

1965 - 1969 YILLARI ARASINDA YURDUMUZDA POLİO İLE İLGİLİ LABORATUVAR ÇALIŞMALARI VE YAPILAN İNCELEMELER *

Dr. Neriman GEMİCİOĞLU **

Dr. Azmi ARI ***

Virus çalışmaları ve polio ile direkt olarak ilgili bulunan enterovirus izolasyon ve serolojik çalışmaları ülkemizde az incelenmiş konulardır. Yapılabilen bir kaç serolojik değerlendirme, polio aşı kampanyasından önce toplumda polio antikorlarının durumunu yansıtmaları bakımından ilginç olmuştur.

Memleketimizde, 1968 de klinik bulgulara göre 2026 polio vak'ası bildirilmiştir. Bunların % 28'inde laboratuvarda gaita tahlili yapılmış ve bunlardan % 40'ında virus izole edilmiş olup, bu virüsün Tip I virusu olduğu görülmüştür. Sıkı bir aşı kampanyasından sonra devam edecek rutin aşı uygulamasının, Avrupa memleketlerindeki gibi bir eradikasyonun başarılı sonuçlarını vereceği müşahade edilmiştir. Bu etüdler, memleketimizde diğer bütün bulaşıcı hastalıklarda olduğu gibi virüs hastalıklarının da ciddi bir problem olmakta devam edeceğini göstermiştir. Virus hastalıklarına karşı mücadelede başarılı olabilmek için iyi bir organizasyon ve devamlı bir tarama şarttır.

Giriş :

Mikroorganizmalarla meydana gelen enfeksiyonların tanınması, tedavi edilmeleri ve nihayet kontrol altına alınmaları aşağıdaki konuların bilimsel olarak incelenmesi sonucuna bağlıdır.

Bunların başlıcaları :

1. Etken olan mikroorganizmaların,
2. Makroorganizmaların,
3. Mikro ve makro organizma arasındaki ilişkilerin ve sonuncu olarak,
4. Çevre faktörleri ve ortamın tanınması ve her bakımdan incelenmesi, olarak sıralanabilir.

* Bu konu, Ankara Mikrobiyoloji Derneğinin 21 Mayıs 1970 tarihli özel toplantısında takdim edilmiştir

** Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Viroloji ve Virus Aşılı Şube Mütchassısı.

*** Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Viroloji Şube Müdürü.

Son 20 yılda tekniğin gelişmesi sonucu olarak bugün virusları tanımak ve bunlarla her türlü çalışmaları yapmak mümkün olabilmektedir. Ancak inceleme metodlarında yenilikler ve metodolojide teferruata girme gibi nedenlerle bu konuda çalışanların özel yetişmelere tabi tutulmaları ve özel becerilere sahip olmaları icap etmektedir. Buna ilâveten, güç ve geç yetiştirilebilen bu çeşit elemanın hizmette devamlı kalması da önemli diğer bir sorun teşkil eder.

Bunların yanında, elektronik ve komplike cihazların laboratuvarlarda yer aldığı ve çeşitli kimyasal ve biyolojik reagenlerin hazırlanması icap ettiği görülür. Böylece, konuların başarılı bir şekilde incelenmesi ancak hekim, laboratuvarcı, kimyacı ve akla gelebilecek çeşitli diğer bilim dallarında yetişmiş gurupların birlikte çalışmaları ile sağlanabilmektedir.

Yirminci yüz yılın ikinci yarısında sorunların bilimsel yoldan çözümlerinin benimsendiği hatırlandıktan sonra, polio gibi toplumu çeşitli yönleri ile etkileyen bir hastalıkla da savaşa aynı silahlardan faydalanma zorunluğunda olunacağına işaret etmek normal sayılmalıdır.

Sizlere çok mütevazı şartlar içerisinde, şubemizde poliomyelit teşhisi bakımından yapılan virus izolasyonu ve serolojik çalışmalarla ilgili bulgular tablo ve grafiklerle gösterilmeğe çalışılacaktır.

Burada, mütevazı imkânlarımızı ilerdeki gelişmelere ışık tutar nedeniyle açıklamada fayda görülmüştür.

Laboratuvarımızda Hela ve MS hücreleri devamlı üretilmektedir. Bunlar doku çalışmalarında Primer hücreler kadar viruslara hassas değildirler. Hâlen haftada bir olmak üzere insan Amniyon primer hücreleri çalışmaları devam etmektedir.

Virus izolasyonlarımız Hela ve MS hücrelerinde ve yeni doğmuş bebe farelerde yapılagelmektedir.

Polio nötralizasyonunda kullanılan immun serumlar tarafımızdan tavşanlarda hazırlanmaktadır. Non - Polio diğer immun serumlar dışardan getirilmeğe çalışılmaktadır.

Dış ülkelerden satın alınan virus aşıları devamlı hücre kültürlerinde titre edilmektedir. Bu usul standartlara uygun olmadıktan başka aşının tam titresini vermemekte ve ancak mukayeseli ve kaba değerlendirmelere imkân hasıl olmaktadır.

Laboratuvarımız memleket çapında araştırmalar ve hatta normal hizmetleri yapmağa personel, teçhizat ve hücre temini bakımın-

dan yeterli değildir. Gördüğümüz dış ülkelerde enterovirus laboratuvarları için :

- a. Vasat hazırlama ünitesi
- b. Hücre hazırlama ünitesi
- c. Standart virus ve immun serum ünitesi
- d. Aşı kontrol ünitesi

ve ilmi araştırmalar yapan bir çok diğer üniteler vardır. Mevcut şartlar içerisinde asgari standart ölçüleri sağlamış sayılamayız.

Virolojik laboratuvar çalışmaları her gün alanı genişleyen epidemiolojik araştırmalarla koruyucu hekimliğe ışık tutacak veriler kazandırmaktadır. Başarılı bir polio savaşı yurdumuzdaki enteroviruslar ve tiplerinin, sebep oldukları hastalık tablolarının ve mevsimlerle ilgili coğrafi dağılımlarının klasik bilgiler dışındaki özelliklerinin tanınması ile mümkün olabilir. Yalnız klinik tabloya dayanan bir teşhis ve paralitik vak'aların yetersiz ihbarı ile başarılı bir savaş düşünülemez.

Pikorna (enterovirus) viruslar gurubundan olup bugün polio virusları dışında daha 62 kadar Koksaki A'lar ve B'ler, Eko (ECHO) ve Reo viruslar vardır. Bunların bir kısmı, zaman zaman polio'ya benzer hastalık tablolarına sebep olurlar; İşin karışıklığı ve önemi ortadadır.

Yaptığımız yerli literatür incelemesi, geçmişte bu konudaki laboratuvar çalışmalarının çok sınırlı olduğunu göstermektedir. Bunlardan 1957'de S. Payzın ve 1960'da sırayla F. Serter ve Z. Berke ile A. Arı'nın yaptıkları ve yaptırdıkları serolojik taramalar 1963 - 1964 aşı kampanyalarından önce yurdumuzda polio antikorlarının dağılımı hakkında bizlere değerli fikirler vermişti. (1, 2).

1973'de yurdumuzda tertiplenecek olan, Avrupa Polio ve Diğer virus Hastalıkları ile Savaş Derneği simpoziumuna hazırlanmamız için önümüzdeki devreyi değerlendirmek sorumluluğundayız. Bu nedenle, bütün güçlerimizi polio'nun yurdumuzdaki epidemiolojik, klinik, laboratuvar, tedavi ve rehabilitasyon özelliklerini açıklığa kavuşturacak çalışmalara yönelmek olacaktır.

Materyal ve Metod

Bahis konusu çalışmalarda, çoğunluğu Ankara çocuk hastalıkları kliniklerinden ve yuvalardan gönderilen serum, dışkı, boğaz sürüntüsü (BS) ve beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi numunelerden faydalanılmıştır. Bunların dışında, başta İstanbul olmak üzere Polio

patlak ve epidemileri görülen illerden gelen benzeri numunelerde çalışılmıştır. Numune alıp göndermede aşağıdaki hususların iyi bilinmesi ve uygunlanması başarılı sonuç almanın ilk şartları arasındadır.

Numune, hastalığın uygun safhalarında ve müsait yerlerden optimal şartlarda alınmalı, soğukta ve en kısa süre içerisinde laboratuvara gönderilmelidir. 1 ve 2 nolu tablolarda lüzumlu bilgi ve ilişkiler güzel bir şekilde belirtilmiştir.

Bebe fare çalışmalarında, doku kültürü tüpleri yerine bir anenin bakımında 3 - 8 yavru luk guruplar halinde fareler kullanılır. Her gruba bir numune veya bir sulandırımından pi 0.1 ve bi 0.01 ml. enjekte edilir. Hayvanlar günde iki defa gözlenerek bulgular işaretlenir.

Doku kültürü çalışmalarında kullanılan metodlar lüzumlu görülen özellikleriyle aşağıya çıkarılmıştır.

NUMUNE ALINMASI VE EKİME HAZIRLANMASI :

1. Boğaz Çalkantısı :

Laboratuvarlardan, % 5 Dana serumu katılmış PBS (Fosfat Tamponlu tuzlu su) ihtiva eden steril şişe istenir. Ağız çalkalanıp temizlendikten sonra, bu sıvı 2 - 3 defa ağıza alınıp gargara yapılarak tekrar şişeye konur ve optimal şartlarda (+ 4°C) veya imkansa hemen laboratuvara gönderilir. Numuneler derhal çalışılmayacaksa — 20 °C de saklanır.

a) Çalışılacağı zaman numuneler eritilir, 3000 devirde 20 dak. soğukta santrifuje edilir.

b) Üstteki berrak sıvı alınarak antibiotik (500 ü Pen. + 500 mgr Strep/1 cc) ilâve edilerek 1 saat buzlukta bekletilir ve 2 - 5 doku kültürü tüpüne ekilerek 1 - 2 hafta takip edilir.

2. Dışkı :

Laboratuvardan verilen steril şişeye fındık büyüklüğünde (5 gr.) dışkı numunesi konur, hemen optimal şartlarda (+ 4°C buz kutusunda) laboratuvara gönderilir. Bekletilecekse veya laboratuvarda hemen çalışılmayacaksa — 20°C de saklanır.

a) Çalışılacağı zaman, şişeye 0.5 m. çapında 8 - 10 steril cam bilye ilâve edilir ve dışkı çalkalanarak homojenize edilir. Sonra PBS ilâve edilerek % 10 - 20 dışkı süspansiyonu hazırlanır.

TABLO 1

BAŞLICA ENTEROVİRUS HASTALIKLARI VE TEŞHİS YÖNÜNDEN NUMUNE ALMA HAKKINDA AÇIKLAMALAR

Virusun Adı	Hastalık Tablosu	Hastalığın Gelişimi	Alınacak Numuneler	Sevk ve Muhafaza	İzolasyon	Seroloji
POLİO 1 - 3	Menenjit, gastroenterit ateş, felç	öldürücü yahut geçici felç se-kelleri	Dışkı, BBS BOS 1. ve 2. serum	+ 4°C	DK +	KB, Nötürleme
Eko (ECHO) 1 - 34	Menenjit, eritem felç solunum sis-temi belirtileri	Orta veya hafif	»	»	»	HI Nötürleme
Koks. A 1 - 24	Herpanjin ishal, menenjit, felç, so-lunum sistemi belirtileri, adeno-pati, konjonktivit	»	»	»	Bebe fare +	Nötürleme
Koks. B 1 - 6	Epidemik miyalji, bebeklerde miyo-kardit, felç, kardiopati, gripal enfeksiyon	Kardiopati ve ansefalit öldü-rücü, orta ve-ya hafif	»	»	DK +	Nötürleme

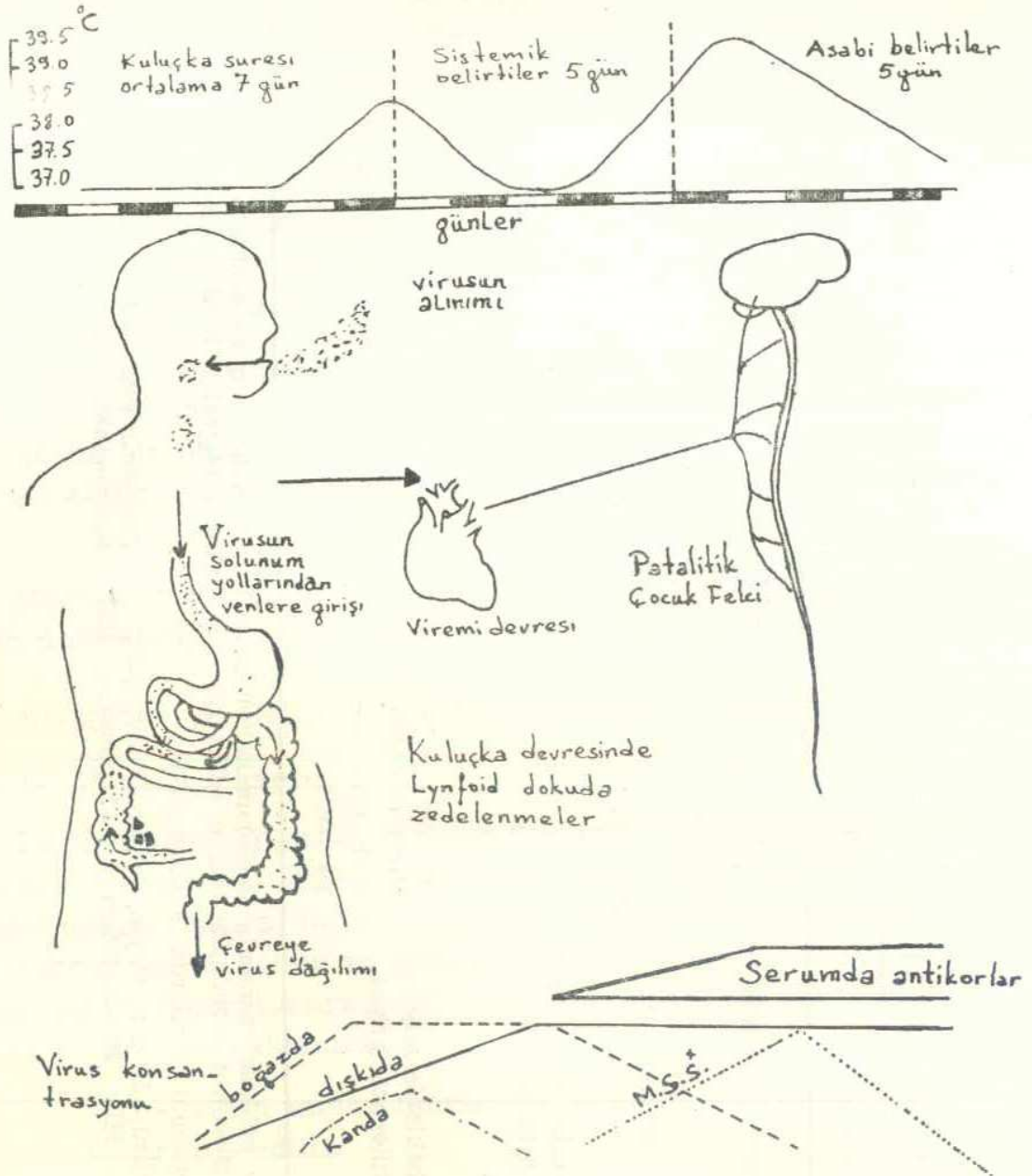
Not : — Numuneler bekletilmeden ve en kısa zamanda özel buz kalıplı sevk kutularında, tren ve otobüsle gönderilecekse bağaja, uçakla gönderilecekse terminale teslim edilmeli ve aldırılması telgrafıa bildirilmelidir.

— Laboratuvarı numuneler optimal şartlarda saklanmalıdır.

— BBS : Boğaz, burun sürüntüsü; BOS : Beyin, omurilik sıvısı; BS : Boğaz sürüntüsü; DK : Doku kültürü;

EY : Embriyonlu yumurta; HI : Hemaglutinasyon - İnhibisyon; KB : Kompleman birleşmesi.

TABLO 2



Çocukfelcinde Klinik Seyir ve Patojenезin Şematik Görünümü
(M.S.S. = Merkezi Sinir Sistemi)

b) Bu süspansiyon 3000 devirde 20 dakika soğukta santrifüje edilerek üstteki 1/3 kısım alınır ve 1 - 2 ml. olarak 3 tüpe tevzi edilir. Tüplerin ikisi — 20°C de saklanır, üçüncüsüne antibiotik (500 ü Pen. + 500 gr. Strep/ 1cc) ilave edilerek 1 gece + 4°C de bekletilir.

c) İkinci antibiotik ilâve edilen tüp, 3000 devirde 1 saat veya 10,000 devirde 20 dakika soğukta santrifüje edilerek üstteki berrak sıvı alınıp 2 - 5 doku kültürü tüpüne ekilerek 7 - 10 gün takip edilir. Üreme görülmeyen tüplerden 1 - 2 kör pasaj yapıldıktan sonra sonuç alınmış olur.

3. Sürüntü (Rektal veya boğaz - Burun) :

Laboratuvarından 2 ml. antibiyotikli Hanks vasatı ihtiva eden tüp ve steril eküvyon alınır. Eküvyon rektuma, boğaz veya burun mukozasına iyice bastırılarak ve emdirilerek numune alınır ve besi yeri bulunan tüpe konur. Optimal şartlarda laboratuvara gönderilir.

a) Laboratuvarda sürüntü pamuğu steril pensle 1 - 2 ml. lik enjektöre konarak tüpteki vasat birkaç defa çekilip boşaltılır.

b) 3000 devirde soğukta 45 dakika santrüföje edilir.

c) Üstteki sıvıdan 2 - 5 doku kültürü tüpüne ekim yapılarak 1 - 2 hafta takip edilir.

İZOLE EDİLEN VİRUSUN TİTRASYONU :

1. İncelencek virusun PBS ile on kat sulandırımı (10⁻¹ - 10⁻⁷) hazırlanır.

2. Bunlar oda derecesinde fazla bekletilmeden her sunlandırımından 2 - 10 doku kültürü tüpüne 0.1 veya 0.2 ml. ekim yapılır, üzerlerine 0.9 veya 1.8 ml. besi yeri ilâve edilerek incelenir. Hemen ekilemiyecekse 4°C da bekletilir.

TİTRENİN HESAPLANMASI :

Genellikle Tissue Culture Infective Doze₅₀ (TCID₅₀) Cyto Pathologic Effect (CPE) üzerinden hesaplanır. Bunun için Reed ve Muench veya Körber metodlarından biri kullanılır. Örneğin 0.1 ml. olarak her dilüsyondan 6 tüp ekilmişse Reed ve Muench metodu üzerinden hesaplama aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Virus Dilusyonu	Oran CPE Tüp/Normal Tüp	CPE tüp sayısı	Normal Tüp sayısı	Toplamlar			
				CPE	Normal	Oran	%
10 ⁻¹	6/6	6	0	24	0	24/24	100
10 ⁻²	6/6	6	0	18	0	18/18	100
10 ⁻³	6/6	6	0	12	0	12/12	100
10 ⁻⁴	4/6	4	2	6	2	6/ 8	75
10 ⁻⁵	2/6	2	4	2	6	2/ 8	25
10 ⁻⁶	0/6	0	6	0	12	0/12	0
10 ⁻⁷	0/6	0	6	0	18	0/18	0

FORMÜL :

$$\begin{aligned}
 \frac{\% 50 \text{ Üstündeki sayı} - 50}{\% 50 \text{ Üstündeki sayı} - \% 50 \text{ altındaki sayı}} &= \frac{75 - 50}{75 - 25} \\
 &= \frac{25}{50} = 0.5
 \end{aligned}$$

TCID₅₀ 10⁻⁴ ile 10⁻⁵ arasındadır.

10⁻⁴ yazılır, formül ile bulunan fark ilâve edilir.

SONUÇ : Titre edilen virusun TCID₅₀'si 10^{-4.5}/0.1 ml. X 10 = 1 ml. için 10^{-5.5} dir.

POLİO BAKIMINDAN VIRUS TİPLENDİRİLMESİ :

1. Virus sulandırımı : Titresi evvelce yapılmışsa 100 TCID₅₀ kullanılır. Titre bilinmiyorsa ekimden itibaren 24 saatte CPE yapan virustan 10³, 2 - 3 günde CPE yapandan 10², 4. gün CPE yapan virustan ise 10¹ dilüsyonları kullanılır. Virus çok zayıfsa bir kaç pasaj yapılarak titresi yükseltilmeye çalışılır.

2. Standart polio immun serumlar 10⁴ TCID₅₀ virusu nötralize edecek kudrette olmalıdır. İnaktive edilen standart immun serumlar aşağıdaki şemaya göre karıştırılarak tüplere 0.3 ml. olarak tevzi edilir ve üzerlerine 0.3 ml. virus dilüsyonu ilave edilerek bir kaç defa sallanır, 1 saat oda derecesinde bekletildikten sonra doku kültürü tüplerine ekilir.

POLİO İMMUN SERUMLAR :

(T₁ + T₂) + virus = Üreyen virus T₃ olacaktır.

(T₂ + T₃) + virus = » » T₁ »

(T₁ + T₃) + virus = » » T₂ »

(T₁ + T₂ + T₃) + virus = virus ürememesi gerekir.

Her testte deneye virus titrasyonu, immun serum ve doku kültürü kontrolleri eklenir.

POLİO ANTİKORLARI ARANMASI BAKIMINDAN DOKU KÜLTÜRÜNDE NÖTRALİZASYON TESTİ :

I. Sabit virus + çeşitli serum dilusyonları :

1. Serumun hazırlanması : Serum 56°C de yarım saat inaktive edildikten sonra 4 kat üzerinden PBS ile sulandırımı yapılır ve tüplere 0.3 ml. dağıtılır.

2. Virusun hazırlanması : Testte standart virusların 100 TCID₅₀ 0.1 ml. sulandırımı kullanılır. Evvelce titre edilerek stokta bulundurulmuş standart viruslardan yeteri kadar virus sulandırımı hazırlanır, tüplere serum miktarı kadar dağıtılır. Tüpler birkaç defa sallanarak 1 saat oda derecesinde bekletildikten sonra her tüpten 2 şer doku kültürü tüpüne 0.2 ml. olarak ekim yapılır.

Virus sulandırımının hesaplanmasına örnek :

Virusun $TCID_{50} = 10^{-5.5}/1$ ml. ise; $TCID_{50}/0.1$ ml. = $10^{-4.5}$ ve bunun 100 misli ise $10^{-2.5}/0.1$ ml. olacak ve sulandırım testte kullanılacaktır.

Nötralizasyon deneyinde doku tüplerine 0.2 ml. ekim yapılır. Virus titrasyonlarında ise 0.1 ml. ekim yapılır. ve 0.9 ml. vasat ilave edilir. Okuma her gün yapılır; kullandığımız virus dilusyonları kontrollerinde üreme + + +, + + + + olduğunda test değerlendirilir. Çift serum tetkiklerinde (10 - 15 gün ara ile alınan serumlarda) 4 kat artma taze bir hastalık işaretidir.

II. Sabit serum ÷ çeşitli virus dilusyonları ile de nötralizasyon yapılabilir.

POLİO OLMAYAN ENTEROVİRUSLARIN KARIŞIM (pool) SERUMLARLA TİPLENDİRİLMESİ

1. Virus hazırlanması : İncelencek virusun titresi evvelce yapılarak hesaplanmışsa, testte 100 $TCID_{50}$ dozu kullanılır. Titre bilinmeyen hallerde polio da belirtildiği gibi virus sulandırımları hazırlanır ve testte kullanılır.

2. İmmun serum karışımlarının hazırlanması : Spesifik ve monovalan Eko ve Koksaki immün serum karışımları şöyle hazırlanır : Bunun için, nihai olarak 0.1 ml'de 50 nötralizan ünite antikor bulunacak surette sulandırılan monovalan serumlardan 3 ile 7 si bir arada toplanır. Bu arada her immün serumun 2 ayrı karışımında bulunması sağlanmıştır. Spesifik monovalan immün serumlardan titresi düşük olanlar bu testlerde kullanılmazlar. Bunlardan tek tek karşılaştırmalarda faydalanılabilir. Serum karışım şeması, memlekette sık raslanan virusları kapsayacak şekilde ve laboratuvarın imkânlarına göre hazırlanabilir (8).

	Sıra numarası	Serum karışımları					
		8	9	10	11	12	13
Serum karışımları	1	E_1	E_2	E_3	E_4	E_5	Cox A ₉
	2	Cox B ₁	E_6	E_7		Cox B ₅	E_8
	3	E_9	E_{10}	E_{11}	E_{12}	E_{13}	Cox A ₇
	4	E_{14}	E_{15}	E_{16}	E_{17}	E_{18}	E_{19}
	5	E_{20}	E_{22}	E_{23}	E_{24}	E_{25}	E_{26}
	6	E_{27}	Cox B ₂	E_{29}	E_{30}	E_{31}	E_{32}
	7	Cox B ₃	Cox B ₄	Cox B ₆			

3. Esas deney : Her biri 3 - 7 karışımından ibaret olan şemaya göre 13 tüpe değişik serum karışımlarından 0.3 ml. dağıtılır. Bunların üzerine incelenecek virusun hazırlanan sulandırımından 0.3 ml. ilâve edildikten sonra tüpler sporda sallanarak karışımlar sağlanır ve oda derecesinde 1 saat bekletilir. Sonra bu tüplerin her birinden ikişer doku kültür tüpüne 0.2'şer ml. ekim yapılır. Deneye incelenmekte olan virusun titrasyonu, serum ve hücre kontrolleri ilâve edilir. Virus kontrolleri üç - dört artı üreme gösterdiklerinde sonuç okunur ve virusun tipi şemaya göre isimlendirilir. Her virusun antiserumu iki ayrı tüpte bulunduğuna göre incelenen virusu teşhis edebilmek için üremenin bu virus antiserumunun bulunduğu iki karışımında üremenin görülmemesi icap eder.

Örneğin, incelenmekte olan virus Koksaki B₃ olduğunda, bu virusun antiserumunun bulunduğu 2 ile 12 No.lu tüplerden ekilen, doku kültürlerinde virus üremesi önlenmiş olacaktır. Böylece tipledirme yapılmış olur. Bütün doku kültürü tüplerinde üreme tesbit edilen hallerde incelenen virus burada ismi geçen antiserumlar dışında bir enterovirus olabilir.

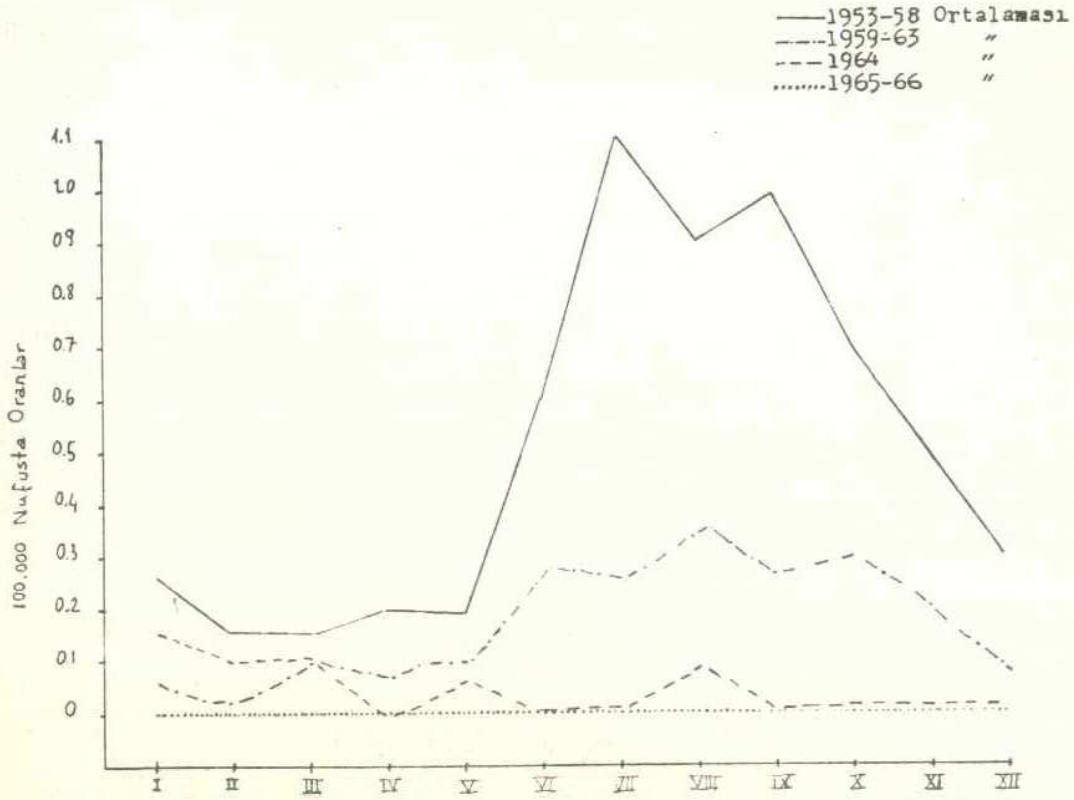
Bulgular

Tablo 1 ve tablo 2 de, çocuk felcinde klinik seyir patojenez, virusun çeşitli organlarda bulunma zamanları ve nihayet antikor gelişimi şematik olarak ve birbiriyle olan ilişkileri dile getirilerek güzel bir şekilde gösterilmiştir. Bu cetvel ve şema klinikci ve laboratuvarcının birlikte çalışmalarında kıymetli olacak verileri gözlerimizin önüne seriyor ve bilinenleri derleme özelliğini taşımaktadır. Tablo 1'de uygun numune alma ve laboratuvara gönderme ile yapılacak test hakkında özel bilgiler verilmiştir.

Tablo üç ve dört, bir batı ülkesinde 1953 - 1962 ve 1966 yılları arasında iyi bir klinik ve laboratuvar teşhisi ile ihbar sistemi sayesinde hastalığın yaz aylarında çoğalışı ve iki yılda bir bariz artmaları dile getirilmiştir. Sonra Salk ve arkasından Sabin aşılarının başarılı bir şekilde uygulanışının müsbet neticelerini görürüz. 1953'den itibaren hastalık âşikar bir şekilde azalmış ve Sabin aşısı tatbikatından sonra hemen hemen görülmez olmuştur.

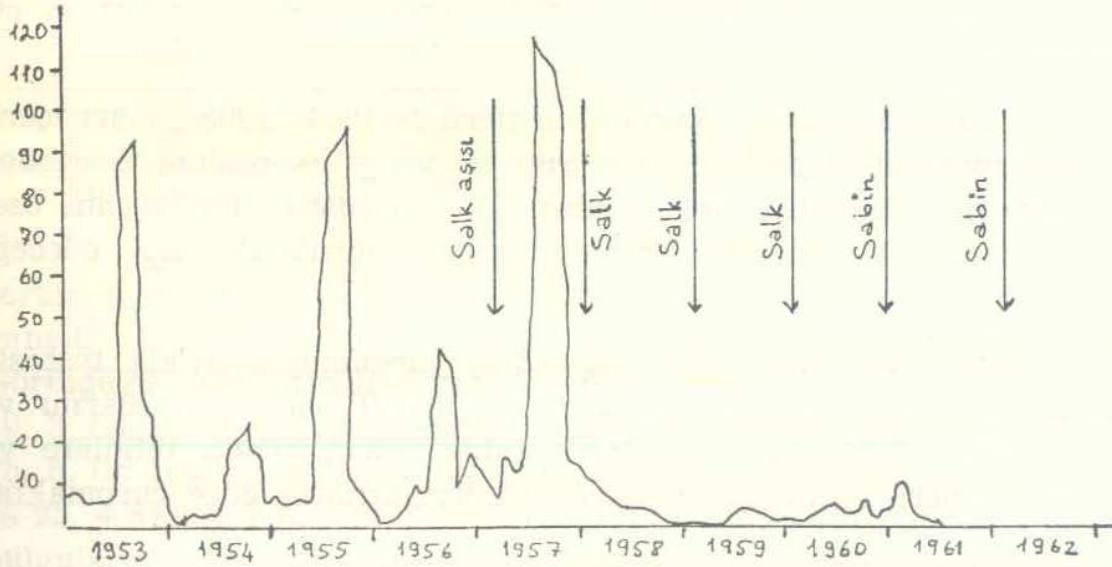
Tablo - 5 bize, toplumda enterovirus sirkülasyonu hakkında fikir vermektedir. Bunun için, muntazam bir şekilde dışkı örnekleri toplamak ve bunlarla laboratuvarlarda çalışmak icap etmektedir. Yukarıdaki tabloda böyle bir çalışmanın sonuçları görülüyor. Polio ve diğer enteroviruslar toplumda dolaşmaktadır. Sabin aşısı uygulama-

TABLO 3



Bu tabloda; Düz çizgili grafik 1953-58 yılları arasında çocuk Felci, yaz vak'a artış ortalamalarını göstermektedir. Salk ve Sabin aşılarının iyi ve başarılı uygulanmasından sonra yaz çoğalması olmadıktan başka, en altta görüldüğü gibi Polio vak'aları görülmez olmuştur.

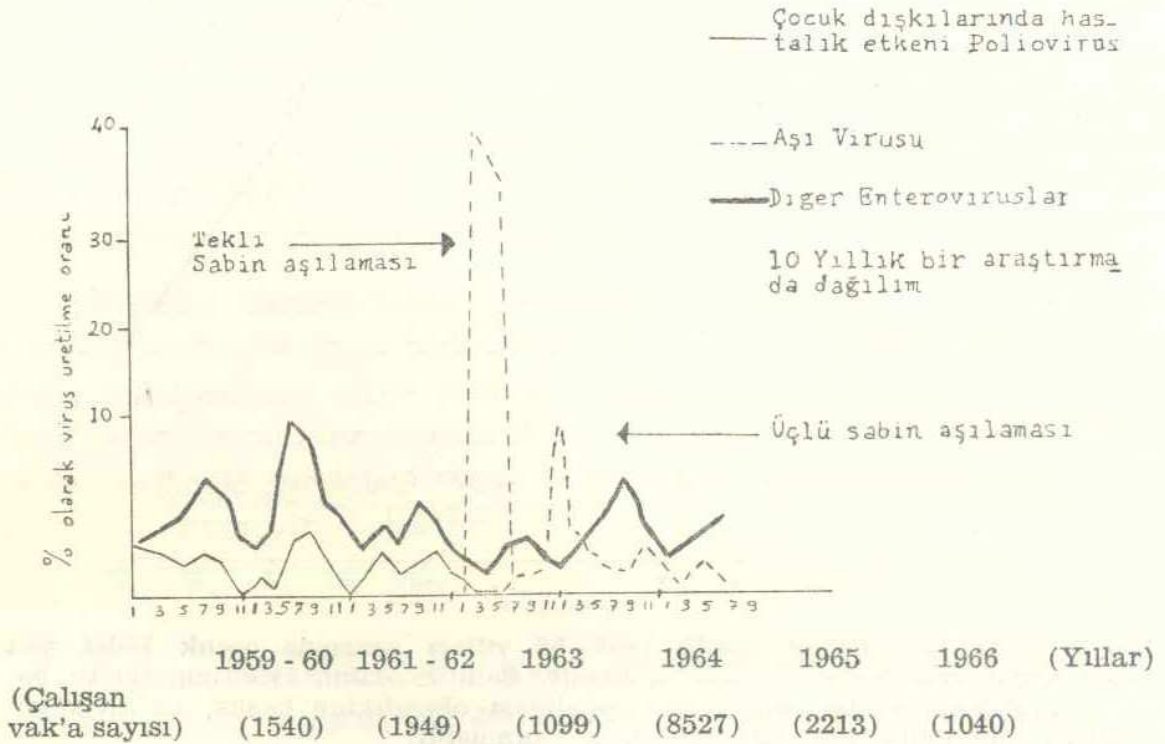
TABLO 4



1953-1962 yılları arasında bir batı ülkesinde Polio vak'alarının dağılışı kaydedilmiştir. Her iki yılda bir yaz aylarında vak'alar çoğalmıştır. 1958'den sonra Salk ve Sabin aşı uygulamalarını takiben yaz aylarında vaka yükselmeleri ortadan kalktığı gibi genel bir eradikasyon da dikkati çekmektedir.

sından sonra, çocuk felci virusları önce azalmış ve sonra hemen hemen raslanmaz olmuştur. Buna mukabil, diğer enterovirusların izolasyon sıklık ve çeşitlerinde bir değişme olmamıştır. Bu arada aşı virusu izolasyonları görülmektedir.

TABLO 5



Bir batı ülkesinde, 8 yıl süreyle çocuk dışkılarında çocuk felci dahil enterovirusların üretilme sıklığı görülmektedir. Burda Çocuk Felci virusları canlı aşı uygulamalarından sonra azalmış ve hatta yok olmuştur. Diğer enterovirus izolasyonları aynen devam etmiştir. Grafikte ayrıca aşı virusu izolasyonu görülmektedir.

Tablo 6'da, başlıca Avrupa ülkelerinde 1964 - 1968 yılları içerisinde ihbar edilen polio vaka sayısı ve beş yıllık toplam üzerinden 100.000 nüfusta yıllık ortalamaları gösterilmiştir. Türkiye'nin özel durumu dikkat çekicidir. Üzerinde önemle durulmak icap edeceği aşıkardır.

Tablo 7'de 1959 - 1969 yıllarında yurdumuzra klinik teşhisle ihbar edilen çocuk felci vak'alarını, 100.000 nüfusa oranlarını ve ölümlerini görüyoruz. Bulgularda tablo 5'deki klasik bilgilere ve 1963 den beri uygulanan aşılamalara uymazlıklar göze çarpmaktadır.

Tablo 8 1964 - 1969 yıllarında Ankara belediye hudutları içerisinde değişik ünitelerde üç defa polio aşısı yapıldıkları, oldukça doğru olarak ifade edilen 5 ayrı grupu temsil eden 286 çocukta çift

TABLO 6

AVRUPA BÖLGESİNDE 1964 - 1968 YILLARINDA İHBAR EDİLEN POLİO VAK'A SAYILARI VE 100.000 NÜFUSA ORANLARI

Memleket	Senelere göre Polio Vak'a sayısı						100.000 Nüfuslu Yıllık Ortalama
	1964	1965	1966	1967	1968	Toplam	
Bulgaristan	3	—	7	...	...	10	0.04
Fransa	583	280	219	108	79	1229	0.50
Yunanistan	198	11	3	54	...	266	0.77
İtalya	841	254	147	104	...	1346	0.65
Portekiz	236	290	13	—	...	539	1.45
Romanya	25	16	18	...	...	59	0.10
İspanya	195	62	237	336	151	981	0.62
Türkiye	244	629	1975	814	2026	5688	3. 5
Yugoslavya	20	13	117	95	16	261	0.26

TABLO 7

TÜRKİYEDE, SON ONBİR YIL İÇERSİNDE İHBAR EDİLEN POLİO VAK'ALARI, ORANLAR VE ÖLÜMLER

Yıllar	İhbar edilen Vak'a sayısı	100.000 de oran	Ölüm adedi *
1959	365	1.6	15
1960	475	1.4	13
1961	374	1.3	7
1962	1.193	4.2	45
1963	954	3.2	22
1964	244	0.8	11
1965	629	2.0	14
1966	1.975	6.1	98
1967	814	2.6	27
1968	2.026	6.3	92
1969	384	1.2.	13

* Ölüm oranı % 2 -5.

serum numuneleri ile yapılan serokonversiyon çalışma sonuçlarını yansıtmaktadır. Tabloda ortalama değerler verilmiş bulunmaktadır. Görüldüğü gibi, tiplere karşı serokonversiyon oranı sırayla % 49. 3, 56. 9 ve 38. 1 dir. Buna mukabil bu oranlar üç tipe karşı % 28. 6, iki tipe karşı 29 ve bir tipe karşı 18. 8 bulunmuş ve nihayet, % 23. 4 vak'ada hiç bir tipe karşı antikor teşekkül etmemiştir. Bu bulguların nedenleri malasef çok faktörlüdür. Burada, aşının laboratuvarından uygulama anına kadar sevk ve muhafaza ile tatbikatının konuya eğilme bilgi ve alâkası ayrı ayrı rol oynamaktadır. Aşının mevsim ve verilme ayları ayrıca önem taşımaktadır.

TABLO 8

ÜÇLÜ POLİO AŞISININ 3 DEFA UYGULANDIĞI ÇOCUKLARDA POLİO
ANTİKOR KONVERSİYON DURUMU (1964 - 1969) 5 GRUP
286 AŞILI ÇOCUKTA ORTALAMALAR.



Tablo 9'da, 1965 - 1969 yılları içerisinde laboratuvarımızda incelenen numunelerden, toplam olarak 214 enterovirus izole edildiğini görüyoruz. Bunların yarısından çoğu (126) Tip/1 polio virusu, 20 si Polio Tip/2 ve 14 dü Polio Tip/3 dür. Enterasan olan diğer bir bulgu paralitik hasta çocuklardan sağlanan numunelerden hemen hemen 4'te bir oranında polio dışı enteroviruslar izole edilmiş olmasıdır.

TABLO 9

1965 - 1969 YILLARINDA LABORATUVARIMIZDA İZOLE
EDİLEN VİRUS TİPLERİ VE DAĞILIMI

Yıl	İzolasyon	Polio T/1	T/2	T/3	Polio olmayan
1965	34	18	13	1	2
1966	19	11	1	—	7
1967	9	4	1	1	3
1968	121	82	3	8	28 (5 Cox. B ₅) (1 Cox. B ₂)
1969	31	11	2	4	14 (1 ECHO ₂₃)
Toplam	214	126	20	14	54

Tablo 10'da, 1968 epidemisi ile ilgili olarak paralitik vak'aların yurdumuzda başlıca büyük illerde yayılışı ile incelenen numune sayıları ve izole edilen virus hakkında bilgi derlemiş bulunuyoruz. İncelenen numunelerden virus izolasyon oranı % 40, klasik bilgilere uygunluk göstermektedir.

TABLO 10

1968 YILINDA VİLAYETLERE GÖRE POLİOMYELIT VAK'A, ÖLÜM, TETKİK EDİLEN NUMUNE VE İZOLE EDİLEN VİRUS ADETLERİ

İller	Vak'a	Ölüm	Tetkik edilen numune	İzolasyon *
İSTANBUL	579	41	126	62
ANKARA	154	14	104	34
ADANA	97	1	6	2
AFYON	64	4	5	3
KAYSERİ	55	3	10	3
DİĞER	41	1	7	2
İLLER	1036	28	45	16
TOPLAM	2026	92	303	122
		(% 4.54)	(% 14.9)	(% 40)

* İzolasyonlar : Gelen dışkı adedine göre % 40 Vak'a adedine göre % 6.

Tablo 12'de, Şişli Çocuk hastanesinden 326 paralitik vak'ının 132 sinde 43 dışkı, 6 çift serum ve 107 tek serum temin edilip gönderilmiştir. Ankara, Sami Ulus Çocuk Hastanesinden, 93 paralitik çocuktan 32 dışkı, 59 beyin omurilik sıvısı (BOS) ile 25 çift serum ve 45 tek serum gönderilmiştir. Tek serumlarla herhangi bir çalışma yapmanın değeri olmadığından bunlar testlere alınmamıştır. Görüldüğü gibi birinci hastaneden gelen numunelerin 88 i aşısız olup

TABLO 11

ŞİŞLİ ÇOCUK HASTANESİNDE 326 VAK'ANIN KLİNİK GÖRÜNÜM VE FATALİTE ORANI (1968)

Yaş	Adet	Klinik görünüm	Vak'a adedi	Total %	Ölüm adedi
0 - 2 ay	4	Spinal (Etraf felci)	253	77	0
3 - 5 ay	12	Bulbospinal (Landry)	39	12	32
6 - 8 ay	42	Bulber ve kafa çiftleri	2	0.65	1
9 - 11 ay	67	Bulbospinal ansefalitik ve			
1 Yaş	66	kafa çiftleri	2	0.65	1
2 »	93	Bulbospinal, ansefalitik	3	0.95	3
3 »	21	Bulbospinal, kafa çiftleri	6	1.85	2
4 »	12	Spinal ansefalitik	11	0.35	0
0 - 4 Yaş	317	Kafa Çiftleri, spinal	13	4. 5	0
5 - 9 Yaş	9	Kafa çiftleri (VII)	7	2. 5	0
Toplam	326	326 Vak'ada 39 ölüm görülmüştür. Fatalite oranı % 11.9 Erkek çocuklarda % 14.4, Kızlarda % 8.5			

TABLO 12
1968 EPİDEMİSTİ, ANKARA İSTANBUL LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

Kurum adı ve bilgiler	İzolasyon Çalışmaları			Serolojik Çalışmalar (Çift serumlarla)		
	Polio		Polio olmayan	Titre yük. P. T/1	Aynı titre	Menfi Kırlı
	T/1	T/2	T/3			
Şişli Çocuk Hastanesi Hasta sayısı 326 Numune sayısı 132	16	1	1	5 (2 Cox. B ₃ 3 tiplendiril- memiş)	2	2
—	—	—	—	—	—	—
Samı Ulus Çocuk Hastanesi Hasta sayısı 93 Numune sayısı 32	4	—	—	4	7	1
—	—	—	—	—	—	—

Numune Gönderilen Çocuklardan :

Şişli Çocuk Hastanesinden

a. Aşısız : 84

1 Aşılı : 33

2 Aşılı : 2

3 Aşılı : 2

b. 107 Tek serum

Samı Ulus Çocuk Hastanesinden

a. 45 Tek serum

b. 59 B.O.S. - İzolasyon yok

hastalananlardan ve 33 ü 1 defa aşılananlardan alınmıştır. 43 dışkı numunesinden izole edilen 23 virusun, 16'sı tip 1 polio virusu, 1'i tip 2 ve 1'i tip 3 olarak tiplendirilmiş ve 5 adet nonpolio enteroviruslar tecrit edilmiştir.

1968 epidemisi sırasında, yakından işbirliği kurduğumuz Şişli çocuk hastanesinden, bu hastaneye müracaat edip tedaviye alınan çocuk felçli vak'aların çeşitli özellikleri tablo 11'de bir araya getirmiştir. Hastalık büyük çoğunlukla takriben % 90 iki yaşındaki çocuklarda görülmüştür. Klinik olarak spinal şekle çok raslanmış sonra sırayla bulbospinal yaygın ensefalit tabloları görülmüştür. Ölümünün büyük çoğunluğu bulbospinal vak'alar arasında olmuştur.

Tablo 12'de iki büyük çocuk hastanemizden, 1968 epidemileri sırasında laboratuvarında incelenmek üzere gönderilen dışkı ve çift serum numuneleri ile çalışma sonuçları görülmektedir.

Çift serumlardan alınan sonuçlar olumlu sayılmayacak görünümündedir. Sami Ulus hastanesinden gelen 32 dışkıdan 8 virus izole edilmiştir. Bunların 4'ü Tip/1 polio virusu ve diğer 4'ü diğer enteroviruslardandır. Çift serumlardan alınan sonuçlar burada daha olumludur. 7 vak'ada tip bir antikor yükselmesi salgının tip bir virusla meydana geldiğini teyit edici anlam taşımaktadır. 59 BOS'den virus izole edilmeyişi, numunelerin geç alınması neticesi olabileceği gibi BOS'nun virus izolasyonu bakımından pratik bir değeri olmadığını göstermektedir.

Sonuç, Tartışma ve Özet :

Virus çalışmaları ve polio ile direkt olarak ilgili bulunan enterovirus izolasyon ve serolojik çalışmaları ülkemizde az incelenmiş konulardır. Yapılabilen bir kaç serolojik değerlendirmeler, polio aşı kampanyasından önce toplumda polio antikorlarının durumunu yansıtmaları bakımından ilginç olmuştur. Bu yazımızda 1965'den bu yana yapılabilenlere değinilmiş bulunmaktadır.

Tablo 3' 4, ve 5'de, polionun Avrupa topluluğundaki özelliklerini yansıtmak ve başarılı aşı uygulamalarının müsbet sonuçlarının nasıl olabileceğini aşıkâr bir şekilde gözlerimizin önüne koymaktadır. Buna mukabil yurdumuzda, 1963 yılından bu yana uygulanan polio aşılamalarından üçlü aşının üç defa verildiği çocuklarda bile yeterli bir serokonversiyon elde edilememiş bulunmaktadır.

Örneğin, üçlü aşı 286 çocuktan % 28. 6 sında üç tip polio virusuna karşı antikor teşekkül etmiş olmasına karşılık, % 23. 4 ün-

de hiç antikor teşekkül etmemiş bulunması çok manidar ve ilginçtir. (Tablo 8)

Tablo 9'da 1965 - 1969 yıllarında izole edilen 214 enterovirustan 53'ünün polio olmadığı göz önünde bulundurulursa felçli vakaların % 24. 5 inde polio dışı virusların rol oynadığı görülür.

1968 yılında ülkemizde toplam olarak 2026 vaka polio klinik teşhisi ile ihbar edilmiştir. Bunların % 28 inde incelenmek üzere laboratuvara dışkı numunesi gönderilebilmiş ve bu numunelerin % 40 ında virus izole edilerek epidemi ve patlakların Tip/1 polio virusu ile meydana geldiği görülmüş ve anlaşılmıştır. (Tablo 10).

Tablo 12'de Şişli çocuk hastanesinde klinik polio teşhisi ile yatırılan vak'aların büyük çoğunluğunun aşısız oldukları gerçeği ortaya çıkmıştır.

Tablo 6'da, görüldüğü gibi 1964 - 1968 yıllarında Avrupa ülkelerinde en yüksek polio oranı Türkiye'de izlenmiş bulunuyor.

Tablo 5'de, ciddi birer aşı kampanyası organizasyonu ve uygulaması ve sonra bunu numtazam ve devamlı bir tatbikat izlemesi halinde, batı ülkelerinde tesbit edildiği gibi bir eradikasyon takip etmektedir. Ancak non - polio virusların toplumda sirküle etmekte devam edecekleri, bu çalışmalarda ortaya çıkmıştır.

Batı ülkelerinde gözlenen yukarıdaki başarılı sonuç virus laboratuvar çalışmalarının bilinçli bir şekilde kullanılması ve elde edilen sonuçlardan faydalanma sonunda alınmıştır. Dünya Sağlık Teşkilâtı uzmanları yapılacak çalışmaların planını aşağıdaki şekilde derlemiş ve özetlemişlerdir.

1. Aşılamalardan evvel, aşılama süresince ve aşılanmaları takip eden devrelerde epidemiolojik bilgi toplama ve devamlı bir tarama (surveillance) faaliyetlerinin sürdürülmesi ve toplanan numunelerle virus laboratuvar çalışmalarının yapılması; bu faaliyetlerin klinik, epidemiolojik ve laboratuvar üçlüsüyle koordine bir şekilde yürütülmesi, (yeterli bir teşkilâtlanma) bilinçli bir yürütme,
2. Evvelce iyi bir şekilde immunize edilen bir bölgede, toplumda sağlanan immunité seviyesinin muhafazası; Bunun için : a) Yeni doğan bebeklerin primer aşılanmaları ve, b) Oyun çocukları rappellerinin sağlanması,
3. Vak'a görülmeyen yerlerden endemik bölgelere giren yolcuların derhal aşılanmaları,
4. Aşıda mevcut tip 3 polio virusunun daha potent bir suşla değiştirilmesi,

Yukarıdaki izahlar, ülkemizde daha uzun yıllar problem olmakta devam edecek, başta virutik hastalıklar olmak üzere bütün bulaşıcı hastalıklarla savaşta, kaliteli bir örgütlenmenin lüzumunu ortaya koymaktadır. Epidemiolojik ve laboratuvar tarama (surveillance) çalışmalarının yürütülmesi ve bunlardan alınacak müsbet bulgu ve bilgilerin ışığı altında başarılı savaşlar tertiplenmesi gerçeği, bütün açıklığı ile önümüze serilmiştir.

Burada, zincirin önemli bir halkası olan virus laboratuvarları ve çalışmaları üzerinde bir nebze durulacaktır. Bu günkü haliyle virus laboratuvarımız, sayısı çok az ve çalışma sahası ve imkânları ölçülüdür. Başta personel konusu, sonra cihazlanma ve nihayet reagenler hazırlama ve yapılamıyanların dış ülkelerden getirtilmesinde çıkmazlar vardır.

Çözümler aranırken, devlet ile Üniversiteler ve dernek çalışma, gayret ve imkânlarının en verimli olacak şekilde koordine edilmesi-ne büyük ihtiyaç olacaktır.

1973 yılında ülkemizde tertiplenecek olan Avrupa Çocuk Felçi ve Diğer Virus Hastalıkları ile Savaş Derneği simpoziumu hazırlıklarına girerken yukarıda söz konusu edilen derlemeye özellikle yer verilmek icap edecektir. Bütün ilgililerin tam bir anlayış içerisinde güç birliğine girmelerini ve bu simpoziuma çalışmalar getirmelerini yürekten temenni ediyoruz.

Teşekkür : Bu çalışmalarda hizmeti geçen bütün arkadaşlara ve özellikle Laboratuvar Teknisyeni İ. Yörük ve Laborant R. Sagır'a teşekkürlerimizi bildiririz.

Summary

LABORATORY STUDIES AND INVESTIGATION * RELATED TO POLIO IN OUR COUNTRY BETWEEN 1965 AND 1969

Dr. Neriman GEMİCİOĞLU **

Dr. Azmi ARI ***

Virus studies and enterovirus isolations and serologic works that are directly related to polio, are subjects very little dealt with, in our country. The very few serologic evaluations performed in the

* This subject has been presented at the monthly scientific meeting of Ankara Microbiology Association on May 21, 1970

** Virus Department of Refik Saydam Institute, Sıhhiye/ANKARA

*** Virus Department of Refik Saydam Institute, Sıhhiye/ANKARA

country, have been very interesting as they reflect relative position of the polio anticors of the community, before the polio vaccination campaign. In this article effort is made to put forth what has been done in this field up now since 1965.

In 1968 a total of 2026 cases of polio, by clinical findings, has been reported in our country. The stools of 28 % of these cases were subjected to laboratory analysis, and found that in % 40 of the analysed stools the virus is isolated which showed that the epidemic explosion was due to type I polio virus.

It is observed that eradication of the epidemic is possible, in the same way as in European countries, if a tight campaign of vaccination is followed by a continued routine application of the vaccine.

These studies have proved that diseases of virus origin like all other infectious diseases, will continue to be a serious problem for years to come. In order to be successful in this struggle against the virulent diseases, good organisation, and continuous surveillance is essential.

KAYNAKLAR :

- 1 — PAYZIN, S. : Poliomyelitis ve son yenilikler ile Türkiye'deki durum. Türk Hij. ve Tec. Biol. Derg. 1957, Vol. XVII, Sayı 1-2, Sayfa 145.
- 2 — BERKE, Z. ve ARI, A. : Türkiye'nin Akdeniz ve Doğu Karadeniz bölgesinde 0-9 yaşları arasında olan çocuklarda poliomyelitis antikor seviyesi. Türk Hij. ve Biol. Derg. 1960, Vol. XX, Sayı 3, Sayfa 342.
- 3 — RADOVANOVIC, M. R. : Present Epidemiological Situation of Poliomyelitis in Europe (1964-1968). Europ. Assoc. Poliomyelitis and Allied Diseases Vol. XII, XII th Symposium, Bucharest, 4-7 May, 1969
- 4 — DROSDOW, S. G. : The contemporary Poliomyelitis Situation in Europe. Europ. Assoc. Poliomyelitis and Allied Diseases Vol. XI, S. 30 XI th Symposium, Rome 9-12 Oct., 1966.
- 5 — PETRILLI, F. D. and GROVARI, P. : Present State of the Epidemiology of Poliomyelitis in Liguria (İtalya). Europ. Assoc. Poliomyelitis and Allied Diseases Vol. XI. XI th Symposium, Rome 9-12 Oct., 1966.
- 6 — HORSFALL and TAMM : Viral and Rickettsial Infection of Man, Fourth Edition, 1965.
- 7 — American Public Health Association, Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Infection, Third Edition, 1966.
- 8 — SOHIER, R. : Diagnostic Des Maladies A Virus, 1964.