

Br. ABORTUS S. 19 AŞISININ İNSANI ENFEKTE ETME KABİLİYETİ

Ömer ERTÜRK (x)

Bu gün için yurdumuzda Br. abortus S. 19 aşısı tatbik edilmemekle beraber, başta Amerika ve İngiltere olmak üzere diğer bazı memleketlerde de geniş mikyasta tatbik edildiği ve ilerde yurdumuzda da tatbik edilmesi ihtimali düşünülerek, hafif bir enfeksiyon halinde seyretse bile insanları enfekte edebileceği göz önünde tutularak bu aşının muhakkak surette veterinerler tarafından ve aynı zamanda dikkatle tatbik edilmesi lâzım geldiğini açıklamak ve bu konu üzerinde az sayıda ve bakteriyolojik muayeneleri tam olarak yapılmamış çalışmalar olduğundan bu araştırmayı yayımlamayı faydalı bulduk. Bu bakımdan, İngiltere'de bulunduğumuz sırada Royal Veteriner Kollejinin bakteriyoloji departmanında çalışırken beraber çalıştığımız bir bakteriyoloji teknisyeni, Br. abortus S. 19 aşısını tatbik ederken bir kaza neticesinde bu aşidan bir miktar gözüne sıçraması ve aradan üç haftalık bir müddet geçtikten sonra şüpheli hastalık tablosu göstermesi üzerine, Brucellose müstesna olmak üzere bu hastalık tablosunu meydana getirebilecek diğer hastalıklar bakımından yaptırdığı muayeneler hep menfi çıkmıştır. Kendisinden bir miktar kan alınarak aşağıda açıklıyacağımız bakteriyolojik ve allerjik metodlarla bir defa da Brucellose S. 19 bakımından bir araştırma yaptık.

Uzun zamanlardanberi, patojen tesir göstermeden kuvvetli bir muafiyet vermesi için Br. abortus'un zayıflamış suşu ile aşı denemeleri üzerinde çalışılmıştır. Bu sahada ilk başarılı neticeyi 1930 yılında Buck (1) S. 19 ile elde etmiştir. Bundan sonra İngiltere'de Mc Ewen ve Priestly (10) ayrı bir suşla denemeler yapmışlar ve bu suşu da S.45/20 olarak isimlendirmişlerdir. Bu denemelerden sonra da Huddleson'un (8) mukoid vaksen diye isimlendirdiği aşısı ile yaptığı denemeler gelir. Bilindiği gibi, S. 19 aşısı canlı bir aşıdır ve kobay ve sığırlar için patojen tesir göstermeden sığırlara muafiyet vermektedir. Bu suşun virulansını çoğaltmak veya azaltmak maksadiyle yapılan bir çok denemelerin sonucu hep menfi çıktığı için bu suş değişmez bir hususiyete sahiptir.

(x) Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji ve Salgınlar Kürsüsü Doçenti

18 sene sonra dahi yapılan denemelerle bu suşun aynı özelliği hiç değiştirmeden taşıdığı görülmüştür (9).

S. 19'un virulansı tamamen kaybolmamıştır. Bu aşı büyük dozlar halinde şırınga edilirse, gebe inekler yavrularını atarlar ve böyle vak'alarda bu suş mikroplar plasantada ve yavrunun kendisinde kolaylıkla görülür. Aşının bu şekildedeki şırıngası ile yavrularını atan inekler bu mikropla kendileri enfekte olmazlar. Fazla sayıdaki tecrübe hayvanları ile yapılan denemeler sonucunda görülmüşür ki, bu suş mikroplar bir hayvandan diğer hayvana bulaşmaz. Bu suş ile aşılanan hayvanların sütlerinde mikrob gayet ender olarak bulunur (9).

Kobaylar S. 19 ile enfekte edilebilirler. Fakat organizma içinde yalnız dalakta husule gelebilen lezyonlar pek ufak veya hiç yoktur ve hiç bir patolojik afat bırakmadan mikroplar organizmadan kaybolurlar. Halbuki Br. abortus ile enfekte marazi maddede bu mikropları meydana çıkarmak için en emin metod kobaylara yapılan inokulasyondur (9). Bu sahada ilk çalışanlar küçük laboratuvar hayvanlarının Br. abortus ile enfekte edilemeyeceklerini iddia ediyorlardı. Bu inanış 1912 yılında **Smith** ve **Fabyan** (13) tarafından tashih edildi. Kobaylarda enfekte mikrop şırıngasından sonra husule gelen lezyonların karakteristik vasıflarını en iyi bir şekilde **Fabyan** (3) açıklamıştır. **Smillie** (14) nin bildirdiğine göre, şırınga maddesindeki mikrop adedi bahis konusu olmaksızın dalakta en fazla mikrop, şırıngadan 3-4 hafta sonra görülür.

Brucellose tiplerinin birbirinden ayrılması aglutinasyon reaksiyonu ile mümkün olmadığı zaman **Shaw** (15) aglutinin absorpsiyonu reaksiyonunun yapılmasını ileri sürmektedir. **Huddleson**'a nazaran bu reaksiyon Br. abortus ve Br. suis'i birbirinden ayıramaz ve **Melitensis**'i de Br. abortus'dan tefrik edemez. Bu bakımdan bu metodun fazla önemli bir kıymeti yoktur (9). **Morales** ve **Lebron** (11) her üç tipten bir karbon hidrat fraksiyonu hazırlamışlar ve bunun melitensis serumlarını Br. abortus ve Br. Suis serumlarından tefrik edebileceğini ileri sürmüşlerdir. Fakat bu fraksiyon Br. abortus ve Br. Suis serumlarını birbirinden ayıramaz (9).

Huddleson ve **Abell**'e nazaran (5) Br. Suis en aşağı 4 gün etüvde devamlı olarak hidrojen sülfid husule getirir. Br. abortus ise ancak 2 gün müddetle hasıl eder ve Br. melitensis ise bunu farkna varılacak bir derecede husule getirmez. Husule gelen bu madde dolayısıyla elde edilen neticeler değişik çıktığından ve bu reaksiyonun kontrolü de zor olduğundan bir çok araştırmacılar bu metodu emin bir metod olarak desteklememişlerdir (9). **Mc Alpine** ve **Slanetz** (12) vasat içersinde glikoz olduğu zaman Br. abortus'un bu şekeri ya az miktarda veya hiç sarfetmediğini açıklamışlardır. Halbuki Br. melitensis ve Br. Suis ise glikozu daha yüksek nispette sarfederler. Bununla beraber eskimiş suşlar glikozdan istifade kabiliyetlerini kaybederler (9).

1928 yılında **Huddleson** (6) vasatlara belirli nispette karıştırılan çeşitli bo-

yalar vasıtasile Brucella tiplerinin tefriki metodunu ileri sürmüş ve bu metod umumiyetle kabul edilmiştir.

Br. abortus S. 19 aşısının insanı enfekte ettiğine dair bu güne kadar pek az yayın yapılmıştır. 1944 yılında Gilman (4) insanda bu suşdan ileri gelen bir Brucellose vakasını kesin olarak bildirmiştir. Bununla beraber bu bildirim lâzım gelen önem verilmemiştir. Son zamanlarda Spink ve Thomson (16) biri bir veterinerde diğeri de bir veteriner talebesinde görülen S. 19 dan ileri gelen iki enfeksiyon vak'asını bildirmişlerdir. Bu bilginler, yalnız bir şahsın kanından S. 19'u izole ve idantifiyé etmişlerdir. Dill (2) de insanda S. 19 ile bir enfeksiyon vak'asını bildirmektedir. 1951 yılında Downing (9) yine bir kaza neticesinde bir çifticide S. 19 ile bir enfeksiyon vak'asını bildirmiştir. Bu vak'ada dia-gnoz yalnız serolojik reaksiyonla yapılmış, hastadan mikrop izole edilememiştir.

Metod ve Materyal

Şahıstan steril şartlar altında alınan sitratlı kan ve kan serumu ile Br. abortus S. 19 bakımından çabuk ve yavaş aglutinasyon reaksiyonu ve PH.sı 7.5 olan ve içersinde % 5 normal sığır serumu, % 1 dextrose ve 1/500.000 malachit green ve 1/250.000 nispetinde gentian violet olan vasata hemokültür yapılmıştır. Bundan başka, aktif olarak enfekte şahıslarla immun şahısları birbirinden ayırmak için Huddleson'un opsonin indeksi metodu (8) ve aynı zamanda şahsa al-lergi reaksiyonu tatbik edilmiştir. Hemokültür sonucunda üreyen mikrop, içersinde çeşitli bakteriyostatik boyalar olan vasatlara ekilerek üreme durumu incelenmiş ve gerek stok laboratuvar suşu Br. abortus ve gerekse hemokültürde üreyen mikrop kobaylara şırınga edilerek meydana gelen hastalık tabloları üzere-rinde mukayeseler yapılmıştır.

Sonuçlar

Aglütinasyon reaksiyonu : Şahıstan elde ettiğimiz kan ve kan serumu ile Br. abortus S. 19 bakımından yaptığımız gerek çabuk aglütinasyon ve gerekse yavaş aglütinasyon reaksiyonlarından müspet sonuç elde ettik.

Hemokültür Denemesi : Hazırladığımız vasata hemokültür yapıldıktan sonra petri kutuları % 10 CO₂ kesafetinde olmak üzere 10 gün etüvde bırakıldı. Kana herhangi bir bulaşma ihtimali olan diğeri mikropoları meydana çıkarmak için de aynı kandan petri kutularındaki kanlı agar vasatlarına ekildi. Kanlı agarda bir üreme olmadığı için herhangi bir bulaşma ihtimali olmadığı anlaşıldı. 10 gün sonra boyalı vasatta az sayıda üreyen şüpheli kolonilerden saf kül-tür elde edildi. Elde edilen bu mikrop, hareketsiz ve gram menfi olarak boya-myordu.

Opsonin İndeksi: Bunun için, damardan alınan % 0.8 sitrathlı kan Br. abortus S. 19'un konsantre bir suspensiyonu ile karıştırıldı ve yarım saat 37 derecelik etüvde bırakıldı. Bundan sonra froti yapılarak boyandı ve polimorf nüveli lökositler tarafından fagosite edilen mikrop adedi sayıldı ve neticede opsonin indeksinin menfi olduğu görüldü.

Allergi Reaksiyonu : Br. abortus S. 19 ile hazırladığımız Brusellin ile şahista deri reaksiyonu yapıldı ve neticede bu reaksiyonun müspet olduğu görüldü.

Bakteryostatik boyaların kullanılmasıyla yapılan deneme : Hazırladığımız karaciğer infüzyonlu agara ayrı ayrı balonlarda olmak üzere 1/50.000 nispetinde basic fuchsin ve thionin ve 1/100.000 nispetinde methyl violet ilâve ettik ve hemokültür sonucunda elde ettiğimiz saf kültürden bu boyalı vasatlara ektik. Neticede, elimizdeki mikrobun fuchsin ve methyl violet'li vasatta ürediği, fakat thioninli vasatta üremediği görüldü.

Cedvel — 1

Hemokültür sonucunda üretilen mikrobun laboratuvarda mevcut Br. Melitensis ve Br. Suis ile birlikte mukayeseli kültür ve Serolojik Reaksiyon sonuçları

Mikrop	Bakteriyolajik boyalarla hazırlanmış vasatlarda üreme				Serolojik Reaksiyon Mono-spesifik serumlar	
	B. Fuchsin	Thionin	Methyl	Violet	Abortus	Melitensis
Hemokültür ile üretilen mikrop	+	—	+	+	+	—
Br. Melitensis	+	+	+	+	—	+
Br. Suis	—	+	—	—	+	—

Kobaylarda yapılan deneme : Laboratuvarda bulunan ve virulansı malûm Br. abortus kültür emülsiyonundan altı aded sağlam kobaya takriben 1 milyar deri altı yolu ile şırınga edildi. Altı kobaydan üç tanesini 4 hafta sonra itlâf ettiğimizde hepsinin dalaklarında mebzul miktarda Br. abortus tesbit edildi. Kobaylar itlâf edilirken elde edilen kan ve kan serumları ile yapılan aglütinasyondan da müspet sonuç elde edildi. Bu ilk üç kobayda lezyon görülemedi. Diğer üç kobayı bir ay sonra itlâf ettiğimizde lezyonların tam olarak teşekkül ettiği ve hastalığın generalize olduğu görüldü.

Diğer altı aded sağlam kobaydan ilk üçüne hemokültür sonucunda elde ettiğimiz mikrop emülsiyonundan takriben 2 milyar deri altı yolu ile şırınga edildi. 35 gün sonra kobaylardan üçü itlâf edildiği zaman dalakta, ürettiğimiz mikrop bulunmasına rağmen hiç bir lezyon görülmedi ve kobayların kan ve kan

serumları ile bizim hemokültür sonucunda ürettiğimiz mikrobun ve Br. abortus S. 19'un emülsiyonu ile müspet aglütinasyon elde edildi. Diğer üç kobay üç ay sonra itlâf edildikleri anda bile organizma içinde hiç bir lezyona rastlanmadığı gibi, dalaktan da yapılan bakteriyolojik muayeneler sonucunda artık mikrob bulunamadı.

Cedvel — II

Hemokültür sonucunda üretilen mikrobun Br. abortus ile karşılıklı olarak opsonin indeksi, allergi reaksiyonu ve kobay şıngası sonuçları.

Mikrop	Opsonin indeksi	Allergi reaksiyonu	Kobay şıngası, Dalakta lezyon ve generalize Brucellose.
Hemokültür ile üretilen mikrop	—	+	—
Br. Abortus	—	+	+

Discussion

Br. abortus S. 19 aşısının insanları enfekte etme kabiliyeti üzerindeki literatürler incelendiğinde, bunların fazla miktarda olmaması ile beraber, bazılarının da bütün bakteriyolojik muayenelerin tatbik edilerek yapılmadığı görülür. Bu tamam olmayan bakteriyolojik muayenelerde diağnoz yalnız serolojik reaksiyon ile yapılmış, fakat mikrop izole edilmemiştir. (2), (9). Halbuki Brusella tiplerinin birbirinden tefriki yalnız aglütinasyon reaksiyonu ile her zaman mümkün olmadığı bildirilmektedir (15). Buna karşılık, bakteriyolojik muayenelerin tam olarak yapıldığı çalışmalar da vardır. (16), (4). Bu bakımdan biz hemokültür ile elde ettiğimiz mikroptan, bakteriyostatik boyalar katılmış vasatlarda üreme kabiliyetini tesbit için denemeler yaptığımız gibi, aynı zamanda serolojik reaksiyonla beraber, allergi reaksiyonu ve opsonin indeksini karşılıklı olarak tatbik ederek ve bilhassa mikrobun virulansını meydana çıkarmak bakımından çok önemi olan kobay şıngasını da yaparak insandaki bu hafif şekilde seyreden enfeksiyonun Br. abortus S. 19 dan ileri geldiğini kesin olarak meydana çıkardık. Hemokültürden bir netice almadan önce; aynı şahsa kan alındıktan sonra tatbik ettiğimiz allergi reaksiyonundan müspet, fakat opsonin indeksi reaksiyonundan menfi sonuç elde ederek bu şahısta aktif bir enfeksiyon olduğunu tahmin ettik ve müspet hemokültür sonucu da bu tahminlerimizi kesinleştirdi.

Literatür bilgilerimize göre, normal opsonin sitrat tarafından inhibe edilmektedir. Bu bakımdan, enfekte olmayan şahısların kanında fagositoz görülmez.

Allergi reaksiyonu ve tatbik ettiğimiz opsonin indeksi müspet olduğu zaman şahıs ya immundur veya enfeksiyonu geçirmiştir. Allergi müspet ve opsonin indeksi menfi olduğu zaman şahsın aktif olarak enfekte olduğu neticesine varılır (7).

Bu bilgilere uygun olarak bizim de konumuz olan şahısta allergi reaksiyonu müspet olmasına mukabil opsonin indeksi reaksiyonu menfi bulunmuş ve hemokültür sonucu mikrop üretilerek ve aynı zamanda idantifiye edilerek şahsın aktif olarak Br. abortus S. 19 ile enfekte olduğu sonucuna varılmıştır.

Özet

1) Hafif seyreden bir Brucellose enfeksiyonu şüphesini uyandıran bir şahısta, Br. abortus S. 19 ile hazırlanmış süspansiyonla yapılan çabuk ve yavaş aglütinasyon reaksiyonundan müspet sonuç elde edilmiştir.

2) PH sı 7.5 olan âdi agara % 5 normal sığır serumu, % 1 dextrose, 1/500.000 malachit green ve 1/250.000 gentian violet karıştırılarak hazırlanan vasata yapılan hemokültür sonucunda hareketsiz ve gram menfi bir mikrop üremiştir.

3) Yapılan idantifikasyon sonucunda, elde edilen bu mikrobu Br. abortus S. 19 olduğu anlaşılmış ve şahsa aynı zamanda standard laboratuvar suşu S. 19 ile hazırlanan brucellin ile allergi reaksiyonu ve yine aynı suşun konsantre süspansiyonu ile opsonin indeksini ölçme denemesi yapılmıştır.

4) Tatbik edilen allergi reaksiyonunun müsbet, opsonin indeksi menfi olmasına karşılık, şahıstan mikrop izole edilerek bu şahsın aktif olarak enfekte olduğu anlaşılmış ve bilhassa aktif olarak enfekte şahıslarla immün şahısları birbirinden ayırmak için bu allergi ve opsonin indeksini ölçme reaksiyonlarının, beraber tatbik edilerek sahîh bir sonuç elde edilebileceği kanaatına varılmıştır.

5) Hafif seyretmesine rağmen, insanları enfekte ettiği göz önünde tutularak, Br. abortus S. 19 aşısının muhakkak surette veteriner hekimleri tarafından ve dikkatle tatbik edilmesi lâzımdır

Summary

1) We have obtained positive rapid and tube agglutination tests with S. 19 suspension from a person showing the symptoms of a mild form of a Brucellose-like infection.

2) A gram negative and nonmotile bacteria was isolated from a hemoculture with PH. 7.5 and containing 5 % normal cow serum, 1 % -dextrose, 1/500.000 malachit green and 1/250.000 gentian violet.

3) I have identified this isolated culture as Br. aborts S. 19 and an allergi and opsonic activity reaktions were applied to the same person. The Brucellin and concentrated suspension were prepared from a standard stock culture of S. 19.

4) The allergi reaction was positive, the opsonic activity was negative but the culture made from the blood of the patient proved that the patient has a definite active infection. Therefore, we can reach to a conclusion that a person with an active infection or immunity can be distinguished from one another with allergi and opsonic activity reactions.

5) Although the infection with S. 19 vaccine is a mild one in man, but because of its infectious ability to man, it is absolutely necessary that the application of this vaccine should be made by reliable Veterinarians.

Literatür

- 1 — *Buck* : Jour. Agr. Res., 41, 667. (1930).
- 2 — *Dill, C.P.* : Am Vet. 30, 261. (1949).
- 3 — *Fabyan* : Jour. Med. Res., 26, 441 (1912).
- 4 — *Gilman, H.L.* : Cornell Vet. 34, 193-194 (1944).
- 5 — *Huddleson and Abell* : Jour. Bact., 13, 13 (1927).
- 6 — *Huddleson*; Mich. Agr. Exp. Sta., Tech. Bull. 100 (1929).
- 7 — *Huddleson, Johnson, and Hamann* : Am. Jour. Pub. Health. 23, 917 (1933).
- 8 — *Huddleson* : Am. Jour. Vet. Res., 8, 374 (1947).
- 9 — *Hagan, W.A. and Bruner, D.W.* : The infec. Disease of domestic animals. second Edition. Comstock Publishing associates. Ithaca, New York (1951)
- 10 — *Mc Ewen and Priestly* : Vet. Rec. 50 1097 (1938).
- 11 — *Morales and Lebron* : Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 52, 197. (1943).
- 12 — *Mc Alpine and Slanetz* : Ibid., II (1939).
- 13 — *Smith and Fabyan* : Centrbl. f. Bakt. I Abt. Orig. 61, 549 (1912).
- 14 — *Smillie* : Jour. Exp. Med., 28, 585 (1918).
- 15 — *Shaw and Meyer* : Jour Infec. Disease., 27, 173 (1920).
- 16 — *Spink, W.W., an Thomson, H.* : J.A.M.A. 153, 1162.1165 (1953).