

# Kandaki Tetanoz Toksin Ve Antitoksinin Beyin-Omurilik Sıvısına Geçebilme Yeteneđi(x)

İbrahim İldırım (xx)

Michael L. Purcolov (xxx)

H. Mac. Vendiviere (xxxx)

## Ö Z E T

*Köpeklerle yapılan deneysel çalışma, intravenöz verilen tetanoz toksininin beyin omurilik sıvısına geçebildiğini gösterdi. Aynı yolla verilen tetanoz antitoksininin ise beyin omurilik sıvısındaki miktarı kandaki seviyesinden 238-2000 defa az bulundu.*

*Araştırma, beyin-omurilik sıvısındaki serbest toksinin notürleştirilebilmesi için tetanoz antitoksininin intratekal enjeksionunu ve tedavi anında komplikasyon yapmıyacak yeni bir metodun geliştirilmesini telkin etmektedir.*

## GİRİŞ

Günümüze kadar tetanoz vakalarına antitoksin uygulanması konusunda bir çok tehrikerleri sürülmüştür. Bazı araştırmacılar yüksek doz antitoksinin tatbikini savunurlarken diğerleri çok küçük doz antitoksin verilmesini veya hiç verilmemesini tavsiye etmektedirler. Bunlara ilâveten antitoksinin tatbik yolu hakkındaki görüşler de değişiktir. İntrevenöz antitoksinin diğer uygulama çeşitlerine üstünlüğünü iddia edenler olduğu gibi, bu tedavi şeklinin tehlikeli olduğunu ve yalnız intramüsküler antitoksin veril-

mesi gerektiđini savunanlar da vardır.

Son yıllarda tetanoz tedavisi konusunda birçok teknik ilerlemeler görülmektedir. Bazı merkezlerde ihtisaslaşmış doktor ve hemşire ekipleri, suni teneffüz cihazları kullanılmakta, trakeostomi veya gastrostomi yapılmakta, insandan elde edilen tetanoz serumu injekte edilmekte (Tetanus Hyperimmune Globulin "Human") ve vakalar kürarize edilerek uzun müddet suni teneffüs cihazı ile yaşatılmaya çalışılmaktadır. Bunlara rağmen tetanoz vakalarında ölüm oranı oldukça yüksektir. Tıbbi tedavi ve bakım imkânları oldukça gelişmiş Amerika Birleşik Dev-

(x) Bu yazı Amerikan Mikrobiyoloji Cemiyetinin 4-9 Mayıs 1969 tarihinde Miami Beach'te yaptığı 69.uncu yıllık toplantısında kısmen takdim edilmiştir.

(xx) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü Doçenti.

(xxx) Kentucky Üniversitesi Tıp Fakültesi Toplum Hekimliği Bölümü Profesörü.

(xxxx) Kentucky Üniversitesi Tıp Fakültesi Toplum Hekimliği Bölümü Associate Profesörü.

letlerinde bile 1965-1966 yıllarında görülen 507 tetanoz vakasından yüzde 68 i ölmüştür.(1). Aynı vakalar için deki yeni doğan tetanozlarında ölüm oranı ise yüzde 77 gibi yüksek bir seviye göstermektedir(1).

Dünyanın birçok yerinde vücut mایilerindeki serbest tetanoz toksinini notürleştirmek için vakalara intravenöz veya intramüsküler yolla antitoksin uygulanmaktadır. İntratekal tetanoz antitoksini uygulanması 1900-1940 yılları arasında tavsiye edilmiş,

fakat bu tip uygulamanın birçok reaksiyonları görüldüğünden 1940 yılından sonra terkedilmiştir(2).

Araştırmamızın konusunun kanda ve beyin omurilik tetanoz antitoksin miktarının tayini ve intravenöz verilen tetanoz toksininin beyin - omurilik sıvısı içerisine geçip geçemediğinin biolojik metodlarla gösterilmesi, teşkil etmektedir. Bunlara ilâveten intravenöz antitoksin tatbikinden sonra kandaki antitoksin seviyesi ve süresi de takip edilmiştir.

## 2. MATERYAL VE METODLAR

Araştırmada, ağırlıkları 6-13.5 kilogram olan 24 adet normal köpek ve 24 adet 6 haftalık beyaz İsviçre tipi fare kullanıldı. Tetanoz toksini (Lot no: 2908) ve tetanoz antitoksini (Lot no: 1129) Wyeth labratuarından temin edildi. Tetanoz toksininin toksisitesi (potensi) kobaylar üzerinde yapılan LD50 metodu ile tayin edildi (x).

Gurup I. Altı köpeğe ön kol veninden intravenöz yolla tetanoz toksini enjekte edildi. Daha sonra köpeklere bulbar sistern'den ponksion yapılarak beyin-omurilik sıvısı alındı. Bu gaye için 5 cm. boyunda, 20 numara adi enjeksiyon iğnesi kullanıldı. Köpeklerden alınan beyin-omurilik sıvısı, 2 adet farenin sağ arka bacağı cilt altına enjekte edildi. Ayrıca iki fareye de (kontrol gurubu) toksin verilmemiş köpeklerden alınan beyin - omurilik sıvısı enjekte edildi. Her fareye 1 cc. beyin-omurilik sıvısı enjekte edildi. Fareler 5 gün gözlem altında tutuldu.

Bu gurup 3 küçük bölüme ayrıldı :

a- İki köpeğe intravenöz yolla, kilo başına 4000 kobay LD50 miktarında tetanoz toksini enjekte edildi. Toksin tatbikinden 46 saat sonra beyin-omurilik sıvısı alınarak farelere enjekte edildi.

b- İki köpeğe intravenöz yolla, kilo başına 2640 kobay LD50 miktarında tetanoz toksini enjekte edildi. Köpekler enjeksiyondan 116 saat sonra tetanoz hastalığından öldüler. Ölüm-lerinden hemen sonra beyin-omurilik sıvıları alınarak farelere enjekte edildi.

c- İki köpeğe intravenöz yolla, kilo başına 1320 kobay LD50 miktarında tetanoz toksini enjekte edildi. 120 saat sonra beyin-omurilik sıvısı alınarak farelere enjekte edildi.

Gurup 2. Bu gurup iki küçük bölüme ayrıldı :

a- Tetanoz hastalığına karşı tabii bağışıklık kazanmış iki köpeğin kanı

(x) Kobay LD50, 330-370 gram ağırlığındaki kobayların yüzde 50 sini 96 saat içinde tipik tetanoz belirtisi ile öldüren toksin miktarı.

ve beyin-omurilik sıvısı aynı anda alınarak, ihtiva ettikleri antitoksin miktarı, indirekt hemaglutinasyon testi ile ölçüldü<sup>(3)</sup>.

b- Üç köpeğe intravenöz yolla, kilo başına 4000 ünite tetanoz antitoksini enjekte edildi. Enjeksiondan 9,11 ve 13 gün sonra kan ve beyin-omurilik sıvıları alınarak antitoksin miktarları ölçüldü.

Gurup 3. Bu gurup iki küçük bölüme ayrıldı :

1- Altı köpeğe intravenöz yolla kilo başına 4000 ünite tetanoz antitoksini enjekte edildi. 9-12 gün sonra serumlarındaki antitoksin miktarı ölçüldü.

2- Yedi köpeğe intravenöz yolla kilo başına 1740 ünite tetanoz antitoksini enjekte edildi. 13-20 gün sonra serumlarındaki antitoksin miktarı ölçüldü.

## BULGULAR

Bulgular materyel ve metodda belirtildiği gibi üç grupta incelenecektir:

Gurup: 1.

a- Kilo başına 4000 Kobay LD50 miktarında tetanoz toksini enjekte edilen iki köpekten 46 saat sonra beyin-omurilik sıvısı alındı. Köpeklerden birinin beyin-omurilik sıvısında serbest tetanoz toksini tesbit edildi. Bu köpek için kullanılan farelerde ikinci gün

başlıyan tipik ascendens tetanoz görüldü. İkinci köpeğin beyin-omurilik sıvısında serbest tetanoz toksini tesbit edilemedi (Tablo: 1).

b- Kilo başına 2640 kobay LD50 miktarında tetanoz toksini enjekte edilen iki köpek 116 saat sonra tetanoz hastalığından öldü. Ölümlelerinden hemen sonra alınan beyin-omurilik sıvısında serbest tetanoz toksini tesbit edildi (Tablo: 1).

Tablo. 1.

Köpeklere İntravenöz-Tetanoz Toksini Verildikten Sonra Beyin-Omurilik Sıvısında Serbest Toksin Tesbiti

Köpeklerin Ağırlığı Kg.	İntravenöz Toksin	Toksin Enjeksionundan Sonra Geçen Zaman	Beyin-Omurilik Sıvısında Serbest toksin
13.4	5000 Ü/Kg	46 Saat	+
12.2	4000 Ü/Kg	47 Saat	—
8.4	2640 Ü/Kg	116 Saat (x)	+
7.8	2640 Ü/Kg	116 Saat (x)	+
8.1	1320 Ü/Kg	120 Saat	±
7.1	1330 Ü/Kg	120 Saat	±

(x) Beyin-Omurilik Sıvısı Köpek Öldükten Hemen Sonra Alınmıştır.

c- Kilo başına 1320 kobay LD50 miktarında tetanoz toksini enjekte edilen iki köpekten 120 saat sonra alınan beyin-omurilik sıvısında serbest tetanoz toksini olduğu katıyetle tesbit edilemedi. Farelerin sağ arka bacağı sol bacağı nisbeten daha az aktif bulundu. Bu bulgular şüpheli (±) felç olarak kabul olundu. Köpekler toksin enjeksiyonundan 7.5 ve 9 gün sonra tetanozdan öldüler (Tablo: 1).

#### Gurup: 2.

a- Tetanoza karşı tabii bağışık bulunan iki köpekten, aynı anda kan ve beyin omurilik sıvısı alındı. İndirekt

hemaglütinasyon testi ile yapılan muayenede her iki köpeğinde 1 cc serumunda 1.25 ünite antitoksin tesbit edildi. 1 cc beyin-omurilik sıvısında ise 0.003 ünite antitoksin bulundu (Tablo: 2).

b- İntravenöz yolla kilo başına 4000 ünite tetanoz antitoksini uygulanan üç köpekten sırası ile 9, 11 ve 13 gün sonra aynı anda kan ve beyin-omurilik sıvısı alındı. Bütün köpeklerin serumunda antitoksin seviyesi 1 cc de 5 ünite bulundu. 1 cc beyin omurilik sıvısında ise antitoksin miktarı 0.0025-0.021 ünite arasında değişmekte idi (Tablo: 2).

Tablo. 2.

Köpeklerin Serum ve Beyin-Omurilik Sıvısında Tetanoz Antitoksin Miktarının mukayesesi

Bağışıklığın tipi	İntravenöz Verilen Antitoksin miktarı	I.V.Antitoksin Tatbikinden Sonra geçen zaman	Serumda Antitoksin Miktarı	Beyin Omurilik Sıvısında Antitoksin Miktarı	Beyin-Omurilik Sıvısındaki Antitoksinin Serumdakine Oranı
Tabii	-	-	1.25 Ü/cc	0.003 Ü/cc	1/427
Tabii	-	-	1.25 Ü/cc	0.003 Ü/cc	1/517
Pasif	4000 Ü/Kg	9 gün	5 Ü/cc	0.021 Ü/cc	1/338
Pasif	4000 Ü/Kg	11 Gün	5 Ü/cc	0.0026 Ü/cc	1/2000
Pasif	4000 Ü/Kg	13 gün	5 Ü/cc	0.019 Ü/cc	1/356
				den az	den az

#### Gurup: 3.

a- İntravenöz yolla kilo başına 4000 ünite antitoksin verilen köpeklerin serumu 9-12 gün sonra muayene edildi. 1 cc serumda 5 ünite antitoksin bulundu (Tablo: 3).

b- İntravenöz yolla kilo başına 1750 ünite antitoksin enjekte edilen köpeklerin serumu 13-20 gün sonra muayene edildi. Hepsinin 1 cc serumunda 5 ünite antitoksin tesbit edildi (Tablo: 3).

Tablo. 3.

Köpeklere İntravenöz Tetanoz Antitoksini Enjekte Edildikten Sonra Serum Antitoksin Seviyesi ve Müddeti

Köpek Sayısı	İntravenöz TAT Miktarı	1 cc Kan'a Verilen TAT Miktarı(X)	İntravenöz TAT Enj. Sonra Geçen Zaman	Serum TAT Miktarı	Tekrar Tesbit Edilen TAT Oranı
6	4000 Ü/Kg	50.6 Ü/cc	9—12 gün	5 Ü/cc	% 9.8
7	1750 Ü/Kg	22.1 Ü/cc	13—20 gün	5 Ü/cc	% 22.6

(x) Köpekte kilo başına düşen kan miktarı 79 cc. dir (4).

### TARTIŞMA

İntravenöz yolla toksin verilen altı köpekten üçünün beyin-omurilik sıvısında serbest tetanoz toksini tesbit edilmiştir. Bu bulgular tetanoz toksininin beyin-omurilik sıvısı içine geçebildiğini göstermektedir. Köpeklerle kıyaslandığında insanlar tetanoz toksinine karşı çok daha hassastırlar. Bu sebeple az miktarda toksin insanı hasta etmeye veya öldürmeye yetmektedir. Vücut ağırlığının her gramı başına verilen tetanoz toksini göz önüne alınırsa maymun fareden 4 defa, at ise 12 defa daha hassas bulunmuştur(5). İnsanın hassasiyeti ise kati olarak bilinmemekle beraber atlara eşit olduğu düşünülmektedir. Fareler insanlardan daha rezistan olduğuna göre insan tetanozlarında serbest toksini demonstre etmek için biyolojik fare testi hassas bir metod değildir. Buna rağmen 105 klinik vakadan 4 tanesinin beyin-omurilik sıvısında bu metodla serbest tetanoz toksini tesbit edilebilmiştir(6). Eğer biyolojik fare testinden daha hassas bir test bulunabilirse, belki de klinik vakaların hepsinin beyin-omurilik sıvısında serbest tetanoz toksini gösterilebilir.

İntravenöz verilen antitoksin buradan beyin-omurilik sıvısı içerisine güçlük geçebilmektedir. Köpeklerin beyin-omurilik sıvısı içerisindeki antitoksin miktarı, aynı anda kanda ölçülen seviyesinden 238-2000 defa daha az bulunmuştur. Tabii bağışıklık kazanmış köpeklerde bile bu durum pek değişmemekte, spinal mayide kandaki seviyesinden 417 defa daha az antitoksin bulunmaktadır. Bahsedilen antitoksin geçiş güçlüğü, klinik vakalara tatbik edilen insan orijinli (Tetanus Hyperimmuni Globulin "Human") tetanoz serumundan sonra da görülmektedir(7).

Kilo başına 1750 ünite intravenöz antitoksin enjeksiyonundan 20 gün sonra 1 cc. serumda 5 ünite antitoksin tesbit edilmiştir. Köpeklerde kilo başına 79 cc. kan bulunmaktadır(4). Buna göre yapılan hesap, 20 gün sonra bile intravenöz verilen antitoksinin yüzde 22.6 sının halâ dolaşımında olduğunu göstermektedir. Bu bulgu, antitoksinin damar çeperini geçerek vücut mayilerine kolayca difuze olmadığını delildir. Diğer taraftan tetanoz toksini az

da olsa beyin-omurilik sıvısı içine geçebilmektedir. Beyin - omurilik sıvısındaki tetanoz toksinin damar çeperlerinin dış yüzünü izleyerek merkezi sinir sistemi içine difüze olduğu gösterilmiştir<sup>(8)</sup>. Başka yolla verilen antitoksinin beyin-omurilik sıvısı içine difüze olmasının güçlüğü gözönüne alırsa tetanoz teşhisi konur konmaz intratekal antitoksin tedavisi mantıklı görülür.

Her ne kadar bu tip tedavi komplikasyonları yüzünden terkedilmişse de

(2), intratekal tatbik esnasında komplikasyon yapmayacak bir antitoksin çeşidi veya tedavi metodu bulunabilir. Nitekim neonatal tetanozlarda intratekal antitoksin ve prednisolon karışımı tedavisinden iyi neticeler alınmıştır<sup>(9)</sup>. Köpekler üzerinde yaptığımız başka deneyler ise intratekal yolla verilen fenolsüz at ve insan orijinli antitoksinin hiç bir komplikasyon yapmadığını göstermiştir<sup>(10)</sup>. Bu konuda araştırmalara devam edilirse olumlu sonuçlar alınacağı şüphesizdir.

### Summary

#### PENETRATION OF TETANUS TOXIN AND ANTITOXIN FROM THE BLOOD INTO CEREBRO—SPINAL FLUID IN DOGS

Tetanus toxin, when injected intravenously into dogs, enters into the cerebro-spinal fluid. Tetanus antitoxin (TAT), however, penetrates from the blood stream into the cerebro-spinal fluid (CSF) only slightly. The antitoxin level found in the CSF of

naturally immune and experimental dogs ranged from 1/238 to 1/2000 of the level found in their serum. It is suggested, from this study, that intrathecal administration of TAT is necessary for adequate neutralization of the CSF toxin.

### Yararlanılan Kaynaklar

- 1- La Force, F.M., Young, L.S., and Bennett, J.V.: Tetanus in the United States (1965-1966). Epidemiologic and Clinical Features. New Eng. J. Med. Number 11, 280: 569-574, Mar. 13, 1969.
- 2- Dietrich, H.F.: Tetanus in Childhood, with special reference to treatment, Am J. Dis. Child. 59: 693, 1940.
- 3- Schubert, J.H. and Cornell, R.G. Determination of Diphtheria and tetanus antitoxin by hemagglutination test in comparison with test in vivo. J. Lab. Clin. Med. 52: 737-743, 1958.
- 4- Courtice, F.C. The blood volume of normal animals, J. Physiology 102: 290-305, 1943.
- 5- Wilson G.S., and Miles, A.A.: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, Fourth Edition Baltimore, Williams and Wilkins company 1961 (Volume 2) p. 1958.

- 6- Patel, J.C., and Mehta, B.C.: Serum requirements in Tetanus, in principles on tetanus "Proceeding of the International Conference on Tetanus: Bern July 15-19, 1966". (edited by L. Eckman). Bern and Stuttgart: Hans Huber Publishers, 1967, p. 471-483.
- 7- Ildırım, İ., Meira, A.R., and Furcolow, M.L.: Tetanus, New Eng. J. Med. No: 22, 280: 1243, May 29, 1969.
- 8- Fedinec, A.A.: Absorption and distribution of tetanus toxin in experimental animals, in Principles on Tetanus "Proceeding of the international conference on tetanus: Bern July 15-19, 1966" (Edited by L. Eckman). Bern and Stuttgart: Hans Huber Publishers, 1967, p. 169-175.
- 9- Ildırım, İ.: A new treatment for neonatal Tetanus. Antitetanic Serum and Prednisolone Given Together Intrathecally Turkish J. Pediatrics 9: 89-95, 1967.
- 10- Ildırım, İ.: Henüz Yayımlanmamış Çalışma.