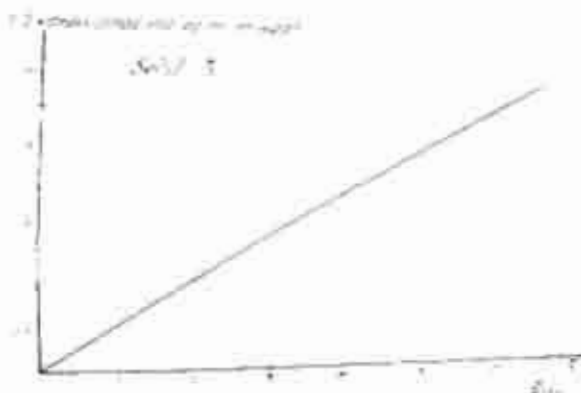
Nümunenin alınması ve hazırlanması :

Hastadan alınan kan % 0,3 nisbetinde Potasyom okzalat ihtiva eden bir tüpe alınmalı, dakikada 3000 devir yapan bir santrifüjde 20 dakika santrifüj edilerek plasma ayrılmalıdır.

Ekstraksiyon usulü :

Isonicotinik asit hidrazid muhteviyatı cc. içinde 3-50 gama tahmin edilen hasta kan plazmasından 1-3 cc. (3 cc. den daha az plasma alınmış ise distile su ile 3 cc. ye tamamlanır.) 60 cc. lik cam kapaklı [*] bir şişeye konur. Üzerine 3,2 gr. amonyom sülfat 1 cc. de 0,5 N. NaOH ve 40 cc. de Iso amil alkol-eter karışımından ilâve edilir. 30 dakika bir çalkalama makinesinde çalkalanır. Bu müddetin bitiminde fazların ayrılması için 5 dakika, dakikada 2500 devir yapan bir santrifüjde santrifüj edilir. Ayrılan organik fazdan 60 cc. lik cam kapaklı [*] şişeye 30 cc. konur. Üzerine 4 cc. 0,1 N HCL ilâve edilir. Çalkalama makinesinde 5 dakika çalkalanır. Fazların ayrılması için santrifüj edilir, organik faz atılır, asit fazı analiz için saklanır.

Bu usul ile plasmadaki isonicotinik asit hidrazid tamamen ekstre edilememektedir. Bu sebeple bu usulü kullanacak olanlar aynı şartlar altında aynı neticeyi almağa başlayınca kadar her deneyde bir de bir cc. plasmaya 1 gama isonicotinik asit hidrazid koyarak hazırlanan standart ile çalışmalarını ve bundan faydalanarak ekstraksiyon nisbetini hesaplamaları ve bu yazıda bildirilen şekil (3) grafiğinden doğrudan doğruya faydalanmalarını tavsiyeye şayandı.



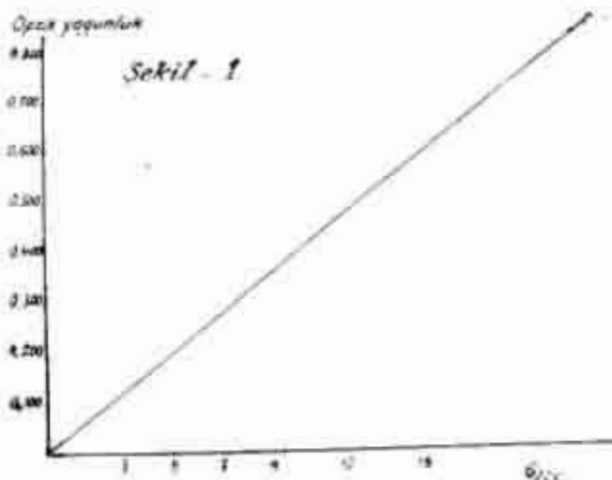
[*] Bu tceerhelerinizde iyi intibaklı şişeler bulunmadığından çalkalama esnasında kaçırdığımız ve neticeyi yanlış çıktığını tesbit ettik; lastik kapaklı şişeler kullanmanın neticeyi değiştirmemişliğini tesbit ettiğimizele lastik mantarlı şişeler kullandık.

Spektrofotometrik metod :

Nümunenin ve içinde belirli miktarda isonicotinic asit hidrazid ihtiva eden plâsmanın asit ekstraktlarının optik yoğunlukları ultra violet sahada 266 de 1 cm. lik silica cell de 0.1 N HCl'e karşı okunarak tayin edilir.

Muhtelif miktarda isonicotinic asit hidrazid ihtiva eden mahlüllerin optik yoğunluklarını 0.1 N HCl'e karşı ölçerek ve bu kıymetleri konsantrasyona karşı çizerek elde edilen grafikten şekil (1) numune ve içinde bilinen miktarda isonicotinic asit hidrazid bulunan plasma ekstraktlarındaki isonicotinic asit hidrazid miktarı tayin edilerek aşağıdaki formülden hesaplanır :

$$\frac{(A-B) H}{(F-B) I} = E$$



A — Hasta plâsma asit ekstraktında tesbit edilen miktar.

B — Hastaya isonicotinic asit hidrazid verilmeden alınan plasmada isonicotinic asit hidrazid gibi absorpsiyon yapan maddelerin isonicotinic asit hidrazid cinsinden miktarı.

F — İçinde belirli miktarda isonicotinic asit hidrazid bulunan plasmada tesbit edilen miktar.

E — Hasta kanın cc. sinde bulunan hakiki miktar.

H — Plasmanın 1 cc. sine konan isonicotinic asit hidrazid miktarı.

I — Tecrübede kullanılan hasta plâsmasının miktarı cc. olarak.

Kolorimetrik metod :

Prensip : Asit ekstraktındaki isonicotinic asit hidrazid sıcakta 6. N HCl ile hidroliz edilerek serbest isonicotinic asit ve hidrazine çevrilir; serbest hidrazin p. Dimethylaminobenzaldehid ile reaksiyona girerek sarı renkli madeni asitlerde münhal bir azin verir: 450 del. cm. lik kuartz celle de 0.1 N HCl'e karşı okunur.

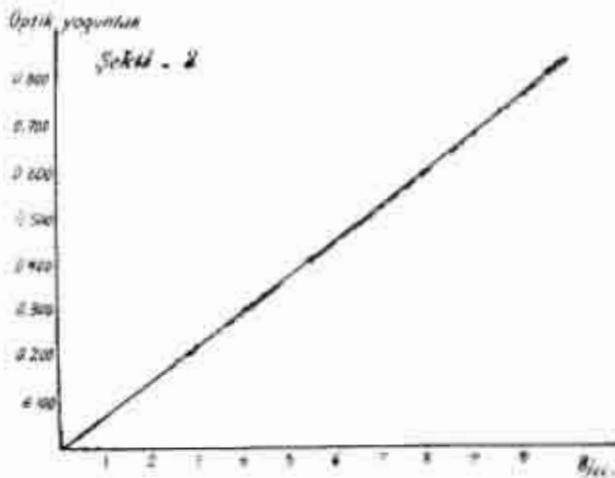
Yapılışı : Isonicotinic asit hidrazid miktarı 1-15 gama olan asit ekstraktından takımatlı konik bir tüpe 1-3 cc. konur. Konan miktar 3 cc. de az ise 3 cc. ve 0.1 N HCl ile tamamlanır. Üzerine 0.5 cc. 6. N HCl ve 1 cc. de p. Dimethylaminobenzaldehid konur; kaynayan su banyosunda 45 dakika ısıtılır. Oda suhnetine kadar soğutulur; 0.1 N HCl ile 4 cc. ye tamamlanır. Beckman kuartz spektrofotometresinde 0.1 N. HCl'e karşı optik yoğunluğu tayin edilir. İçinde bilinen miktarda isonicotinic asit hidrazid bulunan plâsma ile de aynı şekilde bir tayin yapılır.

Standart münhani, muhtelif konsantrasyondaki isonicotinic asit hidrazid ihtiva eden mahlüller üzerine yukarıdaki gibi miyar konarak elde edilen renklerin optik yoğunluklarının ölçülmesi ve bunların konsantrasyona karşı çizilmesi ile hazırlanır.

Hesaplama Spektrofotometrik usulde yapıldığı gibidir. Spektrofotometrik metolla 5 gamaya, kolorimetrik metolla 1 gamaya kadar ölçmek mümkün olduğundan tayinlerimizde kolorimetrik metod tercih edilmiştir.

Ankara Verem Hastanesinden gönderilen kanlardan birisinde yapılan tayin hesaplama usulüne misal olarak gösterilmiştir.

A — Hasta plasması asit ekstraktında tesbit edilen miktar: Optik yoğunluk 0.130 okunmuş ise: şekil (2) grafiğinden tekabül ettiği miktar 1.85 gama.



B — Hastaya isonicotinic asit hidrazid verilmeden evvel alınan plazmada tesbit edilen miktar; optik yoğunluk 0,070 okunmuş olduğuna göre şekil (2) den hesaplanan miktar 1,05 gama.

F — 1 cc. plazmaya 1 gama isonicotinic asit konan da tesbit edilen miktar; optik yoğunluk 0,090 olduğuna göre şekil (2) den tekabül ettiği miktar 1,35 gama.

H — 1 gama.

I — 1 cc. ise.

(A — B)

= E formülündedir :

(F — B)

(1,85 — 1,05) × I

————— = 2,0 gama/cc. Plazmada.

(1,35 — 1,05) × I

Neticeler :

Aşağıdaki tablodan, içine muayyen miktarda isonicotinic asit hidrazid ilâve edilen plazma ile yapılan deneyden elde edilen isonicotinic asit hidrazid miktarı görülmektedir.

TABLO I

1 cc. plazmaya konan isonicotinic asit hidrazid miktarı Gama	Elektrostatik olarak elde edilen miktar Gama	Közessiyon nispeti %
1	0,6	60
1	0,6	60
1	0,6	60
3	1,75	58
3	1,75	58
3	1,74	58
7	3,25	46
7	3,26	46
7	3,25	46

Hasta plazması ile alınan neticeler :

300 mg. Rimifon almayı 6 hastadan ilâve aldıktan 1 saat sonra alınan kan nümune-
lerinde isonicotinic asit hidrazid miktarı aşağıdaki tabloda görülmektedir.

TABLO II

Hastanın adı	Ulaşılan opt. sınırdaki bulunan gama
I. A	2,0
E. Ç	1,6
I. B	1,8
H. Ç	2,0
T. Ç	1,0
H. V. V	1,4

(3) Rubin S. H. Dreyer I., Scheiner, J. de Ritter: Determination of Blood plasma levels of Hydrazin derivat of isonicotinic acid. Diseases of the chest 21 No. 4, 430, 1952.

Rubin (3) ve arkadaşlarının neşriyatına göre kilo başına 1.3-1.4 mg. ilaç verilen hastalarda 1-2 saat sonra kan seviyesinin 2-4 gamaya çıktığı bildirilmektedir. Bu rakamlar buluşlarımızla mukayese edilirse birbirlerine oldukça yakın olduğu görülür.

Metod hakkında mütalâa :

Tecrübeler göstermiştir ki, usul çok güç ve fazla zaman sarfını mücip olmaktadır. Ekstraksiyon nisbetinde büyük fark olmaması için gayet dikkatli çalışılması lüzumludur. Yapılacak en küçük hataların veya kullanılan pipet ve taksimatlı tüplerdeki yanlışlıkların neticelerin çok farklı çıkmasına sebep olmaktadır. Bu itibarla metod ideal olmaktan uzaktır. Bununla beraber tecrübe sahibi laboratuvarcıların yukarıda yazılan güçlükleri bertaraf ederek iyi neticeler alması mümkündür.

Yazıma son verirken; bu mevzu ile çalışmak fırsatını veren Enstitü Direktörü Sayın Niyazi Erzin'e tecrübelerim esnasında ilk defa kullandığım Beckman spektrofotometresinin kullanılması hususunda kıymetli yardımını gördüğüm Kontrol Şubesi Şefi Dr. Nusret Fişek'e, hasta kanlarının temininde büyük kolaylıklar gösteren Ankara Verem Hastanesi Mütchassısı Dr. Necdet Menemencioglu'na standart olarak kullanmak üzere saf isonikotimik asit hidrazit gönderen Wander firmasına teşekkür ederim.

STEROID METABOLİZMASI
ve
IDRAR 17—KETOSTEROİDLERİ TAYİNİ METODLARI HAKKINDA

Dr. Filizet PAMİR

Dahilîze Mütâhasıfı

I

Steroid Metabolizması Hakkında

Tyroxine, Adrenaline, Insuline gibi protidik tabiatlı hormonlara mukabil Genital ve Adreno-kortikal glandlara ait steroid bünyeli hormonlar, Steroid Cisimler denen ve iskeletlerini teşkil eden cyclo-perhydro-pentano-phénantréne halkasında 17 inci C atomundaki R süstitüentinin şimik tabiatına, halkanın muhtelif noktalarda açık veya kapalı oluşuna, çifte bağlarının lokalizasyonuna göre birbirinden ayrı gruplarda toplanan organik strüktürlere dahildirler (G. Florence ve J. Enselme). Steroid cisimler meyanında, Steroid hormonlardan gayri Steroller, Safra asitleri, Kardiyak aglikonlar ve Saponinler bulunurlar (H.O. Summerson).

Steroid hormonlar umumî hatlarıle C 17 de bir keton veya hidroksil grup (Androjen ve Östrojenler) veyahut da yan zincirde 2 C atomu (Progesteron ve Adreno-kortikal steroidler) taşırlar.

Doise ile başlayan Steroid hormonların izolasyonları (Theelin-Oosterone), Butenadi (Androstérone), Lagueur ve ark. (Testostérone) ile devam etmiş ve bu sahadaki ızarlı gayretler neticesinde meselâ sadece Adrenal-korteksten 30 u mütecaviz hormon ayrılabilmişdir.

Steroid hormonların gerek in vitro ve gerekse in vivo sentezleri imkânı üzerindeki araştırmalar, izolasyonları hususundaki gayretlerle muvazi bir inkişaf göstermiş. Schoenheimer ve Breisch'in izotop H ile elde ettikleri müşahedelere istinaden Sonderhoff ve Thomas, steroid hormonlarla çok yakın şimik münasebet arzeden Kolesterolün in vivo formasyonunda asetik asitten faydalanılmakta olduğunu bildirmişlerdir. Bunu müteakip gebe kadında izotop Deuterium vasıtasile Kolesterolün, her ikisi de steroid cisimler olan Cholic acid ve Prégnane—3 (a) 20—diol'e katabolize olduğu gösterilmiş, keza in vitro kolesterolden Testosteron sentez edilebilmiştir.

Nihayet son yılların Adrenal-kortekse müteveccih çalışmaları ile öğrendiğimize nazaran Stress ve A.C.T.H. la stimülasyon gibi Adrenal-korteksin hiperfonksiyonunu tevlid eden hallerde (Young), gebelik gibi overlerin faal durumlarında her iki uzvun kolesterol

muhtevasında şiddetli azalma, steroid hormonlarla kolesterol arasındaki sıkı münasebetin ifadesinden başka bir şey olmadığı aşikârdır. Steroid hormonların metabolizması ile ilgili olarak zikredilmesi gereken bir husus da, Adrenallerin Askorbik asit konsantrasyonundaki tahavvüllerdir ki, Kolesterol-kortikosteroid konveksiyonunda C vitamininin iştiraki olarak tefsir edilmektedir (Warren).

Normal insan idrarında, Adrenalleri çıkarılmış kâhil farelerin hayatını uzatan bazı modellerin varlığının gösterilmesi (Grollmans ve Firor) Steroid hormonların hiç olmazsa bir kısmının aktif olarak uzviyeti terketmekte olduklarını öğrenmemize vesile olmuştur. Bunun gibi Steroid hormonlarla enzim sistemlerinin karşılıklı tesirleri üzerine yapılan araştırmalar (Dirschel, Hayano, Oker, Seifter, Samuel ve diğerleri) ve ara metabolizmada Steroidlerin tesiri mütalâasından edinilen bilgiler (Sprague, Thorn-İngle, Beck ve ark., Woodburg) Steroid hormonların α ve β gayri meşbu gruplardan oksidatif bir süreçle kısmen inaktive edildiklerini, kısmen karaciğerde değiştikten sonra ve fakat aktivitelerini muhafaza ederekten itrah edildiklerini, geri kalan bir kısmında tahrip olduğunu göstermiştir.

Steroid hormonların degradasyon mahsullerinin idrarla itrah edilmekte oldukları anlaşıldıktan sonra, nihai metabolit de denen bu mahsuller arasında bilhassa Androjen hormonlar (Oestron hariç hemen bütün steroid hormonlar androjenik aktivite gösterirler) a ait oldukları gösterilen bir grup ayrıldı öi, Androstan (C-p-p-p, halkası) iskeletinde C 17 da ketonik bir O taşıyıcıları itibarile 17—Ketosteroid olarak adlandırıldılar. Bunların bir kısmı fenol hususiyetine sahip Phenol-steroid'ler. Diğer bir kısmını da Neutre-17-Ketosteroid'ler teskil eder.

Nötre 17-Ketosteroidlerin esas elemanları Androstérone, Etioholanolone, Isoandrostérone ve Déhydroisandrostérone olup, ilk ikisi kısmen Gonadlarda ve diğerleri de bunların bir kısmı ile birlikte Adrenal-korteksten menşe alırlar.

17-Ketosteroidlerde ketonik grup hidrojenasyonu neticesi meydana gelen hidroksil grup, C 10 dakî anguler gruba nazaran trans (α) veya cis (β) olabilirler.

α -Hidroksisteroidler dijitoninle gayri münhal komponentler teşkil ettikleri halde, β -Hidroksisteroidler münhal maddeler verirler.

17-Ketosteroidlerin menşelerine gelince: Kadında tamamen, erkekte büyük kısmı ile (2/3) Adrenal-kortekse ait oldukları umumiyetle kabul edilir. Adrenal-korteksten menşeî 17-Ketosteroidlerin mühim bir kısmı Adrenal-kortikal Androjenlerden neşet etmekte iseler de (Adrenostérone, Androstan-3-II diol 17-one, Androstan-dione ki, bu sonuncunun in vivo mevcudiyeti Reichstein ve Snopce'e göre şüphelidir) Adrenal-korteksin diğer steroid gruplarından da pratikte ihmal edilebilir bir miktarda da olsa meydana gelebildikleri anlaşılmıştır. Keza nötr non-ketonik lipidlerin de (C 17 ve C 20 hidroksile steroid glikoller) periodik asitler tahtı tesirinde 17-Ketosteroidlere okside oldukları görülmüştür.

İdrarda Neutre 17 - Ketostéroid'lerin tayini metodları baklonda umumî mütalâa

Androjenik aktivite gösteren Steroid hormonlar (Androjenler) nihai mahsulleri ve bunlara bağlı maddeler üzerindeki miktarı araştırmalar, önceleri bu sınıf birleşiklerin biyolojik aktivitelerine kıyasen, daha sonraları da hazırlanmış hususî şartlar altında 17-Keto grupları tarafından meydana getirilen renge müstenit şimik ve kolorimetrik metodlarla yapılagelmiştir. Rutin muayeneler için maksada kâfi addedilebilirlerse de şukadarını hatırlamak yerinde olur ki, biyolojik aktiviteleri bakımından farklı bulunan bazı maddeler, kolorimetrik testlerle eş intansitede bulunabilirler (Androstérone ve Déhydroandrostérone gibi) ve keza biyolojik olarak inaktif bazı maddeler (Etiocolanol-3 (a) - one - 17) şimik metodlarla müsbet reaksiyona sebep olabilirler.

A — Androjenik materyel ihtiva eden ekstraktların mütalâasında, Biyolojik Metodlardan sarfınazar edilemez. Bunlar yeni bir Androjenin fizyolojik aksiyonu (kalitatif) ile nisbî aktivitesi (kantitatif) nin anlaşılmasında lüzumludurlar. Bununla beraber Capon's Comb deneyi, civciv Comb metodu, memelilerde deneme metodu gibi Biyolojik metodların gerek polarografik (Wolfe, Hershberg) ve gerekse Şimik (Oesting ve diğerleri) metodlarla sıkı paralelizmi gösterilmiştir. 1935 de League of Nation Committee Androjenler için enternasyonal bir standard vazetmiştir. 0.1 mg. Androstérone = 1 I. U.

B — Androjenlerin ve bunlara bağlı birleşiklerin tayininde Polarographic bir metoddan faydalanma hususundaki çalışmalar Wolfe, Hershberg ve Fieser tarafından yapılmıştır. Müelliflere göre nötral üriner ekstraktlarda mevcut 17-Ketosteroidler Girard'ın T miyan (Trimethylacéthydraside Ammonium chloride) ile tayin edilebilirler. Polarografik analiz şartları altında teamüle 3-Ketolar dahil olurlar, 20-ketolar ise tefrik edilebilirler. Bu metodun Şimik Zimmerman metodu ile mutabakat halinde olduğu gösterilmiştir.

C — Nötral ketonik fraksiyonların idrardan ayrılmasında kimyevî metodlardan istifade Zimmerman'ın eliyle mümkün olmuştur. Kendisi Androsteron, Testosteron ve Östron gibi saf ketonik Steroidlerin, kaleyî mahlül halinde m-Dinitrobénezene ile karakteristik bir renk teamülüne sebep olmaları dolayısıyla kantitatif olarak tayin olunabileceğini gösterdi. Wu ve Chou idrarda Zimmerman reaksiyonu ile renk tevhid eden ketonik fraksiyonların konsantrasyonları için Androsteron'un seçkin bir madde olduğunu bildirdiler.

Zimmerman metodu ve modifiye şekilleri (Callow ve ark., Holtorff ve Koch, Oesting), biyolojik metodlara uygunluk göstermekle beraber (Callow) esas itibarile keton teamülü olmaları, total nötral fraksiyonda non spesifik kromojenlerin bulunması bakımından, (Frazier, Gibson - Evans) bir tashiî veya söndürme faktörü kullanmayı icap ettirirler. Mamafih Talbot, Butler ve Mac Lachan böyle bir lüzuma inanmazlar. Bu

yüzden 17-Ketosteroidlere ait miktarların bildirilmesinde, kullanılan metodun ve tashih faktörünün kullanılıp kullanılmadığının işaret edilmesi faydalıdır.

P i n c u s. 17-Ketosteroidlerin kolorimetrik tayinlerinde Zimmerman ve modifikasyonlarından daha spesifik olduğu anlaşılan yeni bir metod bildirmiştir:

Asit solüsyonda konsantr Antimon trichlorüre ile ketonik nötral steroidlerin renkli reaksiyonuna istinad eden bu test ile Androsteron ve isomerleri mavi bir renk verirler. 3 ve 20 ketoların sarımsı ve soluk bir renk tehavvülüne sebep oldukları Pincus Antimon triklorür testi, yalnız 17-ketosteroidlerle aşikâr teamül göstermesi, non spesifik kromojenlerin hemen tamamen teamül dışı kalması gibi sebeplerle Zimmerman'dan daha spesifik bulunmuştur (Cohen, Salter ve Wenning).

Nötral 17-Ketosteroidlerin total tayinine mahsus olan ve esas prensipleri itibarile kısaca temas edilen metodlar dışında, idrarla itrah edilen muhtelif steroid fraksiyonlarının idantifikasyonu için tekniklerde tarif edilmiştir.

a. 17-Ketosteroidler, dijtoniyle presipite olup olmadıklarına göre iki fraksiyona ayrılırlar. α ve β diye adlandırılan bu fraksinyasyon, C 3 deki hidroksil grubun pozisyonu ile ilgilidir. Beta 17-Ketosteroidler izoandrosteron, Dehidroandrosteron ile Adrenal orijinli steroidlerden ibarettirler ve total miktarın % 10-15 ini teşkil ederler.

b. Keza fraksinyasyon analizi için kromatografik metodlar kullanılmaktadır. (Dingemane, Huis ve ark.) Brockman alümin sütununa adsorbe ettirilen idrar ekstraktı, önce saf benzen bilâhare benzen-alkol karışımı ile süksessiv separasyona tâbi tutulduktan sonra her 50 cc. lik kısımda Zimmerman metodu ile tayin yapılır. Netice bir kısmı malûm, bir kısmı da henüz muhtemel bir ketosteroidi temsil eden grafik halinde belirir.

Bütün bu metodların kullanılabilmesi için idrarın daha önceden hazırlanması gereken iki safha mevcuttur ki, bunlar da Hidroliz ve Ekstraksiyondur. Mutad olarak istimal edilen asit hidrolizlerinden başka, son zamanlarda Joel Bitman ve Saul L. Cohen tarafından Asetate tamponuyla hidroliz tarif edilmiştir. Ekstraksiyon için ekseriya eter veya karbon tetraklorür (Talbot) tercih edilir. Hidroliz, steroidleri ester kombinasyonlarından, ekstraksiyon ise fenolik sübsanslardan ayırır (Jenkins ve Hartung). Daha önce temas etmiş olduğumuz üzere, sadece Androjenik 17-Ketolarla değil, Österon ve aceton gibi cisimlerle de reaksiyon veren yani bir keton teamülü olan Zimmerman ve modifiçeleri, ekstraksiyon esnasında bu reaksiyona girebilen maddelerden kısmen olsun kurtarılabilir.

Biz de yakın zamanda yaptığımız "Steroid Metabolizması ve 17-Ketosteroid itrahi bakımından Diabetes Mellitus" mevzuolu bir travay'ımızda anlaşılan sebepler yüzünden Pincus Antimon triklorür testini kullandık.

Metod :

a. 24 saatlik taze idrardan 200 cc. üzerinde çalışılmış ve muhafazası için herhangi bir madde kullanılmamıştır.

b. Hidroliz için konsantre HCL seçilmiş, 30 sm. lik bir kondansöre bağlanmış 1 litrelik bir balonda bulunan idrara % 15 volüm üzerinden ilâve edilmiş ve kuvvetle kaynamakta bulunan su banyosunda 15 dakika kaynatılmıştır.

c. Hidrolizden sonra soğutulan materyele ekstraksiyon için 1/4 volüm Ccl₄ karıştırıldıktan sonra bu defa yarım saatlik bir kaynamaya tabi tutulmuş, müddetin hitamında süratle soğutulmuştur.

d. Bir tefrik hunisi vasıtasile ekstraksiyone olan fraksiyon, bakiye idrardan ayrıldıktan sonra 3-4 defa 2 N NaoH ile, bilâhare 2 defa da su ile yıkanmış, elde edilen hafif veya ağıkâr erguvanirendeki nihai ekstrakt evaporasyona bırakılmıştır.

e. Evaporasyona tabi tutulmuş tüp veya tüplere 0,2 ml. Pincus reaktifi (1 : 9 Asetik asid anhidridi glacial acetik asitin her 1 cc. si için, 3,8 gr. SbCl₅) ilâve edilerek kaynamakta olan benmaride (ağızları kapalı olarak) 20 dakika bırakıldıktan sonra, soğutulup her birine 9,8 ml. %95 asetik asit ilâve edilmiş ve karanlık bir mahalde 40 dakika renk inkişafına terk edilmiştir.

f. Nihayet müddetin hitamında LUMETRON Photometric Colorimeter MOD. 400—A'da kırmızı filtrede transmisyon adedi okunmuş ve daha önce Androsteron ile çizilmiş bulunan kalibrasyon kurbundan günlük miktar hesap edilmiştir.

Tekniğimizle orijinali arasında bazı ayrılıklar mevcuttur. Hidrolizi mutad hilâfına çıplak ateşle değil, kuvvetle kaynamakta olan su banyosunda yaptık. Konsantre Hcl'in kaynama derecesinin yüksekliği ve bu yüzden su banyosunda hidrolizin tam olmayacağı düşünülebilirse de, su banyosunda da kâfi kaynama temin edebilmiş olduğumuz gibi ekseriya 10 dakika olarak seçilen hidroliz zamanını 15'e çıkarmak ve hidrolizi ekstraksiyon esnasında da devam ettirmek suretile buna mani olunduğunu sanıyoruz. Esasen çıplak ateşle yaptığımız tecrübeler 17-Keto tahribinin fazla olduğunu göstermiştir. Nasıl olursa olsun kalibrasyon münhanimiz de aynı surette hazırlanmış bulunduğundan netice hiç değilse nisbi yönden değişmeyecektir. Pincus orijinalinde dilüsyonun 5 ml. asetik asitle yapılmış olmasına mukabil biz fotometr olarak Lümetron ve ayrıca ayarlı tüpler kullanmış olduğumuzdan transmisyon adetlerine göre asgari dilüsyon sütununu bu miktarın üstünde bulduk ve 10 ml. ile çalıştık. Kalibrasyon kurbunda aynı şekilde hazırlandığı hatırlanmalıdır.

Bildirdiğimiz modifikasyonlarla kullandığımız Pincus metodu ile 27-49 yaş arası 9 normal erkekte 8,8-23,6 mg./günde (vasatı: 12,94 mg.), 27-38 yaş arası altı normal kadında 4,5-11,4 mg./günde (vasatı: 8,58 mg.) 17-Ketosteroid tesbit edilmiştir ki, gerek Callow (8-32 mg./günde, vasatı: 13-14 mg., normal kâhil erkek, 6,8-12,2 mg./günde, vasatı: 9,4 mg., normal kâhil kadın) ve gerekse diğerleri ile sıkı bir mutabakat göstermektedir.

Metodun seçilip hazırlanmasında hem literatür ve hem de teknik bakımdan yakın alâka ve ikazlarından fevkalâde faydalandığım arkadaşım Hayati ve Tıbbi Kimya Mütahhasısı Dr. Nail Payza'ya ve Enstitü Laboratuvarlarından istifade etmeme müsaade bu-

yuran Enstitü Müdürü muhterem Niyazi Erzin'e teşekkürlerimin ifadesini ödenmesi zevkli bir borc bilirim.

Hülasa

Makalede Steroid hormonların metabolizmasına ve bu arada Androjenik aktivite gösteren Steroid hormonların isbahi mahsulleri olan 17-Ketosteroidlerin kantitatif tayinleri hakkındaki metodlara umumî surette temas edilmiş. Steroid metabolizması ve 17-Ketosteroid İtahi Bakımından Diabetes Mellitus" mevzuu bir travayda kullanılan metodun münakaşası yapılmıştır.

Steroid hormonlar, Steroid cisimler denen ve esas iskelelerini Androstan halkasının teşkil ettiği organik süriktürlere dahil olup sentez ve degradasyonları, gerek organizmde ve gerekse in vitro takip edilebilir bulunmuştur. Bunlar meyanda Androjenlere ait oldukları bilinen ve idrarla itrah edilen bir grup esas iskelelerindeki C 17 de keton vasfında bir O atomu taşıdıklarından 17-Ketosteroidler adı altında toplanmış, kantitatif tayinlerine klinik büyük ehemmiyet atfedilmiştir. Tarif edilen ve halen kullanılmakta olan biyolojik, polarografik ve şmik-kolorimetrik metodlar arasında paralelizm gösterilmiştir. Bugün tercih edilen ve sıklıkla mütabakel şmik-kolorimetrik Zimmerman ve modifieleri ve Pincus testleri olup, Pincus'un umamiyetle bir keton reaksiyonu olan Zimmerman'a nazaran daha spesifik olduğu bildirilmiştir.

Müellife mevzuubahis travayuda orijinaline nazaran hidroliz şekli ve dilüsyon bakımından esasa tesir etmeyen bazı ayrıntılarla Pincus Şbel. Test'ini kullanmış, normal kâhil erkek ve kadınlara ait tesbit edilen miktarlar neşriyatla mutabakat halinde bulunmuştur.

REFERENCES

1. Hawk Ober Zimmerman — *Functional Physiological Chemistry*
2. S. Lohstejan, K. Doherty — *Annual Review of Biochemistry*
3. Glenn L. Jenkins, Walter H. Hartung — *The Chemistry of Org. Med. Products*
4. *Traité de Médecine* Tome XIII
5. G. Flourens, J. Escalier — *Précis de Chimie en Médecine*
6. J. Stodjko — *Traité de Chimie Organique* Tome XIX
7. Frank Lockens — *Biological Aspects* Symposium No. 5
8. Gregory Pincus, R.V. Flanagan — *The Biochemistry of Antitumor D.T. Losenthal*
9. Kleber — *Biochim. Biophys. Acta*
10. Frank A. Hartung, Katherine A. Brown — *The Adrenal Gland* 1945
11. John T. DeFees, Donald G. Van Slyke — *Experimental Clinical Chemistry* 1946
12. Koch, Hinkle — *Practical Methods in Biochemistry*
13. Joel Brown, Saul L. Cohen — *The Journal of Biological Chemistry* V. 170, No. 1
14. Robbe, Götman — *Biochim. Biophys. Acta* 3, 260, 1948
15. Zimmerman — *Biochim. Biophys. Acta* 32, No. 5, 1958
16. L.L. Gardner, C.J. Mizum — *Helyöndi Biokemistika Agra* V. 6, Fas. 6, 1951
17. Morris A. Graff, John T. Mc Erroy — *The Journal of Biological Chemistry* 1951
18. Louis J. Soffer — *Ann. of New York Academy of Med.* 1948
19. H. Bernard, P. Ganshert, A. Hoen — *Ann. Med. de l'Univ. de Paris* No. 7 s. 1946

TÜBERKÜLOZDA PNÖMOPERİTON TEDAVİSİNDE ALDIĞIMIZ NETİCELER

Dr. Ragıp ÜNER

P.P. karın boşluğuna hava verilmesine denir. Karın içi tazyikinin bu yolla sun'i olarak artması ile diyafragma yukarı doğru itilir ve bu suretle akciğerde indirekt olarak bir kollaps elde edilmiş olur.

P.P. Akciğer tüberkülozunun tedavisinde ilk defa Banayal tarafından 1931 senesinde şiddetli bir kanamaya maruz kalmış olan ve pnömotoraks yapılması mümkün olmayan bir vak'aya tatbik edilmişti. Bu vak'adan alınan güzel netice üzerine müellif hastalara kitle halinde P.P. yapmağa başlamış. 1936 senesinde Fremel sun'i pnömoperituvanın frenik felci ile beraber tatbik edilmesi sonunda daha iyi neticeler alındığını bildirmiştir.

Anatomik ve fizyolojik tesirleri :

P.P. frenik felci yapılmadan yalnız olarak tatbik edilirse diyafragma vasatı olarak 2-5 santimetre nadiren 7 Cm. yükselir. Karaciğer, dalak ve diğer karın organları kendi bağlarına asılarak karın arka duvarına doğru giderler. Fakat pratik olarak yemek borusunun diyafragmadan geçiş deliği yerini değiştirmez. Normal olarak karın içindeki tazyik atmosfer tazyikine müsaavidir. Fakat hava verince bu tazyik müsbete çıkar. Ekseriya + 4 ile + 12 su tazyiki arasında olarak P.P. tatbik edilmelidir. Göğüste menfi tazyik olduğu için karından yapılan bu tazyik dolayısıyla diyafragma yukarı doğru kalkar. P.P. na frenik felci eklenirse o zaman sağda 7-5 Cm. solda ise 5-15,5 santimetreye kadar bir yükselme elde edilebilir.

Fox'a göre medyasten yukarı doğru yer değiştirilerek iki toraksın üst kısmı genişler. Akciğerler yukarı doğru itilir. Diyafragma kubbesinin bilhassa ön kısmı yukarı doğru kalkar. Akciğerlerin bu yukarı doğru itilmesi frenik felci yapılan tarafta daha fazla olur. (Sellars)

Aşağı kısımlarda kostalar genişler. Teneffüs ile akciğerlere hava girerken frenik felci bulunur tarafta diyafragma aşağı doğru iner. Ön kısımdaki fazla yükselme ve genişlemeden dolayı interkostal teneffüs meydana gelir. P.P. nin büyük terapötik tesiri daha çok akciğerlerin arka kısmına yönelir. Bir çok müellifler P.P. ile beraber frenik felcini, frenik siniri tamamen kesmek suretiyle daimi olarak yaparlar. Sellars geçici olarak frenik felcinin aynı tesiri yaptığını ve reversibl olması dolayısıyla geçici felç yapılmasını tavsiye etmektedir.

P.P. nin her zaman frenik felci ile beraber yapılmasına pek de lüzum yoktur. Fakat imkân varsa beraber yapılmalıdır. Ancak ameliyattan korkanlar ve nedbe bırakma tehlikesi dolayısıyla genç kızlar için frenik olmadan P.P. yapılmalıdır.

(P.P. ve Frenik felci) nin klinik tatbikatı büyük bir istikbal göstermektedir. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziyoloji kliniği yeni teşekkül ettiği zaman pnömotoraks yapılan hastalarımız yüzde doksan buna mukabil P.P. yapılanlar ise yüzde on gibi bir nisbet tutmakta idi. Bugün bu nisbet tamamiyle aksine dönerek P.P. nin tatbik nisbeti yüzde doksanı geçmiş buna mukabil Pnx. nisbeti yüzde ondan daha aşağıya inmiştir. Pnx. esnasında plevraya hava verilirken bir takım arzu edilmeyen ve bazen de tehlikeli neticeler tevliid eden aksadınların P.P. esnasında zuhur etmemesi ve bilhassa ampiyem gibi korkulu bir âkibetin P.P. da hiç bulunmaması P.P. nin tatbik sahasını çok artırmıştır.

Hsd eksüdatif lezyonları stasyoner hale getirmek suretiyle husule getirdiği durum P.P. nin diğer kollaps metodlarından daha çok tatbik edilmesini sağlamıştır.

Ankara Tıp Fakültesi Fiziyoloji kliniğinde bir gün umumi bir viziteden sonra Prof. Dr. Nusret Karasu tarafından asistanlara şöyle bir soru sorulmuştu :

— Akciğer tüberkülozu tedavisinde sterptomisin mi yoksa P.P. mi?

Biz asistanlar hepimiz birden bir tüberkülozunun tedavisi için muhakkak bu iki vasıttan birini seçmek icap ediyorsa P.P. ni tercih edeceğimizi söyledik.

(Kalp ve damar hastalıkları) isimli kitabının (gece gelen nefes darlığı) tedavisi kısmında Cherrf morfinin bu sendromdaki tesirinden bahsederken morfinin buradaki tesiri ancak (magique "sehhar") dir demektedir.

Bu cümle akciğer tüberkülozu tedavisinde P.P. için söylenebilir. Hakikaten P.P. akciğer tüberkülozu tedavisinde sehhar bir tesire maliktir. Hem de morfin gibi geliş gecici değil... uzun devam eden ve muşabını eriten bir hastalığın üzerine daimî bir tesir.

P.P. nin komplikasyonları :

P.P. nin komplikasyonları Anglo-Sakson neşriyatına nazaran yüzde 8 olarak kabul edilmekte ve ölümün son derece nadir olduğu yazılmaktadır. İki seneyi aşan bir zamandanberi faaliyette bulunan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziyoloji kliniği istatistiklerinde bu yüzde 8 rakamı yüzde 4 e kadar inmektedir. Tıp edebiyatında nadir dahi olsa barsak delinmeleri ve bunun neticesi de peritonitin meydana çıktığı vak'alar yazılmıştır. Simmonds 1946 senesinde 3 hava ambolisi vak'ası yazmıştır. Bu müellifin P.P. yaptığı 13 bin vak'adan 3 ü amboli gazöze duçar olmuş ve bunlardan bir tanesi de vefat etmiştir. Bugüne kadar bütün dünya literatüründe gaz ambolisinden ölenlerin yokunu ancak 6 yı bulmaktadır. Anglo-Sakson neşriyatında P.P. komplikasyonları şöyle sıralanmaktadır :

Hava ambolisi	0,4
Peritonit	1,04
Batında asid toplanması	1,94
Anoreksi	1,09
Herni	0,1
Kardiyak sıkıntısı	0,26
Peritoneal kanama	0,13
Omentum torsiyonu	0,26
Medyastinal amfizem	0,26
Apandisit	0,26
Lober atelektazi	0,13
Serebral lezyon	0,13
Kilo kaybı	0,13

Klinikimizde gördüğümüz ihtilatları şöylece sıralayabiliriz :

Hava ambolisi	—
Peritonit	1,01
Batında asid toplama	0,10
Anoreksi	3
Herni	0,1
Kardiyak sıkıntı	—
Peritoneal kanama	0,11
Omentum torsiyonu	—
Medyasten amfizemi	0,10
Apandisit	—
Lober atelektazi	0,20
Serebral lezyon	—
Kilo kaybı	0,15
Cilt altı amfizemi	0,11

Anglo-Sakson negriyatında görülen P.P. dan sonra ölüm vak'alarına hiç rastlamadık. Basit bir ameliye olan P.P. esnasında ölüm ancak farazi olarak bir yer tutabilir. Netekim hastanemizde 7 yaşından küçük çocuklara granülü vak'alarına, ağır seyreden ampiyemlere P.P. tatbik edildiği halde bunlar içinde bir tek aksidan kaydedilmemiştir.

Endikasyonları :

İlk zamanlarda P.P. bilhassa kaide lezyon ve kaveralarında tatbik ediliyor ve bu mntakadaki âfetlere iyi tesir ettiği zannediliyordu. Fakat kimografik tetkiklerle diyaf-ragma tesirinin zirveye kadar intikal ettiği tesbit edildikten sonradır ki P.P. nin zirve âfetlerine iyi tesir yapabileceği anlaşılmıştır.

Klasik olarak pnömoperiton yapılacak vak'alar şöylece sıralanabilir :

1 — Tek taraflı eksüdatif vak'alar :

Pnömotoraksa ve diğer tedavi metodlarına müsait olmayan bu vak'alarda P.P. tatbik edilir.

2 — Çift taraflı eksüdatif vak'alar :

Bu vak'alarda hiç bir kollaps metodu muvaffak olamayacağından hastahğin seyrini durdurmak için P.P. yapılır. Şayet üfet bir tarafta daha yaygın ve daha sür'atli seyrediyorsa o tarafa iyelik felci de ilâve etmelidir. Bu suretle hastayı stasyoner duruma getirmeğe çalışmalıdır. Bu vak'alarda P.P. ekseriya plâstige hazırlayıcı olarak kullanılır.

3 — Kutru 4 C den büyük olan kaviteli vak'alarda başka bir müdahaleye imkân olmadıkandan kavernin küçülmesini sağlamak için ve yayımlara mani olmak için müdahaleye hazırlamak üzere P.P. tatbik edilir.

4 — Plâstik yapılacak vak'alarda hastayı plâstige hazırlamak için vücut takviyesi bakımından beklemek icap ettiği zaman P.P. yapılır.

5 — Trakeo-bronşiyal tüberkülozda Pnx. koni mulikedir. Fakat akciğer gerginliğinin azaltılması için P.P. yapılır ve çok iyi tesir eder.

6 — Hemoptizilerde P.P. akciğer gerçinliğini kaldırarak akciğerin yırtılan damarını büzerek kanı durdurabilir.

7 — Kollaps tedavisinin ilk elemanı olarak P.P. tatbik edilir.

a) Kavitesiz iki taraflı minimal enfiltrasyonlarda

b) Alt lobun enfiltrasyon ve kavitelelerinde üst lobun arka kısmındaki lezyonlarında Pnx. muvaffak olamadığı vak'alarda P.P. yapılır.

Kliniğimizdeki P.P. tatbikatından aldığımız neticeler : [*]

1 -- Yüksek ateş ve umumî ahval bozukluğu ile seyreden pnömonik kazeöz form vak'alar...

Bunlardan 51 kişiye P.P. yapılmıştır. Antiliyotiklerle teşvik edilmek suretiyle tedavi edilen bu hastalarımızda başka hiç bir tedavi usulüne lüzum görülmeden yüzde yüz aşkâr bir iyilik temin edilmiştir.

2 -- Pn. tedavisi yapılması mümkün olmayan ve kutru 4 cc. den büyük kavirli hastalardan 101 kişiye P.P. yapılmıştır. Bunların % 60'ında 6 ay içinde kavern silinmiş % 9 kavern halini muhafaza etmiş diğer vak'alarda pek az bir küçülme müşahade edilmiştir. Bu P.P. den istifade etmeyen vak'alara diğer kollaps metodları tatbik edilmiştir.

[*] XI İnci Millî Tıp Kongresinde teşliğ edilmiştir.

3 — Cerrahi müdahaleye hazırlayıcı olarak 62 kişiye P.P. tatbik edilmiştir. Kavern etrafında veya akciğerin diğer noktalarındaki yayımların silinmesinde P.P. çok faydalı olmuştur.

4 — Yüksek ateş umumî ihval bozukluğu ile müterafik olan seyreden iki taraflı pnömonik kazeözform vak'alar... 47 kişiye P.P. yapılmıştır. Bu vak'aların % 50 sinde aşkâr bir şifa temin edilmiştir.

5 — P.P. dan iyi sonuç aldığımız vak'aların başında tüberküloz hemoptizileri gelmektedir. Biz 26 hemoptizili hasta takip ettik. Bunlardan ikisi fudruyan bir şekilde idi ve ikisi de kayboldu. Diğer 24 hastamız P.P. dan sonra sür'atle düzeldi, ve kan çok çabuk kesildi.

6 — Akciğer enfiltasyonlarında P.P. 62 vak'ada yapılmıştır. Hastalarımızın hepsinde lezyonun gerilediği ve rezorpsiyona düşer olduğu müşahede edilmiştir.

7 — Dorsal lob enfiltasyon ve kavernlerinde P.P. dan % 40 nisbetinde bir şifa temin edilmiştir. Bilindiği gibi dorsal lob kaviteleri Pnx. dan az fayda görmekte ve diğer tedavi metodlarını da bu loba tatbik etmek mümkün olmaktadır. Bu bakımdan P.P. dorsal lob kavite ve enfiltasyonlarında başlıca endikasyon teşkil eder.

8 — Pnx. yardımcı olarak, Pnx. in kontr selektif olduğu, zirvenin geniş bir sahada olup intraplöral pnömoz yapılamayan vak'alarda Pnx. a yardımcı olarak P.P. yapılmakta ve kaverne bu suretle daha müessir olunmaktadır. Bizim bu şekilde tedavi görmüş 27 hastamız vardır. 19 unda kavite kaybolmuştur.

9 — Doğumdan sonra P.P. : Gebelik umumiyet itibariyle Tb. lezyonları üzerine ilk zamanlarda iyi tesir etmektedir. Ancak doğumu müteakip yukarı kalkmış olan diyafragmanın yeniden aşağıya inmesi ve buna ilâve olarak bu devredeki fizyolojik değışiklikler mevcut tüberkülozu aktive etmekte ve yeni yayım mihraklarının teşekkülünü mucip olmaktadır. Bunu önlemek için en iyi çare gebelikte mevcut diyafram yüksekliğini gebelikten sonra da devam ettirmektir. Kliniğimizde 10 hamileyi takip ettik. Bir kadın granüliden vefat etti. Diğerlerinin umumî durumları iyidir.

10 — Granüli vak'alarında P.P. : Bir kısım granüli vak'alarının intraalveoler ve intrakanaliküler evolue oldukları ve böylece hematojen akciğer tüberkülozuna inkılap ettikleri malumdur. Hangi vak'anın bu seyri göstereceğini daha evvelden kesirmek mümkün olmadığından biz umumiyetle granüli vak'alarında had safha geçtikten sonra P.P. yaptık. Aldığımız netice fevkalâde memnuniyet vericidir. Bu gibi vak'alarda P.P. dan sonra vital kapasitenin daha da artmış olduğunu gördük. Bu vak'alarda diyafragma fazla kaldırılmamalı ancak nisbi bir yükseklik elde edilmelidir. 17 grnüli vak'amızın ikisini kaybettik. Diğerlerine klasik tedavi ile beraber P.P. yapılmaktadır. Hastalarımızın umumî durumları iyidir.

11 — Ampiyem vak'alarında P.P. : Ampiyemde P.P. dan aldığımız neticeler göstermektedir ki, ampiyem kavitesinin kapatılması için P.P. ve frenik fevkalâde müessir bir

yardımcıdırlar. Ampiyem vak'alarında akciğerin reekspansiyonu temin edildikten ve ampiyem kavitesi kaybolduktan sonra eğer akciğer içerisinde kavern meydana çıkmıyacak olursa bu takdirde ampiyem tedavisine yalnız başına P.P. veya frenik ile birlikte P.P. teşrik ediyoruz. 12 ampiyemli hastadan aldığımız neticeler yüz güldürücüdür. Şunu da kaydetmek icap eder ki, kliniğimizde ampiyem tedavisi son derece titizlik ve itina ile yapılır. Eakidenberi iyi olmaz ve şifa bulmaz denilen ampiyem vak'aları bu titiz takip ve her gün lavaj sayesinde 3 ay içinde iyi olmuşlardır.

12 — Çocuk tüberkülozu ve P.P. : Çocuk tüberkülozunda P.P. kliniğimizde çok sık yapılmaktadır. Primer enfeksiyon tüberkülozu ve onun geniş akibetleri naran itibara alınırsa burada kollaps tedavi metodları ve diğer tedavi usullerinden elde edilen neticeler pek yüz güldürücü değildir. Hatta bir kısım vak'alarda yapılan müşahedelerde adeta ağır tüberküloz şekillerinin meydana gelişine bir nevi basamak teşkil ettiği görülür. Buna mukabil P.P. bu devrede hassas ve attake bulunan plevra ile hiç bir alakası olmadığından onunla ilgili ihtilâtlara yol açmadan akciğer lezyonları üzerine müessir olmakta ve kısa zamanda iyi neticeler alınmasını temin etmektedir. 30 yataklı çocuk servisimizde 6-12 yaşları arasında bulunan 26 çocuğa P.P. tedavisi tatbik ettik. Bunlardaki lezyonlar umumiyetle ağır enfiltrasyonlar, pnömoni kazeöz ve primer mihrak fitizisi şekilleridir. Çocuk servisindeki bu tedavilerimize halen devam etmekteyiz. Hastaların durumu iyiye gitmektedir. Çocuk servisimizin açılış tarihi yeni ve P.P. na devamımız o kadar uzun olmadığı için tedaviler hakkında kat'i bir mütalâada bulunmağa şimdilik imkân yoktur. 6 ayı geçen P.P. li çocukların çoğunda kavite kapanmıştır.

13 — Amfizemde P.P. akciğer anfizeminden P.P. M.G. Garter, E.A. Gaensler ve A. Kyllanen Boston City Hospital'da akciğer anfizemi ve müzmin bronşitlere müptelâ 35 ile 74 yaş arasındaki 14 erkek ve 2 kadın hastaya tatbik etti. Bunların hepsi en küçük bir irritationsa karşı dahi şiddetli reaksiyon göstererek teneffüs güçlüğüne uğrayanlardı ve Dispine teessüs ediyordu. Cöğüs ameliyatı yapılmış ve bunun neticesi öksürük, dispine cyanoza dıçar olmuş 3 hasta P.P. ile tedavi edilenler arasında idi. Bu hastaların periton boşluklarına 700-1000 cc. hava verildi, iki günde bir fasula ile 500-1000 cc. hava verilerek devam edildi. Gittikçe hava verme fasulaları uzatılarak 2 haftaya çıkılıp kontrol altınad bulundurulmak üzere hastayı terkettiler, gaz olarak da % 80 Heli'nin ve % 20 oksijen mahlülü kullanıldı. On hastanın kendileri, büyük salâh bulduklarını, üç tanesi de gittikçe iyileştğini bildirdiler.

Dispenin geçmesi, bedeni ekzersiz toleransının artması, evvelce düz yatarak uymaya muktedir olmayan hastanın rahatça yatması, Bronkopulmoner sekresyonun kolayca çıkması, öksürüğün azalması hatta kaybolması P.P. ile hastaların iyileştğini ispat eden karakteristik delillerdir. P.P. ile tedaviye başlamadan hastaların % 10 unda diyafragma hareketin ancak normalken bu nisbet tedaviden sonra % 40 a yükseldi. Pn. periton ile tedavi edilen bu tip hastalarda tedaviden evvel vasatı olarak 1.989 iken tedaviden sonra vasaı olarak 2.345 cc. ye yükselmiştir. Ve tedaviden evvel 2677 cc. reziduel havaları olan hastaların tedaviden sonra reziduel havaları 1.980 ne düşmüştür. Maximal nefes alma kapasitesi dakikada 29 litre iken dispine index'i 66 dan 48 e düşmüştür. Te-

Daviden sonra dakikadaki oksijen sarfiyatında bir değişiklik görülmedi fakat tedavi altına alınan bütün vakalarda dakika ventilation'ü avdet etti. Başlangıç veya ilerlemiş haldeki anfizeme P.P. nin rolü henüz izah edilememiştir. Bazı müesseselerde anfizemde fibrozise gitmesi ve enfeksiyonun seyrinin yavaşlaması isteneu vakalarda P.P. tatbik edilmektedir.

(Bu gibi vak'alarda P.P. nin tesiri karının sallantılı hareket etmesine mani olmak için istinat temin etmeye yarayan kuşağın sarılmasına benzer. Dikkat ederlerse kuvvetli hastalar kuşak taşıdıkları zaman daha rahat nefes aldıklarını anlarlar. P.P. bazı vak'alarda teneffüsü tanzim ederse de diğer bazı vak'alarda da meselâ alveollerdeki difüzyonu güç olduğu vak'alardaki dispnelerde zararlı olur. Buna rağmen vak'aların kısmı âzâ-mında bronşlardan sekresyonu temizleyerek Bronchial spasm'ın kaldırarak, mucosanın ödeminin giderilmesine yardım ederek çok iyi tesir eder). Biz Tb. dışı amfigemde P.P. yapmadığımız için bu hususu geçiyoruz.

P.P. nin ilâçla kombine edilmesi :

Hastalığın ilk safhalarında ve inkişaf ettiği zamanlarda Strp. ve Pas hastalığı yavaşlatılabilir. Fakat bu maddelere rezistans tesis ettiği için uzun müddet kullanılmalarını önlemek gayesi ile hastalığın seyrini durdurmak için bu ilâçlarla beraber uygun tarafa frenik felci ve P.P. yapılır. Şimdiki fikirlere göre bu düşünce de yanlıştır. Hastalığın bu ik devirlerinde seyri frenik ve P.P. ile durdurulmalı ileride yapılacak cerrahi müdahaleye Pas Strp. ni saklamak icap eder. Bu şekilde hareket pek akıllıca olur ve rezistans tehlikesi bertaraf olur.

Kontr endikasyon :

P.P. aşağıdaki vak'alarda kontr endikedir :

1 — Kronik ve ileri derecede fibrozite ile müterafik lezyonlarda etrafı çok sert ne-siçle çevrilmiş kaviter vak'alarda, plâstik endikasyonu aşıkâr olan vak'alarda P.P. yapılmaz.

2 — Diyafragmanın iltisaklı olduğu vak'alarda ve evvelce geçirilen amiyemlerde yapışıklık olacağı düşünülerek P.P. yapılmaz.

3 — Tb. peritonit ve adenit Tb. varsa yapılmaz.

4 — Flasterle kontrol edilemiyen hernilerde yapılmaz.

5 — Kompanse edilemiyen kalp kifayetsizliklerinde yapılmaz.

6 — Gebelikte yapılmaz. (7 inci aydan sonra)

P.P. nin usul ve tekniği :

P.P. başlamadan evvel hasta hiç olmazsa 4 saattenberi aç kalmış olacaktır. Hasta sırtı üstü yatar. Bir yastık başını beline, bir yastık başını altına konur. Böylece karnın

üst cidarı en yüksek vaziyete gelir. Bu vaziyette hava karın üst cidarının alt kısmında toplanacaktır. Ekseriya sol rektusun kenarına 4-5 cm. solundan ve sol kosta kenarının ortasından geçen hattın üzerine düşen kısımdan yapılır. Laparotomi zahasından çekinmelidir. Tarif edilen yer seçildikten sonra iğnenin batırılacağı yer 5:05 lik procain mahlûlü ile anestezi yapılır. (Biz anestezi yapmıyoruz). Göbekli şahalarda peritona iğnenin yetiştirilmesi için uzunluğu 7-8 cm. olmalıdır. P.P. yapılarak şahs alelade bir suni P.x. cihazla tetricbe eder. Şayet hemen serbestçe gidiyorsa iğne peritondadır. Maxwelle aleti, Lillegeton-Pearson'ın aletine nazaran çok kullanışlıdır ve uygundur. P.P. Pox. iğnesi ile de yapılır. Ayrıca trokar ve kânül tipinde iğnelere ihtiyac yoktur. Fakat pratikte çok kolay olarak tabîk etmek için 5-6 cm. uzunluğunda Saugman'ın hususi mandrenli iğneleri vardır. İğne batarken hasta ön ve muvakkat olarak karın ön cidar adelelerini kontrakte etmesive mani olmak için başını altına yastık konmuştur. Bu sayede hasta başını ve omuzlarını kaldırarak karın adalelerini vermez. İğne karın cidarından içeri doğru batılırken yavaş yavaş iğne ipler ve rektusun arka kısmını geçince paryetal periton delinir. Maxwelle aletin musluğu manometresi ile birleştirilir. Biraz hava verildikten sonra musluk kapanarak tazyik okunur. Eğer iğne periton boşluğunda değilse çok fazla nisbet tazyik okunur. Şayet periton boşluğunda ise sıfır civarında bir tazyik okunur. Böyle olunca hava musluğu açılarak hava verilmeğe devam edilir. Ara sıra musluk kapanarak manometrenin sıfır civarına gelip gelmediği kontrol edilir. İlk P. P. da 400—800 cc. hava verilir. Fazla hava hastaları rahatsız etmektedir. İğnenin periton boşluğunda olduğunu bildiren en kıymetli delil açıldıktan sonra havanın kolayca çarpması ve kapatınca tazyikin tekrar sıfır civarına gelmesi ile anlaşırlar. Şayet tazyik sıfır civarına gelmeyip çok olursa iğne nesicler içinde demektir. biraz daha batırmak icap eder. Başta tehlike hava ambolisiydi, fakat çok ender olduğundan profilaktan nazari itibare alınmaz. Eğer hava serbestçe gitmese o gün devam edilmez; ancak tekrar denemir. Çok iğne batırmaı hastayı rahatsız eder. Bir kez sonra görülen boyun etrafındaki amfizem iğnenin rektusu geçerek çok derine gittiğini ve havanın retro peritoneal mesafeye verildiğini belli eder. Nadir bir komplikasyonda periton boşluğu ile mediastenin birleşmesidir. Göz muayenesinde nefes alduktan sonra evelâ 500-800 cmr hava verilir. Ertesi gün veya bir gün sonra tekrar edilir. 3 gün sonra üçüncü hava veriderek radyografi çekilir. Havanın verilme miktarı hastanın gösterdiği semptomalara skopi ile bakılarak diyafragmanın yükselip yükselmemesine tâbidir. Fakat ekseri vak'alarda + 3 ile + 10 arasında P.P. na devam edilir. Azami 4 defa zarfında diyafragmanın arka kısmı az ön kısmı daha çok olmak üzere yükselir. Diyafragmanın ön kısmı 4 öncü kosta kadar yükselir. P.P. na haftada bir devam etmelidir. Ancak diyafragmalar yükseldikten 12 ay sonra hava verme faslası bazı hastalarda 10 hatta 14 güne çıkılabilir. Her hava verişte diyafragmanın yükseklik ve hareketi hastanın evrakına şöyle hesap edilerek kaydedilir. Hava verilecek diyafragmanın kaçmci kotta olduğu yazılır. Meselâ: (farzedelim ki 4 üncü kota kadar yükselir o halde yukarı doğru bir ok çizilerek yanına 4 yazılır) ondan sonraki havaya gelince skopi ile diyafragmanın kaçmci kot hizasında olduğu hava verilmeden tesbit edilir. Farzedelim ki 5 inci kota kadar inmiş o halde (5) yazılarak gösterilir. Nefes verirken diyafragma frenik

felci yapılan tarafta aşacı doğru hareket eder. Felç yapılan tarafta diyafragma 3 üncü kota kadar yükselir 2 sene felç ve hayanın devam ettiği vak'alarda diyafragma umumiyetle daimî olarak yükte kalmaktadır.

P.P ile tedavinin neticeleri: Anglo-saksonlara göre ister frenik felci ile beraber isterse freniksiz P.P. tatbik edilsin literatürde geniş miqyasta neşriyat olmasına rağmen kat'i bir hüküm vermek, tedavideki değerini kesip atmak biraz güçtür. Bu tedavi tarzı hakkında muhtelif neşriyat, pek çok makale ve geniş miqyastâ tatbikat yapılmasına rağmen Tbc. tedavisinin ana prensiplerine katabilmemiz için daha bir müddet beklemek mecburiyetindeyiz. Meselâ; bazı inatçılar P.P. nin faydasını görmedikleri halde ısrar ederlerken, bazı şüpheliler de az bir muvaffakiyetsizliğe uğrayınca daha diyafram optimal seviyede iken vakitsiz olarak P.P. ni terkediyorlar. Literatür ve neşriyat frenik felci yapılmadan dahi hat eksidatif vak'alarda P.P. ile hastalığı sun'i Pnx. ve diğer müdahalelere kayırmak için gayet kıymetlidir. Alimlerin büyük bir kısmı P.P. frenik felci ile teşrih edilirse, felç yapılmayan vak'alardaki P.P. dan daha iyi ve kıymetli neticeler verdiğini gördüler. Bir kısım âlimler daimî frenik felci yapılan vak'alarda diyafragmanın % 15 inde yükseldiğini diğer bir kısım âlimler de frenik ezilerek ameliyat yapılan vak'alarda diyafragmanın % 25 vak'ada yüksekliğini tesbit ettiler. Eğer vak'a uygunsu ve bilâhare plâstik ile tamamlanması düşünülüyorsa P.P. na başlarken hastaya bu tedavinin plâstik ile tamamlanacağı hatırlatılmaktadır. Bugünkü fikirlere göre P.P. ve frenik felci ile alt lob kavitelerinin iyileşmesi gibi üst lob kavitelerinin de iyileşmesi de mümkündür. Fakat henüz geniş miqyastâ tatbik edilmesine ve bunlar içinde şifaya kavuşması için geçen zamanı tamamlamış pek az vak'alar olmasına rağmen tedavi terkedildikten 3 sene sonraya kadar netice hakkında hüküm verebilmek için beklemek şarttır. Kavitenin kapanması tomografi ile tesbit ve basilin her çeşit usulle bulunmaması ile teyid edilmelidir.

P.P. ve Vital Kapasite :

Kliniğimizde P.P. yapılan hastalardan 136 kişi üzerinde bir inceleme yaptık. Hangi vak'alarda P.P. nin vital kapasiteyi artırdığını hangi vak'alarda azalttığını tesbit ettik. Bunu da ayrıca başka bir yazımızda belirteceğiz.