

283927

16

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Mikrobiyoloji Enstitüsü

TOPLUMDAKİ FOLİYO ANTİKORLARININ
METABOLİZMA ÖNLENİM TESTİ İLE TARANMASI

(Doktora Tezi)
Hazırlayan
Ruhi Alaçam

Mart
1972, ANKARA

39



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Mikrobiyoloji Enstitüsü

TOPLUMDAKİ POLİYO ANTİKORLARININ
METABOLİZMA ÖNLENİM TESTİ İLE TARANMASI

(Doktora Tezi)
Hazırlayan
Ruhi Alaçam

Mart
1972, ANKARA

Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
Yurt içi Doktora bursu ile desteklenmiştir.

Ö N S Ö Z

Memleketimizde virus çalışmaları mevcut imkânların yetersizliği dolayısıyla çok az yapılabilmektedir. Poliyo virus izolasyonu ve serolojisi üzerinde yapılan çalışmalar, diğer virus çalışmalarına oranla daha fazla olduğu halde, bu da Türk toplumundaki poliyo virus nötrleyen antikörlerin durumunu ve aşılama sonrası meydana gelecek bağışıklığın derecesini bildirecek nitelikte değildir.

Çocuk felcinin akut ve konvalesan devrede alınan iki serum numunesi ile teşhisinde ve buna karşı bağışıklığın tayininde birkaç serolojik deneyden istifade edilmektedir. Bu deneylerden olan Salk'ın Metabolizma Önlenim testi, yurdumuzda hiç uygulanmamış ve mikrotitrasyon aletine de tatbik edilmemiştir.

Biz Salk'ın metabolizma önlenim testini kullanarak mikrotitrasyon aleti ile Türk toplumunun çeşitli yaş grubundaki 300 şahısta poliyo virus nötrleyen antikörleri tayin ettik; ve aynı zamanda, poliyomiyelit hastalığı şüphelenen şahıslardan, akut ve konvalesan devrede alınan iki serum numunesi ile hastalığın teşhisine yardımcı olduk. Gayemiz:

1. 1963 yılında başlayan poliyomiyelit aşı tatbikatından sonra yurdumuzdaki poliyo virus nötrleyen antikörlerin dağılımını araştırmak.
2. Yurdumuzda ilk defa uygulanan metabolizma önlenim testini geliştirmek.
3. Bu testi entero ve diğer bazı virus hastalıklarının teşhisinde ve epidemiyolojik araştırmalarda uygulama alanına sokmaktır.

Bunun için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk hastanesi intaniye bölümünden, Biyokimya laboratuvarından, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon bölümünden, 21-25 yaşlar arasındaki Tıp Fakültesi Talebelerinden, Polatlı topçu taburu ve Ankara muhafız alayı erlerinden temin edilen kan serumlarında poliyovirus nötrleyen antikörleri araştırdık.

Bu çalışmanın yapılmasına katkıda bulunan rehber hocam Hacettepe Üniv. Mikrobiyoloji Doç.Dr.Melâhat Okayan'a ve doku kültürlerini hazırlayan baş teknisyen Asım Gündoğdu'ya teşekkür ederim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
Tabloların Listesi.....	I
Resimler ve Grafiklerin Listesi.....	II
G İ R İ Ş.....	1-9
MATERYEL VE METOD.....	10-17
M A T E R Y E L.....	10-11
M E T O D.....	12-17
1. Kullanılan malzemenin hazırlanması.....	12
2. Hücre kültürlerinin hazırlanması.....	12-15
3. Antijen standardizasyonu.....	15-16
4. Serumların hazırlanması.....	16
5. Metabolizma önlenim deneyinin uygulanması.....	16-17
B U L G U L A R.....	18-25
T A R T İ Ş M A.....	26-32
Ö Z E T.....	33-34
K A Y N A K L A R.....	35-39

T A B L O L A R

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: Poliyomiyelit'in klinik ve sub klinik şekilleri ile virus ve antikorun bulunuşu ve hastalığın seyri (Drouhet'e göre).	6
Tablo 2: Üç hastada poliyomiyelit enfeksiyonunun çeşitli dönemlerindeki nötrleyen ve komplemanı bağlayan antikorların mukayesesi (Drouhet'e göre).	7
Tablo 3: Tip 1 poliyovirus enfeksiyonu geçiren iki hastanın serumunda bulunan nötrleyen antikorlar (Drouhet'e göre).	7
Tablo 4: Poliyomiyelit nötrleyen antikorların ($\geq 1:4$) 300 şahısta yaş gruplarına göre dağılımı.	19
Tablo 5: Çeşitli toplumlarda poliyomiyelit nötrleyen antikorların dağılımı ($\geq 1:4$).	20
Tablo 6: Poliyomiyelit nötrleyen antikorların ($\geq 1:4$) 257 şahısta yaş gruplarına göre dağılımı. (Poliyomiyelit geçirmiş hastalar hariç).	22
Tablo 7: Poliyomiyelit ön tanısı konan hastaların 10-20 gün ara ile alınan iki serum numunesindeki poliyomiyelit nötrleyen antikorların titreleri.	25
Tablo 8: Toplam olarak 300 şahsın kan serumunda, poliyovirus tip 1, tip 2 ve tip 3 e karşı bulunan nötrleyen antikorların titresini.	25
Tablo 9: Poliyomiyelit aşısı uygulamasından önce 134 serumda bulunan nötrleyen antikor sonuçları ile bizim 257 serum numunesinde bulduğumuz sonuçların mukayesesi. (İlk sütunlar önceki sonuçları, ikinci sütunlar bizim bulduğumuz sonuçları göstermektedir).	29

R E S İ M L E R

	<u>Sayfa</u>
Resim 1: Poliyovirus tip 2 nin HeLâ hücrelerinde plâk teşekkülü.	10
Resim 2: Mikrotitrasyon aletinin komple görünüşü.	11
Resim 3: 220-240 volt, 300 watt ultraviole lâmba.	17

G R A F İ K L E R

Grafik 1: Poliyomiyelit nötrleyen antikorlar pozitif ve negatif olan serumların yaşa göre dağılımının yüzdeleri. (Poliyomiyelit vak'aları hariç).	23
Grafik 2: Poliyomiyelit nötrleyen antikorlar pozitif ve negatif olan serumların yaşa göre dağılımının yüzdelerinin, aşı uygulamasından önceki durum ile mukayesesi. (Kesik çizgiler önceki sonuçları göstermektedir).	31
Grafik 3: Grafik 2 nin devamı.	31

G İ R İ Ő

Poliyomiyelit çok eski zamanlardan beri bilinmesine rağmen bazı ülkelerde olduğu gibi memleketimizde de bugün halâ bir halk sağlığı problemi olarak kendini hissettirmektedir. Hastalık genellikle virusla kirlenmiş besinlerin sindirim sistemine alınmasıyla meydana gelmekte ve % 90 nı felçsiz seyrettiğinden daima yanlış teşhis edilmektedir. Klinik olarak poliyomiyelit teşhisi konan vak'alar sadece paralitik görünümde olanlardır, ve bunlarda % 1-2 yi geçmemektedir. (Tablo 1).

Tropikal ülkelerden, Kanada'nın kuzeyindeki buzlu bölgelerden ve İzlanda'dan^{27,40} poliyomiyelit raporlarınının tebliğ edilmesi bu hastalığın dünyanın her yerinde bulunduğunu göstermektedir. Mutedil iklimli ülkelerde yaz ve sonbahar aylarında, tropikal ülkelerde ise bütün yıl boyunca epidemiler görülebilir. Klinik belirtiler gösteren veya göstermeyen, ve kolay anlaşılamayan durumlardaki tabii hassas konağı/insan enfeksiyonunun kaynağını teşkil etmektedir.

Aşıdan önceki poliyomiyelitin dünyadaki durumuna göz atacak olursak vak'aların büyük bir çoğunluğunun 5 yaşından küçük çocuklarda olduğunu görürüz. 1911 de Amerika şehirlerinden Cincinnati'de poliyomiyelitin sebep olduğu feçlerin %83 ünün ve 1916 da Newyork da % 79 unun 5 yaşından küçük çocuklarda olduğu görülmüştür.³¹ Aynı şekilde 1911-1913 yılları arasında İsveç'de görülen poliyo vak'alarının % 63 ünün 5 yaşından küçük çocuklarda bulunduğu görülmüştür. Serolojik çalışmalarla doğrulanmış olan bu gerçek bize bu yaştaki çocukların poliyomiyelite karşı çok hassas olduğunu göstermektedir. Yeni doğan bir çocuk hayatının ilk birkaç günü içinde dahi poliyo virusu ile enfekte olabilir. Bilhassa sosya ekonomik durumu ve hijyen standartları düşük olan toplumlarda bu durum daha bariz olarak görülebilmektedir.

İngiltere'de 1957 ilk baharından 1959 sonbaharına kadar olan devrede, hiç bir patolojik belirti göstermeyen 5 yaşındaki ve

daha küçük çocuklardan elde edilen 30.000 ne yakın dışkı numunesi muayene edilmiş ve poliyomiyelit morbiditesi yüksek olan araştırmancının birinci yılında muayene edilen çocukların binde 15 i pozitif bulunmuş, ve bunların binde 11.25 inin bir yaşından küçük çocuklar olduğu görülmüştür.⁴⁴

Virusun uygun bir konak bulmasında mevsimlerin ve yaşama şartlarının da bir faktör olduğu görülmektedir. Fransa'da 1943 yılından beri yapılan gözlemlerde, maksimal morbidite hızının Temmuz Eylül ayları arasında ve minimal morbidite hızının Ocak-Mart ayları arasında olduğu görülmüştür. Buna benzer durum, kuzey yarım küresindeki bütün tropik olmayan memleketlerde Yunanistan, Türkiye, İtalya, Japonya, Amerika, Danimarka, Hollanda ve İsviçre de de görülmektedir.^{24,45,46} Diğer taraftan güney yarım kürede Arjantin, Brezilya, Şili, Güney Afrika ve Avustralya'da ise Aralık ayından itibaren vak'alarda artma görülür ve Ocak-Mayıs ayları arasında en yüksek seviyeye ulaşır. Bu iki bölge arasındaki tropikal ülkelerde ise vak'alar bütün yıla muntazaman dağılmıştır.⁴⁵

Mevsim ve iklim; ısı, ışık, buhar basıncı, ev içinde ve açık havada rutubetin derecesi, yağışlar v.s. gibi bir çok faktörleri etkiler. Bundan dolayı epidemiyolojik ve meteorolojik verilerin mukayesesi zordur. Çünkü zıt neticeler verir. Bütün meteorolojik faktörler aynı şekilde değişiklik göstermezler. Aynı zaman^{15,42,43} da vuku bulan bazı faktörler farklı veya zıt etkide bulunabilir. Bundan başka diğer mevsim faktörleri de çok veya az olarak poliyomiyelit epidemiyolojisinde önemli değişiklikler meydana getirir. Örneğin bunların arasında plajdaki insanların konsantrasyonunun artması, tatildeki seyahatler, göç, turizm, hızlı şehirleşme ve banyo yapmak gibi bir çok faktörler vardır. Bazı meteorolojik faktörler örneğin ev içinde bulunan yüksek derecedeki rutubet poliyo virusun yaşamasını sağlar, influenza virusunun ise yaşamasını azaltır.¹¹ Bu nisbi nemin en yüksek olduğu yaz aylarında poliyomiyelit en fazla görülür. Nisbi nemin az olduğu kış aylarında ise poliyomiyelit az, halbuki influenza daha fazla görülmektedir.

Son on yıl içinde tatbik edilen geniş miktarda aşı uygulamasından önce epidemiyolojik açıdan en önemli gözlem, poliyomiyelit hastalığının yaşa göre dağılımında olmuştur. Amerika'da Frost'un gözlemlerine göre 1913 deki vak'aların % 60-70 inin 3 yaşından küçük çocuklarda olduğu görülmüştür.

Birinci milletler arası poliyomiyelit konferansında Sabin yaşlarla ilgili çıkabilecek varyasyonlardaki hataları yok etmek için, yalnız gençlerde çıkan vak'aların klinik yönden daha çok paralitik olması hafif şekillerin ise gözden kaçması gibi olaylara dikkati çekmiş ve Newyork'daki üç büyük epidemide (1916, 1931, 1944) yaşa göre dağılımın oldukça değişiklik gösterdiğini belirtmiştir.³¹ 1916 epidemisinde en yüksek vak'a 0-4 yaş arasında görülmüş, 5-9 yaş arasındaki vak'a sayısı bu birinci grubun dörtde birini dahi bulmamıştır. Daha ileri yaşlarda ise bu oran çok düşüktür. 1931 epidemisinde 1-4 ve 5-9 yaş gruplarındaki vak'aların oranları hemen hemen eşittir. 1944 de en yüksek vak'a 5-6 yaş arasındaki çocuklarda görülmüş ve bunun, 0-4 yaş arasındaki vak'aların iki misli kadar olduğu bulunmuştur. 1944 de Newyork'daki epidemide en çok vak'a çocuklarda görülmüş, fakat 1916 ya nazaran büyük çocuklardaki oran daha fazla bulunmuştur. Bilhassa 5-7 yaş arası daha yüksektir.

İsveç'te 1905-1950 epidemileri arasındaki tekrararlarda, vak'aların daha yüksek yaş grubuna doğru daha belirli bir yükselme gösterdiği görülmüştür.²² Olin'in gözlemlerine göre, paralitik poliyomiyelit vak'aları 1905 ve 1935-1945 epidemilerindeki yaş gruplarında büyük farklar gösterdiği halde ölüm oranı benzerlik göstermiştir. 1935-1945 deki epidemide 1-3 yaşlar arasındaki vak'alar 1905 dekinin dörtde biri oranında azalma, 15-25 yaşlar arasında iki misli ve 25 yaş yukarısında ise 3 misli artma göstermiştir.

1950-1957 de İngiltere ve Galler'deki, 1905-1953 arasında İtalya'daki ve 1957 de Fransa'daki epidemide aynı şekilde en yüksek oranın 5 yaşından küçük çocuklar arasında olduğu gözlenmiştir.^{19,23} 1950 ye kadar Seylan'daki ve 1947 de Japonya'daki vak'aların % 70-75 i 3 yaşından küçüklerde, Panama'da 1951 deki epidemide vak'aların %56 sı 2 yaşından ve %81 i 5 yaşından küçük çocuklarda görülmüştür.²³

Fransa'da (yaşama standartları orta olan toplumda) 1955,1956, 1957 de hastaneye yatırılan 1500 çocuktaki antikor tayininde, 2 yaşındakilerin % 50 sinde bir tipe karşı, 7 yaşındakilerin % 50 sinde üç tipe karşı, 14-15 yaşındakilerin % 90 nında bir tipe karşı, % 70 inde ise üç tipe karşı antikor ihtiva ettiği bulunmuştur. Bu da gösteriyorki 7 yaşından sonra paralitik poliyoya yakalanma riski oldukça azalmaktadır. Bu risk Asya, Afrika ve Amerika ülkelerinde daha süratle azalmaktadır ve poliyomiyelit bu ülkelerde halâ çocuk hastalığı olarak kalmaktadır. Örneğin, Dakar'da (Afrika) 1 yaşındaki çocukların % 50 sinde asgari bir tipe karşı ve 3yaşındakilerin % 50 sinde üç tipe karşı antikor bulunmuştur. Halbuki İsveç'de poliyomiyelit daha yaşlı çocukların ve erişkinlerin hastalığı haline gelmiştir. Bu yüzden hastalığa yakalanma riski 10-15 yaşlar arasındakilerde daha yüksektir. Çocukların % 50 si natürel korunma ile bağışıklık kazanabilmektedir. Immünitenin geç meydana gelişi vak'aların artmasına sebep olmaktadır. Farklı yaşamatstandartlarına bağlı olarak hassasiyetin toplumlarda farklılık göstermesi, poliyomiyelit epidemilerine tesir eden faktörlerdendir.

İhbarların kusurlu ve tam olmaması, tetkik metodlarının, teşhis kriterlerinin ve vak'aların rapor edilmesinin farklı olması yüzünden, poliyomiyelitin Avrupa'daki şimdiki durumunun kat'i olarak tesbiti zor olmasına rağmen, Avrupa'da Dünya Sağlık Teşkilatına bağlı bir çok ülkede son on senede yapılan poliyomiyelit kontrolünde büyük ilerleme görüldüğü belirtilmektedir.²⁸

XII. Avrupa poliyomiyelit ve diğer virus hastalıkları simpozumu tebliğlerine göre, Avrupa'daki ülkelerde poliyomiyelitin yayılma problemi detaylı olarak bilinmemektedir. Elde edilen verilere göre bölgedeki bir çok memlekette halk sağlığı problemi olarak halâ devam etmekte olduğu ve bazı ülkelerde gelecekte patlak ve epidemiler beklenebildiği bildirilmektedir.²⁸

Türkiye'de de poliyomiyelitin endemik olarak bulunduğu ve epidemi yaptığı bilinmektedir. Son olarak 1968 de İstanbul'da

epidemi görülmüş ve epideminin ilk yediyayında vak'a sayısı 718 olmuştur.¹⁴ Klinik bulgulara göre bütün Türkiye'deki vak'a sayısı ise 2026 dır. İstanbul'daki salgında, vak'aların % 97.2 sini 4 yaşına kadar olan çocuklar teşkil etmektedir, ve 6 ay ile 11 ay arasındaki süt çocuklarında yakalanma nisbetinin, 6 aydan küçük çocuklara oranla daha fazla olduğu görülmüştür. 1970 yılı istatistiklerine göre Türkiye'deki vak'a sayısı 701 ve son on yıllık ortalama ise 930 dur. Bunlar sadece ihbar edilen vak'alardır. Çoğunluk ihbar edilmediğine göre gerçek sayı oldukça kabarık demektir. İhbar edilen vak'alar sadece paralitik şekiller olduğuna ve buda % 1-2 oranında görüldüğüne göre poliyo enfeksiyonu geçirenlerin esas sayısını tahmini olarak hesap edecek olursak bunun yüzünü aşkın olduğunu görürüz.

Memleketimizde ilk aşı tatbikatına 1963 yılında oral aşı ile başlanmıştır.³⁵ Aşı tatbikatından önce Türk toplumundaki poliyovirus nötrleyen antikörlerin dağılımı Payzın^{25,26} ve Berke² tarafından incelenmiştir. Payzın 1956 da Türkiye'den topladığı 134 serumu Amerika'da Salk'ın metabolizma önlenim deneyine, 169 serumu kompleman birleşmesi deneyine, 65 serumu ise her iki deneye birden tabi tutarak toplam 237 serumda antikör araştırması yapmıştır.

1960 da Berke ve Arı'nın 83 serumla Washington Walter Reed araştırma enstitüsünde yaptıkları antikör çalışmasında bütün serumlarda en az bir tip poliyovirusuna karşı nötrleyen antikör bulunduğu tesbit edilmiştir.

Poliyomiyelit enfeksiyonu geçiren şahıslarda, enfeksiyonun ilk birkaç günü içinde, poliyovirusu nötrleyen antikörler teşekkül etmekte ve hayat boyunca kalmaktadır (Tablo 1)⁷. Çok kere küçükken geçirilen ilk poliyomiyelit enfeksiyonunda tipe özgül kompleman birleşmesi yapan antikörler teşekkül etmektedir. Başka bir tiple olan sonraki enfeksiyonda poliyovirus grup antijenine karşı antikörler husule gelmekte ve 3-5 sene sonra kaybolmaktadır. H antikörleri N antikörlerinden daha önce teşekkül etmekte ve enfeksiyonun ilk döneminde serumda yalnız H antikörleri 1-2 hafta sonra ise hem H ve hemde N antikörleri bulunmaktadır.^{13,14}

H antikoru, enfektif olmayan, nükleik asidi eksik virus partiküllerine veya N antijeninin, ısı, fenol, alkali ve ultraviyole ışın etkisiyle H antijenine dönüşmesine karşı meydana gelmektedir, ^{3,4,31} ve gruba özgül reaksiyon vermektedir. N antikoru ise enfektif olan doğal antijenlere karşı meydana gelmektedir.

Tablo 1; Poliyomyelitin klinik ve sub klinik şekilleri, ile virus ve antikorun bulunuşu ve hastalığın seyri. (Drouhet'e göre)

		Enfeksiyonu takip eden günler				
		0	5	10	15	
Toplam enfeksiyon sayısına oranla yüzdeleri	% 1-2					Hakiki enfeksiyon
	% 4-8					Abortif enfeksiyon
	% 90-95					Belirtisiz enfeksiyon
Virusun bulunuşu						
Kanda		- - - + + + + +	- - - - -	- - - - -	- - - - -	
Boğazda		- - - + + + + +	+ + + + +	+ + + + +	- - - - -	
Dışkıda		- - - + + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	17 hafta bulunabilir
Antikorlar						
Nötrleyen		- - - - -	- + + + +	+ + + + +	+ + + + +	Hay.boy.kalır
Komple. bağ.		- - - - -	- - - - -	+ + + + +	+ + + + +	3-5 sene "

Poliyomiyelit hastalığı geçiren şahıslarda, hastalığın etkeni olan tipe karşı tam bir bağışıklık sağlanmaktadır. Bununla beraber serotiplerin birbirleriyle kros reaksiyon verdiği, tip 1 ile tip 2 arasında sık olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir.^{1,6,10,21,32} Drouhet'in bildirdiği (Tablo 2 ve 3) de gösterilen sonuçlar bu oluşumları gayet açık ifade etmektedir.⁷

Tablo 2: Üç hastada poliyomiyelit enfeksiyonunun çeşitli dönemlerindeki Nötrleyen ve Komplemanı bağlayan antikörlerin mukayesesi (Drouhet'e göre).

İzole edi, virus	Hast, günü	Nötrleyen antikörler			Komp, bağ, Ant,		
		Tip 1	Tip 2	Tip 3	Tip 1	Tip 2	Tip 3
Tip 1	2	1/4	0	0	0	0	0
	16	1/512	1/2	0	1/16	1/2	0
	21	1/512	0	0	1/16	1/2	0
Tip 2	6	1/2	1/2	0	0	1/2	1/8
	20	1/2	1/128	1/8	0	1/16	1/4
Tip 3	8	0	0	1/512	0	1/8	1/64
	26	0	0	1/512	0	1/4	1/128

Tablo 3: Tip 1 poliyo virus enfeksiyonu geçiren 2 hastanın serumunda bulunan nötrleyen antikörler (Drouhet'e göre)

Fecesten izole edilen virus	Hast. günü	Poliyovirus tiplerine göre ant. tit.		
		Tip 1	Tip 2	Tip 3
Tip 1	8	1/1024	1/2	0
	22	1/512	0	0
Tip 2	2	1/4	0	0
	16	1/512	1/2	0
	21	1/512	0	0

Poliyomiyelit hastalığı geçirenlerde meydana gelen antikörlerin tesbiti veya izole edilen poliyovirusun tipinin tayini için, nötralizasyon, kompleman birleşmesi, mikro flokülasyon, mikro

jel difüzyon, faz kontras mikropresipitasyon, radyo izotop presipitasyon ve floresan antikor tekniği kullanılabilmektedir.¹⁷ Bu testlerin bir çoğu güvenilebilir bir netice vermediğinden ve bazısının da uygulaması zor olduğundan ancak özel gayeler için kullanılmaktadır. Bugün, toplumların poliyomiyelite karşı bağışık durumlarının tayininde, akut ve konvalesan devrede alınan iki serum numunesi ile hastalığın teğhisinde nötralizasyon ve kompleman birleşmesi sero diagnostik metodları kullanılmaktadır.

İlk nötralizasyon deneyleri 1939 yılında Armstrong tarafından Lansing suşunun beyaz fareler için virulan bulunması ile yapılmıştır. Daha sonra 1949 yılında Enders, Weller ve Robbins insan embriyosu barsak ve böbrek dokusu epitelleri ile maymun böbrek ve testis epitel hücreleri kültürleri yaparak virusun doku kültürlerinde ürediğini ve bu hücrelerde dejeneratif etki yaptığını göstermişlerdir. Virusun doku kültürlerinde üretilmesinden sonra serolojisi ve epidemiyolojisi üzerindeki çalışmalar çok daha kolaylaşmış ve virusa karşı aşı hazırlanması da mümkün olmuştur.

Doku kültürlerinde nötralizasyon testi, seri serum dilusyonuna sabit miktarda virus veya, sabit konsantrasyonda seruma değişik dilusyonda virus karıştırılması ile yapılabilir. Bu metodlar tüplerde tek tabaka hücre kültürü, doku kültürü sıvısının renk değişikliği, (Metabolizma Önlenim)^{18,20,34,46} disk sistemi⁴¹, ve plâk teşekkülünün azalması⁴⁷ (plaque reduction) teknikleri kullanarak uygulanabilmektedir. Poliyo virusunun doku kültürlerinde nötralizasyon deneyi, özgül virus antikorunun, virus sitopatojenik etkisini nötralize etmesi esasına dayanmaktadır.

Daha 1943 senesinde, Huang western equine encephalomyelitis (W.E.E.) antikorlarının tavuk embriyosu hücre kültüründe Ph değişikliği esasına dayanarak titre edilebileceğini belirtmiştir. Metabolizma yapan hücreler, vasattaki indikatör fenol kırmızısının rengini kırmızıdan sarıya çevrilmesine yetecek kadar asit meydana getirmektedirler. Fenol kırmızısının rengi Ph 7.4-7.8 de kırmızıdır.

Ph 7 nin altına düştüğü takdirde pembe, ve daha fazla düşerse sarı olmaktadır. Hücrelerin virusla enfeksiyonunda ise virus, hücrenin, indikatörün rengini değiştirecek kadar asit yapmasını önler ve kültür vasatı kırmızı olarak kalır. Virusun spesifik nötralizasyonunda ise viral sitopatojenik etkinin önlenmesi ile indikatörün rengi kırmızıdan sarıya çevrilir.

Metabolizma önlenim testi ile poliyo virus nötrleyen antikörlerin gösterilmesinde Salk ve arkadaşları³⁴ maymun böbreği hücre kültürlerinin; Lipton-Steigman¹⁸, Robertson ve arkadaşları²⁹ HeLâ hücre kültürlerinin kullanışlı olduğunu önermişlerdir. Daha sonraki yıllarda metabolizma önlenim deneyinin adeno viruslarla¹⁶ bazı koksaki viruslarla³⁶, W.E.E. virusla⁵, İnfluenza⁸,/herpes simplex virusla³⁷ ve bazı eko virus³⁸ tipleri ile uygulanması geliştirilmiştir.

1950 yılında Macar araştırmacı Dr. Gyula Takatsy'nin mikrotitrasyon aletini tanıtması ile serolojik deneyler çok az materyel kullanılarak yapılabilme olanağını kazanmıştır. 1962 yılında Sever bu sistemi geliştirerek Hemaglutinasyon, Hemaglutinasyon Önlenim, Kompleman Birleşmesi ve Metabolizma Önlenim testlerinin, çok az madde sarfiyle çok daha kolay olarak yapılmasını sağlamıştır.³⁹

Poliyovirus nötrleyen antikörlerin hayat boyu kalması, tipler arasında neticeyi etkileyecek derecede kros reaksiyon vermemesi; akut ve konvalesan devrede alınan iki serum numunesi ile hastalığın teşhisinde, nötralizasyon testinin kompleman birleşmesi testine nazaran daha geçerli olduğu bir çok araştırmacı tarafından önerilmiştir. Kompleman birleşmesi testinde çok yüksek titrede virus kullanmak gerekli olduğundan böyle bir antijenin hazırlanması da bir hayli zor çalışmayı gerektirmektedir.

Metabolizma önlenim testinin renk değişikliğine göre okunması, hücre kültürlerinin mikroskopta gözlenmesini ortadan kaldırdığından, hücre süspansiyonu, virus ve test serumu aynı günde ilave edilip, tek tabaka hücre kültürü hazırlamayı gerektirmediğinden pratik değeri yüksektir.

MATERYEL VE METOD

KAN SERUMLARI: Çalışmamız için gerekli olan kan serumları, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk hastanesi intaniye bölümünden, Biyokimya laboratuvarından, Fizik tedavi ve rehabilitasyon bölümünden, 21-23 yaşları arasındaki Tıp Fakültesi talebelerinden, Polatlı topçu taburu ve Ankara muhafız alayı erlerinden temin edilmiştir.

HİPERİMMUN TAVŞAN SERUMLARI: Poliyo virus tip 1, tip 2, tip 3 hiperimmün tavşan serumu ve normal tavşan kontrol serumu, Amerika-da Microbiological Associates Inc laboratuvarından temin edilmiştir. Cat No: 30-887, Lot. 3-4084, Cat No: 30-888, Lot. 3-3646, Cat No: 30-889, Lot. 3-3936, Cat No: 30-819, Lot. 3-1279.

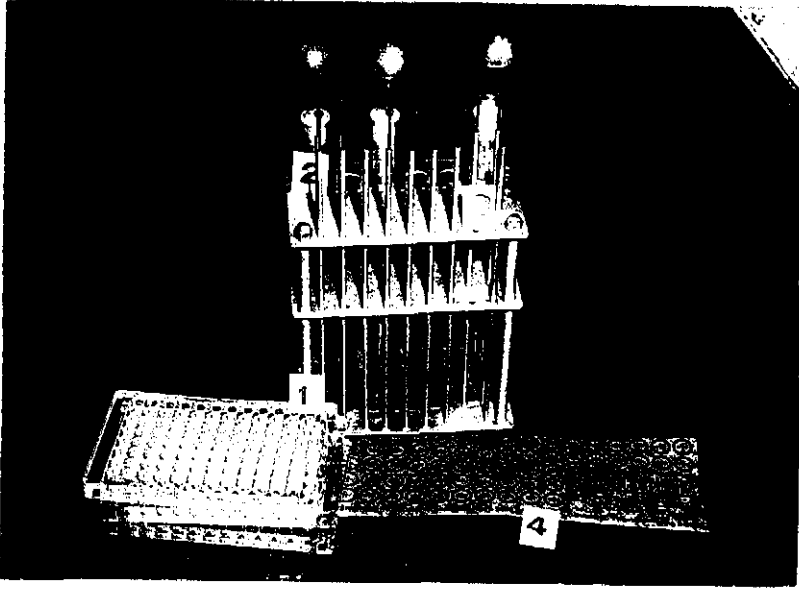
POLİYOVİRUS ANTİJENLERİ: Poliyo virus tip 1 (Mahoney), tip 2 (M.E.F.1), tip 3 (Saukett) Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsünde Dr. Neriman Gemicioğlu'ndan temin edilmiş ve tarafımızdan laboratuvarında çoğaltılmıştır. Resim 1



Resim 1: Poliyovirus tip 2 nin HeLâ hücrelerinde Plâk teşekkülü,

1,3 virus ekili, 2 kontrol

MİKROTİTRASYON ALETİ: Metabolizma önlenim testi, ilk defa Macar araştırmacı Gyula Tokatsy tarafından tarif edilen ve 1962 yılında Sever'in modifiye ettiği ve geliştirdiği mikrotitrasyon aletiyle (Resim 2) yapılmıştır. Mikrotitrasyon sisteminde serum ve antijen sulandırılmaları, makro metoddaki tüpler yerine 0.225 ml. hacimli 96 adet (8 x 12) 6 mm. çapında U tipi çukurları ihtiva eden 130 x 82 x 10 mm. büyüklüğündeki plexiglas pleytlerde yapılır. Resim 2/1



Resim 2: Mikrotitrasyon aletinin komple görünüşü, 1. Pleytler, 2. Damlalıklar, 3. Dilusyon spiralleri (lup), 4. Dağıtım test kağıdı.

Makrosistemdeki pipetler yerine 0.025 ml. hacminde damlalar damlatan 150 mm. uzunluğunda ve 10 mm. çapındaki damlalıklar (droper) (Resim 2/2) kullanılır. Seri serum dilusyonları ise 0.025 ml. hacimli seri dilusyonlar yapan spirallerle (lup) yapılır. Resim 2/3.

M E T O D

Metabolizma önlenim deneyi için aşağıdaki çalışmalar yapıldı.

1. Kullanılan malzemenin hazırlanması,
2. Hücre kültürlerinin hazırlanması,
3. Antijen standardizasyonu,
4. Serumların hazırlanması,
5. Metabolizma önlenim deneyinin uygulanması.

1. KULLANILAN MALZEMENİN HAZIRLANMASI:

Steril çalışmayı ve steril alet kullanmayı gerektiren deneylerimizde, plexiglas pleytler, luplar ve damlalıklı pipetlerin temizlenmesine son derece dikkat edildi.

Kullanılan pleytler bir saat dezenfektan solüsyon (zefirol) içinde bekletildi. Bütün sıvılar döküldükten sonra 8-10 defa akar suda yıkandı, deterjanlı suda 50°C de 30 dakika bekletildi. Ilık akar suda 8-10 defa yıkandıktan sonra, distile sudan geçirilip 60°C de kurutuldu. Ultraviöle lâmba ile (Resim 3) sterilize edilip serolojik deneyde kullanıldı.

Kullanılan luplar distile su içine konup yıkandıktan sonra kurutma kağıdı ile kurulandı. Lupun dağıtım test kâğıdında (Resim 1/4) bıraktığı iz kontrol edildi. (0.025 ml sıvı 10 ml çapında bir leke yapar). Alevden geçirilen luplar soğutulup testlemeye hazırlandı.

Damlalıklı pipetler deterjanlı su ile yıkandıktan sonra akar sudan ve distile sudan geçirilip, distile su içinde kaynatılarak steril hale getirildi.

2. HÜCRE KÜLTÜRLERİNİN HAZIRLANMASI:

Bu test için, laboratuvarımızda devamlı olarak çoğaltılan fix line Afrika'lı yeşil maymun böbrek hücre kültürü kullanıldı. Earle's laktalbumin hidrolizat % 0.5 büyütmeye vasatında üretilip

çoğaltılan hücreler tripsin-versen solüsyonu ile süspansiyon haline getirildi. Santrifuj edilerek tripsin versen solüsyonu atıldı. Hücreler üzerine, Hanks's BSS konarak bir defa yıkandı, sonra hücreler ml. de 125.000 olacak şekilde Melnick A vasatı ile sulandırıldı. (Hücreler Bright-Line lûmında sayılarak santimetre küpte 125.000 olacak şekilde sulandırıldı.)

KULLANILAN VASAT VE SOLÜSYONLAR

Earle's Laktalbumin hidrolizat %0.5 büyütme vasatı

Nacl	7.2 gr.
KCl % 20	2.0 ml.
Ca Cl ₂ % 20	1.0 ml.
Mg SO ₄ 7 H ₂ O % 20	1.0 ml.
Na H ₂ PO ₄ 2 H ₂ O % 14	1.0 ml.
Fenol kırmızısı % 1	1.5 ml.
Laktalbumin Hidrolizat	5.0 gr.
Distile su	1000 ml.

80 ve 160 ml. miktarında şişelere taksim edilir. Otoklavda 120°C de 15 dakika tutulur. Kullanılacağı zaman 80 ml. ye

Glikoz % 10	1.0 ml.
Na H CO ₃ % 8.4	1.3 ml.
Dana serumu	20.0 ml.
Penicillin	10.000 Ünite
Streptomycin	10.000 Mcg.

ilave edilir.

MELNICK A VASATI

Hanks's BSS (% 0.002 fenol kırmızılı)	86.7 ml.
% 5 Laktalbumin hidrolizat (bikarbonat ve fenol kırmızısız Hanks's BSS içinde)	10.0 ml.
Dana serumu	2.0 ml.
Na H CO ₃ % 7.5	0.3 ml.
Penicillin	10.000 Ünite
Streptomycin	10.000 Mcg.

HANKS'S BSS (10 x konsantrasyonda)

Solusyon I

Na Cl	80.0 gr.
K Cl	4.0 gr.
Ca Cl ₂	1.4 gr.
Mg SO ₄ 7 H ₂ O	2.0 gr.

Solusyon II

Na ₂ HPO ₄ 12 H ₂ O	1.52 gr.
KH ₂ PO ₄	0.6 gr.
Glikoz	10.0 gr.
Phenol red % 1	16.0 ml.

Maddeler 500 ml. den az iyonsuz suda eritilir. Solusyon II solusyon I e yavaşca ve karıştırılarak ilâve edilir. İyonsuz su ile 1000 ml. ye tamamlanır. Seitz filtresinden süzerek veya iyonsuz su ile 10 defa sulandırılıp 110°C de 15 dk. otoklavda tutarak steril yapılır.

TRİPSİN % 0,25 (tris tamponu içinde)

Na Cl	8.0 gr.
K Cl % 19	2.0 ml.
Na ₂ HPO ₄	0.1 gr.
Dextrose	1.0 gr.
Tris (hydroxy methyl) aminomethane	3.0 gr.

700 ml. distile suda eritilir. N/1 HCl ilâve edilerek Ph 7.7 ye ayarlanır. Daha sonra,

Phenol red % 1	1.5 ml.
Penicillin	100.000 unite
streptomycin	0.1 gr.

ilâve edilip, distile su ile 1 litreye tamamlanır. 2.5 gram Trypsin (Difco 1: 250) ilâve edilip eritilir, bir gece 4°C de bekletilir, Seitz filtresinden süzülerek steril yapılır.

VERSEN (P.B.S. solüsyonu içinde)

Na Cl	8.0 gr.
K Cl	0.2 gr.
Na ₂ HPO ₄	1.15 gr.
KH ₂ PO ₄	0.2 gr.
Versen	0.2 gr.

1000 ml. distile suda eritilir, 20 ml. olarak şişelere taksim edilir ve otoklavda 120°C de 15 dk. tutularak steril hale getirilir. Kullanılacağı zaman (tripsin-versen solüsyonu olarak) 1 kısım tripsin 4 kısım versenle karıştırılır.

3. ANTİJEN STANDARDİZASYONU:

Poliyo virus Tip 1, Tip 2, Tip 3, antijenleri laboratuvarımızda Afrika'lı yeşil maymun böbrek hücre kültüründe ve HeLa hücre kültüründe üretilerek çoğaltıldı, (Resim 1) Elde edilen virusların, Tissue Culture Infective Dose₅₀ (TCID₅₀/0.025 ml) dilusyonları mikro seroloji aleti ile, metabolizma önlenim testi uygulanarak tayin edildi.

Ağız vida kapaklı tüplerde, Melnick A vasatıyla virusların 10⁻¹, 10^{-1,5}, 10⁻²,10^{-6.5}, 10⁻⁷ dilusyonları yapıldı. Steril plexiglas pleyt çukurlarına virusların 10^{-2.5}, 10⁻³,10^{-6.5}, 10⁻⁷ dilusyonlarının her birinden sekiz sıraya birer damla (0.025 ml) kondu. Üzerlerine 0.025 ml. Melnick A vasatı ilâve edildi ve 1 saat oda derecesinde bekletildi. Her bir çukura ml. de 125,000 Afrika'lı yeşil maymun böbreği hücresi ihtiva eden vasattan 0.025 ml. kondu. Deneyde kullanılan hücre miktarı, yarısı ve dörttebir miktarı, sekizer çukurlukta hücre kontrolü olarak denendi. Daha sonra bütün çukurlar dörder damla steril vazelin ile örtüldü. Pleytler

37°C de 3-5 gün enkübe edildi. Enkübasyon periyodu sonunda deney neticesi kültür sıvısında meydana gelen renk değişikliğine göre değerlendirildi. Ph 7.4 veya daha yukarı olması kırmızı olarak belirlenir ve viral aktiviteye delalet eder. Ph'nın 7 veya daha aşağı olması pembe ve sarı olarak belirlenir ve viral aktivite eksikliğini veya virusun spesifik olarak nötralize olduğunu gösterir.

Yaptığımız TCID₅₀/0.025 ml. tayininde, Reed ve Muench metoduyla poliyo virus Tip 1 i, Tip 2 yi, Tip 3 ü $10^{-6.5}$ bulduk. Esas metabolizma önlenim deneyinde ise 100 TCID₅₀/0.025 ml. olan $10^{-4.5}$ dilusyonlarını kullandık. Stok viruslarımız bulunan bu değerlere göre sulandırıldı ve tüplere belli miktarlarda taksim edilerek, poliyo virusu nötrleyen antikörlerin tesbitinde uygulanan metabolizma önlenim deneyinde kullanılmak üzere -70°C de saklandı. Her deneyde bir veya birkaç tanesi alınarak kullanıldı. Böylece bütün testlerde virusun titresi düşürülmeden aynı virus titresi kullanılmış oldu.

4. SERUMLARIN HAZIRLANMASI:

Steril tüplere alınmış 1.5-2 ml. hacmindeki kanın, steril öze ile camdan ayrılması sağlandı. 30 dakika oda derecesinde bekletildikten sonra 1200 devirde 10 dakika santrifuj edildi. Tüplerin üstündeki serum steril pipetle küçük, vida kapaklı şişelere aktarıldı. Isıya duyarlı spesifik olmayan virus önleyen maddeleri tahrip etmek için serumlar 56°C deki su banyosunda 30 dakika bekletilerek inaktive edildi ve hazırlanan serumlar test gününe kadar -20°C de saklandı.

5. METABOLİZMA ÖNLENİM DENEYİNİN UYGULANMASI:

Ultraviöle lamba (Resim 3) ile steril hale getirilen pleytler üzerine deneye tabi tutulacak serumların numarası yazıldı. Önce, pleytler üzerindeki her çukurluğa 0.025 ml. Melnick A vasatı kondu. Serum dilusyonlarında kullanılan spiraller (Resim 2/3) serumlara batırılarak 0.025 ml. serum alındı ve ilk çukurluğa daldırılıp 8-10 defa çevrilerek ikinci, üçüncü.....sekizinci çukurluğa yürütüldü ve serumların 1/2, 1/4,.....1/256 dilusyonları yapılmış oldu. Her serum dilusyonuna 0.025 ml. 100 TCID₅₀/0.025 ml. poliyo virusu konup oda derecesinde 45-60 dakika bekletildi. Poliyo virusun üç tipi olduğundan her bir tip için serumun ayrı bir dilusyonu yapıldı. Bir saat oda derecesinde bekletilen serum virus karışımına 0.025 ml, ml de 125.000 maymun böbrek hücresi ihtiva eden vasat kondu. Bütün çukurlara dörder damla steril sıvı vazelin konarak üzeri örtüldü. Titreleleri belli standart serumlarda aynı şekilde teste tabi tutuldu.

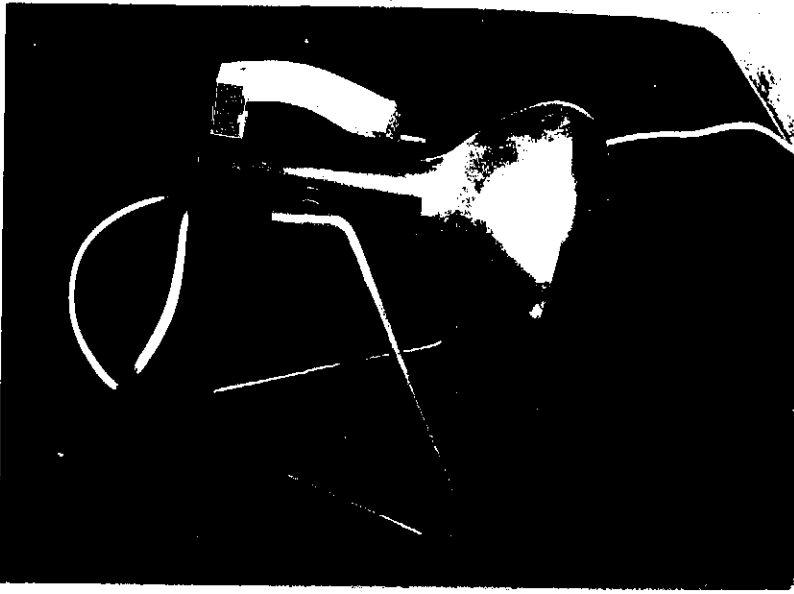
SERUM TOKSİSİTE KONTROLÜ: Test edilen serumların 1/2, 1/4 dilusyonlara yapıldı, üzerlerine 0.025 ml. vasat, 0.025 ml. hücre ve 0.1 ml. vazelin kondu.

Her deneyde ayrıca şu kontroller yapıldı:

VİRUS KONTROLÜ: Her dilusyon için dört çukurluk kullanılarak virusun $100 \text{ TCID}_{50}/0.025 \text{ ml.}$ dozunun kontrolü yapıldı. 0.025 ml. vasat 0.025 ml. virus 0.025 ml. hücre 0.1 ml. steril sıvı vazelin.

HÜCRE KONTROLÜ: Kullanılan hücrenin normal olarak metabolizmasını devam ettirip ettirmediğini anlamak için, deneyde kullanılan hücre miktarı, yarısı ve dörtte birinin 4'er çukurlukta kontrolleri yapıldı. 0.050 ml. vasat 0.025 ml. hücre 0.1 ml. vazelin.

Pleytler 37°C de 5 gün bekletilip, inkübasyon periyodu sonunda vasatta meydana gelen renk değişikliğine göre test neticesi değerlendirildi.



B U L G U L A R

Çalışmamız için gerekli kan serumlarını beş grup altında toplamaktayız. Tetkik edilen 300 kan serumunun, 52 tanesini Hacettepe Çocuk Hastanesine muayene için gelip poliyomiyelit şüphesi konan hastaların serumları, 26 tanesini Hacettepe Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniğine poliyo sekeli tedavisi için gelen poliyomiyelit geçirmiş hastaların serumları, 72 tanesini Hacettepe Hastanesi Biyokimya laboratuvarına biyokimyasal test için gelen serumlar, 107 tanesini normal asker serumları ve 43 tanesini de Tıp Fakültesi talebesi normal serumları teşkil etmektedir.

Poliyomiyelit enfeksiyonu geçirmiş ve felç husule gelmiş, poliyomiyelit şüpheli ve poliyomiyelit şüphesi olmayan 300 şahsın serumunda, poliyo virus tip 1, tip 2, tip 3 e karşı bulunan nötrleyen antikorların dağılımı tablo 4 de sunulmuştur.

0-1 yaş grubundaki çocukların % 22 sinin ve 2-5 yaş grubundakilerin % 16 sinin hiç antikor ihtiva etmediği bulunmuştur. Aynı yaş gruplarında üç tipe karşı bağışıklık ise % 4.5 ve % 20 dir. 6-9 yaş grubu ve daha yukarı yaşlarda herkes en az bir tipe karşı antikor ihtiva etmektedir. Üç tipe karşı antikor ihtiva edenlerin yüzdesi en fazla olan yaş grubu ise, 15-19 dur ve % 84.6 oranındadır.

Toplam 300 serumun % 48,3 ünün üç tip poliyo virusa karşı antikor ihtiva ettiği ve % 4,6 sinin hiç antikor ihtiva etmediği bulunmuştur. 0-1 yaş grubunda tip 1 e karşı % 45 oranında antikor ihtiva edilmiş olması ise oldukça ilginçtir.

Serumlar alındıkları bölümlere göre sınıflandırılacak olursa; (Tablo 5) poliyomiyelit şüphelenilen 0-14 yaşlardaki 52 çocuğun % 44 ünde yalnız tip 1 e karşı ve % 14 ünde üç tipe karşı antikor ihtiva ettiği bulunmuştur. Negatif serumların oranı ise % 6 dir.

Tablo4: Poliyomiyelit nötrleyen antikörlerinin ($\geq 1:4$) 300 şahıs-
da yaş gruplarına göre dağılımı. Poliyomiyelit geçirmiş
ve poliyomiyelit şüpheli şahısları da kapsamaktadır.

	Yaş Grupları (sene)						Toplam	
	0-1	2-5	6-9	10-14	15-19	20-25		
Test edilen serum sayısı	22	50	25	27	26	150	300	
Yalnız Tip 1 için	sayı	10	14	4	1	0	6	35
pozitif serumlar	%	45	28	16	4	0	4	12
Yalnız Tip 2 için	sayı	1	4	3	2	0	13	23
pozitif serumlar	%	4.5	8	12	8	0	9	8
Yalnız Tip 3 için	sayı	1	0	2	0	0	1	4
pozitif serumlar	%	4.5	0	8	0	0	0,7	1.3
Tip 1+2 için pozitif	sayı	4	7	3	4	2	20	40
serumlar	%	9	14	12	15	8	14	13.3
Tip 1+3 için pozitif	sayı	0	5	2	4	1	10	22
serumlar	%	0	10	8	15	4	7	7.3
Tip 2+3 için pozitif	sayı	0	2	2	6	1	6	17
serumlar	%	0	4	8	22	4	4	5.6
Tip 1+2+3 için pozitif	sayı	1	10	9	10	22	93	145
serumlar	%	4.5	20	36	37	84.6	62	48.3
Negatif serum	sayı	5	8	0	0	0	1	14
	%	22	16	0	0	0	0.7	4.6
Tip 1 pozitif (tip 2,3	sayı	15	36	18	19	25	128	241
ile müşterek veya yalnız)	%	68	72	72	70	96	85	80.3
Tip 2 pozitif (tip 1,3	sayı	6	23	17	22	25	132	225
ile müşterek veya yalnız)	%	27	46	68	81	96	88	75
Tip 3 pozitif (tip 1,3	sayı	2	17	15	20	24	110	188
ile müşterek veya yalnız)	%	9	34	60	74	92	73	62.6

Tablo 5: Çeşitli toplumlarda poliyomiyelit nötrleyen antikörlerin dağılımı ($\geq 1:4$).

Serum numunesi		Enfeksiyon	F.T.R. ⁺⁺	Biyokimya	Asker	Talebe	Toplam
Yaş (sene)		0-14	0-14	0-19	20-23	20-25	
Test edilen serum sayısı		52	26	72	107	43	300
Yalnız Tip 1 için pozitif serumlar	sayı	24	3	2	3	3	35
	%	44	11	2.7	3	7	12
Yalnız Tip 2 için pozitif serumlar	sayı	4	1	5	11	2	23
	%	8	4	7	10	5	8
Yalnız Tip 3 için pozitif serumlar	sayı	0	1	2	0	1	4
	%	0	4	2.7	0	2	1.3
Tip 1+2 için pozitif serumlar	sayı	7	5	8	14	6	40
	%	14	19	11	13	14	13.3
Tip 1+3 için pozitif serumlar	sayı	5	4	3	6	4	22
	%	10	15	4	6	9	7.3
Tip 2+3 için pozitif serumlar	sayı	2	0	9	3	3	17
	%	4	0	12	3	7	5.6
Tip 1+2+3 için pozitif serumlar	sayı	7	11	34	69	24	145
	%	14	42	47	65	56	48.3
Negatif serum	sayı	3	1	9	1	0	14
	%	6	4	12	1	0	4.6
Tip 1 pozitif (tip 2,3 ile müşterek veya yalnız)	sayı	43	23	47	92	36	241
	%	82	90	65	86	84	80.3
Tip 2 pozitif (tip 1,3 ile müşterek veya yalnız)	sayı	21	17	55	97	35	225
	%	40	65	76	90	81	75
Tip 3 pozitif (tip 1,2 ile müşterek veya yalnız)	sayı	14	16	48	78	32	188
	%	28	61	66	73	74	62.6

+ Hacettepe hastanesine poliyomiyelit şüphesi ile yatırılan hastalar.

++ Hacettepe hastanesi fizik tedavi ve rehabilitasyon kliniğine tedavi için gelen hastalar.

+++ Hacettepe hastanesi biyokimya laboratuvarına biyokimyasal test için gelen hastalar.

0-14 yaşlardaki poliyo sekelli 26 çocuğun % 42 sinin üç tipe karşı antikor ve bir tanesinin de hiç antikor ihtiva etmediği bulundu.

0-19 yaş grubundaki poliyomiyelit şüphesi olmayan şahıslarda %47 oranında üç tipe karşı antikor ve % 12 oranında da hiç antikor ihtiva etmeyen şahıs bulunmuştur.

20-23 yaşlardaki askerlerde % 65 oranında üç tipe karşı antikor ve % 1 oranında da hiç antikor ihtiva etmeyen şahıs bulunmuştur. Üç tipe karşı bağışıklık oranı en yüksek olan bu gruptur.

Tıp Fakültesi talebelerinin hepsi en az bir tipe karşı antikor ihtiva etmektedir. Üç tipe karşı bağışıklık oranı % 56 dır.

Poliyomiyelit enfeksiyonu geçirdiği tesbit edilen hastaların ve poliyo sekellilerin serumları değerlendirmeden çıkarılacak olursa (Tablo 6) negatif serum oranın 0-1 yaş grubunda % 36 ya ve 2-5 yaş grubunda % 23 e yükseldiği görülmektedir. 6-9 yaş grubu ve yukarı yaşlardaki şahısların tümünde en az bir tipe karşı antikor bulunmaktadır. 257 şahsın % 52 sinde üç tip poliyo virusa karşı antikor ve % 5 inde hiç antikor bulunmamıştır.

Grafik 1 de gösterildiği şekilde tek bir tipe karşı nötrleyen antikorların oranı 0-1 yaş grubunda % 50, 2-5 yaş grubunda % 30, 6-9 yaş grubunda % 40, 10-14 yaş grubunda % 10, 15-19 yaş grubunda % 0 ve 20-25 yaş grubunda % 13.7 olarak bulunmuştur.

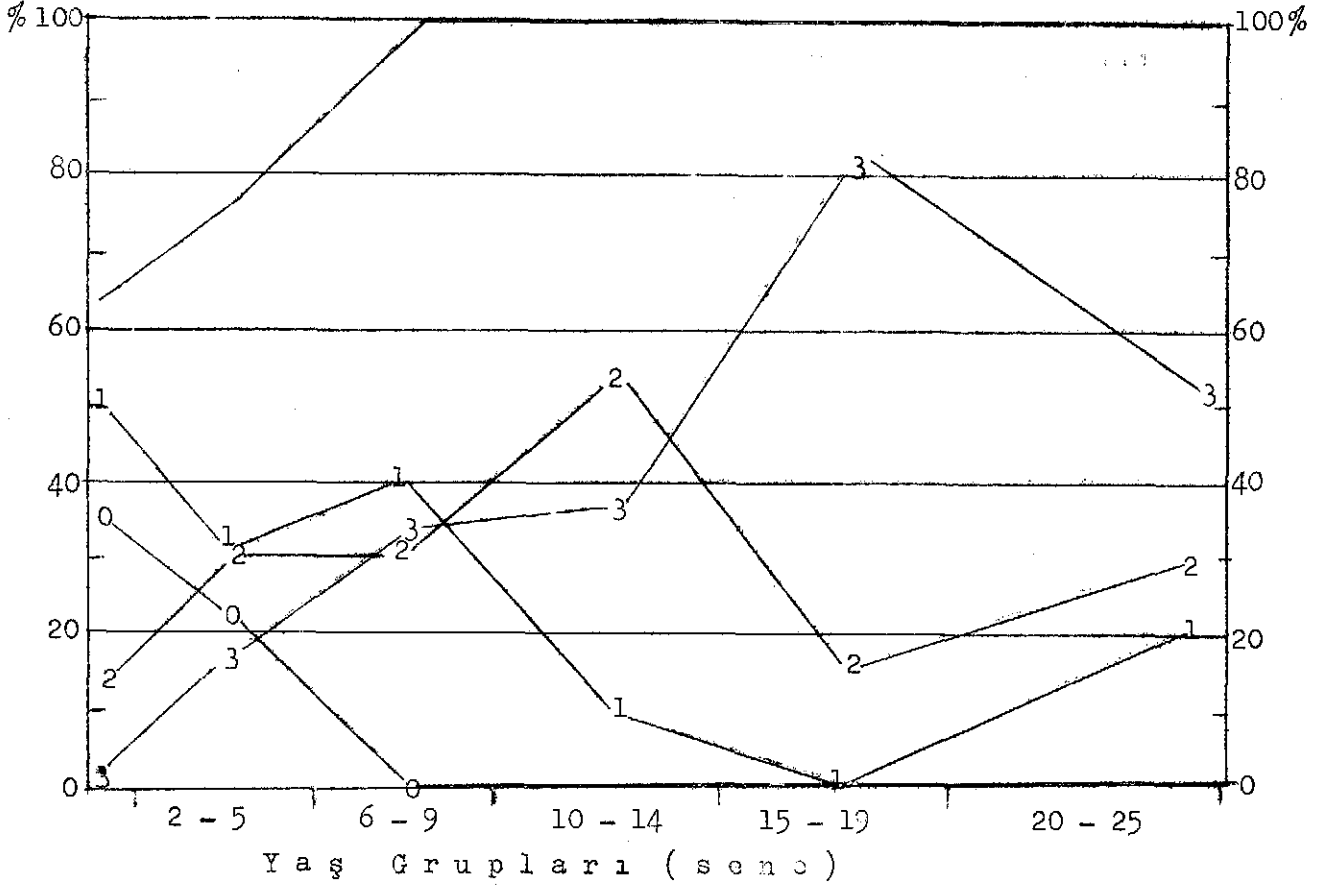
İki tip için pozitiflik 0-1 yaş grubunda % 14, 2-5 yaş grubunda % 30, 6-9 yaş grubunda % 26.6, 10-14 yaş grubunda % 54, 15-19 yaş grubunda % 16 ve 20-25 yaş grubunda % 25 oranında olduğu anlaşılmıştır.

Üç tipe karşı poliyovirus nötrleyen antikor ihtiva edenler, 0-1 yaş grubunda % 0, 2-5 yaş grubunda % 17, 6-9 yaş grubunda % 33.3, 10-14 yaş grubunda % 36, 15-19 yaş grubunda % 84.6 ve 20-25 yaş grubunda % 62 oranında olduğu bulunmuştur.

Tablo 6: Poliyomiyelit nötrleyen antikorların ($\geq 1:4$) 257 şahıs-
da yaş gruplarına göre dağılımı. (Poliyomiyelit geçir-
miş hastalar hariç).

		Yaş Grupları (sene)						Toplam
		0-1	2-5	6-9	10-14	15-19	20-25	
Test edilen serum sayısı		14	30	15	22	26	150	257
Yalnız Tip 1 için pozitif serumlar	sayı	5	5	2	1	0	6	19
	%	36	17	13.3	5	0	4	7.4
Yalnız Tip 2 için pozitif serumlar	sayı	1	4	3	1	0	13	22
	%	7	13	20	5	0	9	8.5
Yalnız Tip 3 için pozitif serumlar	sayı	1	0	1	0	0	1	3
	%	7	0	6.6	0	0	0.7	1.1
Tip 1+2 için pozitif serumlar	sayı	2	3	1	4	2	20	32
	%	14	11	6.6	18	8	14	12
Tip 1+3 için pozitif serumlar	sayı	0	4	1	2	1	10	18
	%	0	13	6.6	9	4	7	7
Tip 2+3 için pozitif serumlar	sayı	0	2	2	6	1	6	17
	%	0	6	13.3	27	4	4	7
Tip 1+2+3 için pozitif serumlar	sayı	0	5	5	8	22	93	133
	%	0	17	33.3	36	84.6	62	52
Negatif serum	sayı	5	7	0	0	0	1	13
	%	36	23	0	0	0	0.7	5
Tip 1 pozitif (tip 2,3 ile müşterek veya yalnız)	sayı	7	17	9	15	25	128	201
	%	50	57	60	68	96	85	78
Tip 2 pozitif (tip 1,3 ile müşterek veya yalnız)	sayı	3	14	11	19	25	132	204
	%	21	47	73	86	100	88	80
Tip 3 pozitif (tip 1,2 ile müşterek veya yalnız)	sayı	1	11	9	16	24	110	171
	%	7	37	60	72	92	73	66

Grafik 1: Poliyomiyelit nötrleyen antikörler pozitif ve negatif olan serumların yaş gruplarına göre dağılımının yüzdeleri. (Poliyomiyelit vak'aları hariç).



- En az bir tip için pozitif (Tip 1, 2, 3 yalnız veya müşterek).
- 1———— 1 Bir tek tip için pozitif.
- 2———— 2 İki tip için pozitif.
- 3———— 3 Üç tip için pozitif.
- 0———— 0 Bütün tipler için negatif.

Tablo 7: Poliyomiyelit ön tanısı konan hastaların 10-20 gün ara ile alınan, iki serum numunesindeki poliyomiyelit nötrleyen antikorların titreleri.

Serum No	Yaşı	Cinsi- yeti	Nötrleyen ant. - t i t r e s i			Serum No	Yaşı	Cinsi- yeti	Nötrleyen ant. - t i t r e s i		
			Tip 1	Tip 2	Tip 3				Tip 1	Tip 2	Tip 3
829	3	K	0	0	0	1029	1	K	1/16	0	0
891	"	"	0	0	0	1033	"	"	1/64	0	0
982	1	E	1/64	1/8	1/32	1034	2	K	1/8	0	0
985	"	"	1/64	1/8	1/128	1066	"	"	1/32	0	0
986	7	E	0	1/32	1/4	1067	1.5	K	1/16	0	0
987	"	"	0	1/32	1/4	1069	"	"	1/128	0	0
995	1	K	1/32	0	0	1219	4	E	1/16	0	0
997	"	"	1/128	0	0	1231	"	"	1/128	0	0
993	2	E	1/16	0	0	1232	7	E	1/32	1/8	0
1002	"	"	1/64	0	0	1234	"	"	1/128	1/8	0
1004	8	E	1/16	0	0	1242	6	E	1/32	0	0
1007	"	"	1/16	0	0	1243	"	"	1/128	0	0
1018	2.5	E	1/4	0	0	1244	2.5	K	1/64	0	0
1022	"	"	1/16	0	0	1246	"	"	1/256	0	0
1019	9	K	1/8	1/8	1/16	1252	1	K	1/8	1/64	0
1024	"	"	1/8	1/8	1/16	1256	"	"	1/64	1/64	0
1014	4	E	1/16	0	1/8	1261	7	K	1/128	1/16	1/32
1025	"	"	1/16	0	1/8	1263	"	"	1/128	1/16	1/32
1023	1.5	E	1/16	0	0	1264	3.5	E	1/32	0	0
1028	"	"	1/64	0	0	1265	"	"	1/128	0	0

En az bir tipe karşı antikor 0-1 yaş grubunda % 64, 2-5 yaş grubunda % 77, 6-9 yaş grubu ve daha ileri yaşlarda % 100 oranında bulunmuştur. Bu da, 9 yaşından evvel bütün çocukların en az bir tip poliyovirus ile enfekte olduğunu göstermektedir. Hiç poliyovirus ile karşılaşmamışlar ise, 0-1 yaş grubunda % 36, 2-5 yaş grubunda % 23 oranında bulunmuştur.

Poliyomiyelit şüphesi olan hastalardan temin edilen akut ve konvalesan devrede alınmış 20 çift serum numunesi ile yapılan metabolizma önlenim deneyi sonucunda, (Tablo 7) 13 tanesinin % 65 poliyovirus tip 1 enfeksiyonu ve 1 tanesinin % 5 poliyovirus tip 3 enfeksiyonu geçirdiği ve 6 tanesinin de % 30 halihazırda poliomyelit enfeksiyonu geçirmediği anlaşılmıştır. Bu bulgular klinisyenlerce de doğrulanmıştır.

Poliyomiyelit enfeksiyonu geçirmekte olan 14 çocuğun 4 tanesi 0-1, 6 tanesi 2-3, 2 tanesi 4-5 ve 2 tanesi de 6-7 yaşlar arasındadır. Vak'aların büyük bir çoğunluğunu (% 85 ini) 0-5 yaş grubundaki çocuklar teşkil etmektedir. Ancak % 15 şii 6-7 yaşlar arasındaki çocuklardır ve toplam 14 vak'anın 8 tanesi erkek çocuk ve 6 tanesi de kız çocuktur.

Toplam olarak 300 şahsın kan serumunda, poliyovirus tip 1, tip 2, tip 3 e karşı bulunan nötrleyen antikorların titresi (Tablo 8 de sunulmuştur.

Tablo 8

Nötrle. Ant.tit.	T i p 1		T i p 2		T i p 3	
	sayı	%	sayı	%	sayı	%
0	58	19.3	76	25.3	112	37.3
1/4	37	12.3	31	10.3	41	13.7
1/8	44	14.7	52	17.3	49	16.3
1/16	52	17.3	46	15.3	32	10.6
1/32	50	16.6	35	11.7	20	6.6
1/64	23	7.7	24	8.0	18	6.0
1/128	19	6.3	18	6.0	13	4.3
1/256 ve yuk.	17	5.7	18	6.0	15	5.0

Tip 1, tip 2, tip 3 için ortalama titre 1/15.2, 1/16.0, 1/15.5 ve standart sapma \pm 0.08, \pm 0.02, \pm 0.03 olarak hesap edilmiştir.

T A R T I Ş M A

Bulgularımıza göre, paralitik poliyomiyelit geçirmiş, poliyomiyelit şüpheli ve poliyomiyelit şüphesi olmayan şahıs gruplarından temin edilen toplam 300 serumun sadece % 4.6 sında, hiç bir tipe karşı ($\geq 1:4$) nötrleyen antikorlar bulunmamıştır. (Tablo 4)

0-1 yaş grubunda, yalnız tip 1 e karşı % 45 gibi yüksek oranda antikor bulunması, (tablo 4) incelendiğimiz 52 serumun intaniye bölümünden poliyomiyelit teşhisi için gönderilmiş olmasına bağlıdır. Bunlardan çift serum gönderilme olanağı sağlanan 20 çocuğun % 65 inin tip 1 enfeksiyonu geçirmekte olduğu laboratuvarımızca bulunmuştur (tablo 4). Değerlendirmeye bunlarda dahil olduğundan tip 1 e karşı bağışıklık yüzdesinin fazla bulunması normal bir sonuç görülmektedir.

Fizik Tedavi Kliniğinden gelen poliyo sekelli 26 çocuğun serumlarının % 42 sinin üç tipe karşı antikor ihtiva ettiğini ve aynı yaş grubundaki poliyo şüpheli şahıslardan % 28 oranında bir fazlalık gösterdiğini görmekteyiz. Bu da bu çocukların poliyomiyelit enfeksiyonu geçirdiğini göstermektedir. Tablo 5 de görüldüğü gibi bu grupta dört yaşındaki bir çocukta hiç bir tipe karşı antikor bulunmamıştır. Poliyo sekeline benzer bir şikayetle klinikte tedavi gören bu hasta poliyo virusları dışında diğer entero viruslarla enfekte olmuş olabilir. Dr.Gemicioğlu ve Arı'nın yaptığı araştırmalarda,⁹ paralitik çocuklardan sağlanan numunelerin yaklaşık olarak dörtde birinde poliyo dışı entero viruslar izole edilmiştir.

20-25 yaşları arasında kabul ettiğimiz üniversite talebesi serumlarında tip 1 e karşı % 84 tip 2 ye karşı % 81, tip 3 e karşı % 74, üç tipe karşı % 56 oranında antikorlar tesbit ettik, hiç antikor ihtiva etmeyen şahıs ise bulamadık (tablo 5).

Yine aynı tabloda gösterildiği gibi, aynı yaş grubu kabul edilebilecek er serumları ise tip 1 e % 86, tip 2 ye % 90, tip 3 e % 73 üç tipe karşı % 65 oranında pozitif, bir tanesi de negatif bulunmuştur.

Bu da toplu halde yaşayan askeri birliklerde gizli enfeksiyonlarla hastalığa yakalanma olanağının arttığını ve üç tipe karşı antikor taşıma oranının yükselmiş olduğunu göstermektedir.

Poliyomiyelit enfeksiyonu geçirmediğini zannettiğimiz 257 şahıs serumunda (tablo 6) tip 1 e karşı % 78, tip 2 ye karşı % 80, tip 3 e karşı % 66, üç tipe karşı % 52 ve negatifler % 5 dir. Bununla beraber 6-9 yaş grubu ve daha ileri yaş gruplarındaki bütün şahısların en az bir tip poliyo virusuna karşı antikor taşıdığı görülmüştür. Bu bize, Türkiye'de çocukların 9 yaşından evvel en az bir tip poliyo virusu ile karşılaştığını göstermektedir. Fransa'da da buna benzer sonuçlar 1955, 1956, 1957 araştırmaları ile saptanmıştır.⁷ Bu ülkede yaşama standartları orta olan toplumdaki 1500 çocukta yapılan antikor tayininde iki yaşındakilerin % 50 sinde bir tipe karşı, yedi yaşındakilerin % 50 sinde üç tipe karşı, 14-15 yaşındakilerin % 90 nında en az bir tipe karşı ve % 70 inde ise üç tipe karşı antikor bulunduğu tesbit edilmiştir. Aynı şekilde Dakar'da (Afrika) bir yaşındaki çocukların % 50 sinde asgari bir tipe karşı ve üç yaşındakilerin % 50 sinde üç tipe karşı antikor bulunmuştur.⁷

Memleketimizde 0-1 yaş grubunda bir tipe karşı bağışıklığın % 50 civarında olması (tablo 6, grafik 1) bu yaş grubundaki çocukların bir kısmının anneden geçen fetal antikorlar ihtiva etmesine bağlanabilir ve bu gruptaki çocuklar poliyo virusu ile ilk defa karşı karşıya geleceklerinden tek bir tiple karşılaşmaları normaldir. İki ve üç tiple karşılaşmaları ve bağışıklık kazanmaları daha zayıf ihtimaldir. Nitekim (tablo 6) ve (grafik 1) incelenirse iki tipe karşı bağışık olanların nisbetinin % 14, üç tipe karşı bağışık olanların yüzdesinin ise sıfır olduğu görülmektedir.

1963 aşı kampanyasından önce 1956 da Payzın, Türkiye'den topladığı 134 serumda, Amerika'da uygulanan metabolizma önlenim deneyinde % 60 oranında üç tipe karşı antikor ve % 4 oranında ise hiç antikor ihtiva etmeyen şahıs bulunmuştur (tablo 9). Pozitiflerin antikor titre seviyeleri oldukça yüksek bildirilmiştir. Bunun o senelerdeki epidemiyeye bağlanması mümkün olabileceği gibi,

uygulanan metodun semi makro oluşu ve özel bir grubu temsil edişi göz önünde bulunursa, o zamanki toplumdaki poliyo antikorları hakkında kesin bir fikir vermiyeceği anlaşılmaktadır.

Çalışmalarımızda sıfır dokuz yaş grubunda (tablo 9) tip 1 e karşı % 56, tip 2 ye karşı % 47, tip 3 e karşı % 35 üç tipe karşı % 17 ve hiç antikor ihtiva etmeyenler ise % 20 oranında bulunmuştur.

10-19 yaş grubunda tip 1 e karşı % 83, tip 2 ye karşı % 91, tip 3 e karşı % 83, üç tipe karşı % 62 oranında antikor bulunmuş, negatif seruma ise rastlanmamıştır.

1960 da Dr.Zühdi Berke ve Azmi Arı'nın, Türkiye'nin Akdeniz ve Doğu Karadeniz bölgesinden temin ettikleri, 0-9 yaşlar arasındaki 83 çocukta, poliyomiyelit nötrleyen antikorlar, Washington Walter Reed araştırma enstitüsünde tayin edilmiş ve çok düşük seviyelerde antikorlar tesbit edilmiştir.²

Poliyomiyelit nötrleyen antikorlar pozitif ve negatif olan serumların yaş gruplarına göre dağılım yüzdelerinin, aşı uygulamasından önceki durum ile mukayesesi grafik 2 ve 3 de sunulmuştur. Sonuçların çoğunluğu benzerlik göstermekle beraber bir kısmında ayrılık vardır. Bu ayrılık 1956 araştırmasında kullanılan serum sayısının azlığına ve aynı ortamdan temin edilmemiş olmasına bağlıdır. Yalnız, o zamanki antikor titrelerinin yüksek seviyede oluşlarının aktif immunité ile ilgili olduğu aşikardır.

Bizim çalışmamızda, antikor seviyelerinin düşük tesbiti; üçlü atenué aşının bir defa veya yetersiz alınmış olması ile her üç poliyo tipine karşı yeterli antikor teşekkül edememesinden ve T.C.İ.D.₅₀ tayininde, deneye hücre ilâve etmeden evvel, virüsü bir saat oda derecesinde bekletmekle esas deneyimizde gerçek 100 T.C.İ.D.₅₀ dozunu kullanmamızdan ileri gelmektedir.

T.C.İ.D.₅₀ tayininde virüsün çeşitli sulandırımalarına aynı anda hücre ilave edilip, deney sonucuna kadar etüvde bekletilirse, virüsün titresi yüksek çıkabilir.

Tablo 9: Poliyomiyelit aşı uygulamasından önce 134 serumda bulunan nötrleyen antikör sonuçları ile bizim 257 serum numunesinde bulduğumuz sonuçların mukayesesi. (İlk sütunlar önceki sonuçları, ikinci sütunlar bizim bulduğumuz sonuçları göstermektedir).

Yaş Grupları (sene)		0 - 9		10 - 19		20 +		Toplam	
Test edilen serum sayısı		42	59	28	48	64	150	134	257
Yalnız Tip 1 için pozitif serumlar	sayı	4	12	0	1	1	6	5	19
	%	10	20	0	2	1.6	4	4	7.4
Yalnız Tip 2 için pozitif serumlar	sayı	3	8	2	1	2	13	7	22
	%	7	13	7	2	3	9	5	8.5
Yalnız Tip 3 için pozitif serumlar	sayı	5	2	0	0	1	1	6	3
	%	12	3	0	0	1.6	0.7	4	1.1
Tip 1+2 için pozitif serumlar	sayı	7	6	1	6	2	20	10	32
	%	17	10	4	13	3	14	7	12
Tip 1+3 için pozitif serumlar	sayı	1	5	2	3	2	10	5	18
	%	2	8	7	6	3	7	4	7
Tip 2+3 için pozitif serumlar	sayı	3	4	7	7	4	6	14	17
	%	7	7	25	14	6	4	10	7
Tip 1+2+3 için pozitif serumlar	sayı	13	10	16	30	52	93	81	133
	%	30	17	57	62	81	62	60	52
Negatif serum	sayı	6	12	0	0	0	1	6	13
	%	14	20	0	0	0	0.7	4	5
Tip 1 pozitif (tip 2,3 ile müşterek veya yalnız)	sayı	25	33	19	40	57	128	101	201
	%	60	56	68	83	89	85	75	78
Tip 2 pozitif (tip 1,3 ile müşterek veya yalnız)	sayı	26	28	26	44	60	132	112	204
	%	62	47	93	91	93	88	84	80
Tip 3 pozitif (tip 1,2 ile müşterek veya yalnız)	sayı	22	21	25	40	59	110	106	171
	%	50	35	89	83	92	73	79	66

Çünkü nötralizasyon deneyinde serum virus karışımı bir saat oda derecesinde beklemektedir ve bu esnada virusun titresi düşmektedir. Biz bunu nazarı itibara alarak T.C.İ.D.₅₀ tayininde hücre ilâve edilmeden önce virusumuzu, nötralizasyon deneyinde olduğu gibi bir saat oda derecesinde beklettik ve ondan sonra üzerine hücre ilâve ettik. Böylece nötralizasyon deneyinde gerçek 100 T.C.İ.D.₅₀ yi kullanmış olduk.

Bizim bulgularımıza göre 6-9 yaş grubu ve yukarsında negatif serum oranı yüzde sıfırdır. Önceki bulgulara göre ise 5-9 yaş grubunda % 6 ve 10-14 yaş grubunda yüzde sıfırdır. Bu bize eskiye nazaran en az bir tiplo enfeksiyonun daha erken yaşlarda husule geldiğini göstermektedir. Aynı şekilde üç tipe karşı bağışıklık, bizim bulgularımıza göre 15-19 yaş grubunda en yüksek seviyede, % 84.6 önceki bulgulara göre ise 20-29 yaş grubunda en yüksek seviyede olup % 90 dır. Bizim bulgularımız yaş ilerledikçe üç tipe karşı bağışıklığın arttığını, 1956 daki bulgular ise üç tipe karşı bağışıklığın yaş ilerledikçe azalma ve yükselme gösterdiğini belirtmektedir.

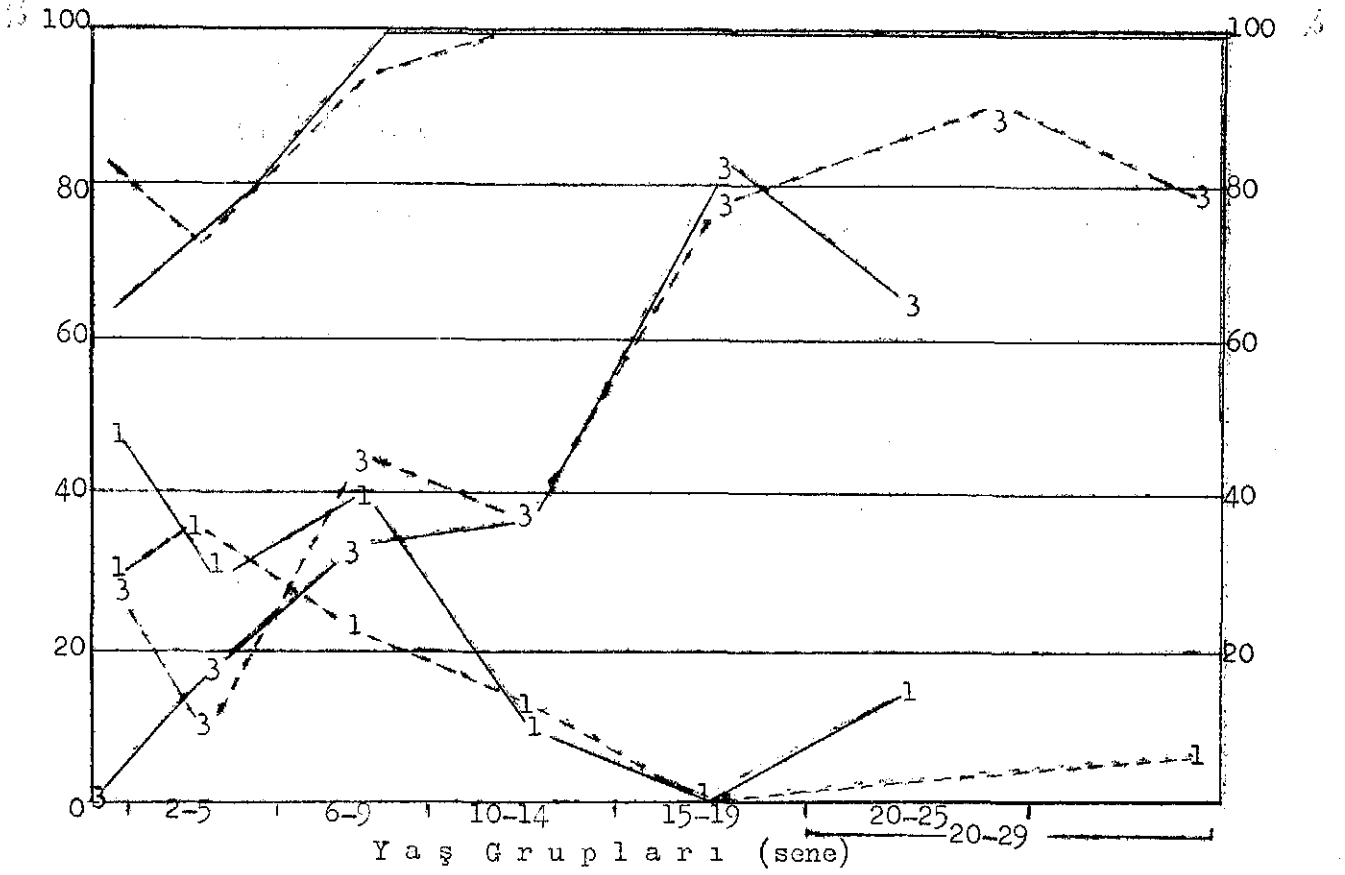
Çift serum numuncesi ile poliyomiyelit enfeksiyonu geçirmekte olduğu tesbit edilen 14 hastanın % 85 inin 5 yaşından küçük çocuklar olması (tablo 7) diğer birçok memleketteki duruma benzemektedir.

1911 de Amerika'da Cincinnati'de poliyomiyelitin sebep olduğu felçlerin % 83 ü ve 1916 da Newyork'da % 79 u beş yaşından küçük çocuklarda meydana gelmiştir.^{31,33}

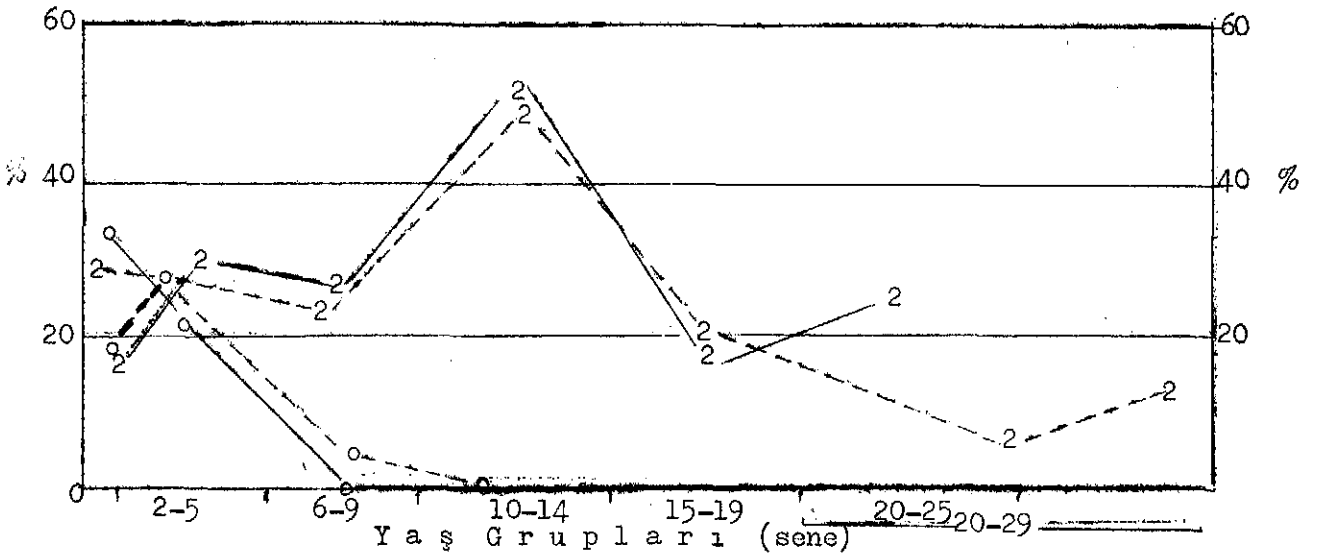
1950-1957 de İngiltere ve Galler'deki,^{19,44} 1957 de Fransa'daki²³ 1951 Panama'daki epidemide vak'aların büyük bir çoğunluğu beş yaşından küçük çocuklarda görülmüştür.

Poliyomiyelitin değişik ülkelerde değişik yaş gruplarındaki çocuklarda görülmesi, bu ülkelerin sosyo ekonomik durumları ve yaşama standartları ile yakından ilişkilidir. Afrika ülkelerinde poliyoya yakalanma küçük yaşlarda olmasına rağmen, İsveç'de hastalık daha yaşlı çocukların ve erişkinlerin hastalığı haline gelmiştir.

Grafik 2: Poliyomiyelit nötrleyen antikorlar pozitif veya negatif olan serumların yaşa göre dağılımının yüzdelerinin aşı uygulamasından önceki durum ile mukayesesi. (Kesik çizgiler önceki sonuçları göstermektedir).



Grafik 3 : (Grafik 2 nin devamı).



— En az bir tip için pozitif (tip 1,2,3 yalnız veya müsterek).
1—1 Bir tek tip için pozitif. 2—2 İki tip için pozitif.
3—3 Üç tip için pozitif. 0—0 Bütün tipler için negatif.

Bu yüzden hastalığa yakalanma riski 10-15 yaşları arasındakilerde daha yüksektir.

Yapılan gözlemlere göre poliyomiyelitin 2, 4, 10 senede bir çoğaldığı görülmektedir. Virusun yayılması ile meydana gelen belirli enfeksiyonlardan başka birçok gözükmeyen enfeksiyonlarda oluşmaktadır; ve bu da immun şahısların yüzdesini arttırmaktadır. Bunlar bilahare ikinci enfeksiyonlarda korunmuş oluyor ve etraflarına virus saçmamış oluyorlar. Epidemiden birkaç sene sonra bir grup immun hale gelmiş olur ki yeni doğanlarla beraber hassasların miktarı artar. Bu hassaslar yüzünden yeni epidemiler başlar. Bu şekilde periyodik olarak epidemiler sık sık vuku bulur. Bu tekrarlar Çekoslavakya'da beş senede bir, İsveç'de sekiz senede bir olarak tesbit edilmiştir.⁷

Memleketimizde son salgın 1968 de vuku bulduğuna göre yakın bir gelecekte tekrar yeni bir epideminin meydana çıkması kuvvetle muhtemeldir.

Sistemli, serolojik çalışmalar yapılan bazı memleketlerde, virusun devamlı yayıldığı görülmüştür.

Canlı aşıların kullanıldığı ülkelerde, attenuue virusun insandan insana fekal-oral veya oral-oral olarak geçmesi, bu virusun tekrardan virulans kazanmasına yol açabilir. Bu şekilde herhangi bir tip içinde sokak tipinin doğuşu yalnız poliyo vak'alarının artmasına değil, patolojik yönden de farklılık göstermesine sebep olabilir.

Ö Z E T

Türk toplumundan temin edilen poliyomiyelit şüpheli, poliyomiyelit geçirmiş ve poliyomiyelit şüphesi olmayan 0-25 yaşlar arasındaki 300 şahısta mikrotitrasyon aleti ile Salk'ın metabolizma önlenim testini uygulayarak poliyovirus nötrleyen antikörleri araştırdık. Bununla beraber çift serum temin edilen 20 hastanın poliyomiyelit teşhisine yardımcı olduk.

0-1 yaş grubundaki çocukların % 22 sinin ve 2-5 yaş grubundakilerin % 16 sinin hiç antikör ihtiva etmediği bulunmuştur (tablo 4). 6-9 yaş grubu ve daha yukarı yaşlardaki herkes en az bir tipe karşı antikör ihtiva etmektedir. Üç tipe karşı antikör ihtiva edenlerin yüzdesi en yüksek olan yaş grubu 15-19 dur ve oran % 84.6 dır.

Toplam 300 serumun % 48.3 ü üç tipe karşı antikör ihtiva etmekte ve % 4.6 sı da hiç antikör ihtiva etmemektedir.

0-14 yaşlar arasındaki poliyomiyelitli 26 çocuğun % 42 sinin üç tipe karşı antikör ve bir tanesinin de hiç antikör ihtiva etmediği saptanmıştır.

Poliyomiyelit şüphesi olmayan 257 şahsın % 52 sinde üç tip poliyovirusa karşı antikör ve % 5 inde de hiç antikör bulunmamıştır (tablo 6).

0-1, 2-5, 6-9, 10-14, 15-19, 20-25 yaş gruplarında tek bir tipe karşı nötrleyen antikörlerin oranı sıra ile % 50, % 30, % 40, % 10, % 0, ve % 13.7 olarak bulunmuştur. Üç tipe karşı ise sıra ile % 0, % 17, % 33.3, % 36, % 84.6, % 62 olduğu saptanmıştır (Grafik 1).

En az bir tipe karşı antikör, 0-1 yaş grubunda % 64, 2-5 yaş grubunda % 77 oranındadır ve 6-9 yaş grubu ve daha ileri yaşlardaki herkes en az bir tiple enfekte olmuş durumdadır.

Çift serum temin edilen 1-9 yaşlar arasındaki 20 çocuğun 14 ünün serumunda dört kat ve daha fazla antikor artımı gösterilmiştir. Poliyomiyelit enfeksiyonu geçirmekte olan bu çocukların 4 tanesi 0-1, 6 tanesi 2-3, 2 tanesi 4-5 ve 2 tanesinde 6-7 yaşlar arasındadır. Vak'aların büyük bir çoğunluğunu (% 85 ini) 0-5 yaş grubundaki çocuklar teşkil etmektedir. 14 vak'anın 8 tanesi erkek ve 6 tanesi kızdır.

Memleketimizde, laboratuvar teşhisi çok az yapılabilen poliyomiyelitin, gayet ekonomik ve pratik olan mikrotitrasyon aleti ile bir çok laboratuvar da yapılabilmesi mümkündür. Başka ülkelerde poliyomiyelit için bu test makro veya semi mikro olarak yapılmaktadır. Mikro sisteme adaptasyonunu ekseri laboratuvarların henüz yapmadığını okuduğumuz literatürden anlıyoruz.

Deneyin renk değişikliğine göre değerlendirilmesi, hücre kültürlerinin mikroskopta gözlenmesini ortadan kaldırmakta, hücre süspansiyonu, virus ve test serumu aynı günde ilâve edildiğinden tek tabaka hücre kültürü hazırlamayı gerektirmemekte ve test tek tabaka hücre kültürlerinde yapılan nötralizasyon testlerinden daha avantajlıdır. Ayrıca çok az serumla çalışılması, pediatri için özel önem taşımaktadır.

Memleketimizde endemik olarak bulunan poliyomiyelitin yakın bir gelecekte epidemî husule getirebileceği ve hastalığa karşı girişilen savaşın yeterli olmadığı toplumumuzdaki antikor dağılımından anlaşılmaktadır.

Vak'aların büyük bir çoğunluğunun 5 yaşından küçük çocuklarda görülmesi ve hastalığın daha çok Tip 1 le meydana gelmiş olması (Tablo 7) poliyo aşılması bakımından önemli bir hususu belirtmektedir. Tesbit edilen 14 vak'anın çoğu aşısız olmakla beraber aşılı olanlarda vardır. Bu duruma göre, aşı uygulamasının çocuklara çok erken yaşlarda ve önce monovalan poliyo Tip 1 aşısı ile başlanması ve daha sonra üç doz trivalan aşı ile devam edilmesinin uygun olacağı kanaatindeyiz.

K A Y N A K L A R

1. Barnett, E.V., and Baron, S.: Heterotypic antibody responses by rabbits inoculated with polio virus. *J. of Immunol.* 87 : 582-589, 1961.
2. Berke, Z., Arı, A.: Türkiye'nin Akdeniz ve Doğu Karadeniz bölgesinde 0-9 yaşları arasında olan çocuklarda Poliyomyelitis antikör seviyesi. *Türk Hij. ve Tec. Biol. Derg.* vol. xx Sh: 342, 1960.
3. Le Bouviér, G.L.: The modification of polio virus antigens by heat and ultraviolet light. *Lancet* 2 : 1013-1016, 1955.
4. Le Bouviér, G.L.: Polio virus D and C antigens; their differentiation and measurement by precipitation in agar. *Brit. J. Exp. Path.* 40 : 452-463, 1959.
5. Brown, L. V.: Studies on western equine encephalomyelitis virus in tissue culture. 1. The color change of phenol red in cultures of chick embryo tissue as a visible method for assay of western equine encephalomyelitis virus and its antibody. *Ame. J. of Hyg.* 67 : 214-236, 1958.
6. Dane, D.M.S., and Briggs, E.M.: Incidence of previous type 2 infection in patients with type 1 paralytic poliomyelitis. *Lancet* 2 : 851-853, 1956.
7. Debre, R., and Celers, J.: Clinical virology. The evaluation and management of human viral infections. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto. Sh: 47-105, 1970.
8. Gaush, C.R., and Younger, J.S.: A tissue culture color test for measuring influenza virus and antibody. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 101: 853-856, 1959.

9. Gemicioğlu, N., Arı, A.: 1965-1969 yılları arasında yurdumuzda poliyoy ile ilgili laboratuvar alışmaları ve yapılan incelemeler. Mikrobiyoloji bülteni cilt 5 Sh: 13-33, 1971.
10. Hammon, W. McD., and Ludwing, E.H.: Possible protective effect of previous type 2 infection against paralytic poliomyelitis viruses in vitro on human embryonic tissues. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 75: 370-374, 1950.
11. Hemmes, J. H., ve ark. : Virus survival as a seasonal factor in influenza and poliomyelitis. Nature 188: 430-431, 1960.
12. Hummeler, K., and Hamparian, V.V.: Studies on the complement fixing antigens of poliomyelitis. I. Demonstration of type and group spesific antigens in native and heated viral preparations. J. Immunol. 81: 499-505, 1958.
13. Hummeler, K., and Tumilowicz, J.J.: Studies on the complement fixing antigens of poliomyelitis. II. Preparation of type specific anti N and anti H indicator sera. J. of Immunol. 84: 630-636, 1960.
14. Kaynak, M.: 1968 İstanbul poliyomiyelit epidemisi ve düşündürdükleri. Mikrobiyoloji bülteni cilt 5, Sh: 5-11, 1971.
15. Lawrence, E.N.: Importance of meteorological factors to the incidence of poliomyelitis. Brit. J. Prev. Soc. Med. 16: 46-48, 1962.
16. Lennette, E. H., Neff, B. J., and Fox, V.L.: A colorimetric method for typing of adeno viruses. Am. J. of Hyg. 65: 94-109, 1957.
17. Lennette, E. H. ve ark.: Diagnostic Procedures viral and Rickettsial diseases. American Public Health Association, INC. 1964.

18. Lipton, M. M., and Steigman, A. J.: A simplified colorimetric test for poliomyelitis virus and antibody. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 88: 114-118, 1955.
19. Martin, W. J.: Statistical aspects of poliomyelitis in England and Wales in recent years. Bull. Minist. Health. 18: 54-64, 1959.
20. Melnick, J. L., and Opton, E. M.: Assay of poliomyelitis neutralizing antibody in disposable plastic panels. W.H.O. Bull. 14: 129-146, 1956.
21. Melnick, J. L.: Antigenic crossings within polio virus types. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 89: 131-133, 1955.
22. Olin, G.: The epidemiologic pattern of poliomyelitis in Sweden from 1905 to 1950. 2 nd International poliomyelitis conference. Philadelphia. J. B. Lippincott Company. Sh: 367-375, 1952.
23. Payne, A.M.M.: Poliomyelitis as a world problem. 3 cü International poliomyelitis conference. Philadelphia, J.B. Lippincott Company, Sh: 393-400, 1955.
24. Payne, A.M.M., ve ark.: Poliomyelitis in 1954. Contribution to the series of similar statistical studies which have appeared since 1935 in the epidemiological publications of W.H.O. Bull. 15: 43-121, 1956.
25. Payzın, S.: Some epidemiological aspects of poliomyelitis in Turkey. Bull. Wld. Hlth. Org. 15: 339-354, 1956.
26. Payzın, S.: Poliyomiyelit ve son yenilikler ile Türkiye'de durum. Türk Hij. ve Tec. Bio. Derg. Vol. XVII. Sh: 145-162, 1957.
27. Peart, A.F.W.: An outbreak of poliomyelitis in Canadian eskimos in wintertime. Canad. J. Pub. Healt 40: 405-412, 1949.

28. Radonavic M.R.: Present epidemiological situation of poliomyelitis in Europe (1964-1968). Europ. Assoc. Poliomyelitis and Allied Diseases. Vol. XII, XII th Symposium, Bucharest, Sh: 15-29, 1969.
29. Robertson, H.E., ve ark.: Propagation in vitro of poliomyelitis viruses. VII. pH change of HeLa cell culture for assay. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 88: 119-122, 1955.
30. Roizman, B., ve ark.: Immunochemical studies of poliovirus IV. Alteration of the immunologic specificity of purified poliomyelitis virus by heat and ultraviolet light. J. Immu. 82: 19-25, 1959.
31. Sabin, A.B.: Epidemiologic patterns of poliomyelitis in different parts of the world. I. International poliomyelitis conference. Philadelphia, J.B. Lippincott company. Sh: 3-33, 1949.
32. Sabin A.B.: Transitory appearance of type 2 neutralizing antibody in patients infected with type 1 poliomyelitis virus. J. Exper. Med. 96: 99-106, 1952.
33. Sabin, A.B.: Poliomyelitis virus of low virulence in patients with epidemic of "summer grippe or sore throat". Amer. Jour. of Hyg. 49: 176-193, 1949.
34. Salk, J.E., ve ark.: Use of color change of phenol red as the indicator in titrating poliomyelitis virus or its antibody in a tissue culture system. Amer. J. Hyg. 60: 214-230, 1954.
35. Sarıgöl, S.: Yurdumuzda polio savaşı ve yeni uygulama prensipleri. Mikrobiyoloji bülteni cilt 5, sayı 2, Sh: 153-169, 1971
36. Schmidt, N.J. ve ark.: A colorimetric method for the typing of coxsackie viruses of group B and certain members of group A. J. of Immu. 80: 454-462, 1958.

37. Schmidt, N.J., and Lennette, E.H.: A colorimetric neutralization test for Herpes simplex, with observations on neutralizing and complement fixing antibody levels in human sera. *Jour. of Immunol.* 86: 137-145, 1961.
38. Schmidt, N.J., ve ark.: A colorimetric test in a HeLa cell system for assay of neutralizing antibodies to echo viruses. *J. Lab. and Clin. Med.* 59: 687-696, 1962.
39. Sever, J.L.,: Application of a microtechnique to viral serological investigations. *J. of Immunol.* 88: 320-329, 1962.
40. Siguryonsson, J.: Epidemiologic characteristics of poliomyelitis in Iceland. *Ame. J. Hyg.* 51: 109-115, 1950.
41. De Somer, P., and Prinzie, A.: Poliomyelitis virus neutralizing antibodies determination by filter paper discs on solidified bottle cultures. *Virology* 4: 387-388, 1957.
42. Spicer, C.C.,: Influence of some meteorological factors in the incidence of poliomyelitis. *Brit. J. Prev. Soc. Med.* 13: 139-144, 1959.
43. Spicer, C.C.,: Comments on Mr. E.N. Lawrence's paper on poliomyelitis. *Brit. J. Prev. Soc. Med.* 13: 139-144, 1959.
44. Spicer, C.C.: The incidence of poliomyelitis virus in normal children aged 0-5 years. A report on a study by the public health laboratory service and local health authorities. *J. Hyg.* 59: 143-159, 1961.
45. Van Loghem, J.J.: Poliomyelitis and photoperiodicity. *Lancet* 7204: 706-708, 1961.
46. Verlinde, J.D.: Epidemiology of enteroviral infections. *T. Soc. Geneesko.* 37: 225-263, 1959.
47. Wenner, H.A. ve ark: Antigenic variations among type 1 polioviruses. A study of 16 Wild-Type strains and 5 variants. *Ame. J. Hyg.* 70: 66-90, 1959.

