

VIRUSU İZOLE EDİLEN ÜÇ POLIOMYELİT VAK'ASI

Dr. Gültekin ALTAY *

Dr. Sevgi GÖZDAŞOĞLU **

Klinik olarak poliomyelit təşhisini konan 2 vak'a ile Guillan Barré təşhisini konan bir vak'ada dışkından poliovirus izole edildi. İzolasyon ve tip tayini He - La hücre kültüründe yapıldı. İzole edilen polioviruslardan ikisinin tip I, diğerinin tip II olduğu tespit edildi. Hastalardan birine daha önce bir doz polio aşısı yapılmıştı.

Masrafı olmasına karşılık, kullandığımız şişe kültürü teknikinin virus izolasyon oranını artırdığı kanısındayız.

Polio antiserumlarını temin ettiğimiz Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Virus Şubesine teşekkür ederiz.

Giriş

Poliomyelit, değişik şekilde bir ateş, yukarı solunum yolu veya mide - barsak belirtileri ile başlayan genel bir virus enfeksiyonudur (1). Gizli enfeksiyondan, vital merkezleri tutarak asfiksi ile ölüm nedeni olan ağır enfeksiyonlara kadar çok değişik klinik formları mevcuttur (2, 3).

Nukleik asit komponenti olarak RNA ihtiva eden, Picorna grubundaki poliovirus'un (4), memleketimizde yer yer sporadik vak'a-lara veya küçük epidemilere sebep olduğu bir gerçekertir. Virus izolasyon ve idantifikasiyon laboratuvarlarının yok denecek kadar azlığı ve var olanlarının da yetersiz olanakları nedeniyle klinisyene tanıda faydalı olabilmekten uzak oluşu, bir çok viral enfeksiyon gibi poliomyelitin de təşhis edilememesine sebep olmaktadır.

Bu makalede 1970 yılı içerisinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hastalıkları kliniğine yatırılan ve Enfeksiyon hastalıkları Kliniği Virus Laboratuvarında virusu izole edilen üç poliomyelit vak'ası sunulmaktadır.

Materiel ve Metod

Hastalar : Vak'a 1 : M. A. 13 aylık, erkek. Protokol No : 3157/70 Altı gün devam eden yüksek atesten sonra, önce sol bacak-

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği Doçenti.

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültei Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği Baş-Asistanı.

ta, sonra sol kolunun tutmaması şikayet ile yatırıldı. Fizik muayenede fontanel 1×1 cm. açık, tonsiller hiperemiktı. Servikal polimikrolenfadenopati mevcuttu. Sol ayakta tonus azalması ve ayak ucunun düşük olduğu tespit edildi. Yattıktan bir gün sonra karında iki taraflı rektus felci husule geldi.

Vak'a 2 : B. A. 7. aylık, erkek. Prot. No : 2968/70. Dört gündür devam eden ateş ve ayaklarına basamamak şikayeti ile yatırıldı. Fizik muayenede fontanel $2 \times 1,5$ cm. açıktır. Hafif bir ense sertliği vardı. Her iki bacakta flask paralizi tespit edildi. Tendon refleksleri alınamıyordu.

Vak'a 3 : E. A. 18 aylık, Kız. Prot. No : 2883/70. Beş gündür devam eden ateş, sol ayağının tutmaması, sayıklama şikayetleri ile yatırıldı. Fizik muayenede her iki alt ekstremite hareketsizdi. Tendon refleksleri alınamıyordu.

Virus Izolasyonu

Hastalarda ekiyyon ile alınan dışkı, 100 Ü/ml. penicillin, 500 mikrogram/ml. streptomycin, 5 mikrogram/ml. amphotericin B içtiva eden HBSS (Hanks'ın tomponlanmış tuzlu su solüsyonu) içeresinde eritildi. İki saat oda derecesinde bırakıldıktan sonra 2000/dk. devirde 5 dk. santrüfüj edildi. Üstte kalan kısım, bir damla thioglycolate vasatına ekildikten sonra, He - La hücreleri hazır olduğundan ekilmek üzere $—30^{\circ}\text{C}$ de saklandı. Thioglycolate vasatında üreme olduğu takdirde, üreyen bakteriye uygun antibiyotik He - La hücrelerine toksik olmayan konsentrasyonlarda materyele ilâve edilerek işlem tekrar edildi. $3,5 \times 8,5$ cm. lik düz yüzeyi olan şişelerde tek tabaka halinde üremiş 5 günlük He - La kültürleri, 2 % dana serumu içtiva eden HBSS ile bir defa yıkandıktan sonra iyice aspire edildi. Her hasta materyeli için iki şişe kullanılmak üzere her şişeye 0.2 ml. materyel ekildi. Materyelin bütün hücre sathı ile teması sağlandıktan sonra 36°C lik ütevde 45 dak. inkübe edildi. Bu arada, her 15 dk. da bir materyel şişe dibinin bir kösesinde toplanmış tekrar bütün hücre yüzeyine yayılmıştır. 45 dk. sonunda hücrelerin toksik etki nedeniyle herhangi bir değişikliğe uğrayıp uğramadıkları mikroskop altında gözden geçirildikten sonra şiselere 9 ml. MEM * ilâve edildi ve inkübasyona devam edildi. (++++) CPE (sitopatolojik etki) görülen kültürler her üç vak'ada da 48 saat zarfında teşekkül etti. 3 defa dondurulup eri-

* Minimal Essential Medium, Eagle.

tildikten sonra 2000/dk. devirde 5. dk. santrüfij edilerek üstte kalan kısım ampullere alındı. Nötralizasyon testi yapılmışcaya kadar — 30°C de saklandı.

Nötralizasyon testi : Lennette ve Schmidt (5) in tarif ettileri nötralizasyon testi küçük değişikliklerle tatbik edildi. Üretilen virus 1 : 100 oranında HBSS içerisinde sulandırıldıktan sonra 6 tüpte şu preparasyonlar hazırlandı :

1. tüp : 0.1 ml. virus + 0.1 ml. polio tip 1 antiserumu + 0.1 ml. tip 2 antiserum + 0.1 ml. polio tip 3 antiserum
2. tüp : 0.1 ml. virus + 0.1 ml. polio tip 1 antiserumu + 0.2 ml. HBSS
3. tüp : 0.1 ml. virus + 0.1 ml. polio tip 2 antiserumu + 0.2 ml. HBSS
4. tüp : 0.1 ml. virus + 0.1 ml. polio tip 3 antiserumu + 0.2 ml. HBSS
5. tüp : 0.1 ml. virus + 0.3 ml. HBSS
6. tüp : 0.4 ml. HBSS

Tüp her 15 - 20 dk. da bir çalkalanmak üzere 2 saat oda derecesinde bırakıldıktan sonra her bir tüpten 0.3 ml. alınarak iki şişe He - La kültürüne 0.15'er ml. ekildi. Bunun içinde 4 veya 5 günlük monolayer He - La kültürleri kullanıldı ve ekimden önce HBSS ile yıkandı. İnokulum her 10 dk. da bir hücre yüzeyine yapılım üzere kültürler 30 dk. 36°C de inkübe edildikten sonra her şişeye 9 ml. MEM ilâve edilerek inkübasyona devam edildi. CPE'nin tespiti için kültürler günde iki defa mikroskop altında incelen-di.

Laboratuvar Bulguları

Hastaların B. O. S Bulguları

Hastalar	Görünüm	Basınç	Protein	Hücre	Şeker	Kanlı	Jeloz k.
Vak'a 1	Berrak	Artmış	36 mg %	700	64 mg %	Üreme	yok
	Berrak	Artmış	95 mg %	30	48 mg %	»	»
Vak'a 2	Berrak	Artmış	100 mg %	97	10 mg %	Üreme	yok
	Berrak	Normal	130 mg %	3	46 mg %	»	»
	Berrak	Normal	156 mg %	0	70 mg %	»	»
Vak'a 3	Berrak	Normal	46 mg %	52	53 mg %	Üreme	yok

2. ve 3. sıradaki bulgular 3 - 7 gün aralıklarla alınan B. O. S. bulgularıdır.

Hastaların dışkılarından izole edilen virus

Vak'a 1. M. A. : Poliovirus tip 1

» 2. B. A. : » » 2

» 3. E. A. : » » 1

TARTIŞMA

Klinik olarak M. A. ve E. A.'da poliomyelit, B. A.'da kültür sonucu alınıncaya kadar Guillan Barré sendromu düşünülmüştü. M. A. ve B. A. ya polio aşısı yapılmamıştı. E. A. ya ise bir doz aşısı yapılmıştı. Hastalardan laboratuvara dışkı dışında materyel gönderilmemiği için B. O. S.'nın kütürü ve serolojik testler yapılmamıştır. Klinik, B. O. S. bulguları, E. A. hariç diğerlerinin aşılanmamış olmaları, dışkı kültürlerinden poliovirus izole edilmesi, takdim ettiğimiz vak'aların birer polio vakası olduğunu kuvvetle düşündürür. E. A. ya yapılan tek doz aşısının Salk veya Sabin tipi aşandan hangisi olduğu ve ne kadar önce yapıldığı tesbit edilememiştir. Eğer Salk aşısı yapıldı ise, bunun bir defalik tatbikinin hastalıktan korunmada yeterli olamayacağı bilinmektedir (6). Parenteral verilen Salk aşısı intestinal lokal IgA produksyonunu stimüle etmemektedir (7, 8).

Aşının üçlü attenuated aşısı olduğu düşünülürse, bir defa alınma ile her üç polio tipine karşı yeterli antikor teşekkür edememekte veya özellikle tip 2'ye karşı antikor teşekkür etmektedir (7). Hastamızdan ise polio tip 1 izole edilmiştir. İzole edilen virusun aşısı virusun kendisi olabileceği ihtimali mevcuttur. Attenuated virusun etken olduğu bildirilen polio vak'aları neşredilmiş (9, 10, 11, 12, 13) ve tip 2'nin viremi yapabileceği gösterilmiştir (14, 15). Ankara'da bir çocuk yuvasında aşılamanın 15 - 20 gün sonra polio vak'aları görülmüştür ve bu vak'alardan izole ettiğimiz poliovirusların attenuated virus mü, yoksa «wild» virus mü oldukları üzerinde halen çalışmaktadır.

Bundan başka sağlam çocukların 0.6 % - 8 % oranında polio virus izole edildiği varittir (16, 17). Fakat izole tip çoğunlukla tip 3 tür. Memleketimizdeki portörlük durumu ise bilinmemekte ancak tip I ve tip II'nin hastalardan sıklıkla izole edilen tipler olduğu bildirilmiştir (18, 19).

Poliovirusun izolasyonunda kullandığımız teknigin, yani vasisi aspire edilmiş hücre yüzeyi ile hasta materyelinin doğrudan doğruya temasının temini, virusun hücreye adsorbe oluncaya kadar geçen zaman zarfında inaktive olma ihtimalini asgariye indirmiştir. Şişe kültürü ile CPE'nin tespiti kesin ve kolay olmuştur. Vak'alarımızda ekimden 16 saat sonra odaklar halinde CPE görüldü. Poliovirusun He - La hücrelerinde bir infeksiyon siklusunun 6 - 7 saat olduğu (20, 21) nazarı itibare alınırsa, bu zamanın kısalığı daha iyi anlaşılır. Bununla birlikte, bu izolasyon teknigidde dikkat

edilmesi icabeden husus, hücrelerin hasta dışkısında mevcut toksit maddelere daha yüksek konsantrasyonlarda maruz kalması sonucu monspesifik CPE ihtimalinin artmasıdır.

Summary

THREE POLIO CASES IN WHICH VIRUS WAS ISOLATED

Dr. Gültekin ALTAY *

Dr. Sevim GÖZDAŞOĞLU **

In this paper three cases of poliomyelitis are presented. Poliomyelitis was suspected in tow, and Guillan Barré in one of the patients, by clinical and spinal fluid findings.

Poliovirus was isolated from the stools of all the three patients. Two of the isolates were polio type I and one was poilo type II. One of the infants had had one dose poliovaccine.

Isolations and neutralizations were carried out in monolayered He - La bottle cultures.

* Ass. Prof. Dr. Ankara University, Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases.

** Ankara University, Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases.
ANKARA - CEBECİ/TURKEY

KAYNAKLAR

- 1 — Onul. B.: İnfeksiyon Hastalıkları Sayfa 216, 1962.
- 2 — Cooke, R. E.: The Biologic Basis of Pediatric Practice Sayfa 678, 1968.
- 3 — Nelson, W. E.: Textbook of Pediatrics. Sayfa 535, 1959.
- 4 — Horsfall, F. L., Tamm, I.: Viral and Rickettsial Infections of Man. Sayfa 13, 1965.
- 5 — Lennette, E. H., Schmidt, N. J.: Diagnostic Procerudes For Viral and Rickettsial Diseases. Sayfa 220, 1964.
- 6 — Mc., Collaugh, R. A. ve Ark.: Booster Effect of Oral Poliovaccine. Am. J. of Dis of Child. 117, 2, 161, 1969.
- 7 — Keller, R.; Dwyer, J. E.; D'Amadio, M.: Intestinal IgA Neutralizing Antibodies in Newborn Infants Following Poliovirus Immunization. Pediatrics, 43, 330; 1969.
- 8 — Ogra, P. L., ve Ark.: Immunoglobulin Response in Serum and Secretions after Immunization with Live and Inactivated Poliovaccine and Natural Infection. New Eng. J. Med. 279: 893, 1968.

- 9 — Morse, L. İ. ve Ark.: Vaccine acquired Paralytic Poliomyelitis in an Unvaccinated Mother. *JAMA*, 197; 1034; 1966.
- 10 — Swanson, Mc. Alister, A., Peterson, D. R.: Poliomyelitis Associated with type 2. *JAMA*, 201, 771; 1967.
- 11 — Stolley, P. D., Joseph, J. M., Allen, J. C., Deane, G., Janney, J. H.: Poliomyelitis Associated with type 2. Poliovirus Vaccine Strain The Lancet, I, 7592, 465, 1968.
- 12 — Kitamura, I. ve Ark.: Poliomyelitis From a Vaccine. The Lancet, I, 7592, 465, 1969.
- 13 — Pavinalis, V.: Canadian Experience with Live Poliovirus Vaccine. Europ. Assoc. Poliomyelitis and Allied Diseases. Vol. IX, Sayfa 185. 1963. (IX. Simpozum, tebliğ).
- 14 — Mc Kay, H. W. ve Ark.: Viremia Following the Administration of Live Poliovirus Vaccines Am. J. Public Health 53, 274, 1963.
- 15 — Hurstman, D. M. ve Ark.: Viremia in Infants Vaccinated with Oral Poliovirus Vaccine. Am. J. Hyg. 79, 47 1964.
- 16 — Alvarez, M. R., Sabin, A. B.: Intestinal Viral Flora of Healthy Children Demonstrable by Monkey Kidney Tissue Culture. Am. J. of Pub. Health, 46, 3, 1956; 1956.
- 17 — Sabin, A. B.: The significance of Viruses Recovered from the Intestinal Tracts of Healthy Infants and Children. Ann. of N. Y. Acad. Sci. en. 66, 226, 1956.
- 18 — Ari, A.: Incidence of Paralytic Poliomyelitis and Vaccination Programme in Turkey. Europ. Assoc. Poliomyelitis and Allied Diseases. Vol. XI, Sayfa 113. 1966. (XI. Simpozum, tebliğ).
- 19 — Kızıldağ, A.: Negredilmemiş ihtisas tezi, 1969.
- 20 — Darnell, J. E., Scharff, M. D., Levintow, L.: Poliovirus Protein: Source of Amino Acids and Time of Synthesis. *J. Biol. Chem.* 235, 74, 1960.
- 21 — Altay, G.: Negredilmemiş doçentlik tezi, 1970.