

**BİYOLOJİK SİLAH OLARAK TOKSİNLER****Selçuk KILIÇ<sup>1</sup>****ÖZET**

Ölümcül olan kolayca ve düşük maliyet ile büyük miktarlarda üretilen, aerosol formda stabil olan, kolayca geniş alanlara yayılabilen ve insandan insana bulaşan etkenler ideal biyolojik silah ajanlarıdır. Botulinum, stafilokokkal enterotoksin B, ricin ve trikotesen mikotoksin gibi biyolojik toksinler, insandan insana bulaşma özelliği dışında tüm bu özelliklere sahiptirler. Bu derlemede, biyolojik silah olarak kullanılması muhtemel toksinler biyolojik özellikleri, biyolojik silah potansiyelleri, oluşturdıkları klinik belirtiler, tanı, korunma ve tedavileri açısından gözden geçirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Toksin, biyolojik silah, botulinum, stafilokokkal enterotoksin B, risin, trikotesen mikotoksin (T-2), saksitoksin

**TOXINS AS AGENTS OF BIOLOGICAL WEAPONS****SUMMARY**

Agents that are lethal, easy and inexpensive to produce in large quantities, stable in aerosol form with the ability to be dispersed over wide areas, communicable from person to person are the ideal biologic warfare agent. With the exception of communicable from human to human, the biologic toxins such as Botulinum, staphylococcal enterotoxin B, ricin, and trichothecene mycotoxins possess all the properties mentioned. In this review, several potential biological warfare toxins in regard to their biology, potential for weaponization, and the clinical features, diagnosis, prevention, and treatment of the diseases that they cause have been reviewed.

**Key Words:** Toxin, biowarfare agents, botulinum, staphylococcal enterotoxin B, ricin, trichothecene mycotoxin (T-2), saxitoxin

**GİRİŞ**

Genel anlamda hayvan, bitki veya mikroorganizmalar gibi canlı organizmalar tarafından üretilen ve diğer canlılar için zarar verici olan maddeler toksin olarak adlandırılmaktadır (1). Teknolojik gelişime paralel olarak toksinlerin özellikleri daha iyi anlaşılmış ve botulinum toksininden strabismus, tortikolis ve tetanoz tedavisinde yararlanılması gibi farklı kullanım alanları gündeme gelmiştir. Ancak, bazı toksinlerin yüksek oranda ölümcül seyirli klinik tablo oluşturması ve kolayca üretilmesi biyolojik silah olarak kullanılma potansiyelini de beraberinde bulundurmaktadır (3).

Toksinler; yapı ve etki mekanizmalarıyla çok farklı özellikler gösteren oldukça geniş bir grup oluşturmaktadırlar. Bu nedenle kimyasal mı yoksa biyolojik silah olarak mı sınıflandırılacakları halen

belirsizdir. 1972 yılında "Bakteriyolojik ve Toksin Silahlarının Geliştirilmesi, Üretimi, Stoklanması ve İmhası ile İlgili Konvansiyonu"nda; saksitoksin ve risin kimyasal toksin olarak kabul edilmiş ve diğer toksinler ise biyolojik ajanlar listesinde yer almıştır (4).

İnsanlar veya diğer canlılara karşı kullanılmak üzere üretilmiş, siyanid, hardal gazı, VX gibi kimyasal ajanlar ile toksinler arasındaki farklılıklar Tablo 1'de verilmiştir.

Normal koşullarda biyolojik toksinler uçucu olmadıkları için, olası bir saldırıda sadece ataktan direk etkilenenler zarar görür, yani kişiden kişiye bulaşma gerçekleşmez. Bu özellik toksinlerin biyolojik silah olarak kullanılmasını sınırlandıran en önemli faktördür. Çevrede kalıcı ve geniş çaplı

<sup>1</sup> Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara

Yazışma Adresi: Uzm.Dr.Selçuk KILIÇ, R.S.Hıfzıssıhha Merk. Bşk., Salgın Hast. Arş. Müd., Bakteriyele Zoonozlar Arş. Lab., Cemal Gürsel C.No:18, 06100 Sıhhiye-Ankara  
Tel: +90 312 458 21 69 Fax: +90312 458 24 08 e-posta: Selcuk.kilic@rshh.gov.tr; mdskilic2003@yahoo.com

zarar geliştirmeleri söz konusu değildir. Toksinlerin bu doğal özelliği onların ancak özel yöntemler kullanılarak aerosolizasyon işlemi ile biyolojik silah şekline dönüştürülmesini gerekli kılmaktadır (1,3,5-7).

**Tablo 1.** Kimyasal ve biyolojik toksinler arasındaki farklılıklar (4-6)

Özellik	Kimyasal Ajanlar	Biyolojik Toksinler
Yapı	Sentetik	Doğal
Volatilite-uçuculuk	Uçucu	Uçucu değil
Etki Yolu	Uçucu: Solunum yolu ile bulaşma	Solunum yolu ile bulaşmaz
Deri üzerine etki	Sıklıkla İrritan	Mikotoksin dışında irritan değil
Etki Gücü	Düşük-orta	Yüksek

Toksinlerin aerosol halinde etkili bir biyolojik silah olarak kullanılmasında, toksisitesi, stabilitesi ve üretim kolaylığı rol oynamaktadır. Bakteri kaynaklı botulinum toksini bilinen en toksik maddelerden birisidir. Açık havada gerçekleşebilecek bir saldırıda bir kaç kilo aerosolize edilmiş botulinum toksini gerekirken, aynı etkiyi yaratmak için çok daha az toksik olan mikotoksin veya risinden tonlarcasına ihtiyaç vardır (4).

Olası açık hava saldırılarında kullanılabilirliği etkileyen diğer bir faktör de toksinin stabilitesidir. Botulinum ve tetanoz toksinleri çok büyük moleküller olduğu için ısı, ultraviyole ışın gibi çevresel faktörlerce hızla denatüre edilirler. Ancak paralitik midye zehirlenmesinden sorumlu olan saksitoksin gibi bazı toksinler, çevresel faktörlere karşı oldukça dayanıklıdır (7).

Bu özellikleri doğrultusunda, olası biyolojik silah olarak kullanılacak toksinler Amerika Birleşik Devletleri silahlı Kuvvetleri tarafından botulinum, stafilokokkal enterotoksin B (SEB), risin, trikotesen (T-2) mikotoksin ve saksitoksin ile sınırlandırılmaktadır (4, 5).

### BOTULİNUM TOKSİNİ

Botulinum toksini; anaerobik sporlu bir bakteri olan *Clostridium botulinum* tarafından üretilen birbiri ile benzer özellikler taşıyan yedi nörotoksinin ortak adıdır. Botulinum nörotoksini

(BoNT) doğada bilinen en potent toksindir ve alınış yoluna göre üç farklı klinik tablo görülmektedir (8). Gıdalarda bakterinin üremesiyle açığa çıkan toksinin oral yolla alınması ile gıda kaynaklı intoksikasyon oluşurken, intestinal botulizm ve yara botulizmi aktif olarak konakta çoğalan bakterinin ürettiği toksin ile meydana gelmektedir (8, 9). Biyolojik silah olarak aerolize BoNT kullanılması durumunda, intestinal ve yara botulizmi görülmeyebilir, dördüncü klinik form olan inhalasyon botulizmi gelişir (8-10).

### A- Biyolojik Silah Olarak Önemi

BoNT, ABD Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC) tarafından yapılan biyolojik silahlar sınıflandırılmasında Kategori A'da yer almaktadır. BoNT, ilk kez Japon Biyolojik Silah Geliştirme Grubu tarafından 1930'lu yıllarda biyolojik savaş ajanı (BSA) olarak geliştirilmiş ve Mançurya'da savaş esirleri üzerinde kullanılmıştır (1). 1930-1940 yılları arasında Sovyet Biyolojik Silah Geliştirme Programını yürüten Kızıl Ordu Bakteriyoloji Enstitüsünde *Clostridium perfringes*, *Clostridium tetani* ve *C.botulinum* üzerinde çalışmalar yürütülmüştür. II. Dünya Savaşında ABD tarafından da üretilen BoNT, alınan kararla diğer BSA'larla birlikte 1969-72 yılları arasında imha edilmiştir (4, 8, 9). 1995 yılındaki Birleşmiş Milletler verilerine göre; Irak tarafından potansi tam olarak bilinmeyen 19 000 lt botulinum toksini üretildiği ve 12000 lt botulinum toksininin 100 bomba ve 16 füzeyle yerleştirildiği bildirilmiştir (11). Japonya'da bulunan "Yüce Gerçek" (Aum Shinrikyo) tarikatının farklı zamanlarda Tokyo'da botulinum ile birkaç kez saldırı girişimlerinde bulunduğu da bilinmektedir (1, 4, 5).

0.1-0.3  $\mu$ m çapındaki toksin partikülleri, aerosol şeklinde yayılmaya uygundur. Bu amaçla, balistik füzeler veya havadan spreyle kullanımı yoluyla kolaylıkla hedef kitleye yayılabilir. BoNT'un aerosol şeklinde üretimi pek çok ülke tarafından gerçekleştirilmiştir ve bugün içinde bazı ülke ve terorist grupların elinde bulunduğu bilinmektedir (8).

BSA olarak aerosol yolla kullanım olasıliğı bulunsa da, teknik nedenler bunu hemen hemen imkansız kılmaktadır. Solunum yolu ile BoNT

alınmasına bağlı inhalasyon botulizmi deneysel olarak primatlarda ve insanlarda laboratuvar kaynaklı enfeksiyon şeklinde görülmüştür. Bugüne kadar solunum yolu temasına bağlı sadece üç botulizm olgusu tanımlanmıştır (4, 8, 12).

### B- Toksinin Özellikleri

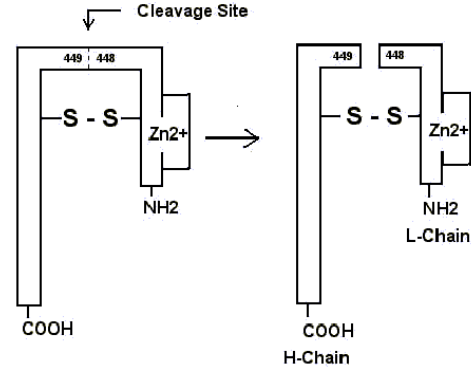
BoNT, A ve B zincirleri olarak adlandırılan iki altgruptan oluşan 150.000 KDa molekül ağırlığında protein yapısında bir moleküldür. *Clostridium sp.* farklı türleri tarafından yapısal olarak birbirine benzeyen yedi ayrı toksin (A, B, C, D, E, F, G) üretilmesine karşın bu toksinlerin etki mekanizmaları aynıdır (7, 13). Sadece dört (A, B, E ve F) toksin insanlarda gıda kaynaklı botulizm etkeni olup, *C.botulinum* dışında, *C.baratii* ve *C.butyricum* da botulinum toksini üretebilir (4, 9, 13).

*C.botulinum* suşları fenotipik karakterleri ve DNA homolojilerine dayanarak dört gruba ayrılmaktadırlar:

- Grup I; Kültürlerde proteolitik olan ve A, B veya F toksinlerini üreten suşlar,
- Grup II; Proteolitik olmayan ve B; E veya F toksinlerini üreten suşlar,
- Grup III; C veya D toksinlerini üreten suşlar.
- Grup IV; Günümüzde *Clostridium argenti-nense* olarak isimlendirilen ve tip G toksinini sentezleyen bu bakterinin İsviçre'de nöroparalitik hastalık tablosu oluşturmayan fakat ani ölümün görüldüğü toksikasyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Botulinum toksinleri, moleküler ağırlığı 150.000 KDa olan tek bir polipeptid zinciri halinde sentezlenir. Tek zincirden oluşan bu yapının nörotoksik etkisi çok azdır. Nörotoksik etkinin artması için proteinin tersiyer yapısında iki aşamalı modifikasyon gereklidir. Birinci aşamada ana molekül 448. ve 449. amino asitler arasından ayrılarak, birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlı bir hafif zincir (1-448 AA'lerden oluşan 100 kDa ağırlığında) ile bir ağır zincir (449-1295 AA'lerini içeren ≈100 kDa ağırlığında) oluşur. Yapısında  $Zn^{+2}$  içeren ve endopeptidaz aktivitesi gösteren hafif zincir "A zinciri" olarak adlandırılır. İki zincirden oluşan BoNT akson terminallerine kadar ulaşır ve ikinci aşamada hücre içinde disülfid bağları yıkılarak alt ünitler birbirlerinden ayrılır

(Şekil 1). BoNT, bu yapısı ile bir  $Zn^{+2}$  metalloproteazdır (4, 6, 7-9).



Şekil 1. Botulinum toksinin yapısı (9)

BoNT, ağırlık etkinlik yönünden değerlendirildiğinde bilinen en potent toksindir. BoNT toksisitesi fare üniti olarak belirtilir. Bir ünite (U) farelerde peritoneal yolla verilen toksin A'nın  $LD_{50}$ 'sidir ve yaklaşık olarak 20 U/ng'dır [ $1UA \approx 0.05ng$ ]. İnsanlardaki letal dozu (LD) bilinmemektedir, ancak maymunlardaki deneysel çalışmalardan elde edilen verilere göre 70 kg ağırlığındaki bir insanda parenteral LD 3000 U ( $4.3\mu g$ ) olarak hesaplanmaktadır (13). Bir diğer çalışmada insanlardaki LD, enjeksiyon yoluyla  $0.09-0.15\mu g$ , inhalasyon yoluyla  $0.70-0.90 \mu g$  ve oral yolla  $70 \mu g$  olarak bildirilmiştir (8). Genel olarak, inhalasyon yolu ile  $LD_{50}$   $0.003\mu g/kg$ 'dır (12). Bu özelliği ile BoNT, nörotoksik olduğu bilinen organofosfat VX'e göre 15.000, sarine göre ise 100.000 kat daha güçlüdür (8).

Ancak protein ve molekül büyüklüğü oldukça fazla olan toksin, çevresel faktörlerden çok etkilenir. BoNT, havada 12 saat içerisinde özelliğini yitirirken, güneş ışığında 1-3 saat içerisinde inaktif hale geçer (13). BoNT, tatlı suda 3-6 günde ve normal şehir şebeke sisteminde klorlanmış (serbest Cl oranı %0.4 mg/l) suda 20 dakika içinde %84 oranında inaktive olur. Üç mg/l daha yüksek serbest Cl düzeyi içeren suda (3 mg/l) ise, toksinin %99.7'si 20 dakika içinde detoksifiye olmaktadır. Bu klor oranı ABD Silahlı Kuvvetlerinin

askerlerine bilinmeyen kaynaklardan elde ettikleri suları dezenfekte etmek için önerdiği serbest klor oranıdır (4, 5, 8). Protein yapısı nedeniyle ısı gibi fiziksel etkenlere duyarlı olan toksin, 80°C'de 30 dakika, 100°C'de bir kaç dakikada detoksifiye olmaktadır. Bu nedenle oral yolla uygulanması etkili bir sonuç vermez (7, 9) .

BoNT partikülleri saflaştırılarak kristalize edilebilir. Kristalize formda suda kolayca çözülebilen BoNT aerosol şeklinde kullanılabilir. Bir gram kristalize hale getirilmiş toksin uygun şeklide ortama salınırsa, solunum yoluyla temas sonucu bir milyondan fazla insanı öldürebilir. Ancak BoNT'un kimyasal olarak sentezi ve aerosolizasyonu mikrobiyolojik ve teknolojik açıdan oldukça zordur. Toksin fermentasyon işlemiyle veya toksin geninin başka bir mikroorganizmaya klonlanmasıyla sentezlenebilir (7-9, 13).

### C- Etki Mekanizması

BoNT gıda yolu ile alındığında duodenum ve jejunumda emilerek kana geçer ve periferik kolinerjik sinapslara taşınır. Toksinin B zinciri motor nöronların aksonları üzerinde bulunan reseptörlere bağlanır ve endositoz ile hücreye girer. Bir endopeptidaz olan A zinciri, nörotransmitter içeren veziküllerin hücre membranı ile birleşmesi için gerekli olan proteinleri parçalayarak sitotoksik etki oluşturur. Sonuç olarak, nöromusküler bileşkede asetilkolin deşarjını ve nörotransmisyonu önleyerek, nörolojik disfonksiyon ve desendan flask paraliziye neden olur (4, 6, 9, 13, 14).

A zincirinin etkisi geri dönüşümsüz olduğu için; iyileşme ancak nöronun yeni akson oluşması ile olanaklıdır ve bu da aylar sürer. Bu şekilde ortaya çıkan presinaptik blokaj, hem kolinerjik otonom (muskarinik), hem de motor (nikotinik) reseptörleri etkiler (8, 13). Benzer klinik tablolara neden olan diğer nörotoksik ajanlar genellikle asetilkolinesteraz inhibisyonu ile sinaptik alanda asetilkolin artışına neden olurken, botulizmde asetilkolinin eksikliği görülür (14). Bu nedenle diğer nörotoksik ajan zehirlenmelerinde klinik düzelleme sağlayan atropin botulizmde etkisizdir, aksine klinik bulguların ağırlaşmasına neden olabilir (6, 9, 13).

Bilinen en güçlü nörotoksin olan botulinum, migren ataklarının tedavisinde, strabismus, blefarospazm, tortikoliz ve tetanoz gibi spastik tablolarda, vasküler ve travmatik spastisite durumlarında, fokal distoni ve terleme bozukluklarında, lokalize kas spazm ve ağrılarında, düz kasların hiperaktivitelerinde ve plastik cerrahi ile kozmetik alanında da geniş bir uygulama sahanına sahiptir (2, 9).

### D- Klinik Tablo

Toksinin alınma yoluna göre dört değişik klinik tablo oluşur (6, 10, 12).

1. Besin zehirlenmesi
2. Yara botulizmi
3. İnfant botulizmi
4. İnhalasyon botulizmi.

Son yıllarda erişkin intestinal kolonizasyon botulizmi ve enjeksiyonla ilişkili botulizm de tip literatürüne girmiştir.

BoNT biyolojik silah olarak kullanıldığında inhalasyon veya gıda-su kaynaklı botulizm gelişecektir. Botulizm gelişme süresi ve hastalığın derecesi, alınan toksin veya bakteri miktarına ve temas yoluna bağlıdır (4, 8). Klinik bulgular, BoNT oral yolla alındığında 18-36 (2 saate kadar inebilir) saat sonra başlarken, inhalasyon yolu ile 12-36 (<1 saat olabilir) saat içerisinde gelişir. Primatlar üzerinde yapılan çalışmalar alınan toksin miktarının çok az olduğu durumlarda semptomların bir kaç güne kadar uzadığını göstermiştir (4, 5, 8, 9).

Klinik olarak en sık görülen ve en önemli olan tip besin zehirlenmesidir. İçinde toksin oluşmuş besinlerin yenmesinden sonra genel olarak halsizlik, zayıflık, baş dönmesi ile başlayan hastalıkta bulbar paralizi, oküler semptomlar ve simetrik ilerleyen bir kas paralizi gelişir (3, 6). Bulbar paralizi (disatri, disfaji ve disfoni) diğer semptomlardan daha önce ortaya çıkar. Erken dönemde; oküler kaslar (pitosis, diplopi, akomodasyon felci ve midriyazis sonucunda görme bozuklukları) ve dil kaslarındaki hareket zorluğunu, ağız ve boğazdaki kuruluk semptomlarını takiben genellikle simetrik ve yukarıdan aşağıya doğru ilerleyen, flask paralizi izler (6, 7, 12, 13). Hastalarda, bilinç kaybı ve ateş görülmez. Kusma,

bulantı, kabızlık veya ishal nadiren görülebilir. Diafram ve yardımcı solunum kaslarının ilerleyici flask para-liziye katılmasıyla ile solunum yetmezliği aniden gelişebilir (4, 8, 9). BoNT'un otonomik etkileri ise tipik olarak antikolinergik bulgularla seyredir. Molekül yapısı oldukça büyük olan botulinum toksini kan-beyin bariyerini geçemediğinden santral sinir sistemi bulgularına neden olmaz (7, 13). Solunum yetersizliğine yol açan iskelet kası yetmezliği sonucunda 10 gün içinde ölüm gelişir. Botulizmde klinik belirti ve bulgular geriye dönebilir, ancak bu dönüşüm haftalar hatta aylar gibi uzun zaman alabilir (10, 12, 15, 16).

İnhalasyon botulizmi ilk kez 1962 yılında gelişen bir laboratuvar kazası sonrasında tanımlanmıştır. Toksin-A nedeniyle ortaya çıkan bu botulizmde, temastan 3 gün sonra boğazda mukus tıkaçı, disfaji geliştiği, ateş olmadan üşüme ve titreme ile başladığı ve 4. günden sonra intestinal intoksikasyon ile aynı klinik belirtilerin ortaya çıktığı gözlenmiştir (4, 8,12,16).

Botulinum toksinine bağlı gelişen klinik tablo, tanı ve tedavisi Tablo 2'de özetlenmiştir.

### E- Tanı

Laboratuvar bulguları özgül olmadığı için tanı anemnez ve klinik olarak konulmaktadır (4, 5). Botulizm tanısını koymak hem hastalığın insidansının çok düşük olması, hem de açığa çıkan erken belirtilerin diğer paralitik hastalıkları taklit etmesi nedeniyle çok zordur (6, 10). Botulizmin biyolojik saldırı sonucu geliştiğini düşündüren bazı ipuçları bulunabilir (Tablo 3).

Tanıda laboratuvar testleri çok yardımcı değildir, ancak referans merkezlerinde uygulanan biyoassay fare nötralizasyon yöntemi ile tanının desteklenmesi yoluna gidilebilir. Şüpheli gıda veya hasta serumu farelere verilerek gelişen klinik belirtilere veya eş zamanlı olarak verilen antitoksin yanıt gözlenir (4, 6). Biyolojik saldırıyı takiben ilk 24 saatte temaslılardan alınan nazal örneklerde ELISA yöntemiyle toksin gösterilebilir (12). Çevresel örneklerden, ELISA ve kemilüminesans yöntemi ile toksin aranabilir veya PCR ile bakteriyel DNA amplifiye edilebilir. Ayrıca, BoNT çevresel örneklerden hızlı tanı yöntemi olarak immünokromatografik assay ile 5-15 dakika içinde

**Tablo 2.** Botulizmin klinik belirtileri ve tanısı (4-10, 12, 13, 15, 16)

KLİNİK BELİRTİLER
<p>İnkübasyon süresi: 12-72 saat (Aerosol yolla temasta &lt;1 saat)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ani başlayan, ateşsiz, simetrik ve diplopi, pitoz, bulanık görme, midriyasis, fotofobi, fasiyal paralizi, disfoni, disfaji ve disartri ile başlayan desendan flask paralizi.</li> <li>Simetrik; hipotoni ve boyun ve kollarda güçsüzlük ile başlayan, takiben solunum kasları ve ekstremiteleri tutan desendan iskelet kas paralizisi.</li> <li>Bilinç kaybı görülmez..</li> <li>Diğer otonom sinir sistemi belirtileri: postural hipotansiyon, ağız kuruluğu, kardiyovasküler, intestinal (ileus) ve üriner otonomik disfonksiyon.</li> </ul>
TANI
<ul style="list-style-type: none"> <li>Standart laboratuvar tanı testi: Fare biyoassay</li> <li>Toksinin serum ve diğer örneklerden (gaita, gastrik içerik, kusmuk materyali ve şüpheli gıda) izolasyonu ve tanımlanması.</li> <li>Aerosolize toksin genellikle serum veya gaitada saptanamaz: İnhalasyondan 24 içinde ELISA yöntemiyle nazal sürüntü veya bronşiyal lavaj örneğinde toksin tespit edilebilir.</li> <li>Yaradan alınan pürülan akıntı, biyopsi, gaita ve gastrik örneklerden anaerobik kültür de yapılabilir.</li> </ul>
TEDAVİ
<ul style="list-style-type: none"> <li>Solunum yetmezliği gelişirse: Uzun süreli mekanik ventilasyon (2-7 ay süreyle)</li> <li>Klinik tanı konulur konmaz hızla <b>Trivalan</b> (A, B, E) antitoksin uygulanması.</li> <li>Anaerobik antibakteriyel ajan: Kolonizasyon durumunda kullanılmamalıdır.</li> </ul>

saptanabilir (4, 5, 8, 9, 13).

Toksin çok güçlü olduğu için enfektif dozu çok düşüktür ve bu durum antikor yanıtının oluşmasını engelleyen bir faktördür. Bu nedenle botulizmden kurtulan hastalar koruyucu antikor cevabı geliştiremezler, yani kişi aynı klinik bulgularla tekrar botulinum intoksikasyonu geçirebilir (7, 13, 14).

**Tablo 3.** Botulizmin bir biyolojik saldırıya bağlı geliştiğini düşündüren ipuçları (8, 9, 12)

- Özellikle belirli bir coğrafik bölgede herhangi bir riskli gıda tüketiminin olmadığı durumda belirgin bulbar palsi ile akut flask paralizinin >2 olguda görülmesi.
- Belirgin bir ortak kaynak olmaksızın, ani başlayan çok sayıda küçük salgınların varlığı.
- Tip C, D, F veya G ve deniz ürünleri tüketimi olmaksızın toksin E gibi nadir toksin tipleriyle hastalık gelişimi.

Vakalar tek tek görüldüğünde Gullain Barre sendromu ve myastenik kriz ile karıştırılabilir. Beyin omurilik sıvısı (BOS) bulguları botulizmde normaldir. Tensilon veya edrofoniyum testi botulizmin erken dönemlerinde pozitif olarak değerlendirilebileceğinden myastenia gravisten ayrımı zor olabilir (6, 12). Paralizinin simetrik olması ve BOS bulgularının normal oluşu, enteroviral paralizilerden ayırımını sağlarken, mental fonksiyonlarda değişiklik olmaması da viral meningoensefalitlerin ekarte edilmesine olanak tanır. Ayırıcı tanıdaki önemli bir diğer nokta da, BoNT dışındaki nörotoksik ajanların, solunum sekresyonlarında artışa neden olurken, botulizmde sekresyonlarda azalma hatta kuruma görülmesidir. Atropin intoksikasyonundan, santral sinir sistemi halüsinasyonları ve ajitasyonların görülmemesiyle ayrılmaktadır (4, 8, 9,16).

#### F- Tedavi

Botulizm tedavisi, genel olarak destekleyici bakım ve antitoksin kullanımından oluşmaktadır (4, 5). Erken dönemde IV yolla antitoksin verilmesi paralizinin derecesi ve şiddetini azaltabileceği için tanının doğrulanması beklenmeden tedaviye başlanmalıdır. Antitoksin, sadece dolaşımda bulunan toksinlere karşı etkili olduğu ve toksinin

sinir sistemindeki reseptörlere bağlanmasını önlediği için erken dönemde verildiğinde etkilidir. Klinik bulgular BoNT'un reseptörlere bağlanması ve nörotransmisyon blokajı sonucunda geliştiği için, bu aşamadan sonra antitoksin kullanılması klinik bulguların düzelmesini sağlamayacaktır (6-8).

Toksine aerosol şeklinde solunum yolundan veya büyük miktarda enterik yoldan hedef olanlara mekanik ventilasyon ve semptomlar çıkmadan ilk 24-48 saat içinde antitoksin uygulanması önerilmektedir. Erken dönemde IV yolla heptavalan veya lisanslı trivalan (A, B ve E) antitoksin kullanılması solunum yetmezliğinin gelişimini önleyebilir. Antitoksin başlanmadan önce fare biyoassay testi için örnekler alınmalıdır (8, 9, 12, 13, 16).

Toksin 12 saatte inaktive olduğundan erken ventilasyon desteği mortaliteyi önemli ölçüde azaltmaktadır. Solunum kaslarındaki paraliye bağlı yetmezlik en ciddi komplikasyon olup, ölüme neden olmaktadır (4,8). 1950'li yıllardan önce mortalite oranı %60 iken, 1950'lerden sonra trakeostomi ve mekanik ventilasyon olanağı ile mortalite %5'in altına düşmüştür (15).

#### G- Korunma

**a) Aşı ve kemoprofilaksi :** Botulizm profilaksisi için lisanslı bir aşı bulunmamaktadır. ABD'de profilaksi amacıyla kullanılacak, araştırma ürünü niteliğinde DOD pentavalan Serotip A-E *C.botulinum* toksoid aşısı mevcuttur. Aşının insanlar üzerinde etkinlik testleri yapılamayacağı için yakın dönemde lisans alması beklenmemektedir. Binlerce gönüllü ve mesleki risk grubundakilere aşı uygulanması ile belirgin serum antikor düzeyleri elde edilmiştir. İnsanlardaki antikor düzeylerinin hayvanlardaki koruyucu titrelere korele olması nedeniyle aşının koruyucu olduğu düşünülmektedir (4, 5).

Günümüzde botulinum aşısının rutin kullanımı söz konusu değildir. Aerosol şeklinde BoNT ile karşılaşma riski yüksek askeri personel ve laboratuvar çalışanlarına uygulanması önerilmektedir. ABD Silahlı Kuvvetleri'nde de rutin olarak uygulanmayan bu aşı sadece özel kuvvet görevlilerinde kullanılmaktadır. Temas öncesi profilaksi amacıyla 0.5 ml derin deri altı enjeksiyon

yolu ile 0., 2., 12. hafta ve birinci yıldaki rapel olmak üzere dört kez uygulanması önerilmektedir. Bu şema ile aşılananların %90'ın-dan fazlasında koruyucu antikor yanıtı elde edilmektedir. Yeterli antikor seviyesi, üç aşı dozu ile geçici olarak sağlanmakta ancak birinci yılın sonuna doğru antikor seviyesinde azalma görülmektedir. Bu nedenle birinci yılda rapel aşı dozu önerilmektedir (4, 5, 8, 9,13).

Aşı için kesin kontrendikasyon; alüminyum, formaldehit veya tiomersale olan hipersensitivite veya bir önceki dozdan sonra görülen hipersensitivite reaksiyonudur. Lokal yan etkileri az olan aşının uygulanmasından sonra, eritem veya endurasyon (%2-4) ile ateş, halsizlik, baş ağrısı, miyalji şeklinde sistemik şikayetler (%3) bildirilmiştir (4,8,13).

Temas sonrası heptavalan toksoidin etkinliğiyle ilgili insanlar üzerinde yapılmış çalışma bulunmamasıyla birlikte, hayvanlar üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak yine de çok özel durumlarda kullanılması önerilmektedir (8).

Botulizm bir toksin hastalığı olduğu için antibiyotik ile kemoproflaksi uygulanması söz konusu değildir.

**b) Arındırma ve izolasyon :** BoNT, dış ortam koşullarına ve ısıya duyarlıdır. Bu nedenle kontamine materyallerin 10 dakika süreyle kaynatılması, toksinle temas eden dayanıklı yüzeyler ve nesnelere %5 NaOCl veya formaldehit ile arındırılması yeterlidir. Hassas malzeme ve temas eden kişilere 1/10 oranında (%0.5) sulandırılmış NaOCl kullanılmalıdır. Arındırma işlemi sabunlu su ile de yapılabilir (4, 5, 8).

Toksinin hastadan deri veya aerosol yol ile bakım verenlere geçişi söz konusu olmadığı için standart önlemlerin (disposable maske, gözlük, eldiven, önlük, el yıkama, laboratuvarında biyogüvenlik düzey 2 (BGD-2) koşullarında çalışmaların yapılması gibi) alınması yeterlidir (5, 6, 9).

**c) Defin işlemleri :** Ceset torbası sıkıca kapatıldıktan sonra %5 NaOCl ile dekontamine edilmelidir. Otopside kişisel koruyucu kıyafet ile koruyucu gözlük ve maske gibi ekipmanlar kullanılmalıdır. Otopside kullanılan tüm tıbbi

malzemeler standart dezenfektanlar ile dekontamine edilmelidir (4, 5).

### STAFİLOKOKKAL ENTEROTOKSİN - B

Staphylococcus aureus tarafından sentezlenen antijenik olarak birbirinden farklı yedi enterotoksinden (A, B, C, D, E, G, H) birisi olan Stafilokokkal enterotoksin B (SEB) gıda zehirlenmelerinin en sık görülen nedenlerinden birisidir (3, 17). *S.aureus* insan ve hayvanların deri ve mukozal membranlarında bulunan hareketsiz, Gram pozitif kok morfolojisinde bir bakteridir. Dondurulmamış et, süt, süt ürünleri ve unlu mamullerde üreyen *S.aureus* tarafından sentezlenerek dış ortama verilen toksinler etkilerini sindirim sisteminde gösterdikleri için enterotoksin olarak adlandırılmışlardır (5, 7). Son yıllarda, sindirim sisteminde etkisini gösteren sekizinci enterotoksin de (SEI) tanımlanmıştır (18). SEB, geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahiptir ve giriş yoluna bağlı olarak (sindirim, solunum veya mukozal) farklı klinik sendromlara neden olmaktadır (19). Stafilokokkal enterotoksinler, bakteriyel süper antijenler olarak bilinen güçlü immün stimulanlar grubunda yer almaktadır (4, 17, 18, 20).

### A- Biyolojik Silah Olarak Önemi

CDC tarafından yapılan biyolojik silahlar sınıflandırılmasında Kategori B'de yer alan SEB solunum veya sindirim yolu ile toksik etki göstermektedir. SEB, biyolojik silah olarak aerosol formunda ortama verilebileceği gibi, gıda veya küçük su kaynaklarına yönelik sabotaj amacı ile de kullanılabilir (3, 7, 18, 19). SEB intoksikasyonlarında ölüm oranı yüksek değildir ancak etkilenen kişilerin %80'inden fazlası tıbbi bakım ihtiyacı görecektir hale gelir ve 1-2 haftalık iş gücü kaybına neden olur (3, 5). Düşük mortalite ve orta düzeyde morbidite dezavantajları nedeniyle SEB kapasite düşürücü bir biyolojik silah ajanı olarak değerlendirilmektedir (4, 7).

SEB, resmi biyolojik silah programının durdurulduğu 1969 yılına kadar ABD tarafından geliştirilmiş 7 biyolojik silah ajanından birisidir (4). Bugün için hangi ülkelerin veya grupların elinde olduğu resmen bilinmemektedir.

### B- Toksinin Özellikleri

Stafilokokkal enterotoksinler 23.000-29.000 Da (örneğin SEB 28.494) molekül ağırlığına sahip olan protein yapısında ekzotoksinlerdir (17). *S.aureus* klinik izolatlarının yaklaşık yarısı ekzotoksin üretmektedir. Bakterinin gıdalarda ve besiyerinde üremesi sırasında açığa çıkmaktadırlar (3, 4, 5, 18).

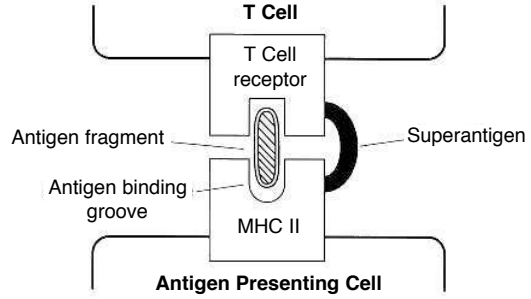
Stafilokoksik enterotoksinler mide ve duodenum enzimlerinin hidrolizine dirençlidirler. SEB, suda kolayca çözünen ve aerosol formda oldukça stabil olan bir bileşiktir. Isı değişimlerine çok dirençli olup, 100°C'de 30 dakika ısıtmaya dayanıklıdır. Liyofilize formda bir yıldan daha uzun süre aktif kalmaktadır. SEB, yapısal olarak stabil olması, aerosol formda kullanılabilmesi ve kolayca üretilebilmesi nedeniyle biyolojik silahlar listesinde üst sıralarda yer almaktadır (3, 17, 18, 21).

DeneySEL çalışmalarında, temas eden insanların %50'sinde hastalık oluşturan doz (ED<sub>50</sub>) 0.4ng/kg olarak hesaplanmıştır. LD<sub>50</sub>'nin ise 50 kat daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Maymunlarda yapılan çalışmalarda aerosol yolla LD<sub>50</sub> 27 µg/kg olarak bulunmuştur (3-5,21).

### C- Etki Mekanizması

Uygun hayvan modelleri olmadığı için enterotoksinlerin etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Yapısal olarak SEB, direkt olarak hedef hücre yüzeyindeki MHC sınıf II moleküllerine bağlanarak, T-lenfositlerini aktive eden bir süper antijendir (20). SEB'in aerosol temas ile açığa çıkan etkilerinin çoğu, konak immün sisteminde T-lenfosit poliklonal stimülasyonu ile çeşitli sitokinlerin salınmasına bağlıdır (Şekil 2). Poliklonal T-lenfositlerin özgül olmayan aktivasyonu çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin salınımını indükleyerek abartılı bir immün yanıtın gelişimine ve doku hasarına neden olmaktadır (4, 14, 20-22).

Çok az miktardaki süperantijen bile aşırı miktarda sitokin salınımına ve toksik şok sendromuna neden olmaktadır. Bu nedenle, botulinum toksininin aksine, SEB'e verilen immün yanıt ve intoksikasyon belirtileri temas yoluna bağlıdır (20, 22).



Şekil 2. Süperantijen moleküllerinin T-lenfositlerine bağlanması

Gıda kaynaklı SEB intoksikasyonunda, bağırsaktan emilen toksin, santral sinir sisteminde (SSS) kusma merkezini uyararak kusmanın ön planda olduğu besin zehirlenmesi tablosu oluşturur (3, 5). İştahsızlık, bulantı-kusma ve diyareninin sindirim sistemindeki mast hücrelerinden histamin ve lökotrienlerin salınımı aracılığıyla geliştiği düşünülmektedir (4, 14, 17).

### D- Klinik Tablo

Klinik tablo alınan toksinin miktarına ve temas yoluna bağlıdır. Genel olarak, SEB'in semptomları solunum yolu ile temastan 3-12, oral alımından 4-10 saat sonra başlar, nadiren 18 saate kadar uzayabilir (3, 7).

Doğal yolla gelişen SEB besin zehirlenmeleri; gıdaların uygun olmayan dondurma, depolama ve işlenmesi esnasında besinlerin üzerinde üreyen bakterilerin sentezlediği toksinin oral yolla alınması ile gelişmektedir (1, 3). *S.aureus* özellikle protein yönünden zengin şeker veya tuz içeren besinlerde rahatlıkla üreyebilir. Bu nedenle süt ve süt ürünleri, salam, jambon, kremalı yiyecekler, mayonezli patates salatası ve diğer yumurtalı salatalar gibi beklemiş veya açıkta kalmış gıdalar stafilokoksik besin zehirlenmesinde rol oynayan ana yiyeceklerdir. Besinlerin tat, görünüm ve kokusu normaldir (3-5,19).

Semptomlar gıda alınımı takiben 2-6 saat gibi kısa bir süre içinde ortaya çıkar. Gıda kaynaklı SEB intoksikasyonu; ateş, solunum sistemi ve nörolojik semptomlar olmaksızın, ani başlayan



şiddetli bulantı hissi, kusma, abdominal kramplar ve baş ağrısıyla karakterize klasik bir gıda zehirlenmesine yol açar. Diyare klinik tabloya eşlik edebilir. Bazen, ateş, üşüme-titreme, baş ağrısı, miyalji gibi özgül olmayan viral enfeksiyon bulguları ile de başlayabilir. Çoğunlukla kendiliğinden sınırlı olan klinik tablo, 8-24 saat içinde düzelir (4, 7, 12, 22, 23).

SEB'e bağlı gıda entoksikasyonlarının gerçek insidansı bilinmemektedir. Bunun nedenleri arasında çoğu olgunun hafif seyirli olması, tıbbi tedaviye gereksinim duyulmaması, semptomatik olguların tanısının acil servislere sadece klinik olarak konulması ve ampirik tedavi uygulanması ayrıca benzer klinik tablo gösteren bir çok hastalık bulunması sayılmaktadır (3, 5,19).

Aerosol yolla temastan genellikle 3-12 saat sonra başlayan ateş, myalji, baş ağrısı ve kuru öksürük, dispne, ortopne ve retrosternal ağrı semptomlarıyla seyreden bir tablo gözlenir (3, 12, 23). Toksin inhalasyon yolu ile alındığında mukosilyer aktivite nedeniyle az miktarda da olsa yutulmasına bağlı gastrointestinal semptomlar görülebilir. Semptomlar genellikle 4. güne kadar devam eder ve hastalar 2 hafta içerisinde tümüyle iyileşir. Ancak bazı olgularda titreme ve terlemenin eşlik ettiği 5. güne kadar devam eden 39°C veya üzerinde seyreden yüksek ateş görülebilir, öksürük 4. haftaya kadar devam edebilir (4, 5, 7, 21, 23).

Solunum yolu bulguları sıklıkla, alveollerde toksin tarafından pro-inflamatuvar sitokinlerin stimülasyonuna bağlı olarak kapiller permeabilite artışı ve sonuçta pulmoner ödem ile solunum yetmezliği gelişimi nedeniyledir (12, 24).

Yakınmaların çok hızlı geliştiği ve uzun süre bildiği SEB toksikasyonunda fizik muayenede toksikasyonu veya SEB olasılığını düşündürebilecek özgün bir bulgu mevcut değildir. Sıklıkla akut sıvı kaybına bağlı hafiften orta şiddete kadar değişen dehidratasyon bulguları, taşikardi, peristaltizm artışı ve ortostatik hipotansiyon saptanabilir (3, 5). Abdominal grafide, serbest hava olmaksızın belirgin intestinal gaz görülür. Solunum sistemi semptomlarının varlığında bile akciğer ödemi gelişmemişse göğüs muayenesi genellikle normaldir. Ancak, şiddetli vakalarda pulmoner

ödem, atelektazi ve erişkin sıkıntılı solunum sendromu (ARDS) ile uyumlu görünüm olabilir. Akciğer ödemi varlığında fizik muayenede, akciğerde ince raller duyulabilir. Akciğer grafisinde; interstisyel ödem saptanırken, parankimal infiltrasyon görülmez (4, 7, 12, 22).

Bu bakımdan SEB'e bağlı entoksikasyon tanısı, epidemiyolojik verilerin desteklemesi ile konulabilir. Çok kısa bir zaman aralığında özellikle bir kapalı alanda bulunan tüm yaş gruplarından çok sayıda kişide SEB entoksikasyonunun varlığı, bir biyolojik saldırıyı düşündürmelidir (3, 4,12).

Ayırıcı tanıda, benzer yakınmalara neden olan solunum sisteminin özellikle influenza, adenovirüs ve mikoplazma gibi patojenler göz önünde bulundurulmalıdır (3, 4). Ancak, SEB'in kullanıldığı biyolojik saldırı durumunda çok kısa sürede çok fazla sayıda kişide semptomların gelişimi tanı konulmasında yardımcı olabilir. Doğal koşullarda gelişen stafilokokkal besin zehirlenmelerinde solunum sistemi bulguları genellikle klinik tabloya eşlik etmez (4, 5). Bir biyolojik saldırı olasılığında SEB vakalarında klinik bulgular hızla gelişerek plato evresine ulaşır ve takiben bir ilerleme gözlenmezken, şarbon, tularemi ve vebada tedavi başlanmadığı sürece klinik bulguların kötüye gidişi devam eder. Radyobjik olarak, bu bakteriyel pnömoni etkenlerinde akciğer grafisinde infiltrasyonlar görülür (3, 7, 12, 22, 23).

#### E- Tanı

Stafilokoksik besin zehirlenmesine genellikle klinik belirtiler ve epidemiyolojik özelliklerle tanı konulmaktadır. Laboratuvar bulguları tanıya yardımcı değildir (3).

Bir biyolojik saldırı sonucunda SEB'e maruz kalma *S.aureus* ve enterotoksiniyle birlikte yada sadece toksinle temas şeklinde olabilir. Bu nedenle örneklerde hem bakteri hem de toksin araştırılmalıdır. SEB tanısına yönelik işlemler BGD 2 koşullarında yapılmalıdır (4, 7, 18).

Gıda kaynaklı bir biyolojik saldırı durumunda, SEB intoksikasyonunun tanısı için hastanın kusmuk ve dışkısı ile yenilen gıdadan kültür yapılarak, izole edilen *S.aureus* suşlarının aynı faj tipi olduğu gösterilmelidir. Eğer bir örnekten *S.aureus*

izole edilmiş ise toksin testleri de yapılmalıdır (4, 5, 18, 22, 23). Gıdalarda SEB, jel difüzyon, RIA, hemagglütinasyon, immünofloresans veya ELISA gibi yöntemlerle saptanabilir. Ancak, en hızlı şekilde ters pasif lateks aglütinasyon testi ile toksin gösterilebilir (4, 18).

Tanının laboratuvarla desteklenmesi için, klinik (serum ve solunum yolu sekresyonları gibi) ve çevresel örneklerde ELISA ve kemilüminesans yöntemi ile antijen aranabilir (3, 4, 7). Fakat SEB; kan, idrar, solunum sekresyonları veya nazal örnekte çok kısa bir süre bulunmaktadır. Semptomlar geliştikten sonra serum örneklerinde SEB tespit edilemez (5). SEB metabolitleri birkaç saat sonra idrarla atıldığı için 20-30 ml'lik idrar örneğinde araştırılabilir (5, 18). Teması izleyen ilk 24 saat içinde dakron veya rayon eküvyon çubuğu ile alınan nazal örnekte ELISA ve moleküler tekniklerle tanı konabilir. Ancak test sonuçlarının negatif çıkması tanıyı ekarte ettirmez (12, 18, 19, 22, 23).

Biyolojik saldırı olasılığının geliştiği yerden alınan toz, kağıt, mendil, su ve toprak gibi çevresel örneklerde PCR ile stafilokok DNA'sı araştırılabilir ve hızlı tanı için immünokromatografik assay yöntemiyle SEB toksini 5-15 dakika içinde saptanabilir (4, 5).

SEB inhalasyon yolu ile alındığında hastaların çoğunluğunda belirgin antikor cevabı geliştiği için akut ve konvalesan (7-14 gün sonra) serum örneklerinde anti-SEB antikor titrelerin artışı ile tanı desteklenmelidir (3, 4, 7). Port-mortem inceleme için, ince ve kalın barsağın farklı yerlerinden yaklaşık 10 g kadar örnek alınmalıdır (4, 5,18).

Solunum yolu ile temas eden olgularda nötrofilik lökositöz ve eritrosit sedimentasyon hızında artış gibi özgün olmayan laboratuvar bulguları da görülebilir (3, 4, 12).

#### F- Tedavi

Bugün için sağaltımın destek tedavi ile sınırlı olduğu SEB intoksikasyonlarında, hastanın oksijenizasyonunun ve hidrasyonunun sağlanması temel yaklaşımdır (3, 5, 7). Akciğer ödeminin geliştiği vakalarda pozitif basınçlı ventilasyon desteği, diüretik tedavisi ve vasopresör ajan

kullanımı gerekebilir. Ateşe yönelik olarak antipretik ve öksürük için antitussif kullanılabilir (4). Aşırı pro-inflamatuar sitokin cevabının söz konusu olduğu SEB intoksikasyonlarında steroid kullanımının yeri tartışmalıdır ve yeterli bilimsel veri mevcut değildir (5, 23). Hastaların çoğunluğu, hızlı progresyonun görüldüğü ilk dönemden sonra genellikle stabil hale gelirken, gündelik hayata dönüşleri iki hafta kadar sürebilmektedir. Ağır olgularda, akciğer ödemi ve solunum yetmezliğine bağlı ölüm görülebilir (3-5, 7, 22, 23).

#### G- Korunma

**a) Aşı ve kemoprofilaksi :** Profilaksi için SEB karşı geliştirilmiş insanlarda kullanılacak bir aşı bulunmamaktadır (3). Formalinle inaktive edilmiş SEB toksoidi ile hayvanlarda yapılan çalışmalarda ümit verici sonuçlar alınmıştır (4, 5). Genel özellikleri tam olarak bilinmemekle birlikte aday aşılarından birisinin insanlarda faz II çalışmalarının tamamlanmak üzere olduğu yönünde bilgiler mevcuttur (25).

SEB karşı bir antitoksin bulunmamaktadır (7, 21). Pasif immünizasyona yönelik hayvan deneylerinde, antikorun temastan sonraki 4-8 saat içerisinde verilmesi halinde mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (26). Ancak, SEB'in MHC II'ye bağlanmasının kana geçişinden sonraki ilk beş dakika içerisinde gerçekleşmesi nedeniyle, etkili bir profilaksi ancak temas öncesi uygulanacak aşı ile sağlanabilecektir (4, 5,17). Bir diğer önemli nokta ise; SEB ile temastan sonra konakta gelişen antikor cevabının yüksek titrelerde olmasına rağmen, özellikle solunum yolu ile alınmasına karşı koruyuculuğunun bulunmasıdır. Bu nedenle SEB atağına daha önce maruz kalan bir kişi için olası ikinci saldırıda da tehlike devam etmektedir (4, 23, 26).

**b) Arındırma ve izolasyon :** Su ve sabunla yapılan arındırma işlemi etkilidir. SEB, 100°C'de 30 dakikada inaktive olmaktadır (5).

Toksin sağlam deriden geçemediği veya sekonder inhalasyon olasılığı bulunmadığı için izolasyon ve karantina önlemlerine gerek yoktur. Hastalarla temas eden sağlık personeli için standart korunma önlemlerinin alınması yeterlidir.

Standart gaz maskesi toksinin hava yoluyla bulaşmasını önler (4, 5).

**c) Defin işlemleri** : Ceset torbası sıkıca kapatıldıktan sonra %5 NaOCl ile dekontamine edilmelidir. Otopside kullanılan tüm tıbbi malzemeler standart dezenfektanlar ile dekontamine edilmelidir (4).

### RİSİN

*Ricinus communis* (Keneotu) isimli bir bitkinin tohumlarından elde edilen glikoprotein yapısında güçlü bir sitotoksindir (3). Risin'in potansiyel biyolojik silah olarak önemi, *Ricinus communis*'in doğada yaygın olması nedeniyle kolayca elde edilebilmesi ve üretilmesi, yapısal olarak oldukça stabil olması ve konağa çeşitli yollardan penetre olmasına bağlıdır (3, 4).

### A- Biyolojik Silah Olarak Önemi

Risinin biyolojik silah olarak kullanılması en muhtemel yol aerosol formudur. Bu amaçla toksin mutlaka liyofilize edilerek ya uçucu bir maddeye bağlanmalı (sıvılaştırma) yada ince toz bir maddeye absorbe edilmelidir (mikropulverizasyon işlemi) (27). Risin toksinine kazara maruz kalınması oldukça nadirdir ve genellikle tohum veya yaprakların yenilmesiyle görülmektedir (27, 28). Sıvı veya kristalize risin, sabotaj amaçlı gıda-su kaynaklarına katılabilir. Risin peletleri veya su da çözünmüş risin, suikast amacıyla IM veya IV enjeksiyon şeklinde kullanılabilir (4, 28).

Risin toksini (RT), CDC tarafından yapılan biyolojik silahlar sınıflandırılmasında Kategori B'de yer almaktadır (5). Ancak;

1. Protein yapısında olduğu için kolayca denatüre olması,

2. Saf toksinin aerosol yolla ortama verildiğinde ozon, NO ve diğer kirletici maddeler ile hızla oksitlenmesi nedeniyle etkisini kaybetmesi (risinin enzim olarak etkili olduğu için tek bir oksidasyon etki kaybı anlamına gelmektedir),

3. Biyolojik silah olarak aynı etkiyi oluşturmak amacıyla çok büyük miktarlarda kullanılması gerektiği için ideal bir BSA değildir (4, 27, 28).

Örneğin, 100 km<sup>2</sup> lik bir alanda aerosol yol ile LD<sub>50</sub> 3µg/kg olarak kullanıldığında, 4 m<sup>3</sup>'lük RT

gerekirken, aynı etkiyi oluşturmak için bir kg şarbon sporu yeterlidir (4).

RT; kolay bulunabilir olması, ani etkisi, dış ortama çok dayanıklı moleküler yapısı ve her yoldan emilebilir olması nedeniyle büyük bir tehlike oluşturmaktadır (3, 27). Keneotu yağı eldesi sırasında oluşan küspenin yaklaşık %5'i risinden oluşmaktadır. Dünya genelinde her yıl bir milyon tonun üzerinde keneotunun yağ eldesi için kullanıldığı düşünüldüğünde bile sadece yan ürün şeklinde ortaya çıkabilecek risinin miktarının fazlalığı kolaylıkla tahmin edilebilir. Sonuç olarak, RT herhangi bir ileri teknolojiye gereksinim duyulmadan kolayca, ucuz yolla ve büyük miktarlarda üretilebilmektedir. Keneotunun tüm dünyaya yayılmış olduğu düşünüldüğünde, pek çok ülkenin veya yasa dışı grubun risin eldesinin zor olmayacağı açıktır (3-6, 27, 28).

BSA olarak solunum yolundan etkili olması için, risin aerosol formunda olmalıdır. Bu amaçla liyofilizasyon yapılması çok zor bir işlem olmasa da teknik bir alt yapı gerektirmektedir (4,27,29).

Risinin BSA olarak geliştirilmesine yönelik ilk çalışmalar ABD'de I.Dünya Savaşı sırasında başlamıştır. Zamanın teknolojik olanakları çerçevesinde yürütülen bu çalışmalarda, toksin içeren şarapnel ve mermilerin yüksek ısı nedeniyle risini büyük oranda inaktive ettiği gözlenmiştir. II. Dünya Savaşı sırasında ise, İngiltere ve Kanada bombalar aracılığı ile risin toksinini ortama vermek üzere çalışmalar yürütmüşlerdir. ABD'de yürütülen çalışmalarda, kurutipte toksin kullanımının en etkili yöntem olduğu, ancak açık hava deneylerinde risin toksininin letal etki gösterebilmesi için çok yoğun kullanılması (bariz çıplak gözle görülebilen bir bulut şeklinde) gerektiği saptanmıştır (30).

Risinin BSA olarak kullanımına yönelik bir çok örnek bulunmaktadır. Bulgar gazeteci Georgi Markov 1978 yılında Londra'da bir şemsiye ucuna yerleştirilmiş pellet içindeki risin ile suikast sonucu hayatını kaybetmiştir. Benzer şekilde 1970 ve 1980'lerin başında altı ayrı suikast girişiminin daha olduğu bilinmektedir (1, 5). 1980'li yıllarda İran-İrak savaşında ve Afganistan'da Rus işgali sırasında da kullanıldığına dair bazı bilgiler bulunmaktadır. 1991-1997 yılları arasında ABD'de

risin toksinin kullanıldığı üç olay gerçekleşmiştir. 2002 yılında Ansar al-İslam örgütünün Kuzey Irak'ta risin toksinini test ettiği bildirilmiştir. 2003 tarihinde, Londra'da bir hücre evine yapılan baskında altı Cezayirli teröristin, RT kullanarak metroya saldırı planladıkları açığa çıkarılmıştır. 2004 yılında, ABD Senato ofis binasına gönderilen bir mektupta RT saptanmıştır. 2006 yılında, Teksas'da bir üniversite yurdunda Risin ile bir saldırı gerçekleştirilmiştir. Risin kitap ve sinema filmlerine konu olmuş oldukça popüler bir toksindir (4, 5, 28, 31).

### B- Toksinin Özellikleri

Risin yapısı içerisinde iki hemaglütinin ve iki toksin yer alır. 1888 yılında Stillmark, tohum ekstraktlarının eritrositleri aglütine ettiğini gözlemiştir. Sonraki yıllarda, zayıf sitotoksin ama güçlü hemaglütinin etkisi gösteren bu maddeye Ricinus communis aglütinin adı verilirken, güçlü sitotoksin ama zayıf hemaglütinin etkisi gösteren tohum ekstraktındaki diğer madde ise risin toksini olarak adlandırılmıştır (31). RCL III (Risin D) ve RCL IV (Risin E) olarak tanımlanan toksinler polipeptid dimer yapısındadırlar. RT, yaklaşık 66.000 dalton ağırlığında, birbirlerine disülfid bağı bağlanmış A (RTA) ve B (RTB) polipeptid zincirlerinden oluşmuş bir glikoproteindir (27-29).

Normal koşullarda stabil olan risin, 80°C'de 10 dakikada, 50°C'de yaklaşık bir saatte detoksifiye olur. Düşük klor ve iyot konsantrasyonları detoksifikasyon için yeterli değilken 100 mg/L (%0.1) serbest klor ile %99,4 oranında özelliğini kaybetmektedir (27).

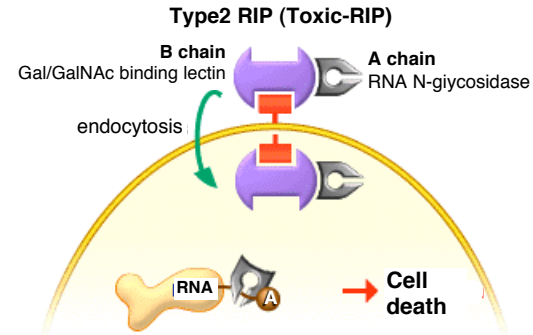
RT yapısal olarak; liyofilize, su veya zayıf asitte çözünmüş olarak, kristal, pellet veya mist şeklinde olabilir. RT'in protein yapısı ve aerosol yolla kullanımında hızla oksitlenerek etkisini kaybetmesi gibi dezavantajları, toz partiküle absorpsiyon veya sıvı (su) içinde çözünme ile ortadan kaldırılabılır. Ancak toksinin stabilitesi nemle birlikte azalmaktadır ve sıvı formu, fiziksel ve kimyasal koşullara kuru formlara göre daha az dayanıklıdır (4, 27, 28, 31).

Kene otunun deriye teması irritasyona neden olursa da RT'inin deriden absorpsiyonu çok az olduğu için intoksikasyon oluşturmamaktadır.

Deri temasının toksik etki oluşturmaması, çözücü tipine ve temas süresinin uzunluğuna bağlıdır. Deriden emilimini artırmak için toksin dimetil sülfoksit gibi daha güçlü bir sıvı içinde çözündürülmelidir (4, 6, 27, 28).

### C- Etki Mekanizması

Risin, protein sentezini inhibe ederek hücrel toksisiteye neden olur (3). Bir lektin olan RTB hücre üzerindeki reseptöre (galaktozidil rezidüleri) bağlanarak hücre içine RTA'nın alınmasını sağlar. Hücre içine giriş mekanizması tam olarak bilinmeyen A zinciri, N-glikozidik hidrolaz aktivitesi (endonükleaz aktivitesi) göstererek, 60 S r-RNA'dan spesifik olarak adenin yıkımını gerçekleştirir. Böylece çok düşük konsantrasyonlarda bile DNA replikasyonunu ve protein sentezini inhibe eder (27, 28). 106-108 risin molekülünün hücreye bağlandığı ve tek bir RTA molekülünün dakikada >1500 ribozomu inaktive edebildiği tahmin edilmektedir (31). Protein sentezinin inhibisyonu, hücre ölümüne ve sonuçta akciğer, karaciğer, böbrek gibi organlarda hasar gelişimine neden olur (Şekil 3). RTB olmaksızın sadece RTA çok az etkilidir (4, 27-29, 31).



Şekil 3. Risin toksininin etki mekanizması

Risin intoksikasyonunun morbitide ve mortalite-si toksinin giriş yoluna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Farelerde RT'nin LD<sub>50</sub> 27 µg/kg olarak bulunmuştur. Farelerdeki bu toksik düzey insanlara uyarlandığında LD<sub>50</sub> 3.0 µg/kg'a karşılık gelmektedir. Bazı kaynaklar insanlarda 500 µg

risin toksininin enjeksiyon formunda kullanıldığında fatal olduğunu; solunum ve sindirim yolu ile temasta ise LD<sub>50</sub>'nin daha yüksek olduğunu bildirmektedir. Risin, kobra zehirine göre iki kat daha ölümcüldür (27-29, 32).

Risinin inhalasyonunu takiben gelişen klinik bulguların ortaya çıkış zamanında ve şiddetinde alınan doz miktarı önem kazanmaktadır. Aerosol yolla temas sonucu gelişen klinik tablo diğer temas yollarına bağlı gelişen intoksikasyonlardan daha şiddetli seyretmektedir (28, 32). Kemirgenlerde, aerosol yolla temas sonucunda, solunum yolu epitelindeki nekroza bağlı olarak, trakeit, bronşit, bronşiolit ve interstisyel pnömoniye neden olduğu saptanmıştır. Toksin inhalasyonundan histopatolojik lezyonların açığa çıkışına kadar geçen süre 8 saattir (27, 31, 32). İnsanlarda aerosol yolla temas ile göğüste sıkışma hissiyle başlayan solunum sıkıntısı, ilerleyerek solunum yetmezliğine dönüşür. Histopatolojik olarak, larinks, bronşlar ve alveollar düzeyde nekroz ve ARDS bulguları gözlenir. Akciğer ödemi sıklıkla erken dönemde gelişir (4, 5, 28, 29, 32).

Diğer temas şekillerinde solunum bulguları ön planda değildir, ancak intravasküler yolla alınırsa endotel hasarı sonrasında gelişen kapiller kaçığa bağlı olarak akciğer ödemi görülür. Intramüsküler temas ise kas dokusunda, bölgesel ve lenfatik drenaj hattındaki lenf nodlarında nekroza ve reaktif lenfadenopatiye neden olur, orta şiddette karaciğer, dalak ve böbrek nekrozu görülür (6, 28, 29, 32).

Oral intoksikasyon ise gastrointestinal epitelde nekrozlara ve lokal kanamalara neden olur, ayrıca karaciğer, dalak ve böbrekte nekroza ve sonuçta multiple organ yetmezliğine bağlı ölüme neden olur (32).

Risin toksininin potansiyel tıbbi kullanım alanları şunlardır (27, 28, 31) :

1. Kansere hücrelerine karşı hazırlanmış monoklonal antikolar ile bağlanmış toksinin "Magic Bullet" olarak kullanılması (Bu amaçla kullanımda RT'nin organizmadaki toksik etkileri genetik olarak toksisitesi azaltılmış risinin veya toksik olmayan RTB alt ünitesinin kullanılmasıyla önlenir).

2. Mukozal aşıların geliştirilmesinde adjuvan olarak yararlanılması,

3. Kemik iliği transplantasyonunda kullanılması.

#### D- Klinik Tablo

Klinik tablo, toksinin temas yoluna ve dozuna bağlıdır (5). Risin intoksikasyonuna bağlı olgu sayısı çok azdır ve bunlardan elde edilen verilerde uyumsuzluk söz konusudur. Çocuklarda üç ve erişkinlerde sekiz tohumun yenilmesinin intoksikasyona neden olduğu saptanmıştır (27, 31).

Oral olarak alındığında; ani başlayan bulantı-kusma, abdominal kramp, gastrik irritasyon belirtileri, şiddetli diyare ve bazen kanlı ishal gelişimine neden olur. Bu gastrointestinal bulguların gelişimini takiben, 3. günden sonra dolaşım yetmezliği, böbrek yetmezliği, konvulsiyon ve ölüm görülür (4, 6, 29). Dolaşım yetmezliği, diğer enterik patojenlerden ayırımı sağlayan önemli bir özelliktir. Son yıllarda risin intoksikasyonun görüldüğü iki olguda kusma, şiddetli diyare, dehidratasyon, serum kreatinin düzeylerinde artış, karaciğerde nekroz, hemoliz, böbrek yetmezliği, konvulsiyon ve şok gözlenmiştir (27, 28, 32).

1940'lı yıllarda aerosol yolla gelişen bir kazadan elde edilen verilere göre; 4-8 saat içinde ateş, göğüste sıkışma, dispne, kuru öksürük, bulantı-kusma ve artralji gelişmektedir. Zamanla ilerleyen şiddetli akciğer hasarını takiben, konvulsiyon, SSS işlevlerinde azalma görülmektedir. İnsanlarda fatal seyirli aerosol yolla intoksikasyon tanımlanmasa da deney hayvanlarında, inhale edilen doza bağlı olarak 36-72 saat içerisinde akut hipoksik akciğer yetmezliği geliştiği gözlenmiştir (4, 28, 29, 31, 32).

Intravasküler yolla veya daha nadiren diğer yollardan alındığında intravasküler koagülopatiye, mikrodolaşım bozukluğuna ve multi-organ yetmezliğine neden olabilir. Risin büyük bir molekül olduğu için deriden absorbe olamaz. Bu nedenle deri teması önemli değildir (4, 6, 7, 28, 33).

#### E- Tanı

Tanı için öncelikle risin intoksikasyon olasılığının düşünülmesi gerekir. Aynı coğrafik

bölgede, ani başlayan ateş, öksürük, nefes darlığı ile akciğer ödeminin hızla geliştiği çok sayıda hasta ile karşılaşılması risin kullanımını akla getirmelidir (3-5). Ancak, benzer klinik tabloya yol açan, stafilokokkal enterotoksin B gibi toksinler, Q ateşi, tularemi, veba gibi olası biyolojik silah ajanları ile fosgen türü bazı kimyasallar da ayırıcı tanıda dikkate alınmalıdır (32,33). Bakteriyel pnömoniye neden olan diğer BSA'larda klinik hızla ilerler ve genellikle fatal seyirlidir. Şarbonda hemorajik mediastinit görülmesi, aerosol yolla SEB intoksikasyonunda çok ağır bir klinik tablo görülmemesi ve zamanla kliniğin bir plato oluşturması ve fosgene bağlı akciğer hasarının çok daha hızlı gelişmesi risin intoksikasyonundan ayırıcı özelliklerdir (4, 6, 7, 28, 29, 32)

Risin yüksek düzeyde immünojenik olduğu için koruyucu antikor gelişimine neden olur. Bu nedenle, şüpheli temaslılardan akut ve konvalesan dönemde alınan serum örneklerinde antikor aranabilir. Normal olarak risin intoksikasyonu beklenen bir durum olmadığı için, risin toksinine karşı antikor varlığının gösterilmesi kesin tanı kriterlerinden birisidir (3-5, 28, 33). Şüpheli durumlarda, histopatolojik örneklerin immünohistokimyasal boyama yöntemiyle incelenmesi doğrulama yöntemi olarak kullanılabilir (4, 5, 32).

Toz ve gıda gibi çevresel örneklerden hızlı tanı yöntemi olarak immünokromatografik assay yöntemiyle risin toksini veya PCR yöntemi ile *Ricinus communis*'in toksin geni saptanabilir (4, 31).

Aerosol yolla temas sonucunda görülen diğer laboratuvar bulguları arasında; nötrofilik lökositoz, akciğer grafisinde bilateral interstiyel infiltrasyon, arteriyel hipoksi ve artmış pulmoner geçirgenliğe bağlı bronşial aspiratlardaki yüksek protein miktarı sayılabilir (4, 6, 7, 29, 32).

#### F- Tedavi

Risin toksikasyonunda temas şekline bağlı olarak tıbbi yaklaşım değişmekle birlikte özgün tedavisi olmadığı için destek tedavi ön plandadır (3, 6). İnhalasyon şeklinde alımda pulmoner yetmezlik ön planda olduğu için solunum ve dolaşım desteği önem kazanır. Gastrointestinal

yoldan alındıysa, yoğun gastrik lavaj ve magnezyum sitratla (katartik olarak) toksin gastrointestinal sistemden uzaklaştırılmaya çalışılır (28, 29). Risin büyük molekül yapısı nedeniyle aktif kömüre fazla bağlanmadığından kömür kullanımının faydası sınırlıdır. Eğer intoksikasyon 3-5 günde fatal değilse genellikle iyileşme ile sonuçlanır (4, 5, 28, 32).

#### G- Korunma

**a) Aşı ve kemoprofilaksi :** Aerosol yolla temasa yönelik olarak standart gaz maskesi kullanılması etkilidir (4). Bugün için klinik kullanıma sunulmuş bir aşısı yoktur ancak denature toksin veya modifiye A zinciri ile aşı geliştirme çalışmaları devam etmektedir (4, 28, 33). ABD'de fareler üzerinde immünojenik ve aerosol ile temas için koruyucu olan nokta mutasyonu ile toksik özelliğini kaybetmiş rekombinant risine dayanan iki aşı geliştirilmiştir. Ayrıca, yapılan çalışmalarda pterik asit, neopterin, pterin tautomer ve guanin tautomerin gibi ajanların korunmada yararlı olduğu da gösterilmiştir (28).

**b) Arındırma ve izolasyon :** Risin toksini normal konsantrasyonlardaki serbest klora karşı dayanıklıdır. Bu nedenle, dayanıklı yüzeyler için %5, hassas yüzeyler ve temaslı insanların arındırılması için 10 kat sulandırılmış (%0.5) NaOCl kullanılmalı ve dekontaminasyon süresi en az 15 dakika olmalıdır. NaOCl kullanılmayacaksa yerine bol miktarda sabunlu su kullanılabilir (4, 5).

Risin uçucu olmadığı ve aerosolizasyon ile bulaşmadığı için hastaların bakımı sırasında özel izolasyon koşullarının uygulanmasına gerek yoktur. Sağlık personeli için standart korunma önlemleri yeterlidir (4, 6).

**c) Defin işlemleri :** Ceset torbası sıkıca kapatıldıktan sonra %5 NaOCl ile dekontamine edilmelidir. Otopside, kişisel koruyucu kıyafet giyilmeli ve kullanılan tüm tıbbi malzemeler standart dezenfektanlar ile dekontamine edilmelidir (4).

### TRİKOTESEN MİKOTOKSİN

Mikotoksinler doğada yaygın olarak bulunan toprak saprofitleri ve bitki patojenleri olan küf mantarları tarafından sentezlenen, bazıları insan ve/veya hayvanlar tarafından tüketildiğinde hastalığa neden olan toksinlerdir (3, 34). Bugün için literatürde, 150'den fazla türü tanımlanmış olan mikotoksinler arasında toksisiteleri ve insan sağlığına etkileri açısından büyük farklılıklar vardır. Mikotoksinin etkisi, tüketilen toksinin miktarına ve tipine göre değişmektedir (33). Mikotoksinler, özellikle *Aspergillus*, *Penicillium*, ve *Fusarium* cinsi küf mantarları tarafından üretilmektedir. En yaygın mikotoksinler ise aflatoksin, okratoksin, trikotesen ve zearalenon grubudur (34).

Trikoten (T-2) mikotoksin, yaygın olarak görülen *Fusarium* türleri (*Fusarium moniliforme*, *F. equiseti*, *F. culmorum*, *F. solani*, *F. avenaceum*, *F. roseum*, *F. nivale*) tarafından üretilen yaklaşık 40 toksinden birisidir (34). Diğer toksinlerle karşılaştırıldığında daha düşük molekül ağırlığına sahip olan T-2 mikotoksin çevresel faktörlere karşı oldukça dirençlidir ve cilt ile temas ettiğinde dermal toksisitesi olduğu bilinen tek toksindir (3, 4, 35).

#### A- Biyolojik Silah Olarak Önemi

T-2 mikotoksin, II. Dünya Savaşı sonrasında *Fusarium* mantarı ile kontamine undan yapılan ekmeğin Rus Askerleri tarafından tüketilmesiyle açığa çıkan klinik tablo ile ilk kez tanımlanmıştır. Bu ekmeği yiyenlerde alimenter toksik alöki (ATA) olarak adlandırılan; abdominal ağrı, ishal, kusma, halsizlik ve birkaç gün içerisinde gelişen ateş, titreme, miyalji ve özellikle lökopeni ile seyreden kemik iliği depresyonu gelişmiştir. Bu dönemi atlatanlarda farinks ve larinkste ağrılı ülserler, ciltte peteşi, purpura ve yaygın kanamalar (melena, kanlı ishal, hematuri, vaginal kanamalar) görülmüştür. Bu gözlemler toksinin biyolojik silah olarak kullanılabilceğini göstermiştir (4, 5, 35, 36).

T-2 mikotoksin olası BSA olarak kullanımda deriden, solunum sistemi ile veya kontamine gıda-su ile sindirim yolundan bulaşabilir (4, 34). 1975-1981 yıllarında Laos'da, 1979-1981'de

Kamboçya'da ve yine 1979-1981 yılları arasında Afganistan'da uçaklardan mikotoksinin yayılması yolu ile biyolojik silah olarak kullanılmıştır. Mikotoksin yağlı yapısı, sarı rengi ve uçaklardan salınımı sonrasındaki görünümü nedeniyle "sarı yağmur" olarak adlandırılmıştır. Sarı yağmura bağlı olarak Laos'da 6300, Kamboçya'da 1000 ve Afganistan'da 3000'in üzerinde kişinin öldüğü tahmin edilmektedir. Toksin kolay yayılması, ormanlık, dağlık arazide etkili olması nedeniyle sıklıkla maske veya kimyasal koruyucu giysisi bulunmayan gerillalara karşı kullanılmıştır (35, 36).

#### B- Toksinin Özellikleri

Trikoten (T-2) mikotoksin, düşük molekül ağırlıklı (250-500), uçucu olmayan yağimsı bir sıvıdır (3). Suda çözünmeyen ancak, etanol, metanol ve propil glikol içerisinde çok iyi çözünen trikoten ısıya ve UV ışığa da oldukça dirençlidir, otoklavla bile biyolojik aktivitesini koruyabilir. Ancak %1'lik hipoklorit solusyonuna 0,1 M NaOH eklenirse etkili dezenfeksiyon sağlanabilir (34, 35). T-2 toksininin insanlardaki LD<sub>50</sub>'si 1.210 µg/kg'dır (5).

#### C- Etki Mekanizması

Mikotoksinin etki mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Etkisinde birçok mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir. T-2 esas olarak protein ve nükleik asit sentezini inhibe ederek sitotoksik etki gösterir. Bu etki, özellikle gastrointestinal sistem, kemik iliği ve epidermis gibi hızla çoğalan hücrelerin bulunduğu yerlerde daha belirgindir. Klinik olarak da intoksikasyon gastrointestinal bulgular ve kemik iliği depresyonu şeklinde ortaya çıkmaktadır (3, 4, 33, 34). Hemopoetik ve lenfoid sistemde radyasyon benzeri etki göstermesi nedeniyle "radyomimetik ajan" olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca, hücre membran fonksiyonları ve mitokondri solunum yollarını bloke ettiği de bilinmektedir (35, 36).

#### D- Klinik Tablo

Olası bir biyolojik atakta T-2 mikotoksin ile deri, solunum sistemi veya oral yolla temas söz konusudur. Toksin hangi yoldan temas ederse etsin temas bölgesine özgü lokal belirti ve

bulguların yanı sıra sistemik semptomlar gelişir (33, 35). T-2 mikotoksininin havadan atılması durumunda kıyafetler üzerinde birikir ve sürekli olarak deriden emilir. İlk temastan dakikalar sonra ciltte yanma, kızarıklık, vezikül formasyonu ve ortasında kara kabuk şeklinde nekroz oluşumu görülür (35, 36). İnhalasyon şeklinde temasta ise burun mukozasında yanma, ağrı, burun kanaması, dispne, stridor ve öksürük görülür. Eğer oral alım söz konusu ise ağız içinde ağrı, kanama ve prodüktif öksürük gelişir. Anoreksi, bulantı, kusma ve abdominal kramplar ile kanlı veya kansız ishal şeklinde gastrointestinal belirtiler ortaya çıkar. Ayrıca konjonktival temas ile gözde yanma, yaşarma, yabancı cisim hissi, bulanık görme gelişebilir (3-5, 7, 35-37).

Havadan saldırı olduğunda göz bulguları birkaç dakika, cilt bulguları birkaç saat içerisinde gelişir. İntoksikasyon hangi yol ile gelişirse gelişsin halsizlik, ataksi, vertigo ve koordinasyon kaybı gibi sistemik toksisite bulguları görülür. Terminal dönemde, hipotermi, taşikardi, hipotansiyon ve pansitopeni, kanama diyatezi ve sepsis gelişir, alınan doza bağlı olarak birkaç dakika, saatler veya günler içinde ölümlerle sonlanabilir (4, 36, 37).

#### E- Tanı

Tanı, genel olarak anemnez ve epidemiyolojik verilere göre konulabilir. Aynı coğrafik bölgede farklı canlı türlerinde açıklanamayan ölümler veya birçok kişide ani başlayan deri, akciğer ve sindirim sistemi belirtilerinin görülmesiyle birlikte, görgü tanıklarının sarı bulut veya yağmur tarif etmeleri T-2 mikotoksin kullanımını düşündürmelidir (4, 5). Ayrıca toksin yağlı yapıda olduğu için saldırının yapıldığı yörelerde ve kişilerin üzerinde yağlı sarı, yeşil, kırmızı lekelenmeler görülebilir (36).

Dakikalar, saatler içerisinde klinik bulguların gelişmesi etiyolojide kimyasal ajanlar veya toksinler arasından da özellikle mikotoksinleri akla getirmelidir. Özellikle hardal gazı benzer klinik bulgular ve hızlı gelişimi nedeni ile akla gelebilir ancak hardal gazının kokulu olması ayırımı kolaylaştırır (4, 33, 35).

T-2 mikotoksinin, özgül tanısını sağlayacak hızlı bir tanı testi bugün için bulunmamaktadır.

Referans laboratuvarında, idrar, serum, doku ve çevresel örneklerden HPLC ve GC-MS ile toksin aranabilir (4, 5, 33, 38). T-2 mikotoksinin, %50-75'i değişmeden ilk 24 saat içerisinde idrar ve gaita ile atılırken, metabolitlerinin atılımı 28. güne kadar uzayabilir. Bu nedenle olguların idrar örneklerinde toksinin saptanma olasılığı daha yüksektir (36, 38). Kan, idrar, akciğer, karaciğer ve gastrik içerik gibi otopsi materyalinden toksin araştırılabilir (4, 36, 37).

#### F- Tedavi

Özgül bir antidotu olmadığı için destek tedavi uygulanmalıdır. İlk yapılması gereken eğer özel koruyucu kıyafet mevcut değilse, dermal toksiteyi azaltmak için su ve sabunla arındırma işlemidir. Bir saat süreyle yapılacak arındırma işlemi toksinin tümüyle uzaklaştırılmasını sağlayacaktır. Olası temastan sonra 4-6 saat içerisinde yapılan arındırma işlemi etkili iken, bu süreden sonraki arındırma toksinin çoğu emildiği için etkili değildir (3, 4, 35, 37). Arındırma sonrası standart yanık tedavisi ile intestinal emilimi azaltmak için aktif kömür içeren toksikasyon tedavisi uygulanmalıdır. Konjonktival temas durumunda, gözler serum-fizyolojik veya temiz su ile yıkanmalıdır. Ağır olgularda oksijenizasyon, ventilasyon ve sıvı-elektrolit dengesinin sağlanmasına yönelik destek uygulamalar gerekebilir (4, 5, 37).

#### G- Korunma

**a) Aşı ve kemoprofilaksi :** Günümüzde bilinen bir aşısı, antitoksini ve kemoprofilaksi yöntemi bulunmamaktadır. Bu nedenle fiziksel korunma (gaz maskesi, özel gözlük ve kıyafetler) olası atak sırasında tek korunma yöntemidir. Aşı veya kemoprofilaksi çalışmaları hayvanlar üzerinde devam etmektedir (3-5).

**b) Arındırma ve izolasyon :** Cilt ile temas ettiğinde ilk 4-6 saatte su ve sabun ile yıkanması toksiteyi azaltır. Bir saat süreyle yapılan yıkama işlemi toksitesitesi tümüyle ortadan kalkar. Toksini inaktive etmek için tek başına NaOCl yetersizdir. Bu nedenle %1 NaOCl+ 0.1 M NaOH kullanılmalıdır. Giysiler dört saat içinde çıkarılmalı ve 6-10 saat süreyle dekontaminant solüsyon



içinde bekletilmelidir. Yüzeylerin arındırma süresi en az bir saat olmalıdır, kontamine gıdalar ise imha edilmelidir (4, 34, 37).

Giyisiler toksinin deri ile temasını engeleyen bir bariyer işlevi görmesine rağmen kontamine kıyafetler toksin kaynağı olarak ikincil olgularda direkt temas ile intoksikasyona yol açabilir. Sekonder aerosolizasyon riski yoktur. Sağlık personeli temaslıların arındırma işlemleri tamamlanıncaya kadar etkenle temastan korunmalı ve standart korunma önlemleri uygulanmalıdır (5, 36).

**c) Defin işlemleri** : Ceset torbası sıkıca kapatıldıktan sonra %5 NaOCl ile dekontamine edilmelidir. Otopside kişisel koruyucu kıyafet giyilmeli ve kullanılan tüm tıbbi malzemeler %1 NaOCl+ 0.1 M NaOH ile bir saat süreyle muamele edilmeli veya 115°C'de 30 dakika basınçlı buharda steril edilmelidir (4).

### SAKSİTOKSİN

Saksitoksin (STX) planktonik algler olarak da bilinen dinofilagellatlar tarafından sentezlenen son derece güçlü bir nörotoksindir (39). STX'in tıbbi önemi, kabuklu su ürünlerinin tüketimi sonucu paralizik gıda zehirlenmesine yol açması ve etkisini çok kısa sürede (dakikalar içerisinde) gösteren tek toksin olmasıdır (3, 40).

Kabuklu deniz hayvanları için dinofilagellatlar en önemli besin kaynağıdır. Kendi besinlerini üreten ve diğer canlılar üzerinde parazit olarak yaşamlarını sürdüren Dinofilagellatlar özellikle sıcak yaz aylarında denizlerde kırmızı renk değişikliğine (red-tide) sebep olurlar (39, 41). *Protogonyaulax (Alexandrium)*, *Gonyaulax* ve *Pyrodinium* türü dinofilagellatlar tarafından üretilen toksinler içerisinde en önemlisi *Protogonyaulax* türlerinin ürettiği saksitoksindir. Bir çeşit deniz istiridyesi olan *Saxsidomus giganteus*'dan dolayı saksitoksinler olarak da anılan bu grupta 20 çeşit toksin yer almaktadır (39, 42, 43).

Kabuklu deniz hayvanları, alglerin ürettiği toksinleri içeren yosunları tüketirken, organizma ile birlikte toksini alırlar ve vücutlarında biriktirirler. İnsanda kabuklu su ürünü zehirlenmesine sebep

olan toksinleri alan her organizmada toksik etki görülmez. Örneğin midye, istiridyeye kara kabuklu midye ve yengeç vb. deniz kabukluları bu toksinleri hepato-pankreaslarında biriktirmek suretiyle kendilerini korurlar (43, 44). Toksini bünyesinde taşıyan bu kabuklu deniz yumuşakçalarının tüketimi; insanlarda paralizi, solunum yetmezliği, flask paralizi ve şiddetli olgularda ölümle karakterize kabuklu su ürünü zehirlenmesine sebep olur (45-47). Ayrıca, tatlı su midyelerinin kümes hayvanlarının yemlerine katılması da bu hayvanlar için bir risk oluşturmaktadır (48).

Kabuklu su ürünü zehirlenmesi ilk kez 18. yy'da tanımlanmıştır. Tıp literatürüne geçen ilk olay 1903 yılında ABD'de meydana gelmiştir. 1927 yılında meydana gelen çok şiddetli salgınlar görülmüştür. Amerika'da 1985 yılına kadar 1.000'den fazla intoksikasyon bildirilmiştir (40, 43, 45).

### A- Biyolojik Silah Olarak Önemi

Önceleri, Kimyasal Silahlar Konvansiyonu tarafından Liste I'de yer almasına rağmen, son zamanlarda Bakteri ve Toksin Yapılı Biyolojik Silahlar Konvansiyonunda biyolojik silahlar grubunda değerlendirilmektedir (3, 4).

STX sindirim ve solunum yolu ile alındığında intoksikasyon gelişir (3, 43). STX intoksikasyonu tipik olarak kabuklu su ürünlerinin yenilmesi ile gelişse de, toksin suda kolayca çözünebildiği için aerosol yollarda kolayca ortama yayılabilir (47, 49).

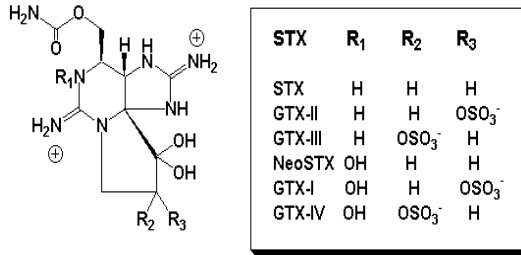
ABD Ordusu tarafından 1950'li yıllarda izole edilmiş ve suikast amacıyla kullanılmak üzere kapsüller içerisine yerleştirilmiş TZ kodlu bir biyolojik silah ajanıdır. STX oral yolla alındığında LD<sub>50</sub> 10 µg/kg iken, inhalasyon yolu ile LD<sub>50</sub> 2 µg/kg'dır. STX, sentetik sinir ajanı Sarine göre yaklaşık 1000 kez daha toksiktir (5, 49, 50).

*Alexandrium catenella*'nın bazı mineral ve vitaminlerin eklendiği deniz suyu benzeri yapay ortamlarda kültürü yapılarak toksin elde edilebilir. Ayrıca, laboratuvar ortamında iki farklı yöntem ile de sentezlenebilir ancak pratik bir işlem değildir (49, 50). STX araştırma amaçlı olarak dinofilagellatların yoğun olarak ürettiği yaz aylarında denizlerde kırmızı renk değişikliğinin geliştiği

dönemde kontamine olan deniz taraklarından ekstrakte edilebilir (39). STX'in mermi başlıklarına yerleştirilerek test edildiğine dair belgeler bulunmaktadır. Sıcak gaz ortamında da stabil olması ve oluşan klinik tablonun yüksek mortalitesi nedeniyle önemli bir biyolojik silah ajanıdır (43, 49).

### B- Toksinin Özellikleri

Esasen Protogonyaulax türlerinin karakteristik atıkları olan ve dokuz farklı tipi bulunan (STX, gonyatoksin 1-7 ve neosaksitoksin) toksinler yapısal olarak bir guanidium bileşiğidir (40, 45, 48). Renksiz ve kokusuz olan bu toksinlerden en zehirli olanları saksitoksin ve gonyatoksin 3'dür. Kimyasal formüldeki yan gruplara bağlı olarak moleküler ağırlığı 300 kDa olan küçük moleküllerden oluşmaktadır (39, 50).



Şekil 4. Saksitoksin ve diğer ilişkili toksinlerin kimyasal yapısı (49)

Güçlü alkali ile inaktive olmasına rağmen, SXT kimyasal olarak oldukça stabildir (49). STX, ısıya (120°C'deki suda aktivitesini korur), soğuğa, pişirme, haşlama, buhara ve asit ortama karşı dayanıklıdır. Su ve metanol içinde çözünürken, etanol ve asetik asitte kısmen çözünmektedir. Lipid çözücülerde ise çözünmez (39, 43, 50).

### C- Etki Mekanizması

STX, sinir ve kas hücre membranında seçici olarak sodyum kanallarına bağlanmaktadır. Potasyum ve kalsiyum kanallarını veya klorun akışını etkilemeksizin Na kanallarını bloke ederek impuls iletimini önler (40, 43). STX, sinir ve kas aksiyon potansiyel artışını engelleyen son derece güçlü bir nörotoksindir (43, 50). Etkisi doza bağlıdır. STX intoksikasyonu, solunum

güçlüğüne, yüz felcine ve damar düz kaslarını doğrudan etkileyerek ve vazomotor sinirlerde uyarılmayı önleyerek hipotansiyona neden olur. Saksitoksinin kan basıncı üzerine etkisi doza bağlı olarak değişir (40, 46, 50).

Paralizi oluşturan kabuklu su ürünü toksinlerine duyarlılık bakımından türler arasında farklılık vardır. Memeliler içerisinde en duyarlı olan insandır. Temas yoluna göre STX'in LD<sub>50</sub> oral alımda 10 µg/kg iken, inhalasyon ile temasta 2.0 µg/kg kadardır (5). Su ürünlerinin yenilebilir et kısmı için belirlenen tolerans limiti 80lg / 100g'dır (43, 44).

STX öldürücü dozun altında veya düşük dozda (örneğin 1.5-2.0 pg/kg'dan az ) alındığında kan basıncı ilk önce düşer, sonra yeniden yükselir. Daha sonra düzenli olarak yavaşça yeniden düşer. Yüksek dozlarda kan basıncının düşmesi daha hızlı olur. Bu etki toksinin damar düz kaslarını doğrudan etkilemesi ve vazomotor sinirlerin blokajı ile açıklanabilir. STX grubu toksinler, aynı zamanda kûrar benzeri etki yapan azot bileşikleridir (39, 43, 50).

Yaş, cinsiyet, vücut büyüklüğü, metal iyonlarının varlığı intoksikasyonu etkileyen faktörlerdir. Artılmamış toksin arıtılmış toksinden daha etkilidir. Sodyum iyonu intoksikasyonu azaltırken, Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> iyonları artırır. Toksite birimi olarak "fare ünite (FÜ)" kullanılır; 1FÜ = 0.18 pg saksitoksin dihidrokloriddir ve 20 g'lık bir fareyi 10-20 dk içerisinde öldüren toksin miktarıdır (43).

STX'in ilk izolasyonu ve karakterizasyonu askeri amaçlıdır. Ancak, günümüzde Na kanallarının işaretlenmesi, özelliklerinin saptanması ve çeşitli Na kanal bileşenlerinin izolasyonu çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (49).

### D- Klinik Tablo

Alınan toksin miktarına göre 5 dakika ile 2 saat içerisinde semptomlar görülür. Doz etki ilişkisinin değerlendirildiği çalışmalarda 15 000 FÜ (2.7 mg saksitoksin) ile hafif parestezi, 20 000 FÜ (3.6 mg) ile ciddi solunum yetmezliği ve 20 000-40 000 FÜ (3.6-7.2mg) arasında ölüm gelişmektedir (39, 45, 50).

## BİYOLOJİK SİLAH OLARAK TOKSİNLER

Literatürde aerosol yoluyla intoksikasyon olgusu bulunmamasına rağmen, deney hayvanlarında ani başlayan ve tedavi edilmezse dakikalar içerisinde solunum yetmezliği ile ölüm tablosu gelişmektedir. İlk belirtiler, birkaç dakika (genellikle 30 dk) sonra başlar ve toksin öncelikle sinir sisteminde lokalize olur (40, 44, 45). Daha sonra kulakta çınlama, dudaklarda, diş etlerinde, dil, yüz ve parmak uçlarında yanma, uyuşma ve hissizlik, baş dönmesi, uyku hali, boğazda ve deride kuruma ile seyreder (47, 48, 51). Orta ve şiddetli toksikasyonlarda,

parestezi ekstremitelere yayılır, motor aktivitede azalma, konuşma ve anlama güçlüğü, ataksi, kranial sinir disfonksiyonu, disfaji ve görme bozukluğu görülür (46, 51). Paralizi, baş ağrısı, hafıza kaybı, yorgunluk, hipersalivasyon, taşikardi, şiddetli susama, anüri, myalji gibi diğer belirtiler de görülebilir (45, 47, 52). 2-12 saat süren terminal evre de solunum kaslarında paralizi ile ölüm gelişir (6).

Şiddetli olgularda eğer solunum desteği olmazsa solunum felcinden dolayı ölüm görülebilir (3, 6, 46, 47). Toksine maruz kalımdan sonra 12

**Tablo 4.** Biyolojik silah olarak kullanılabilen toksinlerin genel özellikleri

Biyolojik Ajan	Botulinum toksini	Stafikokkal Enterotoksin B	Risin	T-2 Mikotoksin	Saksitoksin
Olası yayılım yolu	• Aerosol • Sabotaj (gıda-su)	• Sabotaj (gıda-su) • Aerosol	• Aerosol • Sabotaj (gıda-su)	• Aerosol • Sabotaj	Kontamine deniz kabukluları. BSA; Aerosol ve enjeksiyon
İnsandan insana bulaşma	Bulaşmaz	Bulaşmaz	Bulaşmaz	Bulaşmaz	Bulaşmaz
İnkübasyon süresi	Değişken (saatler-günler)	2-12 saat	saatler-günler	2-4 saat	5-60 dakika
Hastalık süresi	24-72 saate Ex Letal değilse aylarca sürer	saatler	Oral yolla alındığında 10-12 günde Ex	Günler-aylar	2-12 saate Ex
Mortalite	Tedavisiz: %5-60 Tedavi ile <%5	<%1	Tedavisiz: %100	Orta	Solunum desteği olmaksızın çok yüksek
(Aerosol temas) Aşı/antitoksin	BoNT Antitoksin Toksoid ile profilaksi	Aşısı yok	Aşısı yok	Aşısı yok	Aşısı yok
Semptomlar	Kas güçsüzlüğü, pitozis, diplopi, sekresyonlarda azalma, flask paralizi	Ani, ateş, tireme, baş ağrısı, myalji, kuru öksürük, bulantı-kusma ve diyare	Güçsüzlük, ateş, öksürük, akciğer ödemi ve ARDS	<b>Deri:</b> ağrı, kaşınma, vezikül ve soyulma. <b>Solunum sistemi:</b> boğaz ağrısı, aksınk, öksürük, göğüs ağrısı ve hemoptizi	Baş dömesi, ekstremitelerde seyirme, uyuşma, görme bozukluğu, hafıza kaybı, solunum sıkıntısı ve ölüm
Tedavi	Ventilasyon ile antitoksin	Analjezik, antitüssif, Ağır olgularda mekanik ventilasyon ve sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması	O <sub>2</sub> ,inflamasyonu azaltan ilaçlar ve kardiyak destek. PO temasta; toksinin GIS uzaklaştırılması, hidrasyon	Spesifik antidotu yok. Destekleyici-sempomatik tedav	Kusmanın indüklenmesi, mekanik ventilasyonu da içeren solunum desteği
BSA olarak potansiyeli	BSA olarak kullanım potansiyeli: DÜŞÜK. Oral yolla mortalitesi çok yüksektir, ancak aerosol.	BSA olarak kullanım potansiyeli: ORTA. Gıda-su kaynaklarına sabotaj şeklinde olabilir, ancak kullanılacak miktarı daha fazladır.	BSA olarak aerosol yolla kullanım potansiyeli: YÜKSEK. Geçmişte Suikast amaçlı kullanımları.	BSA olarak aerosol yolla kullanım potansiyeli: YÜKSEK. Geçmişte Laos, Kamboçya ve Afganistan'da kullanımları.	BSA olarak kullanım potansiyeli: Orta.. Aerosol yolla yüksek toksisite.

saat içerisinde solunum desteği verilirse genellikle sürekli bir yan etki kalmaksızın tam iyileşme görülmektedir (39, 46, 47). Genel olarak toksin idrarla hızla atılır ve eğer toksikasyon şiddetli değilse 12-24 saat sonra semptomlarda düzelme başlar. Düşük dozlarla temas durumunda ise olgular subklinik olarak bir hafta içerisinde iyileşirler. Prognoz genel olarak iyidir ve mortalite oranı ortalama %5.9 (maksimum %44) kadardır (39, 46, 50, 51).

#### E- Tanı

Tanı ancak anamnez bilgileri ve klinik belirtilere göre konulabilir. Fakat sadece belirtilere bakılarak tanı koymak ve diğer toksikasyonlardan ayırmak oldukça zordur. Ayırıcı tanıda; botulizm, gastroenteritler, insektisit ve Fugu (tetrodotoxin) toksikasyonları göz önünde bulundurulmalıdır (40, 43, 50). STX'i saptamaya yönelik herhangi bir hızlı tanı testi bulunmamaktadır. Gıda, su,

mide içeriği ve çevresel örneklerde toksin varlığı ELISA ve fare biyoassay yöntemiyle gösterilebilir (49).

#### F- Tedavi

Toksinin herhangi bir antidotu bulunmadığından semptomatik tedavi uygulanmalıdır (3, 39, 46). Gastrik lavaj, emetik ve purgatif verilmesi ile IV sodyum bikarbonat uygulaması etkilidir. Solunum kasları etkilendiği için mekanik ventilasyon desteği sağlanmalıdır. Toksin renal yolla atıldığı için diüretikler kullanılarak atılımı artırılabilir (39, 40, 50, 51).

#### G- Korunma

STX'e karşı aşı bulunmamaktadır. Toksin güçlü alkali solüsyonlar ile inaktive edilebilir (49).

**Tablo 5.** Biyolojik silah olarak kullanılma potansiyeli olan toksinlerin laboratuvar tanısı için alınacak örnekler

Toksin	Yüz veya burun sürüntüsü	Kan kültürü	Smear	Akut ve nekahat serumları	Dışkı	İdrar	Diğer
Botulinum	+	-	-	-	-	-	Fare biyoassay için serum veya diğer vücut sıvıları
SEB	+	-	-	+	+	+	Akc, böbrek
Ricin	+	-	-	+	+	+	Dalak, akciğer böbrek
T-2 Mikotoksin	+	-	-	-	+	+	Serum, dışkı veya idrarda metabolitler
Saksitoksin	-	-	-	+	+	+	Gıda, idrar, gastrik içerik

**Tablo 6.** Biyolojik Toksinlerin laboratuvar tanısı (3-7, 50)

Toksin	Altın Standart	Antijen Saptama	İmmünoassay		PCR	Hayvan Deneyi
			IgM	IgG		
Botulinum	Fare nötralizasyonu/ standart mikrobiyoloji	X (A,B,E Toksin)			X	X
SEB Toksin	ELISA	X	X		*	X
Risin	ELISA	X	X	X	X	X
T-2 Mikotoksin	Mass spektrometre	X				
Saxitoksin	Biyoassay	X		(nötralizan antikorlar)		X

\* toksin geninin saptanması

Std. Mikro./ seroloji – elektron mikroskopi dahil mevcut standart mikrobiyolojik teknikleri içermektedir.

### SONUÇ

Biyolojik silah olarak kullanılma potansiyeli olan toksinlerin genel özellikleri, laboratuvar tanısına yönelik alınacak örnek türleri ve tanı yöntemleri Tablo 4, 5 ve 6'da toplu olarak gösterilmiştir.

Sonuç olarak; biyolojik silahlar ve biyoterörizm konusunda son yıllarda yaşanan gelişmeler sadece bakteriyel ve viral ajanların değil toksinlerin de potansiyel kullanım alanı

olduğunu göstermektedir. Toksinlerin genetik mühendisliği ve teknolojik gelişmelere paralel olarak daha kolay üretilmesi, aşı ve antitoksin gibi korunma ve tedavi olanakları ile tanı kapasitelerinin sınırlı olması bu ajanların önemini arttırmaktadır. Bu nedenle biyoterörizm alanında ulusal hazırlık programları içinde toksinlerin de göz önüne alınması ve referans laboratuvarların tanimsal kapasitelerinin buna göre düzenlenmesi daha uygun olacaktır.

### KAYNAKLAR

1. Von Lubitz KJE Dag. Bioterrorism: Field Guide to Disease Identification and Initial Patient Management. Taylor & Francis 2005.
2. Kedlaya D. Botulinum Toxin: Overview. <http://www.emedicine.com/pmr/topic216.htm>. Erişim Tarihi: 26.12.2006
3. WHO guidance. Public health response to biological and chemical weapons. Annex 2: Toxins. 2004.
4. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. In: Textbook of Military Medicine. Sidell FR, Takafuji ET, Franz DR, eds. Washington, DC: Office of the Surgeon General; 1997; 1(3): 603-76.
5. Biological Toxins. In: USAMRIID's Medical Management of Biological Causalties Handbook. Eds: Darling RG, Woods Jon B. 5th ed. Department of Defense 2004: 80-100.
6. White SM. Chemical and biological weapons. Implications for anaesthesia and intensive care. Br J Anaesth. 2002; 89(2): 306-24.
7. Bigalke H, Rummel A. Medical aspects of toxin weapons. Toxicology 2005; 30; 214(3): 210-20.
8. Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV et al. Botulinum Toxin as a Biological Weapon. Medical and Public Health Management. JAMA. 2001; 285:1059-70.
9. Patocka J, Splino M. Botulinum Toxin: From Poison to Medicinal Agent. The ASA Newsletter 2002: 88.
10. Whitby M, Street AC, Ruff TA, Fenner F. Biological agents as weapons 1: smallpox and botulism. MJA 2002; 176 (9): 431-433.
11. Zalinskas RA. Iraq's biological weapons. The past as future?. JAMA 1997; 278: 418-24.
12. Franz DR, Jahrling PB, McClain DJ et al. Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. Clin Lab Med. 2001 Sep; 21(3): 435-73.
13. Brin MF. Botulinum toxin: chemistry, pharmacology, toxicity, and immunology. Muscle Nerve Suppl 1997; 6: 46-68.
14. Schmitt CK, KC Meysick, AD O'Brien. Bacterial Toxins: Friends or Foes?. Emerg Infect Dis 1999; 5(2): 224-34.
15. Shapiro RL, Hatheway C, Swerdlow DL. Botulism in the United States: A Clinical and Epidemiologic Review. Ann Intern Med. 1998; 129: 221-8.
16. Anonymous. Recognition of illness associated with the intentional release of biological agent. MMWR; 2001: 50: 893-7.
17. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 16- 34.
18. Staphylococcal Enterotoxin B. In: sentinel laboratory guidelines for suspected agents of bioterrorism. American Society for Microbiology. Erişim tarihi: 05.01.2007.
19. Staphylococcus aureus. In Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. U.S. Food & Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, January 1992.
20. Mollick JA, Cook RG, Rich RR. Class II MHC molecules are specific receptors for staphylococcus enterotoxin A. Science. 1989; 19; 244(4906): 817-20,
21. Fraser JD. High-affinity binding of staphylococcal enterotoxins A and B to HLA-DR. Nature 1989 May 18; 339 (6221): 221-3.
22. Greenfield RA, Brown BR, Hutchins JB et al. Microbiological, Biological and Chemical Weapons of Warfare and Terrorism. Am J Med Sci 2002; 323: 326-340.

23. Rusnak JM, Kortepeter M, Ulrich R, Poli M, Boudreau E. Laboratory Exposures to Staphylococcal Enterotoxin B. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(9):1544–9.
24. Mattix ME, RE Hunt, CL Wilhelmsen, Johnson AJ, WB Baze. Aerosolized staphylococcal enterotoxin B–induced pulmonary lesions in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Toxicol Pathol* 1995; 23(3): 262–8.
25. Lowell GH, RW Kaminski, S Grate et al. Intranasal and intramuscular proteosome–staphylococcal enterotoxin B (SEB) toxoid vaccines: Immunogenicity and efficacy against lethal SEB intoxication in mice. *Infect Immun* 1996; 64(5): 1706–13.
26. Casadevall A. Passive antibody administration (immediate immunity) as a specific defense against biological weapons. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 833–41.
27. Lord JM, Roberts LM, Robertus JD. Ricin: structure, mode of action, and some current applications. *FASEB J*. 1994; 8: 201-8.
28. Doan LG. Ricin: mechanism of toxicity, clinical manifestations, and vaccine development. A review. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2004; 42(2): 201-8.
29. Spivak L, Hendrickson RG. Ricin. *Crit Care Clin* 2005; 21(4): 815-24.
30. Kirby R. Ricin Toxin: A military History. *CML Army Chem Rev* 2004; 4: 2-4
31. <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/ricin/ricin.html>. Erişim tarihi: 05.01.2007.
32. Audi J, Belson M, Patel M, Schier J, Osterloh J. Ricin poisoning: a comprehensive review. *JAMA*. 2005; 294 (18): 2342-51.
33. Henghold WB. Other biologic toxin bioweapons: ricin, staphylococcal enterotoxin B, and trichothecene mycotoxins. *Dermatol Clin*. 2004 Jul; 22(3): 257-62.
34. Steyn PS. Mycotoxins: general view, chemistry, structure. *Toxicol Lett* 1995; 82-83:843-851.
35. Locasto DA, Allswede MP, Stein TM. T-2 Mycotoxins. <http://www.emedicine.com/emerg/topic890.htm>. Erişim tarihi: 24.12.2006.
36. McGovern TW, Christopher GW. Biological warfare and its cutaneous manifestations. In: *The Electronic Textbook of Dermatology [Textbook online]* 2001; (<http://telemedicine.org/BioWar/biologic.htm>. Erişim tarihi: 25.12.2006).
37. <http://www.iaqm.com/trichothecene.html>. Erişim tarihi: 12.12.2006
38. Croft WA, Jastromski BM, Croft AL, Peters HA. Clinical confirmation of trichothecene mycotoxicosis in patient urine. *J Environ Biol* 2002; 23: 301-20.
39. Citterio B, Manzano M, Mifreni M, Comi G. Natural fish and shellfish poisons. *Ann Microbiol Enzimol* 1992; 42: 203-16.
40. Eastaugh J, Shepherd S. Infectious and toxic syndromes from fish and shellfish consumption. *Arch Intern Med* 1989;149:1735-40.
41. What are dinoflagellates?. <http://www.geo.ucalgary.ca/~macrae/polinology/dinoflagellates/dinoflagellates.html>. Erişim tarihi: 06.03.2005.
42. Sakamoto S, Ogata T, Sato S, Kodama M, Takeuchi T. Causative organism of paralytic shellfish toxins other than toxic dinoflagellates. *Marine – Ecology* 1992; 89: 229-35.
43. Concon JM. Toxicology of Marine Foods. In: *Food Toxicology*. Marcel Dekker, INC.PP. 1988: 511- 42.
44. Aran N. Gıda Kaynaklı Mikrobiyel Toksinler. *Gıda Sanayi* 1993; 7(1): 31 - 46.
45. Sakamoto Y, Lokey R, Krzanovski J. Shellfish and fish poisoning related to the toxic dinoflagellates. *South Med J* 1987; 80: 860-70.
46. Rheinstejn PH, Klontz KL. Shellfish–Borne İllnesses. *Am Fam Phy* 1993; 47: 1837 - 40.
47. Hughes JM, Merson MH. Fish and shellfish poisoning. *N Engl J Med* 1976; 295: 1117-20.
48. Noble RC. Death on the half – shell: The health hazards of eating shellfish. *Perspect Biol Med*. 1990; 33: 3.
49. Molecule of The Month: SAXITOXIN. <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/stx/saxi.htm>. Erişim tarihi: 06.01.2007.
50. Ellenhorn MJ, Barceloux DG. *Medical Toxicology*. Elsevier Science Publishers Company Inc. USA. 1988
51. Epidemiologic Notes and Reports Paralytic Shellfish Poisoning -- Massachusetts and Alaska, 1990. *MMWR* March 15, 1991; 40(10); 157-61.
52. Ralonde R. Paralytic Shellfish Poisoning: The Alaska Problem. *Alaska's Marine Resources* 1996; 8(2): 8-18.