

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 : XVI — Sayı : II
(1956)

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

•

REVUE TURQUE D'HYGIENE ET DE BIOLOGIE EXPERIMENTALE

•

TÜRKISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

(TURK. HYG. — EXP. BIOL)

Vol : XVI — No. : II

Ankara, 1956

ISSUED BY
PUBLIÉ PAR
HERAUSGEGEBEN VOM

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSIHHHA ENSTITÜSÜ (ANKARA)
TARAFINDAN NEŞREDİLİR.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sahife</u>
1 — Dr. Niyazi ERZİN :	
Türkiye'de çocuk ölümü	137
Infant mortality in Turkey	139
2 — Sadık GÖREN ve Necmettin AKYAY :	
Tifo aşlarının aktivitesini tayinde kullanılan metotlar ve buna dayanılarak aşların değerlendirilmesi üzerinde kritikli bir etüd	141
The immunological properties of s. typhosa strains used in vaccine production and the evaluation of the potency tests	164
3 — Dr. Mesude AKTAN :	
Kuzuların akciğerinden izole edilen pleuropneumonie grubu bir mikroor- ganizim	170
Einer aus der Lunge der Lämmer isolierte mikroorganismus von der pleuropneumonie gruppe	176
4 — Necmettin AKYAY ve Sadık GÖREN :	
Tifo geçirmiş, aşıtlı ve normal şahıslarda hemagglutination yoluyla antikor araştırmaları	179
Hemagglutinin titres of the sera of normal and vaccinated (with T.A.B.) persons and typhoid convalescents	182
5 — Dr. Aral GÜRSEL :	
Streptomycino rezistansın mycobacterium tuberculosis tipleri ile ilgisi . .	184
Le degré de relation de la streptomycino resistance avec les types des mycobacteries	187
6 — Sadık GÖREN — Mustafa DEMİRGİLLER :	
Aıt ve merkep serumları ile kros anafilâksi deneyi	188
Cross anaphylactic reaction in guinea-pigs sensitized with horse and dorkkey sera	189

TÜRKİYE'DE ÇOCUK ÖLÜMÜ

(Birinci Tebliğ)

Dr. Niyazi ERZİN

Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü Müdürü
ve
Türkiye B.C.G. Kampanyası Başkanı

Türkiye'nin çocuk ölümü hakkında bugüne kadar elimizde hiç bir bilgi ve istatistik mevcut değildir. Memleketimizde tesis edilmesi düşünülen "Ana ve çocuk sağlığını koruma) davası programının her şeyden evvel çocuk ölümü hakkında müsbet bir bilgiye dayanması lazımdır ve böyle bir programın istikametini ancak böyle bir istatistik bilgisi tayin edebilir.

Bu maksatla, Türkiye B.C.G. Kampanyası ekiplerinden istifade ederek memleketin umumî çocuk vefiyatı hakkında bir anket tanzim edilmiş ve böylece şimdiye kadar 13 Vilâyette (Türkiye'de 66 vilâyet vardır) 61.250 aileye bu anketimizin sualleri tevcih edilerek, doğru malûmat veren her ailenin canlı doğan çocuklarıyla, bunlardan (0 - 1, (1 - 4) ve (5 - 12) yaşlar arasında vukua gelen ölüm sayıları tesbit edilmiştir.

Anket tevcih edilen aile reisleri, köy ve şenirlerde her hangi bir tercihe tâbi tutulmamış, bilâkis gelişi güzel alınmıştır.

Bu 13 Vilâyetten toplanan anket cetvellerinin bu ilk tasnifleri neticesinde aşağıdaki muvakkat istatistik malûmatı çıkarılmıştır :

Cetvel — 1

Türkiye'de her aileye düşen ortalama canlı çocuk doğumu

Tetkik edilen aile sayısı	Canlı doğan çocukların sayısı	Bir aileye düşen ortalama canlı çocuk sayısı
61.250	346.263	5.6

Bu neticeye göre Türkiye halkı çocuk doğurma bakımından bir çok Milletlerden daha yüksek bir sayı göstermektedir. (Her aileye düşen canlı doğan çocuk sayılarının muhtelif nisbetleri bundan sonraki tebliğlerde gösterilecektir.)

Cetvel — 2

Çocukluk çağında (0-12 yaşlar arasında) görülen umumî ölüm

Canlı doğan çocuk sayısı	0-12 arasında vukua gelen umumî çocuk ölümü	1.000 de nisbeti
346.263	120.872	349.0

Bu neticenin kısaca ifade ettiği mana şudur : Türkiye'de canlı doğan çocukların 1/3 den fazlası çocukluk çağında (0 - 12 yaşlarda) ölmektedir.

Cetvel — 3

İlk yaş ölümü (61250 ailede)

Canlı doğan çocuk sayısı	Bunlardan 0-1 yaşında ölenlerin sayısı	1.000 de nisbeti
346.263	71.291	205.8

Bu da bize gösteriyorki, memleketimizde canlı doğan çocukların 1/4 den fazlası süt çocuğu devresinde ölmektedirki, bu nisbet Dünya Milletleri arasında en yüksek süt çocuğu ölümleri gösterenler arasında yer almaktadır.

Cetvel — 4

Çocukluk çağının diğer iki yaş gruplarında vukua gelen ölüm nisbetleri

Canlı doğan çocuk sayısı	2-4 yaşındaki ölüm		5-12 yaşındaki ölüm	
	sayısı	1.000 de nisbeti	sayısı	1.000 de nisbeti
346.263	34.907	100.8	14.674	42.3

Yukardaki iki cetvelde gösterilen, yaş grupları üzerine isabet eden ölüm nisbetlerini başka cepheden tetkik ettiğimizde, Türkiye'de (0 - 12) yaşlarda vukua gelen çocuk ve fiyatının :

1.000 de 598 inin ilk yaşta

1.000 de 288 inin 2 - 4 yaşlarda ve

1.000 de 123 ünün 5 - 12 yaşlar arasında vukua geldiği müşahade edilmektedir.

Not : Bundan sonraki tebliğlerimizde, daha büyük rakamlara dayanmak üzere, bütün Türkiye'ye ve Memleketin Bölge ve Vilâyetlerine, Köy ve Şehirlerine ait bilgi vermiye çalışacağız.

Teşekkür : Bu anketi toplamakta birinci derecede mesai gösteren Türkiye B.C.G. Kampanyası mensuplarına ve bütün Anketleri büyük bir dikkatle ve tek başına tasnif eden İstatistik Memurlarımızdan Duygu Aksoy'a, memleket sağlığı için gördükleri bu büyük hizmetten dolayı teşekkür ederim.

INFANT MORTALITY IN TURKEY

(First Bulletin)

Dr. Niyazi ERZİN

Director of the Refik Saydam Institute of Hygiene and Chief of
the B.C.G. Campaign in Turkey

No statistical data and information on the infant mortality in Turkey have been collected up to the present. Therefore, it is imperative that the programme on the Protection of Maternal and Child Health which is envisaged to be set up in Turkey, should depend on a positive information and that only such statistical information could determine the course of such a programme.

For this purpose, a Survey on the general infant mortality in the country has been carried out parallel with the work of the B.C.G. Campaign in Turkey, in 13 provinces (there are 66 provinces in Turkey). 61.250 families have been interviewed and the number of live births and mortality rates between the ages of (0-1), (2-4) and (5-12) among the families who have given precise information, have been found out.

Families who have been interviewed have been picked out at random without making any preference whether they are from villages or cities.

The following are the temporary results of the statistical information after preliminary tabulation of the Survey carried out in 13 Provinces :

Table — 1

The Approximate Rate of Live Births per Family in Turkey

Number of Families interviewed	The number of Live Births	Approximate Rate of Live Births per Family
61.250	346.263	5.6

According to the given result, the number of deliveries occurring in Turkey is very high in comparison with the many other countries. (The different rates of live births per family will be given in the further bulletins.)

Table — 2
General Infant Mortality among 0 - 12 years of age

Live Births	General Infant Mortality occurring 0-12 years of age	Rate per 1.000
346.263	120.872	349.0

The resumé of the above given figures is as follows : More than one third of the live births in Turkey die between the ages of 0 - 12.

Table — 3
Infant Mortality during the first year of life (among 61.250 families)

Number of Live Births	Mortality between the ages of 0-1	Rate per 1.000
346.263	71.291	205.8

The above given table proves that, more than one fourth of the live births in the country are dying in the first year of their lives and this rate represents one of the highest Infant Mortality Rates among the other Nations of the world.

Table — 4
Mortality Rates occurring in the Following Two Age Groups

Number of Live Births	Mortality between 2 - 4 years of age		Mortality between 5 - 12 years of age	
	Number	Rate per 1.000	Number	Rate per 1.000
346.263	34.907	100.8	14.674	42.3

If the above two tables are to be studied in a different light considering the mortality rates that occur in the different age groups, the following information would be obtained :

- 589 per 1.000 in the first year of life
- 288 per 1.000 between 2 - 4 years of age
- 123 per 1.000 between 5 - 12 years of age.

N. B. : In the coming bulletins, we would try to give more extensive information depending on larger figures by covering the whole of Turkey and Provinces and Villages in every district of the Country.

Thanking: I must thank first of all to the B.C.G. Campaign Personnel for carrying out the interviews and to Miss Duygu Aksoy, one of our Statisticians, who has alone tabulated all the results of the interviews with utmost care, and for the great service they have done for the welfare of their country.

TIFO AŞILARININ AKTİVİTESİNİ TAYİNDE KULLANILAN METODLAR VE BUNA DAYANILARAK AŞILARIN DEĞERLENDİRİLMESİ ÜZERİNDE KRİTİKLİ BİR ETÜD

Befik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü
İmmünoloji Subesi Şefi Aşı Şubesi Şefi

S. GÖREN

N. AKYAY

Tifo aşısı, yarım asırlık bir geçmişi olmasına ve zamanımıza kadar üzerinde yapılmış bol araştırmalara rağmen bu hastalıkta eskiden tanınmış ve halen de büyük öneme malik olan ijiyen mezürlere üstünlük gösterememiştir.

Filhakika bu hastalığın şahsa ve çevreye ait gerektirdiği temizlik üzerindeki bilgilerin taammüm ve tatbikindeki ilerleyişler, yıllar geçtikçe bundan olma ölümleri azaltmış ve bu işin istatistiklere vurulmasının başladığı 1851 yılından bu yana, bu domende ijiyenistlere düşen şeref hisselerinin büyüklüğü daha iyi takdir edilmiştir.

Evvelce tifo geçirmiş bir şahsın bu hastalığa bir daha yakalanışındaki nedret tıpta iyi tesbit edilmiş bilgilerden biri bulunduğundan, tifonun bir aşı vastasıyla önlenebilmesinin mümkün olup olmayacağı 19 yüzyılın sonlarına doğru denemeğe başlanmıştır.

Literatür tetkik edildiğinde, tifo aşısının bir çok araştırmacılar elinde sanki bir lüleci hamuru gibi türlü ve çeşitli şekillere sokulduğu görülür. Besredka "Aşı anbarları tifonunki kadar bol olan hiç bir hastalık yoktur" demiştir. Çiçeğe ve kuduza karşı bütün dünyada bir veya iki çeşit aşı kullanılır. Fakat tifo için, her zaman olageldiği gibi bugün de çok çeşitli aşilar vardır. Her yazar kendi aşısını methetmiştir. Fakat bunun böyle olup olmadığını aşıkâr kılacak esaslı bir kriteriyum iycat edilememiştir.

Tifo aşısının geçirdiği ve geçirmekte olduğu merhalelerin hepsinin burada derci hem imkânsız ve hemde lüzumsuzdur. Okuyucuya özetini takdim etmekle yetineceğiz.

İlk denemeler laboratuvar hayvanları üzerinde yapılmıştır. Küçük dozlarda canlı (Fraenkel ve Simmonds), 120° veya 60° derecelerde ısıtılmakla öldürülmüş kültürlerle (Kliockvicz, Beuner, Peiper, Chantemese, Widal, Sanarelli ve Bruchettini) veya tınıslu buyyon kültürünün filtraları ile (Brieger, Wassermann ve Kitasato) araştırma yapılmıştır (1). Bunların sonuçları bazan iyi, bazan fena çıkması yüzünden aşının pratiğe iysali mümkün olamamıştır. Yüksek derecelerde ısıtmak, süzmek, mekanik usulle, yahut otoliz yoluyla bakterileri parçalamak, şimik maddelerin tıjirinden faydalanmak, desikasyon ve maserasyon gibi türlü ve komplike usuller tecrübe edilmiştir. Hararet yerine kloroform, eter, aseton veya alkolle öldürmek, sansibilize canlı basillerle aşilamak, anatoksin prensibine dayanılarak ando-anatoksinine kadar giden ve belkide daha bilmediğimiz me

todlarla. gerek aşı reaksiyonunu azaltmak. gerekse daha kuvvetli ve emin bir muafiyet teminine matuf araştırmalara müvazi olarak damar içi ve ağız yolu ile de vaksirasyon denemek suretiyle uzun yıllar harcanmıştır (2 - 12).

Tifoda vaksinasyon, bilhassa bulaşma tehlikesine maruz şahıs veya insan guruplarının muayyen bir zaman reseptivitesiri azaltmağa yarar. Aşının pratikte sağladığı bu faydada şeref hisseleri bulunanlar arasında bilhassa A. E. Wright ile Pfeiffer ve Kolle'yi zikretmek bir borçtur. Wright, İngiliz veba komisyonunun bir azası olarak Hindistan'da bulunduğu sıralarda Haffkine'in kolera ve veba profilaksisinde aşı ile elde ettiği neticeleri görmüş ve bundan ilham alarak tecrübeye başlamıştır. O sıralarda Pfeiffer ile Kolle, tifo basili zerdedilmiş hayvanların kanında, tıpkı tifo nakahetindeki insan kanında bulunan ve muafiyetin derecesini ölçmeğe yarayan yeni hassalar üzerinde çalışmakta idiler (13). Hayvanlardaki bu buluş, acaba insanlar için de ayrılmıdır? istifhamını, gene bu âlimler iki insana yaptıkları tehlikelerle açıklamışlardır (14). Pfeiffer'le konuşmasında, ısıtılmış kültür zerdedilen insanın kanında ağıltüne edici hassanın meydana geldiğini öğrenir. Wright bundan cesaret alarak aynı yıl içinde bir insana yaptığı telkîhe ait benzer buluşlarını neşretmiştir (15). Bir yandan Haffkine'in ilhamı, diğer yandan Pfeiffer'le konuşmanın verdiği cesaretle Wright, Hindistan'daki İngiliz ordusunda aşığı tatbik başlanmıştır. Sonra Mısır, Kıbrıs ve Güney Afrika'daki İngiliz orduları aşılanmıştır (16). İlk kullandığı aşı, 60° derecede ısıtılmakla öldürülmüş 10 - 12 günlük peptonlu buyyon kültürüdür. Konservatris olarak lizol veya fenol ilâve edilmiştir. Sonraları bu eskimiş buyyon kültürü usulünü değiştirmiş. 24 saatlik gerç buyyon kültürünü 60° derecede 24 saat ısıtarak santiküpünde 1 - 1,5 milyar jermli aşısını hazırlanmıştır. Gerek muarızlarını, gerekse İngiliz Kamarasının istizahları üzerine millî müdafaa nazırı, tıbbî istişare komisyonunun mütalâasına dayanarak, bu aşının tatbikini 18 ay alkoymuştur (17). Londra hekimler koleji ve özel bir komisyon bu yasağı tasdik etmemiş ve 1904 yılının sonlarında İngiliz ordusunda vaksinasyona yeniden başlanmış ve çok iyi sonuçlar alınmıştır (18). Bu sıralarda muharip Alman ordularında tifonun sebep olduğu zararlar dolayısıyla Alman Hükümeti, orduda vaksinasyon kararını almış ve bu maksatla Koch, Gaffky, Kirchner, Dönitz ve Kolle'den müteşekkil bir komisyon kurarak, Kolle'nin başkanlığında 4 binden fazla er aşılanmıştır. Almanya'da Pfeiffer ve Kolle 24 saatlik agar kültürünün serum fisiyolojikdeki süspansiyonunu 60° derecede 1,5 - 2 saat ısıtmak ve içine fenol ilâvesi suretiyle bu aşığı hazırlamışlardır. Amerika'da Russel tarafından müşahade edilen iyi sonuçlar üzerine tifo aşısının tesirli olduğu kabul edilmiş ve böylelikle bu aşı 1905 yılından itibaren taammüm etmeğe başlamıştır.

Birinci cihan harbinin başlangıcında muharip ordular arasında tifodan ölümlerin artması üzerine derhal sistematik tatbikine geçilmiş ve bu sayede (1914-1915) morbidenin sevindirici şekilde azaldığı müşahade edilmiştir. 1915 yılının Nisan ve Temmuz ayları arasında paratifo vak'alarının çoğaldığı nazarı dikkati çekmiştir. Tifoya karşı yapılan aşı, insandarı paratifo enfeksiyonlarından korumamışdı. Bu müşahade TAB aşısının (Widal ve Salimbeni hararetle), (Vincent eterle) hazırlanmasına vesile olmuştu (19). Böylelikle ordular için mutad ve maruf bulunan bu hastalılardaki morbidite asgarî hadde indirilmiştir.

Zamanla salmonella'ların tasnifinin mümkün olması, ve her memleketin salmonella tiplerinin tesbiti üzerine aşya C tipinin de ithali temin edilmiştir (20). Antijen analizleri ortaya kondu. Bu antijenlerin şimik terkipleri üzerine aşı ihzarı metodlarında ilerlemeler kaydedildi. Bunlardan H ve O daha sonra Vi antijenlerini tanıdık. Bu sonucusu 1934 de Felix ve Pitt'in çalışmaları ile meydana çıkarılmıştır. Bilhassa Vi antijeninin tanınmasından sonradırki aşı ihzar tekniğinde değişiklikler yapma zarureti hasıl olmuştur. Bugün bir tifo aşısının O ve Vi vaksinan antijenlere malik bulunması şart koşulmaktadır. O nun antijen yapısı bir polisakkarit kompleksi ile fosfo-lipitten ibarettir. Formol'e dayanıklı ve termostabildir. Bilindiği üzere polisakkaritler yalnız başlarına birer haptendirler. Organizmada hücre proteinleriyle birleştikleri zaman antijen vasfını kazanırlar. Vi'ye gelince bu antijen 20° derecinin altında ve 40° derecinin üstünde teşekkül etmez. Adi vasatlarda mütevali pasajlar neticesi kaybolur. Durdurulmuş yumurta vasatında idamesi kabildir. Vi antijeni bakteri yanında tavazzu ettiğinden anti O serumla aglütinasyon vermez. Vi'nin terkiibi bir gliko-lipoiddir. Vi antikollarının fagositozu kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Buna nazaran Vi antijeninden mahrum bir tifo aşısı ile vaksine organizmaya girecek Vi'li sal. tifiler fagosite edilemeyecektir. Dolayısıyla bu kabil aşılarda korunmada bir değer taşımamaları iktiza eder. Kauffmann, Vi antijeninin termolabil olduğunu bildirmişse de, bunun hararet müvacehesinde tamamen harap olmadığını tecrübeler göstermiştir. Spaun, yaptığı araştırmalarda bazı suşların Vi antijeninin bir saat kayratılmakla tamamen harap olmadığını bildirmiştir (20). Vi'li sal. tifilerin 1947 ye kadar 27 ve zamanımıza kadarda daha 9 olmak üzere cem'an 36 faj tipi tarif edilmiştir. İlk defa Craigie ve yen tarafından meydana konulan bu yenilikle sal. tifinin şimdilik 36 çeşidi var demektir (21). Bir sal. tifi suşu ya V veya W, yahutta W V şeklinde olabilir. W şeklinde Vi yoktur. Anti Vi serumla aglütine olmaz. Sadece O antijenine sahiptir. Anti O serumla aglütine olur. W V şeklinde az miktarda da olsa Vi vardır. Bunlar anti Vi ve anti O serumlarla aglütine olur.

Tifo immünizasyonunda Vi'nin büyük rol oynadığı kanaatinin hüküm sürdüğü son yıllarda çalışma ve araştırmalar hep bu nokta üzerinde teksif edilmiştir. Hararet ve fenol veya formol Vi'yi kısmen de olsa harap edeceği düşüncesiyle Felix tifo aşısı ihzarında alkolü tavsiye etmiş ve alkolle öldürülmüş tifo aşılarda lehinde bir hareketin başladığı müşahade edilmiştir. Bizim gibi daha bir çok Enstitüler, tifo aşılarda 56° derecede ısıtmak ve prezervatif gibi fenol ilâvesi suretiyle hazırlamaktadırlar. Pasteur Enstitüsü de böyle çalışır, fakat antiseptik koymaz. Bazı laboratuvarlarda ise, bakteri hararet yerine formol'e öldürülmekte ve fenol de katılmaktadır. Bazıları aseton'la öldürerek kuru bir aşı hazırlamaktadır. (22). Bunlardan başka bir enjeksiyonla muafiyet temin etmek gayesiyle krom şapı veya kalsiyüm klorür gibi adjuvanlı aşılarda denemektedir.

Şu kısa maruzatımız tifo aşısı ihzarında hareket noktalarının neler olabileceğini aydınlatmada, şüphesiz eskiye bakarak daha kıymetlidir.

Mevcut tifo aşılarda bugünkü laboratuvar kontrol usulleriyle bir intihap yapmanın ne derece mümkün olabileceğini zaman gösterecektir. Bol dokümantasyona,

dolayısıyla bir çok araştırmalara lüzum gösteren bu konu yurdumuzu da ilgilendiren büyük bir öneme sahiptir. Bu sebepledirki, Enstitümüzde hazırlanan tifo aşısı ve bunun imâlinde kullanılan suşlarla, yabancı menşeli tifo aşıları ve bilhassa doğru veya yanlış zamanımızın favoriti gibi gözükten alkollü tifo aşısı ve bunun ihzârında kullanılan Ty2 suşu üzerinde kritikli bir etüd yaptık.

Materiyel ve Metod

Sal. Typhi suşları :

1 — Enstitümüzde tifo aşısı imâlinde kullanılan Sal. tifi suşları üç adet olup 1 ve 2 numaralıları yerli, 3 numaralı ise yabancı menşelidir (Panama 58). Liss şekildedirler. Yurdumuzda şimdiye kadar tesbit edilebilmiş faj tiplerine tekabül ederler. Her imâlden evvel spesifik serumlarla yapılan aglütinasyon testleriyle O ve Vi antijenlerine malik buldukları kontrol edilmektedir.

2 — İngiliz ve Amerikan aşılarının imâlinde kullandıkları Ty2 suşu. Bunun hakkında Felix'in çalışması da bilgi mevcuttur (23).

3 — Ty6S suşu.

4 — Vi 1 suşu (Milletlerarası salmonella merkezinde 61 numaralı).

Son üç suş Kopenhag Devlet Serum Enstitüsünden temin edilmiştir. Vi karakterlerini muhafaza için bu suşlar katılaştırılmış yunurta vasatında ve oda derecesinde saklanmaktadır.

Üzerinde tecrübe yapılan aşılar :

1 — Enstitümüzde imâl edilen T aşısı : 56° derece hararete öldürülmek suretiyle hazırlanmıştır. % 0.5 fenolü havidir. Santiküpünde bir milyar jerm vardır.

2 — Gere Enstitümüzde imâl edilen TAB aşısı : Bu da 56° derece hararete ısıtmakla hazırlanmıştır. Keza % 0.5 fenolü havidir. Santiküpünde 500 milyon T + 250 milyon A + 250 milyon B jermelerini ihtiva eder.

3 — Alkollü tifo aşısı : Mikrobu öldürülmesinde hararet yerine alkol kullanılmıştır. Santiküpünde bir milyar jermi havi mayi aşıdır.

4 — Fenollü tifo aşısı : Hararetle öldürülmek suretiyle hazırlanmıştır % 0.5 fenollüdür. Santiküpünde bir milyar jerm vardır.

Bu son iki aşı (3 ve 4 numara) Kopenhag Devlet Serum Enstitüsünden yoılanmıştır (Ty2 ile hazırlanmışlardır).

Tecrübelerde kullandığımız test serumlar :

1 — Anti O serum : Enstitümüzde O 901 ile immünize edilmiş tavşanlardan tedarik edilmiştir.

2 — Anti Vi serum : Enstitümüzde Ballerup suşu ile immünize kılınmış tavşanlardan elde edilmiştir.

3 — Anti Vi serum : Kopenhag Devlet Serum Enstitüsünden yollanmıştır (Ty6S ile hazırlanmıştır).

Bu test serumların, kullandığımız salm. tifi suşlarının canlı veya stabil süspansiyonları ile verdikleri aglütinın titreleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir :

Tablo -- 1 (Table — 1)

Serumların nevi (Kind of sera)	(Agglutination titre with) Aglütinın titri					
	Vi 1	Ty2	Ty6S	Ty6S	O901	H901
	Taze süspansiyon (Fresh culture)			Stabilize (Stabilized)	Stab.	Stab.
Anti-Vi (Ballerup)	160	40	320	> 1280	0	0
Ati-Vi (Kopenhag)	40	160		1280	0	0
Anti-O (0901)	0	0		0	1600	0

Aglütinasyon testi :

1 — O süspansiyonu : 20 saatlik agar kültürünün beher buvatına 20 cc. fenollü (% 0.5) serumı fisiyolojik katımı ile yapılan süspansiyonlar bir araya toplanmış ve miktarı ölçülmüştür. Bu miktar 0.54 ile çarpılarak hasılızarp kadar 95° derecelik alkol katılmıştır. 37° derecelik etüve 24 saat bırakılmıştır. Sallamadan dışarı çıkarılmış ve depoya dokunmadan süpernatarı çekilip alınmıştır. Depo atılmıştır. Süpernatandan yapılan sterilite kontrolleri temiz çıkınca % 30 alkol ve 0.5 fenollü serum fisiyolojikle santiküpünde 25 milyar jermlik ana süspansiyon hazırlanmıştır. +5° derecede saklanmış ve kullanılacağı zaman serum fisiyolojikle 1/10 sulandırılmıştır.

2 — H süspansiyonu : 20 saatlik jeloz kültürünün beher buvatına çalışma esnasında % 2 formol katılmış PH 8.4 serum fisiyolojikden 25 cc. koyarak süspansiyonlar bir arada toplandı. 48 saat +5° derecede tutuldu. Sterilite kontrollerinin temiz çıkması üzerine gene ayrı serum fisiyolojikle santiküpünde 25 milyar jermlik ana süspansiyon hazırlandı. +5° derecede saklandı ve kullanılacağı zaman serum fisiyolojikle 1/10 sulandırılmıştır.

Bu antijenler tifo müsbet ve menfi serumlarla kontrol edilmiştir. O ve H aglütinasyonlarının sonuçları 37° derecede iki ve oda derecesinde 20 saat bırakıldıktan sonra okunmuştur. Standard metoda uyularak çalışılmıştır (24).

a) Taze ve canlı süspansiyon. 18 saatlik agar kültürünün serum fisiyolojikle, santiküpünde 1 milyar jerm üzerinden hazırlanmıştır.

b) Stabil süspansiyon. K. Ando ve H. Shimijo tekrâğine göre hazırlanmıştır (25). Ty6S suşunun agardaki 20 saatlik kültürü, beher buvata 20 cc. serum fisiyolojikle süspansiyon yapılmıştır. Bir araya toplanan bu süspansiyon gene serum fisiyolojikle santiküpünde 70 milyar jermlik bir hale getirildi. Bir hacim için üç mîli 98 derecelik alkol katıldı. Bu ameliye H antijenini tahrip içindir. H dan mahrum suşla çalışırken buna lüzum yoktur. İyice çalkalandı. Oda derecesinde bir saat ve +5° derecede 24 saat tutuldu. 5000 devirde yarım saat santrifüj edildi. Üstteki mayı atıldı. Depodan gene serum fisiyolojikle santiküpünde 70 milyar jermli süspansiyon yapıldı. Bundan 5 cc. alındı. Üzerine % 20 kalsiyüm klorür solüsyonundan 12.5, Formol (ticari şekil) 2.5 ve 480 cc. serum fisiyolojik katıldı. Böylelikle % 0.5 formol, % 0.5 kalsiyüm klorürlü ve santiküpünde 700 milyon jermli kullanılmaya hazır bir antijen hazırlandı. +5° derecede saklanmıştır.

Vi aglütinasyonu sonuçları 37° derecede iki saat ve bir gece +5° derecede bekletilip 2500 devirde 10 dakika santrifüjden sonra okunmuştur.

Hemaglütinasyon testi : Eritrositleri sansibilize etmek için iki çeşit antijen kullandık.

a) Sürnajan : 22 saatlik agar kültürünün serum fisiyolojikle santiküpünde 1 milyar jermlik süspansiyonunu 56° derecede bir saat ısıttık. Sterilite kontrolünü müteakip bu süspansiyonu 5000 devirde yarım saat santrifüj ettik. Depoya dokunmadan üstteki berrak kısmı çekip aldık. +5° derecede sakladık.

b) Vi ekstraktı : İki çeşit ekstraktla çalıştık. Bunlardan biri Kopenhag Devlet Serum Enstitüsünden ampul içinde yollanmış liyofilize ekstraktı. Verilen talimat gereğince bir ampul muhtevisi 2 cc. tuzlusuz (% 0.9) ile sulandırılmıştır. Diğeri Vi 1 suşu ile Spaur tekniği üzerinden tarafımızdan hazırlanmıştır (26). Şöyleki : liyofilize Vi 1 suşu önce yatkın agar tüpüne ekildi. Etesini gün tek koloni düşürmek için buradan plâk agarlara ekildi. Buradaki 20 kadar tek koloni içinden rastgele üç tanesi ile lam aglütinasyon testinde anti Vi serumla müsbet, serum fisiyolojikle menfi netice alınması üzerine geri kalan koloniler kazınarak 4 cc. buyyon içinde süspansiyon yapıldı. Bu süspansiyondan 20 tane agar plâğma ekildi. Bu plâklar 13 Sant. kuturda ve 3 Sant. yükseklikde idiler. Bir litre yumuşak agar vasatı (% 1.5 agar ve PH 7.6) sekiz plâğa tevzi edilmiştir. Plâklar 37° derecede 18 saat tutuldu. Üremenin temizliğine kanaat getirildikten sonra, kültür haçetle kazanarak % 75 lik alkolde toplandı. Yarım saat 37° derecede bekletildi. 3000 devirde 45 dakika santrifüj yapıldı. Üstteki alkol atıldı. Depo bir petri'ye kondu. 37° derecede 4 saat bırakıldı. Kuruyan madde 150 cc. dist. suya atıldı. İyice ezildi. 16 saat için +5° dereceye kondu. Sonra 15.000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Sürnajan kısmı Vi ekstraktı olarak +5° derecede saklanmış ve kullanılırken 1/10 sulandırılmıştır.

Eritrositlerin süspansiyonu : Kopenhag menşeli ekstraktın yapılmış solüsyonun 1 cc. ne üç defa serum fiziolojikle yıkanmış O grubu insan eritrosit paketinden 0.1 cc. konmuş ve 37° derecede bir saat bırakılmıştır. Sonra 2500 devirde 15 dakika santrifüjle üstteki mayı atılmış, dipde kalan eritrositler üzerine 10 cc. serum fiziolojik ilavesiyle ve kuvvetle çalkatılarak tam süspansiyon hale gelince aynı şekilde santrifüj edilmiştir. Gere üstteki mayı atılmış ve depo üzerine 10 cc. serum fiziolojik konarak % 1 sanzite eritrosit süspansiyonu hazırlanmıştır (34).

Sürnajan veya tarafımızdan hazırlanmış Vi ekstraktı ile çalışırken bunların 10 cc. na gene üç defa yıkanmış koyun eritrositleri paketinden 0.2 cc. konmuş, 37° derecede, sıklık çalkalamak şartıyla iki saat bekletilmiştir. 2500 devirde 15 dakika santrifüjle üstteki mayı atılmış ve aynı miktar serum fiziolojik koyarak bu şekilde iki defa daha santrifüj işlemesi tekrarlanmıştır. Sonunda üstteki mayı atılmış, depo üzerine 20 cc. serum fiziolojik koymak suretiyle % 1 sanzite eritrosit süspansiyonu elde olunmuştur (33).

Genel olarak sanzite eritrosit süspansiyonları ile aynı gün veya +5° derecede en fazla iki gün saklamışları ile çalışılmıştır.

Ameliye : Gerek tecrübe serumları, gerekse şahit gibi kullanılan serumlar, serum fiziolojikle 1/2 sulandırılmış ve 56° derecede yarım saat inaktive edilmiştir. Sonra 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64... dilüsyonları yapılmıştır. Kahn reaksiyon tüplerine evvelâ 0.2 cc. serum dilüsyonlarından, sondrada sanzite eritrosit süspansiyonundan (Kopenhag menşeli ekstraktla sanzite edilmiş insan erit. süspansiyonundan 0.2 cc., sürnajan veya tarafımızdan hazırlanmış ekstraktla sanzite koyun erit. süspansiyonundan 0.1 cc.) konmuştur. Sallamağı müteakip reticeler 37° derecede, Kopenhag menşeli ekist. la olanda bir, diğerinde iki saat sonunda ve oda derecesinde ertesi sabaha kadar kaldıktan sonra okunmuştur. Bazı tavşan serumlarının sanzite edilmemiş koyun eritrositlerini 1/16 aglutine ettiklerini gördüğümüzden, her serum için ayrı koyunun sanzite edilmemiş % 1 süspansiyonundan aynı miktarlar kullanılmak üzere şahit seriler ikamesine lüzum hissettik.

Test kültür : Farelerin aktif immünizasyon veya passif koruma testlerinde kullandığımız test kültür, Ty2 nin agardaki 20 saatlik kültürünün serum fiziolojikle yapılmış bir süspansiyonu olup santiküpyörde 200 milyon canlı jermi havidir. Bundan 0.5 cc. (100 milyon jerm) periton içine zerkedilmiştir. Test kültür zerkinden sonra müşahade müddeti 72 saat devam etmiştir.

Süspansiyonların ayarlanması : Coleman Üniversal spektrofotometrisi ile yapılmıştır.

Tecrübe hayvanları : Tecrübelerimizde kullandığımız hayvanlardan,

a) Tavşanlar. Enstitümüzde yetiştirilmekte olan ehli ada tavşanlarıdır. 1.5-2 kilo ağırlığında idiler. Serumlarında antikor araştırması yapıldıktan sonra tecrübeye alınmışlardır. Cinsleri dişi idi.

b) Fareler, İsviçre ırkıdır. Enstitüde yetiştirilmektedir. 16-20 gramdılar. Elevaj sahm. enfeksiyonuna maruz kalmamıştır. Cinsiyet gözetilmemiştir.

Tecrübenin ceryan ettiği tarih : 1/11/1955 - 30/3/1956 tarihleri arasındır.

Enstitümüzde Tifo Aşısı İmâlinde kullanılan suşların mütalâası

Suşların aglütinabilite titreleri :

Tablo — 2 (Table — 2)

	Suş 1 (strain No. 1)	Suş 2 (strain No. 2)	Suş 3 (strain No. 3)	O süsp.	Vi süsp.
Anti O serum	3200	6400	3200	1600	0
Anti Vi == (Ballerup)	320	160	640	0	1280

1, 2 ve 3 numaralı suşların O süspansiyonları yukarıda bildirildiği veçhile hazırlanmıştır. Bunların Vi süspansiyonları ise 18 saatlik agar kültüründen serum fisiyolojikte santiküpürde 1 milyar jermi ihtiva eden taze ve canlı süspansiyondur. Kontrol mahiyetinde kullanılan stabil O (0901) ve stabil Vi (Ty6S) süspansiyonlarının ihzârı yukarıda bildirilmiştir.

Suşların; yıkanmış bakteri süspansiyon ve sürnajanları üzerinde araştırmalar :

1, 2 ve 3 numaralı suşların agardaki 22 saatlik kültürünün, her buvata 20 cc. serum fisiyolojik ilâvesiyle elde edilen süspansiyonları ayrı, ayrı toplanmış ve 56° derecede bir saat ısıtılmıştır. Sterilite kontrolünün temiz çıkması üzerine her birinden santiküpünde 1 milyar jermilik süspansiyonlar hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlar 5000 devirde yarım saat santrifüj edildikten sonra üstteki mayiler (sürnajan) alınmış, depo üzerine iptidaki hacmi kadar serum fisiyolojik koyarak, ilk sürnajanından tecrid edilmiş bir süspansiyon (yıkamış bakteri süspansiyon) elde edilmiştir.

In-vitro tecrübe : Bu üç suşun sürnajanları ile sanzite edilmiş koyun eritrositleriyle, Kopenhag menşeli anti Vi serum kullanılarak yapılan hemaglütinasyonda aşağıdaki sonuçlar alınmıştır :

Tablo — 3 (Table — 3)

	Suş 1 (strain No. 1)	Suş 2 (strain No. 2)	Suş 3 (strain No. 3)
Anti Vi serum (Kopenhag)	> 128	± 4	128

Hayvanlar üzerinde tecrübe :

1 — Tavşanların immünizasyonu : Her suşun yıkanmış bakteri süspansiyonu için 2 ve sürnajanı için 2 tavşan kullanılmış, zerkler birer hafta aralıkla ve damar içine yapılmıştır. Birincide 1, sonraları 2 ve 3 cc. zerkedilmiştir. Sonucundan 10 gün sonra serye yapılmıştır. Aşağıdaki tabloda verilen sonuçlar iki tavşana ait serumla alınmış titrelerin vasatisidir :

Tablo — 4 (Table — 4)

Suş No. (strain No.)	Zerkedilen antijen (Antigen used)	Tavşan serumlarındaki aglütininin titri (aglütinin titre of rabbit's serum)				
		0 901	H 901	Vi süsp.		H magglut.
				Taze kült. * (fresh cult.)	stabil süsp. (stabilized)	
1	Yıkanmış Bakt. Süs. (Washed Bact. Susp.)	1 600	700	20	25	256
	Sürnajan (Supernatant)	3 700	12 800	20	0	65
2	Yıkanmış Bakt. Süs. (Washed Bact. Susp.)	2 000	450	20	0	8
	Sürnajan (Supernatant)	2 200	2 800	0	30	5
3	Yıkanmış Bakt. Süs. (Washed Bact. Susp.)	4 200	300	10	40	5
	Sürnajan (Supernatant)	3 200	160	0	0	0

[*] Taze süspansiyon Vi ile hazırlanmıştır.

2 — Farelerin immünizasyonu : Her suşun yıkanmış bakteri süspansiyonu için 6 ve sürnajanı için 6 fare kullanılmıştır. Her grubun üçü derialtı, diğer üçü periton içi yolla zerke tâbi tutulmuştur. Zerkler birer hafta aralıkla, birincide 0.1, ikincide 0.2, üçüncüde 0.3 cc. olarak ve son zerkden 10 gün sonra serye yapılmıştır. Aşağıdaki tabloda görülen neticeler üç farenin serum harmanı ile alınmıştır :

Tablo — 5 (Table — 5)

Suş No. (sterain No.)	Zerkedilen antijen (Antigen used)	Fare serumlarındaki agütünin titri (agglinin titre of mouse sera)			
		0 901	H 901	Stabil Vi süsp. (stabil. Vi susp.)	Hemagglut.
1	Yıkanmış Bakt. Süsp. (s. c.) (Washed Bact. Susp. injected s. c.)	0	0	0	0
	Yıkanmış Bakt. Süsp. (i. p.) (Washed Bact. Susp. injected i. p.)	0	0	10	32
	Sürnajan (s. c.) (Supernatant injected s. c.)	0	0	0	0
	Sürnajan (i. p.) (Supernatant injected i. p.)	200	100	0	128
2	Yıkanmış Bakt. Süsp. (s. c.) (Washed Bact. Susp. Inj. s. c.)	0	0	0	0
	Yıkanmış Bakt. Süsp. (i. p.) (Washed Bact. Susp. Inj. i. p.)	0	400	0	0
	Sürnajan (s. c.) (Supernatant injected s. c.)	0	0	0	0
	Sürnajan (i. p.) (Supernatant injected i. p.)	0	0	20	0
3	Yıkanmış Bakt. Süsp. (s. c.) (Washed Bact. Susp. injected s. c.)	0	0	0	0
	Yıkanmış Bakt. Süsp. (i. p.) (Washed Bact. Susp. Inj. i. p.)	0	200	0	0
	Sürnajan (s. c.) (Supernatant injected s. c.)	0	0	0	0
	Sürnajan (i. p.) (Supernatant injected i. p.)	0	0	0	0

1) — Farelerde passif koruma : Bu tecrübe her suşun yıkanmış bakteri süspansiyonu ve sürnajanı ile immünize iki tavşanın serum harmanı ile yapılmıştır. Serum dilüsyonları 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256 yapılmış ve bunlardan beşer fareye derialtı yolla 0.5 cc. zerkedilmiştir. Serum zerkinden 48 saat sonra test kültürle denenmişlerdir. Bu tecrübeye 10 şahit ikame edilmiş, bunun beşi ölmüştür.

Table — 6 (Table — 6)

Suş No. (Strain No.)	Ait olduğu Tavşan serumu harmanı (Pooled rabbit serum)	Zerkedilen serum dilüsyonu (Serum dilutions injected)							Toplam (Total)
		1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
		Sağ fare sayısı/denenen fare sayısı (No. of mice survived/No. of mice test ed)							
1	Yıkanmış Bakt. Süsp. zerkedilmiş (Washed Bact. Susp. Inj.)	5/5	2/5	1/5	0/5	3/5	1/5	3/5	15/35
	Sürnajan zerkedilmiş (Supernatant injected)	5/5	2/5	3/5	2/5	0/5	1/5	0/5	13/35
2	Yıkanmış Bakt. Süsp. zerkedilmiş (Washed Bact. Susp. Inj.)	5/5	4/5	2/5	2/5	3/5	2/5	1/5	19/35
	Sürnajan zerkedilmiş (Supernatant injected)	5/5	2/5	4/5	0/5	2/5	1/5	1/5	15/35
3	Yıkanmış Bakt. Süsp. zerkedilmiş (Washed Bact. Susp. Inj.)	4/5	4/5	2/5	5/5	3/5	2/5	1/5	21/35
	Sürnajan zerkedilmiş (Supernatant injected)	5/5	3/5	2/5	1/5	0/5	2/5	2/5	15/35

4 — Farelerin aktif immünizasyonu : Üç suşa ait yıkanmış bakteri süspansiyon ve sürnajanından müsavi miktar karıştırılarak hazırlanan süspansiyon ve sürnajan harmanları serum fisiyolojikle 1.5, 1.50 ve 1.500 nisbelerinde sulandırılmış ve her dilüsyondan 20 fareye periton içi yolla 0.5 cc. zerkedilmiştir. 14 gün sonra test kültürle denenmişlerdir. 10 şahit fareden 6'sı ölmüştür. Alınan sonuçlar 7 numaralı tabloda gösterilmiştir.

Tablo — 7 (Table — 7)

Zerkedilen antijen nevi (Kind of antigen injected)	Antijen dilüsyonları (Antigen dilutions)			Toplam (Total)
	1/5	1/50	1/500	
	Sağ fare sayısı/denenen fare sayısı (No. of mice survived/No. of mice tested)			
Yıkanmış Bakt. Süsp (Washed Bact. Susp.)	19/20	16/20	15/20	50/60
Sürnajan (Supernatant)	18/20	11/20	13/20	42/60

Neticelerin münakaşası :

Enstitümüzde tifo aşısı ihzarında kullanılan 1, 2 ve 3 numaralı suşların O ve Vi vaksinan antijenlerine malik buldukları ve bunların W V şekli salm. tifiler olduğu bir daha teyyüt etmiştir. Yıkanmış bakt. süspansiyonu veya sürnajan zerkedilmiş deney

hayvanlarının serumlarında O ve Vi aglütinilerinin teşekkülü, suşdan suşa ve kullanılan artijenden antijene değişik tezahür etmiş fakat antijenden antijene olan teşekkülde tavşanla fare mutabık çıkmamıştır. Tavşan serumlarıyla farelerde yapılan passif koruma testindeki sonuçlara bakılırsa bir serumun Vi aglütinilerinden zenginliği ile onun protektör kudreti arasında bir münasebetin bulunmadığı çıkarılır. Farelerde gerek koruyucu antikor, gerekse aktif immünizasyon tecrübeleri topyekün mütalâa edilirse yıkanmış bakteri süspansiyonu ile immünizasyon, sürnajanla yapılandan üstündür. Fareler, derialtı yolla, derenen miktarlarda ve yıkanmış bakt. süsp. ve nede sürnajan zerklerine cevap vermemiştir.

Tifo aşısının imalinde kullanılan üç suşlu ve Ty2 suşu ile hazırlanmış iki süspansiyon üzerinde araştırma

Enstitümüzde tifo aşısı imalinde kullanılan üç suşla ve ayrıca Ty2 suşu ile (tifo aşısını takliden, santiküpünde bir milyar jermlik) hazırladığımız iki süspansiyon üzerinde tecrübeler yaptık.

Vaşington'da Askeri Tıp Okulu ve İngiltere'de Felix, tifo aşısını Ty2 suşu ile hazırlamaktadır. Askeri Tıp Okulunda aseton, Felix ise alkolle mikrobu öldürürler.

Bu Amerikan ve İngiliz aşlarının, ısıtılmak suretiyle hazırlanmış tifo aşısı müvacehesinde (Pasteur enstitüsü aşısıdır) mukayesesi evvelce Mme J. Grabar ve Mme S. Le Minor tarafından yapılmıştır (27).

Pasteur enstitüsünün aşısında Ty2 suşu yoktur. Biz burada ısıtmak suretiyle öldürülmüş Ty2 süspansiyonunu, kendi üç suşumuzla hazırladığımız süspansiyon müvacehesinde mukayese ettik. Tecrübe iki safhada yapıldı :

1 — Henüz canlı süspansiyonun yıkanmış bakteri ve sürnajanı üzerinde.

2 — 56° derecede bir saat ısıtılmakla öldürülmüş total süspansiyon (aşı benzeri) üzerinde.

Böylelikle kendi üç suşumuz ve Ty2 suşuna ait süspansiyonlarda henüz canlı iken sürnajan ve bakteri hücresinde bulunan antijenleri etüd etmek, ve ısıtmak ameliyesinin bundaki rolünü, anlamak, aynı zamanda ısıtmak suretiyle öldürülerek Ty2 suşu ile hazırlanmış bir süspansiyonda, mikrobu öldürülmesinde kullanılan vasitanın tesirini ölçmek istedik.

Aynı seriden olan agar buvatları (PH 7.6) üzerindeki 22 saatlik kültürler, beher buvata 20 şer cc. serum fisiyolojik ilâvesiyle süspansiyon yapıldı. Her birininiki ayrı kaplara toplandı. Kendi üç suşumuza ait olanlardan müsavi miktarda karıştırılarak bir harman vücade getirildi.

Gerek kendimizin, gerekse Ty2 nin süspansiyonları serum fisiyolojikle bir milyar jerm üzerinden ayarlandı. Ve bu nihaî süspansiyonlar iki kısma bölündü. Birincileri.

henüz canlı iken 5000 devirde yarım saat santrifüj edilerek sürnajları alındı ve depoları üzerine iptidaki hacim kadar serum fisiyolojik koyarak süspansiyon yapıldı. Gerek sürnaj, gerekse yıkanmış bakt. süspansiyonları 56° derecede bir saat ısıtıldı. İkinci kısımları olduğu gibi (totali) 56° derecede bir saat ısıtıldı. Sterilite kontrollarının temiz çıkmasıyla tecrübelerle geçildi.

Tavşanların immünizasyonu : Felix tekniğine göre yapıldı :

1 — Yıkanmış bakt. süspansiyonu, sürnaj ve total süspansiyonların her biri için ikişer tavşan kullanılmıştır.

2 — Zerkler birer hafta aralıkla ve damarıçüve yapılmıştır.

3 — Birinci zerkde yukarıda adı geçen antijenler serum fisiyolojikle yarıyarıya sulandırılıp bundan 2 cc. ikinci zerkde sulandırma yapmadan doğrudan 4 cc. verilmiştir.

4 — Seneye. ikinci zerkden. 10 gün sonra yapılmıştır.

Aşağıdaki tabloda görülen sonuçlar iki tavşanda alınmış titremin vasatisidir.

Tablo — 8 (Table — 8)

Zerkedilen antijen nevi (Kind of antigen injected)	Tavşan serumundaki aglütinin tiri (agglutinin titre of rabbit's serum)			
	O 901	H 901	Stabil Vi (stabilized)	hemagglut
Üç suşumuzla hazırlanmış yıkanmış bakt. süsp. (Washed bact. susp. prepared with our three strains)	1200	1600	100	8
Üç suşumuzla hazırlanmış sürnaj (Supernatant prepared with our three strains)	3200	800	360	0
Üç suşumuzla hazırlanmış total süsp. (Total susp. prepared with our three strains)	3200	3200	400	45
Ty2 suşu ile hazırlanmış yıkanmış bakt. süsp. (Washed bact. susp. prepared with strain Ty2)	1200	1600	90	3
Ty2 suşu ile hazırlanmış sürnaj (Supernatant prepared with strain Ty2)	1600	800	340	4
Ty2 suşu ile hazırlanmış total süspansiyon (Total susp. prepared with strain Ty2)	6400	2400	340	16

Farelerin pasif korunması : Aynı tavşanların serumlarının müsavi miktar karışımı ile elde edilen harmanlardan serum fisiyolojikle 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 dilüs-

yonlar hazırlandı. Bunlardan derialtı yolu ile 0.5 cc. zerkedildi. Bundan 48 saat sonra test kültürle denendiler. Her dilüsyon için 5 fare kullanılmıştır. Tecrübeye tefrik edilen 10 şahitten beşi ölmüştür.

Tablo -- 9 (Table -- 9)

Ait olduğu tavşan serumu harmanı (Pooled rabbit sera from)	Zerkedilen serum dilüsyonu (serum dilutions injected)					Toplamı (Total)
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	
	sağ fare sayısı/denenen fare sayısı (No. of mice surv./No. of mice test.)					
Üç suşumuzla hazırlanmış yıkanmış bakt. süsp. (Washed bact. susp. prepared with our three strains)	4/5	3/5	3/5	3/5	4/5	17/25
Üç suşumuzla hazırlanmış sürnajan (Supernatant prepared with our three strains)	5/5	5/5	4/5	1/5	2/5	17/25
Üç suşumuzla hazırlanmış total süsp. (Total susp. prepared with our three strains)	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5	23/25
Ty2 suşu ile hazırlanmış yıkanmış süsp. (Washed bact. susp. prepared with our three strains)	5/5	5/5	3/5	1/5	2/5	16/25
Ty2 suşu ile hazırlanmış sürnajan (Supernatant prepared with strain Ty2)	2/5	2/5	4/5	3/5	4/5	15/25
Ty2 suşu ile hazırlanmış total süsp. (Total susp. prepared with strains Ty2)	4/5	5/5	3/5	2/5	3/5	17/25

Buna nazaran kendi suşlarımızın total süspansiyonu alanların serumu 1/32, Ty2 nin total süspansiyonunu almış tavşanların serumları ise 1/10 korunmuştur.

Neticelerin münakaşası :

Gerek kendi suşlarımızın, gerekse Ty2 suşunun serum fisiyolojikle yapılan süspansiyonlarının sürnajanlarında, henüz canlı iken de O ve Vi antijenleri mevcuttur. Isıtma ameliyesiyle bunların sürnajına geçtikleri düşünülemez. Yıkanmış bakteri süspansiyonlarının O ve Vi yönünden daha az yüklü buldukları müşahade edilmiştir. Total süspansiyonların zerkinde genel olarak H ve O titrelerindeki yükselme muhtemelen sürnajan ve bakteri kombinasyonundan ileri gelmiştir. Vi titrinde fark kaydedilmemiştir. Isıtma tekniği ile hazırlanmış aşılarda sürnajanlarının da değerli buldukları meydan-

dadır. İmmün tavşan serumlarının fareleri koruyucu kudretinde Ty2 ile immünize edilmişler lehine bir netice alınmamıştır. Bu suş ile ısıtma ile öldürülerek hazırlanmış bir aşı, aynı usul ve şartlarla kendi üç suşumuzla hazırlanmış aşıdan bu şekil kontrolla üstün çıkmamıştır.

Aşılar üzerinde mukayeseli etüd

Bu çalışma aşağıdaki aşı nümuneleri üzerinde yapılmıştır :

- 1) Enstitümüzün sade tifo aşısı (T).
- 2) „ tifo + paratifo aşısı (TAB).
- 3) Alkollü sade tifo aşısı (Kopenhag menşeli)
- 4) Fenollü „ „ „ („ „ „)

In-Vitro tecrübe :

a) Aglütinasyon : Enstitümüzün sade tifo aşısı ile yabancı menşeli diğer iki aşı santiküpünde 500 milyon jerm üzerinden ayarlanarak anti O ve anti Vi serumlar müvacehesinde antijen gibi kullanılmıştır.

Tablo --- 10 (Table — 10)

Kullanılan aşı (Vaccine used)	Anti o serum	Anti Vi serum (Ballerup)	Anti Vi serum (Kopenhag)
Enstitümüzün sade tifo aşısı (T. vaccine our Institute)	500	10	80
Alkollü tifo aşısı (Kopenhag) (Alcoholized T. vaccine, Kopenhag Institute)	1600	20	400
Fenollü tifo aşısı (Kopenhag) (Phenolized T. vaccine Kopenhag Institute)	1200	10	80
O süspansiyonu (O susp. 901)	1600	0	0
Vi süspansiyonu, stabil (Stabilized Vi susp. Ty6S)	0	1280	1280

b) Hemaglütinasyon : Spesifik serumlar müvacehesinde aşıların sürnanajındaki antijenlerin mevcudiyetini tahkik bakımından hassas olan bu usulden her üç nümunedede fenol veya alkolün hemoliz yapmaları hasebiyle faydalanamadık. Fenol ihtiva etmemesini gözönüne getirerek altı ay önce hazırlanmış DT+TAB (difteri+tetanoz+tifi+A+B aşısı) nın sürnanajı ile Kopenhag menşe'li anti Vi serumla 1280 titre elde edilmiştir.

Neticelerin münakaşası : Antijen gibi kullanılan üç tifo aşı nümunesinde O ve Vi antijenleri mevcuttur. Fenol veya alkolün mevcudiyeti bunların sürnanajlarındaki anti-

jen varlığını hemaglutinasyon metodu ile tevsike imkân vermemiştir. Buna DT+TAB aşısının sürnaşımında muvaffak olunmuştur. Kendi aşımızın imalinde kullanılan üç suşun O süspansiyonlarının aynı anti O serumla verdiği titre ile, bu suşlarla hazırlanan ve ferol da ihtiva eden aşı süspansiyonunun verdiği titre arasında büyük fark vardır. Aşı süspansiyonunun O aglutinabilitesi azalmıştır. Vi aglutinabilitesinde de keza tenez-zül büyüktür.

Hayvan üzerinde tecrübe : Yukarıda bildirilen aşı nümuneleriyle tavşan ve fareleri immünize ettik. Tavşanların serumlarında H. O ve Vi aglutinimlerini aradık, fareleri koruma kudretini ölçdük. Farelerde de aktif muafiyet deneyleri yaptık.

Tavşanların immünizasyonu : İki suretle yapılmıştır :

1) Evvelâ Kopenhag Devlet Serum Enstitüsünden gönderilen talimat dahilindeki çalışmamızı bildiriyoruz. Aşı nümuneleri serum fisiyolojikle 1/10 sulandırılmış ve bundan birer hafta aralıkla beş defa ve her defasında 0.5 cc. (50 milyon jerin) damara zerkedilmiştir. Her nümuneye için 3 tavşan kullanılmış ve son zerkden bir hafta sonra kan alınmıştır. Her nümunenin serumları müsavi karıştırılmak suretiyle harman edilmiş ve bunlarla O ve Vi aglutinasyonu, liyofelize Vi ekstraktı ile sanzite edilmiş O grubu insan eritrositleriyle hemaglutinasyon yapılmıştır.

Tablo — 11 (Table — 11)

Ait olduğu tavşan serumu harmanı (Pooled rabbit sera from)	Tavşan serumlarındaki aglutinin titri (agglutinin titre of rabbits serums)				Hemaglutin. (hemagglut)
	O 901	Vi susp			
		Taze kültür (fresh cult.)		Stabilize (stabilized)	
		Vi 1	Ty 2	Ty 6 s	
Enstitümüzün sade tifo aşısı (T. vaccine our Institute)	320	0	640	0	0
Alkollü tifo aşısı (Kopenhag) (Alcoholized T. vaccine, Kopenhag Institute)	320	0	40	0	0
Fenollü tifo aşısı (Kopenhag) (Phenolized T. vaccine Kopenhag Institute)	320	0	320	0	0

Farelerin passif korunması : Bu harman edilmiş tavşan serumlarının serum fisiyolojikle 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 ve 1/64 dilüsyonlarından deri altına 0.5 cc. zerkedilmiş ve her dilüsyon için 5 fare kullanılmıştır. Bundan 48 saat sonra test kültürle epruve edilmişlerdir. 10 şahit kullanılmış ve hepsi de ölmüştür.

Tablo — 12 (Table — 12)

Ait olduğu tavşan serumu harmanı (Pooled rabbit sera from)	Zerkedilen serum dilisyonu (Serum dilutions injected)						Toplamı (Total)
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	
	Sağ fare sayısı / denenen F sayısı (No. of mice surv. / No. of mice test.)						
Enstitümüzün sade tifo aşısı (T. vaccine our Institute)	3/5	5/5	5/5	4/5	3/5	3/5	23/30
Alkollü tifo aşısı (Kopenhag) (Alcoholized T. vaccine, Kopenhag Institute)	5/5	4/5	3/4	4/5	3/5	3/5	22/30
Fenollü tifo aşısı (Kopenhag) (Phenolized T. vaccine Kopenhag Institute)	4/5	3/5	3/5	4/5	4/5	3/5	21/30

Farelerin aktif immünizasyonu : Sade tifo aşları nünuneleri serum fisiyolojikle 1/5, 1/50 ve 1/500 sulandırıldı. Böylelikle santiküpünde 200, 20 ve 2 milyon jerm ihtiva eden süspansiyonlar yapılmış oldu. Bunların her birinden periton içine 0.5 zerkedildi. Her ülidsyon için 20 fare harcandı. Bundan 14 gün sonra test kültürle denendiler. 10 şahit terfik edilmiş ve hepsi ölmüştür. Bu tecrübe iki defa yapılmıştır.

Tablo — 13 (Table — 13)

Zerkedilen aşının nevi (Kind of vaccine injected)	Aşı dilisyonları (vaccine dilutions)						Toplamı (Total)
	1/5	1/50	1/500	1/5	1/50	1/500	
	Sağ fare sayısı / denenen fare sayısı (No. of mice survive. / No. of mice tested)						
	Birinci tecrübe (first experim.)			İkinci tecrübe (second experim.)			
Enstitümüzün sade tifo aşısı (T. vaccine our Institute)	11/20	7/17	5/19	16/17	11/20	11/18	61/111
Alkollü tifo aşısı (Kopenhag) (Alcoholized T. vaccine, Kopenhag Institute)	12/18	7/19	5/16	14/16	18/20	14/19	17/800
Fenollü tifo aşısı (Kopenhag) (Phenolized T. vaccine, Kopenhag Institute)	12/18	2/20	7/19	18/20	12/19	12/18	63/114

2 — Tavşanların immünizasyonu : Felix tekniğine göre yapılmış, aynı zamanda sade tifo aşları ile TAB aşları da tecrübeye sokulmuştur.

Sade tifo aşları (santiküpünde 1 milyar jermli) birinci zerklerinde serum fisiyolojikle 1/2 sulandırılmış ve bundan 2 cc., ikinci zerklerinde doğruca 4 cc., TAB aşlarımızın içindeki tifi jerm miktarı 500 milyon olduğundan bu aşların birinci zerklerinde doğruca 2 cc., ikinci zerklerinde doğruca 8 cc. verilmiştir. Zerkler damar içine yapılmıştır.

mıştır. İki zerk arasındaki müddet bir haftadır. Seruye ikinci zerkden 10 gün sonra yapılmakta isede, biz hem böyle ve hemde bir ay sonunda olmak üzere iki defa yaparak aglütinilerin zuhur ve kudretine mukayese ettik. Her aşı nümunesi için 2 tavşan kullanılmıştır. Aşağıdaki neticeler iki tavşanın serumu ile alınmış titrelerin vasatisidir. Hemagglütinasyonu testinde tarafımızdan hazırlanmış Vi ekstraktı ile sanzite kılınmış koyun eritrositleri kullanılmıştır.

Tablo — 14 (Table — 14)

Zerkedilen aşılardan neveleri (Kind of vaccines injected)	Tavşan serumlarındaki aglütininin titreri (agglutinin titres of rabbit sera)					
	0901	H901	Vi			
			Taze kültür (fresh cult.)		Stabil (stabilized)	Hemagglütin. (hemagglut.)
			Vi 1	Ty2	Ty6S	
Enstitümüzün sade T. aşısı (T. vaccine our Institute)	1600	600	5	640	40	0 [*]
	600	300	40	400	800	0 [**]
Kopenhag'ın alkollü T. aşısı (Alcoholized T. vaccine. Kopenhag Institute)	1200	0	0	120	20	0 [*]
	500	100	0	20	720	0 [**]
Kopenhag'ın fenollü T. aşısı (Phenolized T. vaccine. Kopenhag Institute)	2400	3200	5	640	120	0 [*]
	600	800	0	1900	640	0 [**]
Enstitümüzün TAB aşısı, bir aylık (TAB vaccine our Institute, 1 month old)	1200	2400	0	640	30	0 [*]
	200	600	0	640	480	0 [**]
Enstitümüzün TAB aşısı, 1,5 yıllık (TAB vaccine our Institute, 1,5 years old)	2000	1600	0	480	30	0 [*]
	200	400	0	1900	80	0 [**]

[*] 10 gün sonundaki neticeler (10 days after)

[**] 30 gün sonundaki neticeler (30 days after)

Farelerin passif korunması : Yalnız 10 gün sonraki serumlarla yapılmıştır. Müsavı miktarda karıştırılmış tavşan serumu harmanının serum fisiyolojikle yapılan 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 dilüsyonlarından deri altına 0.5 cc. zerkedilmiştir. Her dilüsyon için 5 fare kullanılmıştır. Serum zerkinden 48 saat sonra test kültürle denenmişlerdir. Tecrübeye 10 şahit terfik edilmiş bunun beşi ölmüştür.

Tablo — 16 (Table — 16)

Ait olduğu tavşan serumu harmanı (Pooled rabbit sera from)	Zerkedilen serum dilüsyonu (Serum dilutions injected)						Toplamı (total)
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
	Sağ fare sayısı, denenen fare sayısı (No. of mice surv., No. of mice tested)						
Enstitümüzün sade tifo aşısı (T. vaccine our Institute)	25	35	35	25	45	35	1730
Kopenhag'ın alkollit T. aşısı (Alcoholized T. vaccine Kopenhagen Institute)	25	25	15	45	15	45	1430
Kopenhag'ın fenollü T. aşısı (Phenollzed T. vaccine Kopenhagen Institute)	55	5/5	35	45	25	15	2030
Enstitümüzün TAB aşısı bir aylık (TAB vaccine our Institute, 1 month old)	45	45	25	35	15	25	1630
Enstitümüzün TAB aşısı 1,5 aylık (TAB vaccine our Institute, 1,5 years old)	35	25	35	45	05	35	1530

Neticelerin münakaşası : 1) Kopenhag'ın verdiği talimat dahilinde, sade tifo aşılar ile immürize edilmiş tavşanların serumunda O yönünden aglütinasyonda bir fark kaydedilememiştir. Taze Vi I ve stabil Vi süspansiyonları ile aglütinasyon alınamamıştır. Keza hemaglütinasyon metodu da menfi çıkmıştır. Ancak taze Ty2 süspansiyonu ile aşılardan aşıya değişen nispet türelerde aglütinasyon görülmüştür. Bu tavşanların harman edilmiş serumları ile farelerin passif korunma tecrübesinde keza farklı sonuçlar alınmamıştır. Bu aşılarla farelerde yaptığımız aktif immünizasyon tecrübelerinin ikincisi alkollü aşı lehine çıkmıştır. İki tecrübe bir arada incelenirse :

Enstitümüzün sade tifo aşısı zerkedilen farelerde canlı nisbeti % 54,94, Kopenhag'ın alkollü tifo aşısı zerkedilen farelerdeki canlı nisbeti % 64,89, Kopenhag'ın fenollü tifo aşısı zerkedilen farelerde canlı nisbeti % 55,2 dir. Görüldüğü üzere Enstitümüzün ve Kopenhag'ın tifo aşılarının nisbetleri birbirine pek yakındır. Alkollü aşısındaki nisbete gelince, ilk bakışta diğerlerine kıyasen bu aşının lehine görünmekte isede, buradaki ihtimal % 85 dir. İstatistik ilmi bakımından kabule şayan bir kat'iyet ifade etmez.

2) Felix tekrârına göre immünize edilmiş tavşanların serumundaki aglütinin titreleri, immünizasyonun bitmesinden 10 ve 30 gün sonunda olmak üzere iki defa ölçülmüştür. Görüldüğü üzere O titreleri hem yükselmiş ve aşılardan aşıya farklı çıkmıştır. Fakat gerek O, gerek H titrelerinde 30 gün sonunda açık bir düşüş olmuştur. Taze

Vi 1 süspansiyonu ile Enstitümüzün ve Kopenhag'ın sade tifo aşılılarıyla immün tavşan serumlarında hafif müsbetlik bulunmuş ve bu hal Enstitümüzün aşısına ait olanlarda bir ay sonurda hafif yükselmesine mukabil, Kopenhag'ında silinmiştir. Gerek taze Ty2 süspansiyonu, gerekse stabil Vi süspansiyonu ile 10 ve 30 gün sonralarında çeşitli müsbetlikler alınmıştır. Zaman geçtikçe, genel olarak bir artma da müşahade edilmiştir.

Yalnız 10 gün sonraya ait harman tavşan serumları ile farelerin passif korunma tecrübesinde Kopenhag'ın fenollü aşısı ile immünize tavşan serumları diğerlerinden üstün korumuştur. Bu grubun aynı serumlarının O, H ve Vi titreleri de diğerlerinden üstün çıkmıştır.

Umumi müzakere ve sonuçlar : Enstitümüzde hazırlanan tifo aşısının imalinde kullanılan üç salm. tifi süşundur, ister hücre üzerine tesebbüt etmiş halde, ister sünajanında O ve Vi antijenlerini ihtiva ettikleri görülmüştür. Aşı imalinde kullanılacak süşların O ve Vi vaksinin antijenlerine malikiyeti spesifik serumlarla kontrol edilmektedir. Bu da daha çok aglütinasyon ve hemaglütinasyon metodlarına dayanmaktadır. Kantitatif aglütinasyon metodu ile, şüphesiz süşun aglütinabilitesine göre netice alınmaktadır. Hemaglütinasyonda ise, eritrositlerin çok az miktar sünajana sanzibilizasyonunun mümkün olduğu ve Vi antijeninin mikrop hücresinden tamamen sünajana hicret ettirilemediği de gözönünde bulundurulursa, bu usul ile kantitatif ayırtı zordur.

Tavşan ve fare gibi tecrübe hayvanlarına sünajan veya yıkanmış bakteri hücreleriyle yapılan immünizasyondan sonra bunların serumlarındaki aglütinin titrelerine, yahut fareleri koruma kudretine göre süşlar arasında bir intihap yapmak keza zor bir işdir. Nitekim 1 numaralı süşumuzun, diğerlerine bakarak bilhassa Vi antikorunu tevliidi daha göze çarpar olmasına mukabil bunun serumu farelerde daha az protektör olmuştur. Hakikaten bir serumda Vi aglütinasyonunun mevcudiyeti ile o serumun protektör kudreti arasında mullak bir münasebet bulunmadığı kanaatindeyiz. Zira tecrübelerimiz esnasında müşahade ettiğimiz üzere eldeki metodlarla Vi aglütinan titri ifşa edilememiş serumlarda da protektör kudret kaydedilmiştir.

Kendi süşlarımızın ve Ty2 nin canlı süspansiyonlarından elde edilen sünajanlarda da O ve bilhassa Vi nin mevcudiyetini görmekle, sünajana geçmede ısıtmanın rolü bulunmadığı anlaşılmıştır. Ty2 süşu ile hazırlanan bazı Amerikan ve İngiliz aşılarında Vi nin bakteri hücresine tesebbüt etmiş bulunması, görüldüğü üzere süşun özelliğinden olmayıp, aşı imalinde takip edilen teknikden gelmektedir. Bunun da azeetör veya alkolle bağlandığı malumdur.

Hararetle öldürerek ve içine prezervatif madde koymadan kendi süşlarımızla ve Ty2 ile, Pasteur aşısını takliden hazırladığımız 1 milyar jermik süspansiyonlarla aynı teknik dahilinde immünize edilen tavşanların serumlarında kendimize ait olanlar :

O için 3200, stabil Vi antijeni ile aglütinasyonda 400, hemaglütinasyonda 45 ve protektör miktar 1/32 bulunmuştur. Ty2 niniki de ise bu titreler aynı sıra ile 6400, 340, 16 ve 1/10 olmuştur.

Aşılar üzerinde yaptığımız inuayenelerle çeşitli müstahzarlarda O ve Vi vaksinin antijenlerinin mevcudiyetini müşahede ettik. Şurası aşikârdırki, tifo aşımızın süspansiyonunun gerek O, gerekse Vi titresinde terezzül büyük olmuştur. Bir taraftan hararet, diğer taraftan prezervatif olarak katılan fenol, süspansiyonun aglütinabilitesini inhiye etmiştir.

Tavşanların aktif immünizasyonu ile elde edilen serumlar vasıtasıyla aşıların aktivesini tayinde takip ettiğimiz iki usulden Felix metodu, Kopenhag Devlet Serum Enstitüsünün talimatına nazaran, O ve bilhassa Vi antikorlarının mütalâasına daha elverişli çıkmıştır. Zira Kopenhag tekrifi ile çeşitli müstahzarlar arasında O yönünden bir fark kaydedilemediği gibi, Vi 1 ile aglütinasyonda ve hemaglütinasyonda da müsbet bir netice kaydedilememiştir. Ancak Ty2 nin canlı süspansiyonu ile aşidan, aşıya değışen titrelerde aglütinasyon görülmüştür. Bu hal defa'atan Ty2 nin fazla aglütinabil bir suş olması ihtimal'ni düşürdürebilirsede, tecrübelerimizde kullandığımız anti-Vi (Ballerup ve Ty6S) serumların bu suşun canlı süspansiyonunu düşük titrelerde aglütine ettiğini de hatırlamak gerekir. Herhalde bu daha çok aynı bir anti-Vi serum müvacehesinde değışik suşlarla alınan farklı neticelere bir örnektir.

Kâffeahvalde arzettiğimiz bu çeşit araştırmalarda aşı nünunelerinden alkollüsü lehine bir netice alamadık. Bu aşı ile tavşanlardan elde edilen O ve Vi aglütinimleri diğerlerinden aşığı bile olmuştur.

Farelerde yaptığımız passif korunma tecrübesinde Kopenhag'ın ferollü aşısı ile immünize tavşan serumlarının protektör kudreti daha üstün çıkmıştır. Farelerin aktif immünizasyonunda kendi aşımızla, Kopenhag'ın ferollü aşısı hemen ayrı kudrette bulunmuştur. Alkollü, gere kesin bir üstünlük göstermemiştir. Bu sonuçlar Paris Pasteur Enstitüsünde Mme. J. Grabar ve Mme. S. Le Minor'un aynı teknik dahilinde yapmış oldukları araştırmalarda alkollü İngiliz aşısı lehine bulduklarına benzemektedir (27).

Şu noktayı tebarüz ettirmek lâzımdırki, gerek İngiliz aşısı, gerekse Kopanhag'dan yollanmış aşı nünuneleri Ty2 ile imal edilmişlerdir. Ne bizim ve nede Pasteur Enstitüsünün tifo aşıları içinde bu suş yoktur. Farelerde gerek passif, gerekse aktif immünizasyonun denenmesinde kullanılan test kültür Ty2 süspansiyonu olduğuna nazaran, tecrübe son aşılar için heteroloğ ceryan etmiştir.

Tecrübelerimizin sonunda vasıl olduğumuz kanaat şudurki, ister antijen zenginliği bakımından suşlar arasında bir intihap, ister çeşitli tifo aşıları arasında bir tercih yapabilmek için kullanılmakta olan bu metodları biz tatmin edici bulamadık. Bunun için böyle olduğunu okuyucu da şüphesiz anlayacaktır. Gerçi bazı araştırmacılar laboratuvar metodlarıyla alkollü aşının, ısıtılmış-ferollü aşidan üstün olduğunu bildirmişlerdir. Her ne olursa olsun tavşan ve fare üzerinde alınan neticelerin insan uzviyyetinin reaksiyonlarına nasıl götürülebileceği ayrıca sorulmağı şayanı bir hususdur. Amerikan ordusunda eskiden kullanılan ısıtılmış-ferollü aşığı, alkollü aşı müvacehesinde fare ve tavşanlarda mukayeseli tecrübe eden W. S. Miller, D. L. Clark ve O. C. Dierkhing alkollüyü elverişli

bulmuş ve bu mesainin münakaşasında laboratuvar sonuçlarını, insan istatistikleriyle de kıyaslandırmak suretiyle mutabakatın mevcudiyetini tebarüz ettirmişlerdir (28). Keza D. E. Marmion, G. M. F. Nayler ve I. O. Stewart (29) ve E. S. Anderson, H. G. Richards da buna benzer müşahadeler neşretmişlerdir (30). Buna mukabil Dünya Sağlık Teşkilâtının Yugoslavya'da idare ettiği saha tatbikatında alkollü aşı ile vaksinelardaki tifo musabiyetinin iki misli fazla olması ve neticenin hararet-fenol tipi aşı lehine çıkması da enteresan bir olaydır. Halbuki laboratuvar tecrübeleriyle alkollü aşı, hararet-fenol tipi aşidan üstün çıkmıştır (31). Bu da bize aşı hazırlama tekniğinde bütün önemir, bilhassa Vi üzerine teksif edilmesinin ve aynı zamanda laboratuvar kontrol sonuçlarının effikas bir tifo aşısı için yeter şartlar olmadığını gösterir.

Tifoda immünizasyon mekanizmasını henüz bilememekdeyiz. Hayvan tecrübeleri hastalığın insandaki seyrine uygun bulunmadığı için iyi sonuçlar vermemektedir. Muafiyet yalnız bir antikor, netijen meselesi olmasa gerekir. Hiperimmün tifo serumlarının tedavide bir değeri bulunmadığı da bilinen hakikatlardandır. Toba ve Kabayashi, tifodaki immünizasyonun sadece serik bir muafiyet değil, daha ziyade tissüler olduğunu işaret etmişlerdir (32). Enfeksiyonları ve aşılamaı (antitifoïdik) müteakip karaciğerin histolojisi üzerindeki muahhar etüdüler çeşitli müstahzarların tesir farklarını mütalâaya müsaade ederse bu iş daha iyi tenevvür edecektir sanıyoruz.

Kısaca arzettiğimiz şu mütalâalardan bazı sonuçlara varabileceğimizi sanıyoruz. Vi tip fajlarına göre tifo basilinin halen 36 çeşidi mevcuttur. Bunların basil sathında tevazzuları farklı olduğu gibi, hararete mukavemetlerinde de bariz farkların bulunduğu bildirilmiştir. Şu halde tesirli bir tifo aşısının; mahallin faj tiplerini ihtiva eden suşlarla hazırlanması lâzımdır. Hatta daha ileri giderek epidemiyi husule getiren suşu kullanmak daha doğru olacaktır. Nitekim bizlerden birimizin (N. Akyay) son defa Paris Pasteur Enstitüsünü ziyaretinde aşı servisi şefi Le Minor'la bu konu üzerindeki konuşmasında bu zat, "Paris'de hazırlanan bir aşı ile Cezayir veya Saygon'daki salgını durdurmağa imkân yoktur. Felix de İngiltere'de hazırladığı aşı ile Mısır'daki salgını durduramamıştır" demiştir.

Anlaşılabacağı üzere aşı ihzar tekniklerinin önemi ikinci plânda gelmektedir. Mühim olan nokta, aşının içindeki suşun epidemiyi husule getirecek suşa uygun olmasıdır.

Görülyüorki üzerinde uzun yıllar çalışılmış olmasına rağmen, tifo aşısı henüz durmuş ve oturmuş değildir.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — Arnold Netter. Bull de L'Inst. Pasteur 1906 tome IV.
- 2 — Macfadyen - Rowland. Centralbl. F. Bakt. 1901 XXX.
- 3 — Besredka. Annales de L'Inst. Pasteur 1902.
- 4 — Briège - Schutz. Deutsche Med. Wochensh. 1902.
- 5 — Meinicke - Kutscher. Zeitsch. f. Hyg. 1906 T. LII.

- 6 -- Blumenthal - Levy. Mediz. Klinik 1906.
- 7 -- Ch. Nicolle, A. Gnor, E. Conseil. Bull. de L'Inst. Pasteur 1913.
- 8 -- J. Kabeschima. Centralbl. f. Bakt. Orig 1914.
- 9 -- M. Cuica, D. Combiescu, J. Bellani. Annales de L'Inst. Pasteur 1915
- 10 -- E. Grasset, M. Gory. C. R. Soc. de Biol. 1927.
- 11 -- E. Grasset. Revue Medic. de la Suisse Romande 1929.
- 12 -- S. Gören H. Selçuk As. Sıhh. mecmuası 1939.
- 13 -- Pfeiffer, Kolle. Zeitsch. f. Hyg. 1896 T. XXI.
- 14 -- Pfeiffer, Kolle. Deutsche Med. Wochensch. 1896.
- 15 -- A. E. Wright. Lancet 1896 19 sept.
- 16 -- A. E. Wright. A short treatis on antityphoid inoculation 1904.
- 17 -- Bruce. Journal of the army medic. corps 1905.
- 18 -- Harrison Journal of the army medic. corps 1906.
- 19 -- A. Besson Tech. mic. et seroth. 1924.
- 20 -- J. Spaun. Acta pathologica et mic. Scandinavica 1954 Vol. XXXIV.
- 21 -- A. Felix Bull World Health Org. 1955-13.
- 22 -- Benzioni and Rocca Boll. Inst. Sieroter. Milano 1953-32.
- 23 -- A. Felix J. Hyg. 1951 41 268.
- 24 -- Standard Methods of the Division of laboratories and research of the New York State Departement of Health 1947.
- 25 -- K. Ando, H. Shimijo. Bull. O. M. S. 1953 Tome 9 575.
- 26 -- J. Spaun Acta Pathologica Scandinavica Vol XXIX fas. 4 1951.
- 27 -- J. Grabar, S. Le Minor: Annales de L'Inst. Pasteur 1955 No. 5
- 28 -- W. S. Miller, D. L. Clark, O. C. Dierkhing. Amer. J. Trop. Med. 1951 - 31.
- 29 -- D. E. Marmion, G. M. F. Nayler, I. D. Stewart. J. Hyg. 1953 - 51.
- 30 -- E. S. Anderson, H. G. Richards. J. Hyg. 1948 - 46.
- 31 -- Interin reports the Expert Comitee on biological Standardization 291 14 - Oct. . 1954.
- 32 -- Toba. Japan exp. Med. 1953.
- 33 -- L. le Minor, S. le Minor, J. Grabar. Ann. de l'Inst. Pasteur 83-62 1952.
- 34 -- Unpublished Werking documents of WHO-WHO BS 301-12 Sept. 1955.

THE IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF *S. TYPHOSA* STRAINS USED IN VACCINE PRODUCTION AND THE EVALUATION OF THE POTENCY TESTS

Sadık GÖREN and Necmeddin AKYAY

Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara, Turkey

Fifty years have elapsed since the discovery of the typhoid vaccine and quite few papers have been published on its preparation and standardization, but the important technical and fundamental questions have not been settled yet. After the discovery of Vi antigen by Felix and Pitt, it was believed that this antigen had the prime importance on the protective power of typhoid vaccines. This belief stimulated the efforts to devise production methods which would preserve Vi antigenicity of the vaccine, but Yugoslavian field trial (31) shed doubt on this belief and demonstrated the efficiency of heat killed-phenol preserved vaccine over alcohol killed and preserved one.

The typhoid vaccine produced in this Institute is a heat killed-phenol preserved vaccine. Three different strains-namely strain No. 1, strain No. 2, and Panama 58 are used to prepare it. We shall present the results of our experiments on immunological properties of the strains which we use and the results of a comparative study on the potency of our typhoid vaccine (T and TAB) and heat killed-phenol preserved and alcohol killed and preserved typhoid vaccines sent by the State Serum Institute of Denmark.

Material and Methods :

Strains : The following strains of *S. typhosa* are used in this study :

Strain No. 1 and 2 locally isolated strains.

Panama 58 - obtained from U. S. Army Graduate School of Medicine.

Strain Vi 1, Ty2. and Ty 65 - obtained from the State Serum Institute of Denmark.

Vaccines : The following vaccines are used :

1 — Typhoid vaccine : Organisms are killed at 56 centigrade and preserved with phenol. The vaccine contains one billion organism per milliliter.

2 — Typhoid vaccine (T. A. B.) : It is also heat killed and phenol preserved vaccine and contains 500 millions *S. typhosa*, 250 millions *S. paratyphi A* and 250 millions *S. paratyphi B* per milliliter.

3 — Alcohol killed and preserved typhoid vaccine : It is sent us by the State Serum Institute.

4 — Heat killed phenol preserved typhoid vaccine : It is also sent by the State Serum Institute.

Agglutinating sera : Anti-O Anti-Vi (Ballerup) sera were prepared in this Institute from rabbits using *S. typhosa* strain O 901 and *S. ballerup* respectively.

Bacterial suspensions for agglutination tests : Agglutinating suspensions for H and O agglutination were prepared as described in the Standard methods of New-York State Laboratories (24).

Two kinds of suspensions were used in Vi agglutination tests. 1) Eighteen hour growth of *S. typhosa* from nutrient agar slants is suspended in saline and concentration of the suspension was adjusted to contain one billion organisms per milliliter. 2) Stabilized suspensions were prepared as described by K. Ando and H. Shimijo (25).

Hemagglutination tests : Three different sensitizing antigen is used to sensitize red blood cells. 1) Twenty two hour culture of the tested organism on nutrient agar slant was suspended in saline and concentration of the suspension was adjusted to contain one billion organism per milliliter. It was heated for one hour at 56 C. Sterility was checked. The suspension was centrifuged for half an hour at 5000 r. p. m. and supernatant was used to sensitize erythrocytes. 2) A sensitizing antigen from *S. typhosa* strain Vi 1. (International salmonella center strain No. 61) was prepared as described by Spaun (26). 3) The lyophilized Vi extract send us by the State Serum Institute of Denmark was also used to sensitize erythrocytes.

The method to sensitize erythrocytes : Both methods suggested by Spaun (34) and by Minor, Minor and Grabar (33) are used.

Hemagglutination tests are carried out as described by Spaun (26) and Minor(27).

Challenge culture : The strain Ty2 is used to challenge actively or passively immunized mice. Twenty hour growth of the strain on nutrient agar is suspended in saline and the concentration of the suspension is adjusted to contain 200 billion organisms per milliliter. Mice are injected 0.5 ml. of the suspension intraperitoneally. They are observed for 72 hours.

Adjustment of suspensions : The concentration of suspensions are adjusted with Coleman Universal Spectrophotometer No. 14 against International Opacity Standard.

Animals : White Swiss mice, waighing 16-20 grams and from both sex, are used in immunization experiments.

Female rabbits, weighing 1,5-2 kgrs. are used for passive immunization tests.

Immunological Properties of the Strains Used in Vaccine Production

The agglutinability, the antigenicity and some properties of the antigens of the strains Nos. 1, 2, and 3 —which are used to produce typhoid vaccin in this Institute— were studied.

The agglutinability of the strains : Our strains are WV form. Results of O and Vi agglutination tests are shown in Table 2 (See Turkish text).

Hemagglutination test : The supernatants of the bacterial suspensions—which are prepared as described above - are used to sensitize red blood cells for hemagglutination test. The results are shown in Table 3 (See Turkish text).

Antigenicity of the strains : Both washed bacterial suspensions and washings were used to immunize mice and rabbits. Washings are prepared as red blood cell-sensitizing antigen for hemagglutination test. The washed bacterial suspensions were prepared resuspending the sediment obtained while preparing red blood cell sensitizing antigen.

Two rabbits were used for each suspension or supernatant. They are immunized by injecting 1, 2 and 3 ml. of the bacterial suspension or the supernatant intravenously at weekly interval. They are bled 10 days after the last injection. The results of these experiments are shown in Table 4 (See Turkish text).

Six mice are used for each suspension or supernatant. They are immunized by injecting 0.1, 0.2 and 0.3 ml. of the bacterial suspension or the supernatant intraperitoneally at weekly interval. They are bled 10 days the last injection. The results of agglutination and hemagglutination tests are given in Table 5 (See Turkish text).

Passiv protection tests : The rabbit sera were diluted 1/4 - 1/256. 0.5 ml. of each dilution of each sera were injected into 5 mice subcutaneously. 48 hours later mice are challenged with test culture. The results are shown in Table 6 (See Turkish text).

Active immunization tests : The washed bacterial suspensions and supernatants of the three strains are mixed seperately. 1/5, 1/50 and 1/500 of dilutions of these mixtures are prepared. Twenty mice are injected with 0.5 ml. of each dilutions. The immunized mice are challenged with test culture. Six out of ten control mice died in this experiment. See Table 7 in Turkish text for results.

Conclusion : Our experiments demonstrated that 1) our strains are WV form. 2) Strain No. 1 contains more Vi antigen than the others and washed cells of this strain have more Vi —antigenicity than washing. 3) Mice produced no agglutinin, when the antigens — either the washed bacterial suspensions or supernatants — are injected subcutaneously; but they produced agglutinins in varying amount with the same antigens, when the antigens are injected intraperitoneally. 4) The washed bacterial

suspensions were more antigenic for rabbits from the standpoint of Vi antigen than supernatants, while the supernatants were more antigenic for mice than the washed bacterial suspensions. 5) The sera of rabbits immunized with the washed bacterial suspensions have more protective power for mice than the ones immunized with supernatants. The results of active mice protection tests are parallel to passive immunity tests. 6) There are no correlation with the Vi antigenicity of a strain and with its protective power.

A Comparative Study with Bacterial Suspensions Prepared with Our Vaccine Strains and Ty2

Grabar and Minor were studied the efficiency of alcohol, acetone and heat killed vaccines (27). We compared the antigenicity of the washed bacterial suspensions, unwashed bacterial suspensions and washings of our vaccine strains and Ty2 with passive mice protection test. The suspensions are killed at 56 C. and no preservative added. Rabbits are immunized with the method of Felix and passive protection tests are carried out as described above. The results of the tests are shown in Table 8 and 9 (See Turkish text).

The following conclusions are drawn from these experiments :

1 — Diffusion of Vi and O antigens into saline is not connected with killing of the organisms by heat. Vi and O antigens pass from cells into saline before the organisms are killed.

2 — The washed bacterial cells are less antigenic than the unwashed cells.

3 — There are no differences in the Vi-agglutinin titers of rabbit sera obtained from rabbits immunized with strain Ty2 and with our vaccine strains.

4 — The sera obtained from the rabbits immunized with Ty2 strain did not show a higher protection in mice than the ones obtained with our strains.

A COMPARATIVE STUDY ON TYPHOID VACCINES

Five different typhoid vaccines were tested *in vitro* and *in vivo*. One of these vaccines is alcohol killed and the others are heat killed.

Agglutination tests : The results of agglutination tests performed with these vaccines are shown in Table 10.

Three tested vaccine gives agglutination with Vi and O serum, but the titres of O and especially Vi agglutination are very low when they are compared with the titre of agglutination obtained with the killed bacterial suspension which do not contain phenol (See Table 2 in Turkish text).

Immunization of rabbits : Both the method suggested by the State Serum Institute of Denmark and Felix's method are used to immunize rabbits.

The results of agglutination and hemagglutination tests performed with sera obtained from the rabbits immunized with the former method are shown in Table 11 and the results with the latter method in Table 14 (See Turkish text). Rabbits immunized with the Felix's method are bled twice. The first bleeding was done 10 days after and the second one 30 days after the last injection.

Passive protection tests : These tests are performed as described before. The results of the first experiment which was performed with the sera of the rabbits which were immunized with the method suggested by the State Serum Institute are shown in Table 12 and the results of the second experiment—which was performed with the sera obtained 10 days after the last injection from the rabbits immunized with Felix's method—are shown in Table 15 (See Turkish text). Six out of ten mice died in this experiment.

Active protection test : This test is performed as described before. The results are shown in Table 13. All of the control mice died in this experiment.

Conclusion : 1) Agglutination titers of the sera of the rabbits, immunized with alcohol killed (Copenhagen) and heat killed (Copenhagen and C. I. H. Turkey) vaccines with the method suggested by the State Serum Institute, are the same, but they were different when Felix method is used. None of rabbit sera gave hemagglutination neither with alive Vi 1 suspension nor with stabilized Ty6S suspension.

2 — No difference in the potency of vaccines were detected with passive immunization tests.

3 — No difference in the potency of heat killed vaccines—both vaccines which were prepared in the State Serum Institute and in this Institute—was also detected. Alcohol killed vaccine seems superior to heat killed vaccines, but the difference is not significant ($P = 0.15$).

4 — Felix's method is superior to the method suggested by the State Serum Institute to immunize rabbits. In general, the O and H titres of the sera are higher 10 days after the last injection than 30 days, on the contrary, the Vi titers of the sera are higher 30 days after the last injection than 10 th day titer.

Discussion

S. typhosa strains which we use to prepare vaccine in this institute contain O and Vi antigen, attached to the cell and in the saline. It is not possible to estimate the amount of Vi and O antigens either with agglutination reaction or with hemagglutination reaction.

We think that it is quite difficult to maintain the superiority of a VW strain for vaccine production with the results of current experimental methods such as protection

tests, agglutination test, and so on. In our experiments we observed that even a strain which did not rise Vi-agglutinins has a protective power.

O-agglutinin, Vi-agglutinin, hemagglutinin titers and the protective dose of the sera of the rabbits immunized with our strains are 3200, 400, 45 and 1/32 respectively. It is 6400, 340, 16 and 1/10 in the sera of the rabbits immunized with Ty2 strain. These bacterial suspension did not contain phenol. Phenol decreases the antigenicity of bacterial suspensions considerably.

It should be pointed out that Felix's method is superior to the method suggested by the State Serum Institute to immunize rabbits.

There is no accordance in the results of active and passive immunization tests. Alcohol killed vaccine is more protective than heat killed vaccine according to the results of active protection test, but it is less protective according to the results of passive protection test. Grabar and Minor (27) studied the dry alcohol killed English vaccine and their own heat killed vaccine. They found that the former vaccine is superior to the latter. This is not in accordance with our result. We think that the methods used to evaluate the potency of typhoid vaccine are not satisfactory, especially it is impossible to correlate the laboratory findings on experimental animals with the results of field application. Miller et al (28), Marmion et al (29) and Anderson et al (30) found that alcohol killed vaccine is a better vaccine than heat killed vaccine when they are tested on rabbits and mice. According to their experimental data alcohol killed vaccine is superior for human beings as well. A study conducted by the Yugoslavian government and WHO (31) gave a contradictory result. The Alcohol killed vaccine was superior to the heat killed vaccine in laboratory experiments, but the heat killed vaccine protected human beings much better than the alcohol killed vaccine. This is another evidence of the inefficiency of the laboratory methods.

One of the fundamental aspects of this problem is to have a better knowledge on the mechanism of immunity in typhoid fever. Immunity cannot be due to only antibodies. It is well known that hyper immune typhoid sera has no curative effect. Toba and Kabayashi (32) think that immunity in typhoid fever is mostly a tissue immunity. We think that histological studies on the liver after immunization or infection will give us better understanding on this problem.

There is a possibility of the effect of the different strains on the immunization of human beings. Thirty six different lysotype of *S. typhosa* have different surface structure. This may influence on the immunity. Le Minor stated to one of us (N.A.) that, "It is not possible to stop a typhoid epidemic in Saygun with a vaccine prepared in Paris. Felix, also, could not control an epidemic in Egypt with a vaccine prepared in England.". We agree with him on the prime importance of the strain.

We conclude that the problems regarding the production and control of typhoid vaccine are not settled yet and necessitates further investigations.

KUZULARIN AKCİĞERİNDEN İZOLE EDİLEN PLEUROPNEUMONİ GRUBU BİR MİKROORGANİZİM

Dr. Mesude AKTAN

Pleuropneumoni grubuna dahil Mikroorganizimler 1893'de Nocard-Roux tarafından keşfedildikten sonra bugüne kadar üzerinde bir çok araştırmalar yapılmıştır. Hareketsiz gram negatif olan bu mikroorganizimler pleomorflardır, boyandıkları zaman koma, kokoit, granül ve spiral şekillerini gösterirler. Filtreleri geçerler, virüslardan farkı olarak sunî gıda vasatlarında ürerler 191. Fıman için bazı müellifler bunları bakterilerden virüslara geçiş şekli olarak kabul etmektedirler (2).

Nomenklaturde henüz kat'i yeri olmayan bu mikroorganizimler bugüne kadar geçitli isimlerle muhtelif gruplara dahil edilmişlerdir (2). Nocard-Roux'dan sonra Dujardin-Baumetz bu organizmin morfolojisi üzerinde etüdler yapmış ve bunlara *Asterococcus mycoides peripneumonia* ismini vererek *Asterococcus* sınıfına dahil etmişlerdir (6). Nocard-Roux kokobasil şeklinde görümlükleri için *Cocobacillus mycoides peripneumonia* adını vermişlerdi (10). Frosch ise *Mycromyces peripneumonia bovis contagiosa* diye isimlendirmiştir (11). Wrolewski bir yazısında bu grup mikroorganizimlere *Mycoplasma peripneumonia contagiosa* (27), Turner, *Borrelomyces peripneumonia* (26), Sabin de *Bovimyces pleuropneumonia* (25) ismini vermişlerdir.

Görülüyor ki bütün müellifler bu mikroorganizimleri kendi görüş ve buluşlarına göre isimlendirmiş ve gruplandırmışlardır. Bu grup mikroorganizimlerden sığırların salgın peripneumoni âmilii ile 1923'de Brière ve Donatien'in keçisi ve koyunlardan izole ettikleri sarı Agalaxi (31) âmilii yalnız başına hastalık yapabildikleri halde diğer hayvan nevelerinden ve insanlardan izole edilenlerin hakiki âmil olup olmadıkları henüz münakaşa halindedir (2). Orskov 1931'de, Dienes de 1933—1934'de bu küçük mikroorganizimlerin bakterilerle sembiyot olarak yaşadıklarından bahsetmişler ve 1935 senesinde Klienberger, *Streptobacillus moniliformis* ile sembiyot yaşayan peripneumoniye müşahih bir mikroorganizim izole etmiştir (21). Bu buluştan sonrakiler ki bu mikroorganizimlerin bakterilerle iştiraki gittikçe geniş manada ehemmiyetle incelenmeye başlanmıştır. Dienes bu hususta yaptığı geniş araştırmalarda bir çok bakterilerin (*Shigella paradyenteriae*, *Hemophilus influenza*, *Flavobacterium, clostridium, streptobacillus moniliformis, Proteus, Salmonella typhosa* ve sairer bazı tetrisler altında penicillin veya şimik maddelerle *L. formna* geçebildiklerini göstermiştir (5). Klienberger bunları saf kültür olarak yetiştirdikini sonra bir zamanlar Frosch'un *Mycromyces* diye isimlendirdiği bu organizimlerin, bakterilerin involüsyon formu olmadıkları meydana çıkmış oldu (18). Bakterilerin *L. form*ları müteakip

neşvümenia imkânları dolayısıyla bir degenerasyon şekli değil bilakis hımsusi şartlarda meydana gelen bir neşvümenia safhası olarak kabul edilebilir (14). Salmonella Typhi muriumunun L formları ile farelerde oral yolla infeksiyon tevhit edilerek hayvan öldürülebilmiş ve bu ölen farelerin kalp kanından izole edilen saf kültür orijin kültürden elde edilen serumları iyi aglutinüe etmiştir (22). Son onbeş sene içerisinde sağlam ve hasta insanlarda bir çok vakalarda PPL organizim izole edilmiştir. Meselâ Morton ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 27 patolojik durumdaki Servix-Uteri materyalinin 19 undan, 5 Üretritis vakasının üçünden ve 26 normal tükürük numunesinin yirmisinden bu organizmi üretmişlerdir (11). Yine doğundan 26 saat sonra ateşi yükselen bir hastada Bakteriyemiye sebep olan PPL organizmi hastanın kanından ve servix uteri sekresyonundan izole edilmiştir (23). İnsanlarda Üretritis vakalarından izole edilen beş suşla tavşanlar hiperimmünize edilmiş bilâhare yapılan kruvaze aglutinasyonlarda bu suşların birbirlerine karşı antijenik yakınlığı görülmüştür (16). 140 insanda aspesifik Üretrit vakalarının % 26 sında (17), 86 Genito urinaires nongonococciqve vakasının % 64 ünde (4) üretildikleri gibi bir Staphylococciqve uretrit vakasında da uretrayı sodium fosfat ile alkalileştirdikten sonra patojen PPL organizim üretilmiştir (19). 1952—1953 seneleri arasında Saint-lazar hastahanesinde 110 suş izole edilmiştir (24). Aylarca süren prulent bir plörözünde ölen bir çocuktan aynı organizim izole edilmiştir (12). Memleketimizde ilk defa keçilerin salgın ciğer ağrısı vakasından (7), bilâhare kuzuların pleuropneumoni vakalarından (8) ve en son da 1954 senesinde koyunlarda yüksek nisbette aborta sebep olan koyun çiçek aşısından PPL organizim izole edilmiştir (1).

Materyal: 1954 senesi Temmuz ayında Karacabey harasında kuzularda pneumonia vakaları görülmüştür. Evvelâ Pasteurelladan şüphe edilerek hayvanlara pasteurella aşı ve serumu yapılmış ise de hastalık önlenememiş, bunun üzerine ölen veya agoni halinde kesilen beş kuzunun akciğerleri % 50 glycerin içerisinde bakteriolojik muayene yapılmak üzere elden gönderilmiştir.

Metod: Gayet iyi durumda olan bu materyeller evvelâ aerop ve anaerop çeşitli gıda vasatlarına ekilerek bakteriolojik muayeneleri yapılmış ise de spesifik bir âmîl bulunamamış ve vasatların ekserisinin ekimleri de steril kalmıştır. Mükerrer defalar yapılan ekimlerin ısrarla steril kalışı, koyunlarda pneumoni tevhit eden Lymphogranulama grubuna mensup bir virusun bulunması dolayısıyla (13) virus şüphesini hatırıma getirdiğinden mevzuumuzu bu hakımdan incelemek için bir taraftan hayvan tecrübeleri yaparken diğer taraftan da yumurta inküstasyonlarına başlanmıştır.

Hayvan tecrübeleri: Gelen akciğer materyallerinden birer parça steril kumla havanda ezildikten sonra serum fiziolojik ilâve edilerek bir nüddet kendi haline terk edilip dibe göken tortu bırakılarak üstteki mayiden bir kuzuya 3 cc. subkutan ve ikinci kuzuya da intranasal inoküle edildi. Deri altı yoluyla inoküle edilen kuzuda üç gün sonra vücut harareti yükselmeğe başladı, yalnız muntazam bir seyir takip etmeyip iki gün yükselip bir gün düşerek gayri muntazam devam etti. On iki gün sonra kesime tâbi tutulan bu hayvanda seksiyonda; akciğerlerde hafif bir kongestion

dalakta hiperplasiye görüldü, diğer organlarda hiç bir patolojik hal tesbit edilemedi. Diğer intranasal infekte edilen kuzuda ne feyir ve ne de haşka bir belirti görülmüdü. Kesilen kuzunun iç organlarından yapılan bakteriolojik muayenede spesifik hiç bir hastalık ânili bulunamadı. Bundan sonra tecrübi kesime tâbi tutulan bu kuzudan temin edilen materyellerle ikinci bir kuzuyu deri altı yoluyla ikinci bir tecrübi pasaj yapıldı. Bu defa bu kuzuda ıla yine vücut harareti yükselmeğe başladı ve aralıklı olarak gayri müntazam devam etti ise de üç gün sonra normale düştü. On dördüncü gün bu kuzu ıla kesime tâbi tutuldu, seksiyonda; akciğerlerin yalnız lobus apikalis-lerimle kongestiyon ve feykalâde hariz bir splenomegali vardı.

Fare ve kobay inokülasyonları: Çerik Karacabeyden gelen gerekse inokülasyonu yaptıktan sonra tecrübi kesime tabi tutulan kuzulara ait materyaller ile fare ve kobaylar mühtelif yollardan inoküle edildi, her bir materyal için ikişer kobay ve dörder fare kullandı. Bu hayvanlar da injeksiyondan on iki gün sonra öldürüldü, otopside; kobaylarda yalnız Bronchopneumonie ve farelerde yalnız dalakta hiperplasiye görüldü. Bu inokülasyonlara dört müteakip pasaj halinde devam edildi. Her defasında aynı otopsi afatı gösteren bu hayvanlarla spontan ölüm vukuatına rastlanmadı. Bu tecrübe hayvanlarının iç organlarının histopatolojik muayeneleri As. Vet. Akademisi Patoloji Şubesinde yapıldı (Şef: Dr. Reşat Akim). Histopatolojik muayeneleri yapılan bütün bu tecrübe hayvanlarında Splenomegali ve dalak hiperemisi, kobaylarla Bronchopneumoni afatı görüldüğü ve olayların hiç birisinde ne intranükleer ve ne de ekstranükleer inklüzyon cisimi ve hiç bir bakteriyel akkümüülasyonu görülmüdüğü mezkûr şubenin raporundan anlaşıldı.

Yumurtalı inokülasyonlar: Çerik Karacabeyden gelen materyallerden ve gerekse kobayların akciğerleri ve farelerin dalaklarından ufak parçalar kesilip, steril kumlu hayvanla ezildikten sonra fizyolojik tuzlu su ile karıştırılarak bir müddet kemli haline terk edildi. Dibe çöken kısımları bırakılarak üstteki süspansiyondan 2 cc. ayrılıp, diğer bakterileri öldürmek üzere Penicillin (500 C. I.) ve Streptomycin (% 10 dan 0.1 cc.) ilâve edilerek oda derecesinde yarım saat bırakılmayı müteakip, her birinden 5—6 günlük tavuk tavuk ambriyonunun vitellüs kestisine enjekte edildi. Her üç materyalden inoküle edilen yumurtaların hiç biri ilk inokülasyonda ölmedi. Kuzu materyalinden inokülasyon yapılan yumurtalar dördüncü, fare ve kobay materyalinden alan yumurtalar üçüncü kür pasajdan sonra ölmeye başladılar. Bu ölen yumurtalardan yapılan müteakip pasajlarla enjeksiyondan 3—4 gün sonra ambriyonlar müntazaman ve yüzde yüz ölmeye başladılar. Bu ölen yumurtalarda ambriyonda daima subkütan bir hemoraji görülmüyordu (Resim: 1).

Bu ambriyonların vitellüs kestelerinden yapılan preparatlar çeşitli virus boyalarıyla boyandığı halde inklüzyon cisimi görülmüdü. Ölen bu yumurtaların kontaminasyon hakından muayeneleri yapılırken, kanlı jelöza ekimleriyle, bir defasında bir platta 48 saat sonra gayet ince ve şeffaf cam kırıklarının andıran ve ancak lıpla fark edilebilecek kadar küçük koloniler görüldü. Bu kolonilerden yapılan preparatlar boyandığında hiç bir bakteriyel ânil tesbit edilemüdü, fakat bu olay bizi pleuro-

pneumoni grubu mikroorganizmlerden şüphe etmeye sevk etti. Bu defa ölen embriyonların vitellüs keselerinden serumlu triptozul petrilere ekerek % 10 Co₂ konsantrasyonunda 37 derecede 48 saat taraktık. Bu müddet sonunda petrilerin stereoskopik mikroskopta yapılan muayenelerinde sahada bol miktarda PPLÖ kolonilerini gördük.

İzole edilen mikroorganizmin vasıfları :

İzole edilen bu mikroorganizmin, serumlu-triptozlu petrideki kolonileri, tipik pleuropneumoni kolonileri idi. Etrafı yaygın ve ortasına çivi çakılmış gibi bir kaba-



(Resim : 1)

PPL grubu mikroorganizminin inokulasyonundan üç gün sonra ölen embriyoda subkutan lezyonları.

rıklık gösteren, vasata sıkıca yapışık ve ancak lupla veya mikroskopla fark edilebilecek kadar küçük kolonilerdi (Resim : 2).

Buyyon kültüründen yapılan preparatlar boyandığı zaman, 1200 defa büyütmeye ile dahi hiçbir karakteristik form tesbit edilemedi: ancak 4-5 günlük buyyon kültürünü yüksek devirde santrifüje ettikten sonra dipdeki depodan yapılan ince etalman Gimsa ile boyanmak suretiyle (preparat kuruduktan sonra 5 dakika alkole fikse edi-

lır; 2 cc. distile suya 3 damla Gimsa ilâvesiyle hazırlanan mahlûl içerisinde oda derecesinde bir saat bırakılır, yıkanır, kurutulur. koma, kokoit şekilleri tefrik edilebildi.

İzole edilen bu mikroorganizm, serumlu Marten bıyığında ancak iki pasaj üretilirdi, yaptığımız mükerrer tecrübelerde üçüncü bıyık pasajında üretilmeye muvaffak olunamadı. Bu mükerrer ekimleri ancak esas materyalden yapabiliyorduk.

Yumurta inokulasyonlarında ise; âmil yumurtaya adapte edildikten sonra sekiz yumurta pasajı devam ettirilebildi. (daha ileri pasajlar bazı sebepler dolayısıyla yapılamadı).



(Resim -- 2)

Kuzuların akciğerlerinden izole edilen PPL grubu mikroorganizmin serumlu agarda 48 saatlik kolonileri. (Stereoskopik mikroskop, 100X büyütme)

Ayrılan bu mikroorganizmin bazı antiseptiklere mukavemeti denendi. % 3 acide borique'e ve 1/1000 formol'e mukavim olduğu, 1/10.000 Merthiolat'da 18 saatte tamamen yok oldukları görüldü.

Dayanma müddeti üzerinde yaptığımız denemede; buz dolabının deepfreeze kısmında muhafaz edilen materyallerde âmilin sekiz ay müddetle yaşadığı ve üretilebildiği tesbit edildi.

Kültür vasatı :

Çalışmalarımıza başladığımız andan itibaren bu mikroorganizmi üretebilmek için karşılaştığımız müşkülât hizi muhtelif vasatlar üzerinde inceleme yapmaya sevketti. Bilindiği üzere bu âmil hülihassa çoğaltma vasatı olarak sulu vasat ister. ancak sulu vasatta çoğaldıktan sonra katı vasatlara geçirildikleri zaman kolaylıkla üreyebilirler. Bunun için sırasıyla serumlu buyyon, serumlu Marten buyyonu, karaciğer vasatı, Bira mayası ve dana kalli vasatını tecrübe ettik. Bu vasatlarla bu mikroorganizmin en kısa zamanda en bol ürediği vasatlar serumlu Marten buyyonu ve serumlu kalp vasatı idi. Bu iki vasatta da 48 saatte gayet hafif bir bulamıklık yaparak ürediği görülüyordu. Diğer vasatlar umumiyetle uygun bulmadı. Daha seri ve bol bir üreme elde edilebilmek için yapılan bir seri deneme neticesinde aşağıda yapılmış anlatılan hususî bir vasat elde etmeye muvaffak olduk. Bu vasatta elimizde mevcut bütün PPLO suşları 24 saat zarfında çok bol bir üreme gösterdiler. Bu vasatın esasını: normal heygür serumu katılmış dana kalli buyyonu ile Marten buyyonu teşkil etmektedir.

Vasatın yapılışı :

A -- Klasik usulle domuz niidesinden Marten buyyonu hazırlanır.

B -- İki veya üç dana kalbi, yağlarından temizlendikten sonra et makinesinde iki defa çekilir, lür kısma iki kısım su ilâve edilerek lür gece soğukta bırakılır, ertesi gün kaynatılır, süzülür. Bir litresine 2.5 gram tuz ve 10 gram pepton ilâve edilerek, PH sı 7.8—8.0 e ayarlanır, sterilize edilir.

C — A ve B vasatları müsavi miktarda karıştırıp bu karışma % 10 nisbetinde normal heygür serumu ilâve edilir ve Seitz EK dan süzülür, tüplere taksim edilir.

Netice ve müvakaşa :

Kuzuların akciğerlerinden izole edilen bu mikroorganizmin üçüncü, dördüncü kür pasajdan sonra yumurtaya adapte edilebilmiş, fakat yumurtaya adapte edilen bu suşun esas orijini ile virüsîyet bakımından ne derece farklı olduğunu hususunda, o esnada elimizde tecrübe hayvanı bulunmadığından bir deneme yapılamamıştır.

Kuzularla yapılan ilk denemede her iki hayvanda da termik reaksiyon görülünüşe de hastalığın karakteristik tallosu görülmemiştir.

Fare ve kobaylarda yapılan denemelerde ise hastalık âmilî bu hayvanlara nakledildiği halde ölüm görülmemiştir. Anilin bu hayvanlara nakline muvaffak olunduğın sonradan bu hayvanların iç organlarından yumurtaya yapılan inokülasyonlarda bu mikroorganizmin yumurtaya adapte edilmesiyle anlaşılmıştır. Bu mikroorganizimler üzerinde bugüne kadar yapılan araştırmalarda lür çok müellifler bunların yalnız başına patojen olup olmalarını hususunda fikir birliğine varamamışlardır. Bir çok

ları hmlarını her hangi bir yardımcı âmil ile sembiyoz halinde faaliyete imkân bulduğunu iteri sürmektedirler. Biz, dokuz aydan fazla bir zaman bu mevzu üzerinde yaptığımız çalışmalarda herhangi yardımcı bir âmile rastlayamadık, ve sekiz ay aynı materyalden yaptığımız mutatazın ekimlerinde daima aynı mikroorganizmi ürettik. Ertesi sene (1955) yine aynı mevsimde aynı mutakada ikinci epidemide de yine saf olarak bu mikroorganizmi ürettik.

Tecrihle kızularda her ne kadar hastalığın karakteristik patolojik tablosu görülmemişe de, fiyevr görülmesi, akciğerlerin hafif kongestiyonu ve dalağın hiperplazisi, aynı zamanda her iki epidemide de saf olarak bu mikroorganizmin izole edilmesi, bize hastalığın esas sebebi için bu âmil olduğu kanaatini vermektedir. Bununla beraber epideminin şiddetlenmesinde tâli sebeplerin de rolü olabileceği düşünülebilir.

Hülâsa

1954—1955 senelerinde Karacabay Harasında kızularda görülen Pnemmoni Epidemisinden saf Pleuropneumoni grubu bir Mikroorganizim izole edilmiştir. İzole edilen bu mikroorganizim yumurtaya adapte edilerek yedi—sekiz yumurta pasajı devam ettirilmiştir, yalnız serumlu martın hayvanında ancak iki pasaj itane edilebilmiş üçüncü pasajda üretilenmemiştir. Gelen materyallerden yapılan tecribelerde nesic iyerisinde bu mikroorganizmin sekiz ay yaşadığı görülmüştür. Tecrihi olarak kızularda yapılan inokülasyonlarda yalnız termik reaksiyon görülmüş ve fiyevr intermitans şeklinde devam etmiştir. Kohay ve farelerle yapılan inokülasyonlarda hayvanlar ölmemiş fakat oniki gün sonra öldürülebilir zaman kohaylarda Bronchopneumoni ve farelerde splenomegali görülmüştür.

İki sene üst üste aynı mevsimde görülen bu epidemiden aynı mikroorganizim saf olarak üretilmiştir. Dokuz aydan fazla yapılan çalışmalarda ne Bakteriye ve ne de virusi her hangi hayka bir âmile rastlamadığımız için hastalığın esas sebebi için bu mikroorganizim olduğu kanaatindeyiz. Bununla beraber epideminin şiddetlenmesinde tâli sebeplerin de rolü olabileceği düşünülebilir.

EINER AUS DER LUNGEN DER LAEMMER ISOLIERTE MIKROORGANISMUS VON DER PLEUROPNEUMONIE GRUPPE

Im Jahre 1954 — 1955 bei Laemmer in Landesgestüte Karacabay ist zwei mal Epidemische Lungentzündung ansgelrohen.

Aus den von diesen Fällen nach unserem Labor gasantde Materien wurde eine Mikroorganismus von 7PL Gruppe isoliert.

Es gelang uns, diese isolierte Mikroorganismen in bebrüteten Hühnerei überzutragen und 7—8 passagen fortzuführen, während wir sie im Serumhaltigen Martinboillon nur zwei passagen züchten können.

Es wurde auch festgestellt, dass die Materialien, die in der Kühltruhe aufbewahrt wird, acht Monate lang diese Mikroorganismen enthält.

Bei der Versuchslammer rief die subkutane Inokulation nur terminische (intermittierendes Fieber) Reaktion hervor.

Die Mäuse und Meerschweinchen sind durch die Inokulation von Erreger nicht gestorben, aber 12 Tage nach der Impfung vermittelte Meerschweinchen haben eine leichte Bronchopneumonie gezeigt, während die Mäuse, die ebenfalls 12 Tage nach der Impfung getötet wurden, zeigten nur eine massige Milzschwellung.

Aus diesen, zur selben Jahreszeit zweimal hintereinander ausgebrochene Epidemie wurde die gleiche Mikroorganismus isoliert und rein gezüchtet.

Weil wir in neunmonatlang andauernde Arbeiten keine andere Bakterien bzw. Viren, die als Symbiose mit dieser Mikroorganismus zusammenlebt, festgestellt haben; sind wir in Überzeugung gekommen, dass die Erreger dieser Epidemien lediglich diese PPL Mikroorganismen sind. Jedoch bei der Verschlimmerung der Seuche können verschiedene Faktoren vermutlich eine Rolle spielen.

LITERATÜR

- 1 — Aktan, M.; Güley, M.; Doğuer, M.
Türk Vet. Hek. Derg. sayı 108—109, S. 2463. 1955.
- 2 — Beller, K.
Berliner und Münch. Tierarztl. Woch. S. 274. 1953.
- 3 — Bridré, J.; Donalieu, A.
Annal de L'Inst. Pasteur, S. 925. 1925.
- 4 — Dienes, L. ve Berg, R.L.
Organisation Mondiale de la Santé WHO/VDT/121. 1951.
- 5 — Dienes, L.; Weinberger, J.H.
Bacter. Rev. v. 15—N. 4, S. 245. 1951.
- 6 — Du Jardin, Beaumetz, Borell, Jomlet.
Ann. L'Inst. Pasteur, Tom 24, S. 168. 1910.
- 7 — Durusan, R.; Doğuer, M.; Atilio, C.
Türk Vet. Hek. Derg. S. 94—95. 1952.
- 8 — Durusan, R.; Doğuer, M.
Türk Vet. Hek. Derg. S. 104—105, S. 2217. 1955.
- 9 — Kollé, W.; Hetsch, H.
Experimentelle Bakteriologie und Infektionskrankheiten, S. 613. 1952.
- 10 — Martzinovskí, E. J.
Ann. L'Inst. Pasteur, S. 914. 1911.
- 11 — Morton, H.E.; Smith, P.; Keller, R.
Amer. Jour. Publ. Health, 1952—42 (8) 913—925.
Biol. Abst. 25 (12) 1952.
- 12 — Müller, R.
Medizinische Mikrobiologie, S. 3119. 1950.
- 13 — Mckercher, D.G.

- Science No. 2994—S. 543—544. 1952.
- 14 -- Nelles, A.
Archiv für Hygiene und Bakteriologie B. 139 Heft 4. S. 294. 1955.
- 15 -- Nowak, J.
Ann. L'Inst. Pasteur. S. 1330. 1929.
- 16 -- Norman, M.C.; Saslav, S.; Kuhn, L. R.
Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med. 75(3)--718--720. 1950.
Biol. Abst. 25(6). 1951.
- 17 -- Nicol, C.S.; Edward, D. G.
Brit. Jour. venereal Dis. 29(3). 141--150. 1953.
Biol. Abst. 28(6). 1954.
- 18 -- Orskow, J.
Zbl. Bakter. Original. 141. S. 229. 1938.
- 19 -- Ruiter, M.
Organisation Mondiale de la Santé Org. Who/VDT/127. 1954.
- 20 -- Roberts, S.S.; Murray, E.G.D.; Hitchens, A.P.
Bergeys Manual of Determinative Bakteriology. S. 1289. 1948.
- 21 -- Seiffert, G.
Zbl. Bakter. Orig. Heft. 7. Band. 139. S. 336. 1937.
- 22 -- Schmauder, G.
Zeitschrift für Hyg. und Infektionkr. Band 141, heft 4. S. 404. 1955.
- 23 -- Silingerland, D.W.; Morgan, H.R.
Jour. Amer. Med. Assc. 150(3) 1303--1311. 1952.
Biol. Abst. 27(4). 1953.
- 24 -- Soecl, Cl.
Organisation Mondiale de la Santé. Who/VDT/123. 1954.
- 25 -- Sabin.
Bact. Rev. 5, 57, 1941.
- 26 -- Turner.
Path. and Bact. 41, 25, 1935.
- 27 -- Wroblewski.
Ann. L'Inst. Pasteur Tom 45. S. 94. 1931.

TIFO GEÇİRMİŞ, AŞILI VE NORMAL ŞAHISLARDA HEMAGGLUTINATION YOLUYLA ANTİKOR ARAŞTIRMALARI

Necmettin AKYAY ve Sadık GÖREN

Befik Saydanı Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü

İnsan veya koyun kammın antijen ya da antijenik fraksiyonlarla sanjibilizasyonu ve böylece özel antikorları meydana koymada faydalanılan hemagglütinasyon veya hemoliz testlerinin gün geçtikçe kullanılması genişlemiştir. Hemagglütinasyon metodu 1947 de *Kvogh, North ve Warburton* tarafından neşredildikten sonra, *Middelbrook ve Dubos* tüberkülozda, *Thomas ve Mennie* (1950) salmonella serolojisinde O antikor araştırmalarında hemagglütinasyonu kullanmışlardır (1). Bugün Vi antikorunu araştırılmasında bu test rutin bir hal almıştır.

Hemagglütinasyon testinde koyun veya insan O grubu eritrositleri kullanılmaktadır. Bazı hallerde insan serumu, nadir de olsa, koyun eritrositlerini heteroloğ olarak aglütine etmektedir. Bu mahzur dikkate alınrsa O grubu insan alyuvarlarının kullanılması tercih kazanmaktadır. Her zaman O grubu insan eritrositinin elde bulunmasının güçlüğü karşısında muayeneye tâbi her serum için sanjite edilmiş aynı kandan şahitler ikamesi suretiyle koyun eritrositleriyle çalışmanın mümkün olacağı bilindiğinden biz bu tecrübelerimizi koyun eritrositleri ile yaptık.

Hemagglütinasyon testi ile Vi antikorlarının mevcudiyetinin tahkikine imkân sağlanmış ve böylece çeşitli metodlarla hazırlanmış tifo aşısının tavşanlara zerkıyla bunların serumlarında Vi antikorunu araştırılması ve sonra salmonella suşlarının Vi ihtiva edip etmediklerinin tayininde bu metod kıran bir hal almıştır (2, 3).

H.H. Staack ve J. Spaun, kronik tifo portörlerinin hemagglütinasyon ile meydana çıkarılabileceğini 58 portör serumu ile yaptıkları tecrübelerde göstermişlerdir. Portörlerde müspetlik nisbetini % 87.9 bulmuşlardır (1, 5 den yukarı). Aynı yazarlar bu nisbetin aşıhlarda % 3.9 ve uşızlarda (normal farzedilen) ise % 7.4 olduğunu bildirmişlerdir (4).

Material ve Metod

Bu çalışmayı 96 normal, 53 aşılı ve 18 tifu nekahatinde bulunan şahısların serumu ile yaptık.

Normal kabul ettiğimiz serumlar Çorum'un Sungurlu İlçesinden Wassermann teamüli için Enstitümüze yollanmışlardır.

Aşılı şalışırlara ait serumlar ise Sağlık Okulu öğrencilerine ait olup bunların her yıl tifoya aşılıdukları kayden sabittir.

Tifo nekahatiudekilerin serumları ise, seriri ve serolojik tifo teşhisiyle yatmış ve tedavi görmüşlere aittir. Ankara Numune hastanesinden temin edilmiştir.

Normal kabul ettiğimiz şalışırlara ait serumların 48 i kadın ve 48 i erkeke aittir. Bunların aşılı olup olmadıkları hakkında bir fikrimiz yoktur. Bazılarının ve bilhassa yirmi yaşından yukarı erkeklerin hayatlarının herhangi bir safhasında tifoya aşılanmış olmaları pek muhtemeldir.

Hemaglitinasyon testini aşağıdaki usulle yaptık :

1 c.c. Vi ekstraktını 9 c.c. serum fisiyolojikle sulandırdıktan sonra buna üç defa yıkanmış koyun eritrositi paketinden 0.2 c.c. katılmış ve 37° derecede 2 saat bırakılmıştır. Sonra 2000 devir üzerinden 15 dakika santrifüj edilmiş, yüzen mayi atılmış ve aynı miktar serum fisiyolojik ilâvesiyle aynı şekilde yıkanmış ve bu ameliye bir daha tekrar edildikten sonra yüzen mayi atılmış ve depo üzerine 20 c.c. serum fisiyolojik konmuştur. Bu suretle % 1 sanzite koyun eritrositi süspansiyonu hazırlanmıştır.

Teste tabi tutulacak serumlar 1/5 sulandırılmış ve 50° derecede yarım saat inaktive edilmiştir. Sonra bundan 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 ve 1/320 dilüsyonlar hazırlanmıştır. Kalın tüplerine serum dilüsyonlarından 0.2 ve üzerlerine sanzite koyun eritrositi süspansiyonundan 0.1 c.c. ilâve edilmiştir. Her serumun 1/5, 1/10 ve 1/20 dilüsyonundan normal koyun eritrositi % 1 süspansiyonundan (aynı kamm) şahitler ikame edilmiştir. 37° derecede 2 saat tutulduktan sonra ve bir de ertesi sabah okumuştur.

Eritrositlerin sanzitasyonunda kullandığımız ekstrakt, Vi 1 suşu ile hazırlanmıştır. Bu suşda O ve H antijenleri eser haldedir. Ekstraktın hazırlanma usulü hakkında bundan önce bilgi verilmişti (6).

Passif proteksiyon testi sadece tifo nekahatiudekilerin serumu ile yapılmıştır. Serumlar 1/2 --- 1/128 sulandırılmış ve 0.5 c.c. derialtı yolu ile zerkden 48 saat sonra Ty2 suşunun 18 saatlik agar kültürünün 1 cc. de 200 milyon jermlik süspansiyonundan 0.5 c.c. 1100 milyont periton içine zerk suretiyle denenmiştir. İlk 14 saat içindeki ölümler hesaba katılmaz. Üç gün içindeki ölümler kaydedilir. Her dilüsyon için 5 fare kullanılmıştır.

Teerühlerden abının sonuğur

Tifo geçirmiş, aşılı ve aşısız kabul edilen şalışırlara ait serumlarla yapılan hemaglitinasyon neticeleri 1 numaralı tabloda gösterilmiştir:

Tablo 1 (Table 1)

Denenen serum miktarı (No. of sera tested)	1/5 ve daha yüksek hemaglut. veren (No. of positives, 1/5 or over)	% de nispeti (percentage positives)
Aşılı (Vaccinated) 53	5	9.43
Aşısız (Non vaccin.) 96	3	3.12
Tifo nekahatinde (Convalescents) 18	16	88.80

Aşısız olanlarda müspet hemaglutinasyon nispeti % 3.12 olduğu halde aşıhlarda bu nispet üç misli artarak % 9.43 olmuştur. Nekahatekilerde ise % 88.80 a kadar yükselmiştir. İkinci dikkati çeken nokta şu olmuştur: Aşılı ve aşısızlarda hemaglutinasyon titreleri 1/5 veya 1/10 olarak tespit edildiği halde, hastalık nekahatindekilerde müspetlik 1/160 a kadar görülmüştür. Bu 18 serumdan 2 si menfi hemaglutinasyon vermiştir. Menfilik nisbeti % 11.16 dur. 2 Numaralı tallo müspet 16 serumun titrelerine göre % sini göstermektedir:

Tablo 2 (Table 2)

Titreler (Titers of sera)	Müspet sayısı (No. of positives)	% de nispeti (Percentage of positives)
1/5	3	18.7
1/10	5	31.2
1/20	2	12.5
1/40	1	25.0
1/80	1	6.2
1/160	1	6.2

Passif proteksiyon testinden aldığımız sonuçlara gelince:

Hastalık geçirmişlerin serumu ile yapılan bu tecrübelerden (III serum) şu neticeleri kaydettik:

Tablo 3 (Table 3)

Serum dilüsyonu (Dilutions of sera)	% de koruma nispeti (Percentage of protection)
1/2	75
1/4	60
1/8	65.5
1/16	60
1/32	63.3
1/64	49.3
1/128	40

Koruma kudreti bakımından 1.4 dilüsyonla 1/32 arasında bir fark yoktur. Ancak 1/64 ve daha sonralarında bariz bir azalma müşahade edilmektedir. Gerek tifo aşılarının kontrollerinde, gerekse antikor araştırma hususunda passif proteksiyon iyi sonuçlar vermemektedir. *Jude* ve *Nicolle* normal serumlarını dahi bir miktar koruyucu kıymeti haiz bulunduğunu görmüşlerdir (7).

Münakaşa — 96 normal, 53 aşı ve 18 hastalık nekahatindeki şahsa ait serumlarla yaptığımız hemagglütinasyon tecrübelerinde aşı ve normal serumlar düşük titrelerde hemagglütinasyon vermiştir (% 3.12 ve % 9.43). Bu da bize aşılama ile insan kanında husule getirilen Vi antikorlarının hemagglütinasyonla ifşası kabil olmadığını göstermiştir. Her ne kadar aşılarından elde ettiğimiz müspet reaksiyon aşı ve normal serumların kabul ettiklerimize nazaran 3 misli fazla ise de, aşılandığı kayden sabit bir topluluktan alınan % 9.43 gibi düşük bir nispet haklı olarak bize bu kanaati vermiştir. Hastalık geçirmişlere gelince, burada durum tamamiyle tersinedir. Zira müspetlik nisbeti çok yüksekti (% 88.8). Hastalık nekahatindekilerde yüksek titrede Vi antikorları bulunduğu ve bu gibilerin portör oldukları, yani Vi ti tifo basili taşıdıkları şüphesizdir.

Hemagglütinasyon testi, tifoda hazı münakaşalı ve karışık hallerde teşhis vasıtası olabileceği gibi, portörlerin tespiti bakımından da kıymetli bir usul telâkki edilebilir. Okumadaki kolaylık ve Vi agglütinasyonundaki mahzurlar dikkate alınırca, hemagglütinasyonu rutin olarak kullanmakta fayda mülâhaza edilmiştir.

Passif proteksiyon testi, bize tatmin edici sonuçlar vermemiştir.

LİTERATÜR

- 1 — Spaun J. — Acta Path. et Microb. Scandinavica fas. 4 1951.
- 2 — Spaun J. — Acta Path. et Microb. Scandinavica 1953.
- 3 — Spaun J. — Acta Path. et Microb. Scandinavica 1952.
- 4 — Staack H.H. an Spaun J. — Acta Path. et Microb. Scandinavica 1953.
- 5 — Felix A. and Pitt M. — J. of Hyg. No. 1, 1951.
- 6 — Gören S. ve Akyay N. — Türk İjyeni ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, 1956.
- 7 — Jude A. et Nicolle P. — B. d'Imm. et Thérapie antinec. 1956.

HEMAGGLUTININ TITERS OF THE SERA OF NORMAL AND VACCINATED (WITH T. A. B.) PERSONS AND TYPHOID CONVALESCENTS

Necmettin AKYAY and Sadık GÖREN

Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Ankara, Turkey

We tested 167 sera coming from non-vaccinated, vaccinated persons and typhoid convalescents from both sex.

Technic — Sheep red blood cells were sensitized with the extract obtained from strain Vi 1. Tested sera were diluted 1/5, then inactivated. 1/5—1.320 dilutions of sera were used in the test.

Results — The results of hemagglutination tests are shown in Table 1 (See Turkish text). The rate of positive hemagglutination test among non-vaccinated people are 3.1 per cent. It is 9.4 among the persons vaccinated with T.A.B. vaccine. 88.8 per cent of the convalescent sera is positive.

The titres did not exceed 1/10 among vaccinated and non-vaccinated persons, but they are as high as 1/160 among convalescents. The titres of hemagglutination positive sera are given in Table 2 (See Turkish text).

Conclusion — Only a small fraction of vaccinated and non-vaccinated persons contains Vi — agglutinins in their sera in this country and the titers of hemagglutination tests are very low. On the contrary, the titres are very high among convalescents and the test is positive in all cases, but two. It should be noted that the diagnosis of this cases were confirmed only serologically, not culturally.

We think that Hemagglutination test is one of the best serological method in the diagnosis of typhoid fever and in the detection of carriers. Hemagglutination test is more superior than Vi — agglutination test.

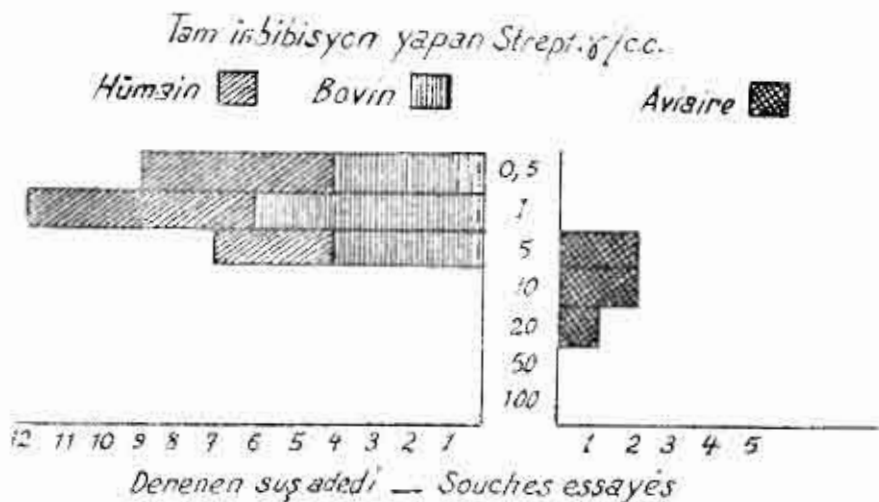
STREPTOMYCINO REZİSTANSIN MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS TİPLERİ İLE İLGİSİ

Dr. Aral GÜRSEL

Memleketimizdeki streptomycino rezistans vaziyetini tesbite ait çalışmalarımız sırasında (1) bir taraftan da bu rezistansın Mycobacterium Tuberculosis tipleri ile ilgisini de araştırmayı uygun göyerek, bu yönden de bazı incelemelerde bulunduk.

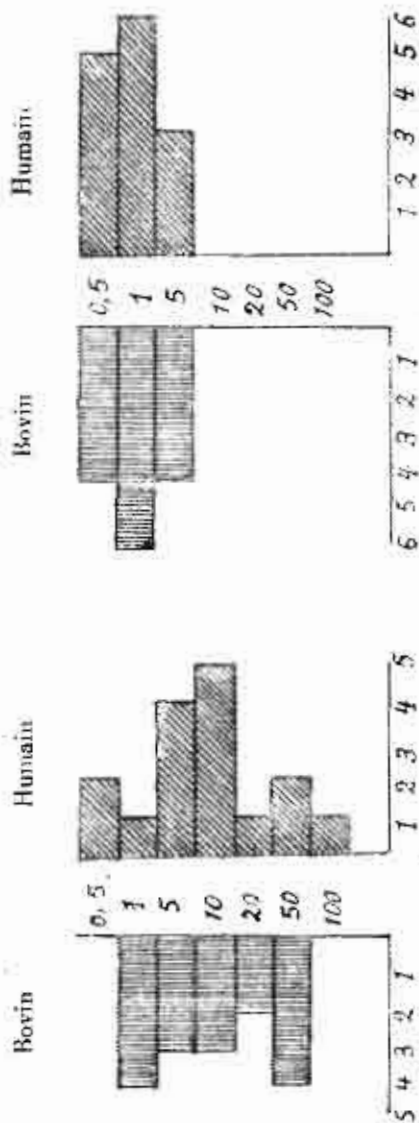
Bu hususu açıklayabilmek için, bir taraftan hiç streptomycini tedavisi görmemiş hastalardan teerid edilen Hümen ve Bovin tüberküloz suşları ile Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinden Sayın Profesör Hasan Başkayanın himmetlerine borçlu olduğumuz Avier tip tüberküloz suşları arasında mukayeseli rezistans deneyleri yaptık.

Tedavi görmemiş hastalardan teerid edilen 15 Hümen ve 15 Bovin tip suşla Fakülteden gönderilen 5 Avier tip (1 dişi tavuk, biri sülün meşeli) suş mukayese edilmiş ve elde edilen neticeler aşağıdaki 1 numaralı grafikten de anlaşılacağı üzere Hümen ve Bovin tip tüberküloz suşları arasında her hangi bir fark görülmediği halde Avier tip suşlar daima spontan olarak daha mukavim bulunmuşlardır.



Grafik 1 — Tedavi görmemiş hasta insan ve hayvanlardan teerid edilen Myc. Tuberculosis suşlarının streptomycine hassasiyetleri.

Tam inhibisyon yaparı (Taux d'inhibition) Str. 1/1cc *Tam inhibisyon yaparı (Taux d'inhibition) Str. 1/1cc.*



Denemenin süş adedi — Souches essayes

Gratik 2 — Tedavi gornitıs insanlardan teorad edilmiş Myc. Tüb. ocularum rezistansını mukayesesi

Gratik 3 — Tedavi gornitıs insanlardan teorad edilmiş Myc. Tuberculosisi süşlerinin rezistansını mukayesesi

Hümen ve Bovin tip Mycobakteriler streptomycine karşı çok hassas iken, Avier tip Mycobakterilerin ancak iki tanesi 5/cc. ye, 2 tanesi 1/cc. ye, 1 tanesi de 20/cc. ye mukavemet ettikleri görülmüştür. Bunların 1 numaralı grafiğimiz üzerinde sağdaki haneleri işgal ettikleri ve Hümen ile Bovin tip Mycobakterilerden tamamen ayrı bir seyir takip ettikleri görülür. Ancak muayeneye tabi tutmuş olduğumuz suş adedi gayet mahdud ve tavuk menşeli olduğundan bu hadisenin hakiki seyrini takibe imkân bulamadık. Mamafih aynı hadise 1947 yılında Youmans ve Karlson (2) tarafından da tetkik edilerek aynı sonuçlara vardıkları bildirilmektedir. Gene 1947 de Williston ve Youmans (3) in vitro rezistans teessüsü denemelerinde Hümen, Bovin ve Avier suşlar alarak, Avier suşların kısa bir zaman sonra 3500/cc. ye mukavemet kazandıklarını göstermişlerdir. Aynı tecrübelerde kullanılan Hümen ve Bovin tip suşlar ise bu zaman zarfında ancak 1000/cc. lik bir mukavemet kazanabilmişlerdir. Yine in vitro olarak Windström ve Swedberg (4,5) gerek streptomycin ve gerekse PAS ile aynı neticeleri almışlardır.

Streptomycin ile temasa gelmemiş muhtelif tip tüberküloz Mycobakterilerinde vaziyet böyle iken, bunların streptomycin ile uzun zaman tedavi edilmiş kimselerdeki mukavemet kazanma ihtimallerini tetkik için,

Takriben aynı miktarlarda streptomycin tedavisine tabi tutulmuş kimselerden tecrid edilmiş Hümen ve Bovin menşeli suşlar seçilerek mukayeseli olarak titre edilmişlerdir. Ancak, bu gruba streptomycinle temasa gelmiş Avier tip tüberküloz suşlarımız bulunmadığından ve in vitro alıştırılmış olanlar ile in vivo mukavemet kazananlar arasında farklar olabileceği düşüncesi bizi bu yola tevessül ettirmemiştir. Bundan dolayı bu grupta Avier tip tüberküloz suşları ile mukayeseler yapılamamıştır. Bu tecrübeye kullandığımız Hümen ve Bovin tip Mycobakterilere ait neticelerimiz Grafik 2 ve 3 de hiç tedavi görmemişlerle mukayese edilerek verilmiştir.

Böylece 1—35 gram streptomycin almış hastalardan tecrid edilen 16 Hümen ve 16 Bovin tip suş mukayese edilmiş ve bu iki tip arasında yukarıki grafiklerden de görüleceği üzere herhangi bir mukavemet farkı görülmemiştir.

Bu sahadaki çalışmalarımız çok mahdud olmakla beraber şu neticeyi çıkarabiliriz ki, pülmoner hastalardan tecrid edilen Hümen ve Bovin tip tüberküloz Mycobakterileri arasında gerek herhangi bir antibiotik tedavisi görmezden evvel, gerekse antibiotik tedavisine tabi tutulmuş hastalardan tecrid edilenden arasında streptomycine mukavemet bakımından herhangi bir fark yoktur. Avier tip Mycobakterilere gelince, bunlar streptomycine karşı daima daha mukavim olarak bulunmaktadır.

LİTERATÜR

- 1 — Dr. Aral Gürsel: Türk İjiyen ve Tecrübi Biol. Dergisi, 1955- XV—17.
- 2 — Youmans a. Karlson: Am. Rev. Tubc. 1947—55—529.
- 3 — Williston a. Youmans: Am. Rev. Tubc. 1947—35—536.
- 4 — Windström a. Swedberg: Nordisk Med. 1947—36—2148
- 5 — Windström a. Swedberg: Le Poumon. 1949—5—225.

LE DEGRÉ DE RELATION DE LA STREPTOMYCINO RESISTANCE AVEC LES TYPES DES MYCOBACTERIES

Dr. Aral GÜRSEL

Après avoir établis la situation de la streptomycino-resistance dans notre pays(1) il nous a paru intéressant de savoir le comportement de diverses types de *Mycobacterium Tuberculosis* envers la streptomycino resistance.

Nos premières essais ont été effectués avec des souches du type humaines, bovins et aviaires isolées de chez les sujets malades non traités et des souches aviaires isolées des poules. Les souches humaines et bovins d'expérience sont d'origine humaine, mais nous devons l'obligeance des souches aviaires à Mr. le Professeur H. Başkaya de la Faculté de Médecin Vétérinaire d'Ankara.

Ces expériences ont été exécuté avec 15 souches du type humaine, 15 souches du type bovin et 5 souches du type aviaires.

Comme on voit et d'après la graphique No. 1 du texte turc, nous n'avons pas pu trouver des différences de résistance entre les souches humaines et bovins, mais les souches aviaires se sont montrés toujours plus résistants.

La même expérience a été effectuée et sur les souches humaines et bovins isolées de chez les personnes traités par 1 à 35 grammes de streptomycine, graphique No. 2. mais malheureusement ici nous n'avons pu expérimenter des souches aviaires isolées de chez personnes traités par la streptomycine, car ils nous manquaient.

Ici aussi, comme on voit d'après la graphique No. 2 du texte turc, il n'y a pas de différences de résistance entre ces deux types de *Mycobacteries*.

LITERATURE

- 1 — Dr. Aral Gürsel: Türk Hyg.—Exp. Biol. 1955—XV—47.
- 2 — Youmans a. Karlson: Am. Rev. Tubc. 1947—55—529.
- 3 — Williston a. Youmans: Am. Rev. Tubc. 1947—55—536.
- 4 — Windström a. Swedberg: Nordisk Med. 1947—36—2148.
- 5 — Windström a. Swedberg: Le Poumon. 1949—5—225.

AT VE MERKEP SERUMLARI İLE KROS ANAFİLAKSİ DENEYİ

Sadık GÖREN — Mustafa DEMİRGİLLER

Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü

Deniz incirinin tantakülleri ekistresiyle tecrübe yapırlarken bununla zehirle-dikleri köpeklerden ölümden kurtulanlara aradan 8—10 gün geçince aynı ekistrenin ilk dozunun yirmi defa daha azını verdiklerinde bu hayvanların yıldırım çarpmış-casına ölnelerini müşahede eden Richet ve Portier (1902) bu olayı anafilâksi diye adlandırmışlardır.

Anafilâksi, bir bağışıklık olayı olup vagotonik sendromlarla kendini gösterir. Hümorol olmayıp sellüler kabul edilmiştir. Hücrede antijen-antikor çarpışması sonucu teşekkül eden histamin vagus üzerine tesir eder.

Tamamen spesifik bir olaydır. Yani organizma hangi anafilaktojenle sanzite edilmişse, anafilâksi gene onunla husule gelir.

Pratikde kötü ve korkunç tarafları olduğu kadar, bazı teşhislerde faydalar sağ-layan bu olay; insan, beygir, sığır, koyun, keçi, domuz, kedi, tavşan, kobay, fare, güvercin, tavuk, ördek, kaz, kaplumbağa, kurbağa gibi sıcak ve soğuk kanlı hayvan-larda denemiş ve müspet sonuç alınmıştır. Fıkrasız hayvanlardan tırtıllarda, böcek larflarında, solucanlarda da anafilaksi deneyleri muvaffakiyetle yapılmıştır. Yüksek bitkiler de hayvan serumu ile sanzite edilmiştir. Meselâ aynı serumun tekrar zer-kinde kuzu kulağının yaprakları sararmış ve kurumuştur.

Anafilaksi olayının arzettiği tehlike dolayısıyla pratik tababetin korku ve endişe içinde geçirdiği nızmı seneler bir çoklarının malûmudur. Desansibilizasyon jında da yetişinceye kadar beygirden başka sığır ve koyun da serum produktörü olarak kul-lanılmış ve evvelce beygir serumu alınmış bir şahısa ikinci bir serum zerki gerekti-ğinde ona öküz veya koyundan istihsal edilmişinin verilmesi bir kaide halini almıştır.

Enstitümüzde kuduz serumu produktörü olarak merkep kullanılmaktayız. Bu se-rumumuzun kudreti tamınığ yabancı enstitülerinkinden aşağı olmamakla beraber, son yıllarda sarfında müşahede edilen artış istihsalinin çoğaltılmasını işaretlüyorlu.

Bir şahısa hayatı boyunca bazan, muhtelif zamanlarda, çeşitli hastalıkların arti serumları zerkedilmesi icap edebilir. At ve merkep serumları arasında anafilaktojen yönüden bir fark mevcutsa sitatikoyun muhafaza şüphesiz faydalı, aksi halde çok se-rum istihsal edilecek atları bu işde kullanmada malzüm olmayacaktır.

At (*caballus*) ve merkep (*asiniens*) equidé familyasının birer alt nevileri ise de bunların serumlarının yekdiğerlerine karşı tevhit ettikleri hassasiyete dair objektif bir bilgiye sahip değildik.

Tecrübe normal at ve merkep serumlarıyla yapılmıştır. Deney hayvanı olarak 270—370 gramlık kobaylar kullanılmışlardır. Çeşitli hayvan neveleri arasında gerek sanzite olmalarındaki kolaylık, gerekse gösterdiği semptomların şiddeti ve aynı zamanda endividüel farkların azlığı yönleriüden anafilâksi deneyleri için kobay en uygun hayvan kabul edilmiştir.

Sansibilizasyon için birinci zerkde at ve merkep serumlarının, serum fisiyolojikle 1/100 sulandırılmışından deri altına 1 cc. zerkedilmiştir. Üç hafta sonra geen aynı serumların serum fisiyolojikle bu def'a 1/10 sulandırılmışından 0.2 cc. kalp içine zerk yapılmıştır. At serumu verilenler merkep serumu ile, merkep serumu zerkedilenler at serumu ile denemişlerdir. 2 ve en çok 7 dakikada sona eren ve vagotonik sendromlarla ölen kobaylardan:

At serumu ile sanzite edilip merkep serumu ile denenenlerde % 33, merkep sanzite edilip at serumu ile denenenlerde ise % 100 ölüm kaydedilmiştir.

Buna nazaran at ve merkep serumları aynı anafilaktojene sahiptirler. At serumu zerkedilmiş bir şahıs merkep serumuna, merkep serumu zerkedilmiş bir kimse at serumuna sanzite sayılır.

CROSS ANAPHYLACTIC REACTION IN GUINEA-PIGS SENSITIZED WITH HORSE AND DONKEY SERA

Sadık GÖREN and Mustafa DEMİRGİLLER

Refik Saşdam Central Institute of Hygiene, Ankara — Turkey

Guinea-pigs, weighing 270—370 gram were sensitized with the injection of 1 milliliter of 1/100 dilution of horse or donkey sera. Guinea-pigs, which were sensitized with horse serum, were injected with 0.2 ml. of 1/10 dilution of donkey serum three weeks after the horse serum was injected. One third of the animals died of anaphylactic shock within 2 and 7 minutes. Guinea-pigs which were sensitized with donkey serum, were injected with horse serum in the same way. All animals died of anaphylactic shock.

This demonstrated that horse and donkey sera contain the same anaphylactogenes. This is in accordance with theoretical considerations because horse (*caballus*) and donkey (*asiniens*) are in the same sub group of the family of equidae.