

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi
Başkanlığı

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Cilt: 50—No:2
(1993)

TURKISH BULLETION OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY
REVUE TUROUE D'HYGIENE ET DE BIOLOGIE EXPERIMENTALE
TÜRKISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE
BIOLOGIE

TÜRK HİJ.DEN.BİYOL.DERG.
Vol: 50—No:2
(1993)

Aile Planlaması ve Ana Çocuk Sağlığı Genel Müdürlüğü
Matbaası—ANKARA

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Sahibi : Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı adına
Başkan (President): Prof.Dr.İsmail Hakkı GÖKHUN

Yayın Yönetmeni (Editör): Dr.Erkan ÖZCENGİZ

YAYIN KURULU
(Editorial Board)

Mik.Uz.İffet ALAEDDİNOĞLU
Mik.Uz.Engin GÜVENER
Kim.Müh.Gülay ÖZERDEM
Mik.Uz.Feyza TÜMER
Ecz.Pınar BULUT

Teknik Yönetmen : Nevzat IŞIK (Yay.Dok.Müdürü)
Yayın Sekreteri : Safiye ÖZBAY
Mizampaj : Murat DUMAN
IBM.Dizgi : Nesrin AYABAKAN

**ISSUED BY
PUBLIE PAR
HERAUSGEGEBEN VOM**

REFİK SAYDAM HIFZISSIHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü
Ankara—TÜRKİYE

Senede iki defa çıkar
The Bulletin is issued twice a year
Revue paraissent deux fois par an
Die Zeitschrift erscheint zweimal Jaehrlich

YAZIM KURALLARI

1- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, epidemiyoloji, kimya, mikrobiyoloji, immünoloji, farmakoloji, entomoloji, patoloji, fizyopatoloji ve benzeri bilim dalları ile halk sağlığını ilgilendiren çeşitli konular üzerinde yapılmış orjinal laboratuvar çalışmalarını ve bu konularla ilgili görüş ve gözlemleri yayımlar.

2- Yazılar beyaz kağıda, solda 3 cm boşluk bırakılarak ve 2 satır aralıklı olarak daktilo ile yazılarak TÜRKÇE ya da İNGİLİZCE üç kopya halinde gönderilmelidir.

3- Orjinal araştırmalar: Türkçe başlık, İngilizce başlık, Türkçe özet (50-100 kelime), İngilizce özet (50-100 kelime), Giriş (en fazla 200 kelime), Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Kaynaklar bölümlerini içermelidir.

Eserin başlığı metne uygun, kısa ve açık olmalı, yazar ya da yazarların adı soyadı, başlık altına yazılarak, ünvan ve tam adresleri yıldızla işaretlenip dipnot olarak verilmelidir.

4- Kaynaklar: Metinde parantez içinde (örneğin (1) biçimde) numaralandırılıp belirtilmeli, metin sonunda eser içinde verilmiş sırasına göre yazılmalıdır. Kaynak verişte şu özelliklere uyulmalıdır:

Kaynak bir makale ise: Yazarın soyadı, adının başharfi, makalenin tam başlığı, Derginin adı (varsa uluslararası, kısaltmaları), Cilt No: sayı, başlangıç ve bitiş sayfa No. Yıl.

Kaynak bir kitap ise: Yazarın soyadı, adının baş harfi, kitabın adı (varsa editörü) Yayınlandığı yer, Yayımlayan, Yayın Yılı.

Kaynak kitaptan bir bölüm ise: Bölüm Yazarının soyadı, adının başharfi, bölümün adı, bölümün alındığı kitabın adı, yayımlandığı yer, yayımlayan bölümün sayfa no yıl, varsa seri kaydı.

5- Şekil ve tablolar, çini mürekkebi ile aydınlatılmış kağıt ya da beyaz kuşe kağıda çizilmeli, resimler parlak fotoğraf kartına siyah-beyaz ve net 12 X 8 ebadında basılmış olmalıdır. Eserde kullanılan grafik ve fotoğraflar da şekil olarak isimlendirilip numaralandırılmalıdır. Şekil 13 X 18 cm. den daha büyük olmamalıdır. Şekil ve tabloların altında kısa açıklayıcı bir cümle veya başlık bulunmalıdır.

6- Kısa bildiriiler: Üç sayfa aşmayan, önemli sonuçları zaman kaybetmeden yayımlayan orjinal yazılardır. Kısa bildiriilerde özet yazılmaz.

7- Derleme yazılar: Türkçe ve İngilizce başlık, Türkçe ve İngilizce özet, yazar adı ve metnin sonunda yazılan kaynaklardan oluşur.

8- Çalışma herhangi bir kurum desteği ile gerçekleşmiş ise kurumun adı ilk sayfa altına yazılmalıdır. Örnek: Bu çalışmayı TÜBİTAK (Ankara) desteklemiştir (TAG-605).

9- Türkçe yazılarda Türkçe imla kurallarına uyulmalı, cümleler açık ve anlaşılır olmalıdır. Kısaltmalar uluslararası kabul edilen şekilde olmalıdır.

10- Dergide yayımlanan yazıların her türlü sorumluluğu yazarlarına aittir.

11- Yazılar yayın kurulunun uygun göreceği kişilerce denetlenir. Denetleyen ve denetlenen yazı sahiplerinin isimleri gizli tutulur.

12- Yayımlanmayan yazılar geri gönderilmez.

Yazılar aşağıdaki adrese gönderilmelidir.

Refik Saydam Hifzussıhha Merkezi Başkanlığı

Türk Hijyen Deneysel Biyoloji Dergisi

Yayın Dokümantasyon Müdürlüğü

ANKARA

YAYIN KURULU

İÇİNDEKİLER

SAYFA

- 1- Erkan ÖZCENGİZ, H.Hüseyin ÇAYAN, Elhan USTA, Mücella ŞAHİN
Tetanoz Aşısının Bağışıklama Gücünün İndirekt Hamaglutinasyon (IHA) Yöntemiyle Belirlenmesi 97
- 2- Şenay KÜPÇÜ, Nevin VURAL
Sık Zehirlenme Nedeni Olan İlaçların Terapötik ve Toksik Kan Düzeylerinin Araştırılması 103
- 3- Kandemir CANEFE, Asuman BOZKIR, Ahmet AKIN, Rıza OMMATY
Eczanelerde Hazırlanan Ofisinal ve Majistral Sıvı Preparatların Mikrobiyolojik Kalite Kontrolleri Üzerinde Araştırmalar 115
- 4- Ömer KOCABEYOĞLU, Erdoğan KOŞAN, Ziya METE, Mustafa YILMAZ: İrfan ÜZPERÇİN.
Çocuklara Ait Dışkı Örneklerinde Rotavirus Bulunma Sıklığı 123
- 5- Ömer KOCABEYOĞLU, Zafer YAZICI, Erdoğan KOŞAN, Mustafa KANMAZ, Suzan ADIN
Virkonun Bazı Viruslar Üzerine Virüsidal Etkisinin Araştırılması 129
- 6- Ömer KOCABEYOĞLU, Zafer YAZICI, Mustafa KANMAZ, Erdoğan KOŞAN, Hüsnü ALTUNAY, Suzan ADIN , E.Tülünay DURGUN
Aeyclovirin HSV-1 Üzerine Minimal İnhibitör Konsantrasyonunun İn Vitro Olarak Araştırılması 135
- 7- Aziz HACBEKTAŞOĞLU, Altuğ BARUT, Volkan ÖZGÜVEN
Türk Silahlı Kuvvetlerinde HIV Seroepidemiolojisi 141
- 8- Selma METİNTAŞ, Tercan BOLATLI
Eskişehir'de Çeşitli Sağlık Kuruluşlarının Polikliniklerinde Dezenfeksiyon veya Sterilizasyon İşlemi Yapılmış Malzemelerin Mikrobiyolojik İncelenmesi 151
- 9- Tuncer HAZNEDAROĞLU, Mehmet TANYÜKSEL, Hüseyin GÜN
1988-1992 Yılları Arasında Askeri Hastanelerdeki Sıtmalı Olguların Araştırılması 157
- 10- Abdullah İNÇİ, Cahit BABER
Laboratuvar Farelerinde (MUS MUSCULUS VAR. ALBİNOS) Ornithonyssus, (Bdelonyssus, Liponyssus) Baeoti (Hirst, 1913) Olgusu 163
- 11- Pınar BULUT, Murat ŞUMNU
İzomerizm ve Önemi 173

CONTENTS

- 1- Erkan ÖZCENGİZ, H.Hüseyin ÇAYAN, Elhan USTA, Mücella ŞAHİN
The Use Of An Indirect Haemagglutination Assay For Studying Protective Potency
Of Tetanus Vaccine Preparations 97
- 2- Şenay KÜPÇÜ, Nevin VURAL
The Investigation Of The Therapeutic And Toxic Blood Levels Of Drugs Which Are
Often Poisoning 103
- 3- Kandemir CANEFE Asuman BOZKIR, Ahmet AKIN, Rıza OMMATY
An Investigation On The Microbiological Quality Controls Of The Official And
Magistral Liquid Medications Prepared In Pharmacies 115
- 4- Ömer KOCABEYOĞLU, Erdoğan KOŞAN, Ziya METE, Mustafa YILMAZ, İrfan
ÖZPERÇİN
Frequency Of Presence Of Rotavirus In Stool Specimens Belonging To Children. . . . 123
- 5- Ömer KOCABEYOĞLU, Zafer YAZICI, Erdoğan KOŞAN, Mustafa KANMAZ
Suzan ADIN
Investigation Of Virucidal Effect Of Virkon On Some Viruses 129
- 6- Ömer KOCABEYOĞLU, Zafer YAZICI, Mustafa KANMAZ, Erdoğan KOŞAN
Hüsnü ALTUNAY, Suzan ADIN, E.Tülünay DURGUN
In Vitro Investigation Of Minimal Inhibitor Concentration Of Acyclovir On Herpes
Simplex Virus Type 1 135
- 7- Aziz HACİBEKTAŞOĞLU, Altuğ BARUT, Volkan ÖZGÜVEN
HIV Seroepidemiology In Turkish Military Forces 141
- 8- Selma METİNTAŞ, Tercan BOLATLI
Microbiological Examination Of Equipment Which Was Sterilised Or Disinfected
Belong To The Polyclinics Of Various Health Centers In Eskişehir 151
- 9- Tuncer HAZNEDAROĞLU, Mehmet TANYUK SEL, Hüseyin GÜN
Investigation Of Malaria Cases At Military Hospitals During 1988–1992 157
- 10- Abdullah İNCİ, Cahit BABÜR
Study On The Occurrence Of Ornithonyssus Bacoti Of Laboratory Mice And Its
Control. 163
- 11- Pınar BULUT, Murat ŞUMNU
Importance Of Drug Isomerism 173

TETANOZ AŞISININ BAĞIŞIKLAMA GÜCÜNÜN İNDİREKT HEMAGLUTINASYON (IHA) YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Erkan ÖZCENGİZ *

H.Hüseyin ÇAYAN*
Mücella ŞAHİN *

Elhan USTA *

ÖZET

Modifiye ettiğimiz formaldehit-tannik asit yöntemiyle fikse edilen horoz eritrositleri, pürifiye tetanoz toksoidi ile kaplandı. Bu kaplı-hücreler, hazırladığımız adsorbe tetanoz (T) ve difteri-tetanoz (DT) aşuları ile bağışıklanan kobaylarda özgül antikor düzeyini belirlemek için kullanıldı.

IHA titrasyonu yoluyla belirlenen sonuçlar, kullanılan tekniğin antikor düzeyinin hassasiyetle belirlenmesinde etkin biçimde kullanılabileceğini gösterdi.

THE USE OF AN INDIRECT HAEMAGGLUTINATION ASSAY FOR STUDYING PROTECTIVE POTENCY OF TETANUS VACCINE PREPERATIONS

SUMMARY

The cock red blood cells were fixed by using the formaldehyde-tannic acid method modified in our laboratory. The cells were then coated with purified tetanus toxoid and used to detect spesific antibody responses in guinea-pigs immunized with adsorbed tetanus (T) and diphtheria-tetanus (DT) vaccines.

Titers measured by IHA assay revealed that the afore-mentioned technique can be effectively used in precise determination of antibody levels.

GİRİŞ

Tetanozdan korunmanın temel prensibi aktif bağışıklama olup, kişiye koruyucu bir antikor seviyesinin sağlanması gerekir. Bu amaçla üretilen tetanoz aşularının

* Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Bakteri Aşuları Üretim ve Araştırma Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

kontrolunda, bağışıklama gücünün test edilmesi önemli bir yer tutar. Bugün bağışıklama gücünün belirlenmesinde in vivo toksin nötralizasyon (TN) testi referans test olarak kabul edilmekte ve dünyanın her yerinde kullanılmaktadır (1). Bununla beraber TN testi, çok fazla sayıda hayvan gerektirmesi ve uzun sürmesi yanında tekrarının da çok zor olması nedeniyle uygulanması güç bir testtir. Bu nedenle aşıların özgül antikor cevabı çıkarıp çıkarmadıklarının veya bağışık insanların koruyucu düzeyde antitetanoz antikoruna sahip olup olmadıklarını belirlemede çeşitli in vitro testler geliştirilmiştir (2-5). Bunlar, EIA ve IHA gibi kısa ve kolay testlerdir.

IHA testi ile yapılan çeşitli çalışmalar da koyun eritrositlerinin fiksasyonu için formaldehit, glutaraldehit ve pirüvik aldehit gibi değişik ajanlar kullanılmış olup, bu ajanların ve fiksasyon yöntemlerinin IHA testi hassasiyetine etkileri ve TN testi ile karşılaştırmaları yapılmıştır (6-9).

Bu çalışmada ise; çeşitli formaldehit-tannik asit yöntemleri (10-12) modifiye edilerek, horoz eritrositlerinin ileri derecede saflaştırılmış tetanoz toksoidi ile kaplanması kullanıldı. Kaplı eritrositler ile bağışık kobay serumunda özgül antikor cevabı kantitatif olarak gösterildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Tetanoz Toksoidi: Plain tetanoz toksoidi; ultrafiltrasyon ve jel kromatografi yöntemiyle oldukça ileri derecede saflaştırıldı (yayımlanmamış bulgumuz) ve saf toksoid horoz eritrositlerinin kaplanması kullanıldı.

Standart Tetanoz Antitoksin (750 iu/ml): Aşı-Serum Üretim Araştırma Bölümü'nde üretilen tetanoz antitoksini, hazırlanan antijenin hassasiyetinin belirlenmesinde standart serum ve pozitif serum olarak kullanıldı.

Aşılar: Deneysel olarak ürettiğimiz adsorbe tetanoz ve difteri-tetanoz aşıları (yayımlanmamış bulgumuz) kullanıldı.

Deney Hayvanları: Aktif bağışıklama çalışmalarında 200-250 gr. ağırlığındaki kobaylar kullanıldı.

Normal tavşan serumu (NTS): Sağlıklı tavşanlardan alınan kanın serumu ayrılarak 56°C'de 30 dakika inaktive edildi.

Horoz Eritrositleri: Bir volüm horoz eritrositi iki volüm alsever solüsyonuna alınarak +4 C'de bir gün bekletildi (13). Eritrositler üç defa normal tuzlu suda (% 0.85 W/V) yıkandı ve 2000 rpm de beş dakika santrifüj edildi % 5 V/V tuzlu su süspansiyonu yapıldı. Paket eritrositler daha sonra NTS ile eşit oranda karıştırılarak oda ısısında 30 dakika bekletildi.

Eritrositlerin Fiksasyonu: 2 hacim % 30'luk formaldehit ve 16 hacim normal tuzlu su içeren solüsyon, % 10'luk Na CO₃ ile nötralize edildi. Nötralize edilen bu solüsyona 1.4 hacim 0.15 M fosfat tamponu (pH.8.0) ve 2 hacim PBS ile % 5'lik süspansiyonu hazırlanan horoz eritrositleri ilave edildi ve + 4 C'de iki

gün bekletildi. Hücreler dibe çöktükten sonra süpernatant atıldı. Daha sonra 2,4 hacim % 30'luk formaldehit ve 14 hacim normal tuzlu su içeren solüsyon % 10'luk NaCO₃ solüsyonu ile tekrar nötrale edildi ve üzerine 1,4 hacim 0,15 M fosfat tamponu eklendi. Hücreler bu solüsyonla süspansiyon edilip 2 gün +4° C'de bekletildi. Çöken hücreler süpernatanttan ayrılıp normal tuzlu su ile bir defa yıkandı (11). Eritrositlerin normal tuzlu su ile % 50 (V/V) stok solüsyonu yapılarak saklandı.

Eritrositlerin Tannik Asit ile Muamelesi: Formaldehit ile fikse edilen stok eritrositler normal tuzlu suda bir defa yıkandı, normal tuzlu suda % 5'lik süspansiyonu yapıldı. Buna eşit hacimde 1/20.000'lik tannik asit ilave edildi ve arada yavaş karıştırılarak 37 ° C'lik etüvde 30 dakika bekletildi. Hücreler santrifüjde çöktürülerek üç defa normal tuzlu su ile yıkandı ve tekrar normal tuzlu su ile % 5'lik süspansiyonu yapıldı (12).

Eritrositlerin Tetanoz Toksoidi İle Hassaslaştırılması: Tannik asit ile muamele edilen eritrositlerin % 5'lik tuzlu su süspansiyonundan bir hacim, saf tetanoz toksoidinden bir hacim (100 Lf/ml), normal tuzlu sudan 2,5 hacim ve PBS (pH 6,5) den 2,5 hacim alınarak karıştırıldı (12). 37 ° C'lik etüvde 90 dakika arada bir karıştırılarak tutuldu (10, 12). Daha sonra eritrositler 3 defa % 1'lik NTS ve % 0,01 Merthiolat içeren tuzlu su ile yıkandı. Eritrositlerin aynı solüsyonda % 1'lik süspansiyonu hazırlandı.

Kontrol eritrositler, toksoid eklenmeden aynı işlemlerden geçirilerek elde edildi.

Aktif Bağışıklama: Adsorbe tetanoz (T) ve difteri—tetanoz (DT) aşılarının 4, 10 ve 20 Lf/0,5 ml. dozları üçer kobaya deri altı yoluyla enjekte edildi. Bir ay sonra her kobaydan kalp kanı alınarak serumları ayrıldı ve test edilmeden önce 56° C'de 30 dakika inaktive edildi.

Bağışıklanmayan kobayların serumu negatif serum olarak kullanıldı.

İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA): Test serumu, standart serum ve negatif serum NTS ve thiomersal içeren PBS ile 1/8 oranında sulandırıldı. Daha sonra U— tipi mikroplyette 0,05 ml. hacimde aynı PBS ile seri sulandırılmaları yapıldı. Üzerine 0,05 ml. antijen kaplı eritrosit süspansiyonu (% 1 V/V) eklendi. Oda ısısında 1 saat içinde hemaglutinasyon oluşumu kaydedildi.

BULGULAR

IHA Hassasiyeti: Hazırlanan antijenin standart antitoksinin en az 0,00057 IU/ well miktarı ile aglutine olabildiği gözlemlendi. Buna göre test edilen serumların sahip oldukları antikor (IU/ml) değeri Tablo 1'de gösterilmiştir.

TABLO—1: Test Serumunun IHA Titresine Karşılık Gelen IU/ml Değeri

Titre	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096	1/8192
IU/ml	0.187	0.375	0.750	1.5	3	6	12	24	48	96

Adsorbe DT ve T aşılı ile bağışıklanan kobay serumlarında tetanoz antikor düzeyi tablo 2'de gösterilmiştir.

TABLO-2: Adsorbe DT ve T Aşılı ile Bağışıklanan Kobay Serumlarında Tetanoz Antikor Düzeyi

Adsorbe Aşılar	DT	T	T
Bağışıklama			
Dozu (Lf-Tetanoz)	4	10	20
IHA Titresi $\times 10^{-1}$	4096	16384	8192
IU/ml	48	192	96
IU/Lf	12	19.2	4.8

TARTIŞMA

Tetanoz toksoidinin bağışıklama gücünü göstermek için referans test olarak kullanılan TN testi, uzun zaman alan, fazla hayvan gerektiren ve tekrarı zor bir testtir. TN testi, tetanoz antikorlarının biyolojik aktivitesini belirleyen bir testtir. IHA testi ise, tetanoz antikorlarının aktivitesini indirekt olarak ortaya koyan ve TN testi ile uyumlu olduğu gösterilmiş bir yöntemdir (9, 10, 14). Bunun yanında IHA testinin EIA ile de son derece uyumlu sonuç verdiği Gentili ve ark (2) tarafından gösterilmiştir.

IHA testi, Tetanoz antikor seviyesinin gösterilmesi ve değerlendirilmesi yönünde çok yaygın olarak kullanılmıştır (5-10). Bu çalışmalarda genellikle koyun eritrositleri ile bazılarında hindi eritrositleri değişik yöntemlerle hassaslaştırılarak kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda ise horoz eritrositleri; Ling'in (11) formaldehit yöntemi ile fiksasyonundan sonra Hardegree'nin (12) tarif ettiği şekilde tannik asit ile muamele edildi. Daha sonra Pitzura (10) ve Hardgerree (12) nin belirlediği şekillerde tetanoz toksoidi ile hassaslaştırıldı.

Genel olarak IHA testinin duyarlılığı ve süresi kullanılan eritrositlerin ve yönteminin yanında kullanılan antiijenin saflığı ile de yakından ilgilidir. Kullanılan antiijenin saflığı çapraz reaksiyonları önlemesi yanında, testin duyarlılığını arttıran bir etkidir. Çalışmamızda kullandığımız tetanoz toksoidi ise ileri derecede saflaştırılmış olup, çalışmamızda horoz eritrositlerinin koyun eritrositlerine göre daha iyi ve hızlı sonuç verdiği gözlenmiştir. Bulk ve son ürün aşılıların uygulama dozunda en az 40 IU olması gerekmekte olup, testimizin en az 0.187 IU/ml'ye kadar hassasiyet göstermesi son derece uygun bir test olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, ayrıca, adsorbe tetanoz toksoidinin 10 Lf uygulama dozunda

192 IU gibi yüksek bir antikor titresi ortaya çıktığı gözlenmiştir. Bu titrede IU/Lf oranının da en yüksek olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, horoz eritrositlerinin saf tetanoz toksoidi ile kaplanmasıyla elde edilen antijenin, güvenilerek tetanoz toksoidinin koruyucu gücünün belirlenmesi çalışmalarında kullanılabileceğini bildiririz.

KAYNAKLAR

- 1- WHO Technical Report Series, No. 800, 1990
- 2- Gentili G, Pini C and Calioti C., The use of an immunoenzymatic assay for the estimation of tetanus antitoxin in human sera: a comparison with seroneutralization, and indirect haemagglutination. *J.Biol Stand.* 13; 53-59; 1985.
- 3- Newell KW, Leblanc DR, Edsall G, Levine L, Christensen H, Montuori MH, Ramirez N. The serological assesment of a tetanus toxoid fieldtrial. *Bull WHO*; 45; 773-785, 1971.
- 4- Peel MM., Measurement of tetanus antitoxin. I. Indirect haemagglutination. *J.Biol. Stand.* 8; 177-189, 1980.
- 5- Bistoni F, Marconi P., Perito S., Bastianini L., Antenucci R, Pitzurra M. Turkey red blood cell passive haemagglutination assay as guideline for specific prevention of tetanus in injured persons. *Bull WHO*; 63 (5) 905-914; 1985.
- 6- Gupta RK, Maheshwari SC, Singh H. The titration of tetanus antitoxin. I. Factors affecting the sensitivity of the indirect haemagglutination test. *J.Biol. Stand* 12; 11-17; 1984.
- 7- Gupta RK, Maheshwari SC, Singh H. The titration of tetanus antitoxin II. A comparative evaluation of the indirect haemagglutination and toxin neutralization tests. *J.Biol. Stand* 12; 137-143; 1984
- 8- Nyerges G, Lutter J. The influence of the method of preservation of erythrocytes on the correlation between tetanus antitoxin values as measured by passive haemagglutination and by seroneutralization tests in mice. *J.Biol. Stand* 8; 311-315; 1980.
- 9- Gupta RK, Maheshwari SC, Singh H. The titration of tetanus antitoxin V. Effect of formalization method for the fixation of sheep erythrocytes on the indirect haemagglutination test. *J.Bio. Stand.* 13; 151-157; 1985.
- 10- Pitzurra M, Bistoni F, Pitzurra L and Marconi P. Use of turkey red blood cells in the passive haemagglutination test for studying tetanus immunity. *Bulletin of WHO* 61(2); 331-338, 1983.
- 11- Ling NR, The attachment of proteins to aldehyde-tanned cells. *Br.J. Haematol*, 7: 299-302, 1961.

- 12- Hardegree MC, Barile MF, Pittman M, Maloney CJ, Schofield F and MacLennan R. Immunization Against Neonatal Tetanus in New Guinea
4. Comparison of Tetanus Antitoxin Titres Obtained by haemagglutination and toxin Neutralization in Mice. Bull. Wld. Hlth Org. 43;461—468; 1970.
- 13- Sonnenwrith AC, Tarett L, Gradwohl'e Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. 1666—1670—2036, 1980, The C V Mosby Company St Louis, London.
- 14- Gupta RK, Macheswari SC and Singh H. The titration of tetanus antitoxin IV. Studies on the sensitivity and reproducibility of the toxin neutralization test. J.Biol. Stand. 13;143—149, 1985.

SIK ZEHİRLENME NEDENİ OLAN İLAÇLARIN TERAPÖTİK VE TOKSİK KAN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Şenay KÜPÇÜ *

Nevin VURAL **

ÖZET

Salisilat, trisiklik antidepresan, benzodiazepin ve antiepileptik ilaçların terapötik dozda ve zehirlenme vakalarında serum ilaç düzeyleri araştırılmıştır. Çalışmalarda Ankara'daki çeşitli hastanelerden zehirlenme ön tanısı veya tedavi amaçlı gönderilen kan numuneleri kullanılmıştır. Sonuç olarak bulunan serum ilaç düzeyleri ile hastanın cevabı birlikte değerlendirilerek, gerektiğinde doz ayarlaması yapılmak suretiyle tedavinin yönlendirilmesi amaçlanmıştır.

THE INVESTIGATION OF THE THERAPEUTIC AND TOXIC BLOOD LEVELS OF DRUGS WHICH ARE OFTEN POISONING

SUMMARY

In this study, the therapeutic and toxic blood levels of drugs, which are often poisoning, have been investigated. Blood samples were taken from acut poisoned persons and patients on treatment and serum levels of salicylate, tricyclic antidepressant, benzodiazepine and antiepileptic drugs were assayed. Trinder's spectrophotometric method was used for determination of salicylic acid, and fluorescence polarization immunoassay was performed on amitriptyline, diazepam, phenytoin, carbamazepine, valproic acid and phenobarbitone in serum.

In the result, it has been shown that the therapeutic drug monitoring approach is an useful parameter for the succesful treatment.

* Kim.Yük.Müh.Refik Saydam Hıfzıssıhha Merk.Başk.Zehir Araştırma Müd. Analitik Toksikoloji Laboratuvarı Ankara-TÜRKİYE

** Prof.Dr.Ank.Üni.ECz.Fak., Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Ankara-TÜRKİYE

GİRİŞ

Kimyasal bir maddenin canlı organizma ile etkileşerek zararlı etkisini gösterme diye tanımlanan zehirlenme olayında "doz" önemlidir ve bu doz ilaç ile zehir kavramını farkedilirmada da önemli rol oynar. İlaçların absorpsiyon, dağılım, metabolizma, atılım özellikleri ise kişisel farklılıklar gösterir. Bu farklılıklar dolayısıyla vücut ağırlığı üzerinden hesaplanan klasik doz ayarlaması, özellikle tedavi endeksi düşük olan ilaçlarla toksik reaksiyonların ortaya çıkmasına ya da yetersiz ilaç dozajı uygulanmasına neden olabilir. İlaç serum veya doku konsantrasyonları ile gözlenen klinik etki arasındaki korelasyonun tespiti sonucu olarak, Terapötik ilaç izleme (Therapeutic Drug Monitoring -TDM) dediğimiz yeni çıkış hiç kuşkusuz hasta bakımından da önemli gelişmelere yol açmıştır (1-4). Bu uygulama ile hastanın doz rejimine uyup-uymadığı, hastanın ilacı yavaş mı hızlı mı metabolize ettiği, hastanın diğer hastalıkları da göz önünde bulundurularak doğru bir doz rejimi hesaplanması, değişen fizyolojik duruma göre ayarlama yapılması temin edilebilmektedir. Doz aşımı nedeniyle bir çok zehirlenme vakası söz konusudur (5-13). 1985'deki FDA Gözetim ve Epidemiyoloji Şubesi araştırmalarına göre zehirlenmelerin % 63.3'ünü 6 yaşın altındaki çocukların oluşturduğu, bunların % 89.9'unun kazara, % 8.2'sinin kasti olduğu belirtilmiştir. Ölümlerin daha ziyade antidepresanlar, analjezikler, sedatif-hipnotikler ve CO ile olduğu, 5 yaşın altındaki çocuklarda kazara Aspirin alımı ve buna bağlı ölüm insidansı fazlalığı görülmüştür.

Benzer araştırmalar ülkemizde Dr.Sami Ulus Çocuk Hastanesi ve Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığında yapılmıştır (14). Başkanlığımız Zehir Danışma Merkezi'ne 1988-1991 yılları arasında telefonla yapılan başvurulara göre zehirlenme olaylarında etkenler arasında ilk sırayı ilaçlar almakta, bunlarda antidepresanlar, nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar, parasetamol, aspirin ve hipnotikler olarak sıralanmaktadırlar. Görüldüğü gibi zehirlenmelerde ilk sıraları olan ilaçlar sık olarak kullanılan ve bu nedenlerle ortada bırakılan ilaçlardır. Kullanılmayan ilaçların gelişigüzel çevreye atılması, ilaçların çocuklar için güvenli ambalajlarda bulunmayışı, ailelerin zehirler ve zehirlenmeler konusunda yeterince eğitilmemesi zehirlenme olaylarında önemli rol oynar.

Bu çalışmada zehirlenme etkenleri arasında ilk sıraları olan asetil salisilik asitin tedavi ve zehirlenme durumunda kan düzeylerini, tedavi indeksi dar ve tedavi aralığı düşük ilaçlar arasında yer alan amitriptilin, diazepam ve anti epileptik ilaçlar ile tedavi olan veya zehirlenen kişilerin kanlarında bu ilaçların düzeylerini saptayarak TDM ve toksikoloji açısından bir değerlendirme yapılabileceğini göstermek amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

MATERYAL: Çalışmalarımızda kullandığımız kan örnekleri Dr.Sami Ulus Çocuk Hastanesinde romatoid artrit tanısıyla yatan çocuk hastalar ile epilepsili çocuk-

lardan, Numune Hastanesi psikiyatri kliniğinde yatan hastalar ile alkol bağımlısı hastalardan, GATA psikiyatri kliniğinden, Ankara Hastanesi nöroloji kliniğinden ve laboratuvarımıza zehirlenme tanısı veya tedavi amaçlı gönderilen hastalardan sağlanmıştır.

METOT: Bu çalışmada araştırılan ilaçların kanda tayinleri için çeşitli yöntemler uygulanmıştır (15—22).

Serum/plazma salisilik asit tayini Trinder yöntemi kullanılarak (23) LKB Biochrom Novaspec II spektrofotometre ile, diğerleri Abbott'un TD_x Fluorescence Polarization Immuno Assay cihazı ile yapılmıştır.

Durumlarının aciliyetinden dolayı kan örnekleri bekletilmeden anında santrifüjlenip, serumları ayrılarak çalışılmıştır.

Serum salisilik asit düzeyini tespit için kullanılan Trinder metodunun esası proteinleri $HgCl_2$ ile çöktürüp, $Fe(NO_3)_2$ ile oluşan rengin spektrofotometrik ölçümüdür. Bu amaçla stok sodyum Salisilat ve $HgCl_2 - Fe(NO_3)_2$ 'dan oluşan kombine reaktifler hazırlanmıştır.

Stok sodyum salisilat çözeltisi: 0,580 gr. sodyum salisilat 250 ml. distile suda çözülür. Bu çözelti 2 mg. salisilik asit /ml ihtiva eder. Stok çözeltiden 1 ml. alınıp, distile su ile 10 ml'ye tamamlanır. Bu çalışma standardı taze hazırlanır. Kombine reaktif: 40 gr. $HgCl_2$ 900 ml. distile suda çözülür, üzerine 10 ml. konsantre HC 2 ile 40 gr. $Fe(NO_3)_2$ ilave edilir. İyice çözüldükten sonra distile su ile 1 lt.ye tamamlanır. Bulanıkça süzülür.

TD_x yöntemi için ise, sistemin karbamazepin, fenitoin, fenobarbital, valproik asit, trisiklik antidepresan, benzodiazepin Assay, kalibrasyon ve kontrol kitleri kullanılmıştır.

Günde kg. başına 60 — 100 mg. Aspirin alan yaşları 6—13 arasındaki 15 çocuk hastanın tedavilerinin 3. gününde alınan kan örneklerinde serum salisilat düzeyleri ölçülmüştür. Bu arada laboratuvarımıza salisilat zehirlenmesi şüphesi ile gelen toplam 24 erkek, 43 kadın hastanın kan örnekleri yaş gruplarına ayrılarak incelenmiştir.

Amitriptilin tedavisi altındaki 14 yetişkin psikiyatri hastasının, tedavilerinin 3. ve 7. günlerindeki kan örneklerinin serum düzeyleri ölçülmüştür. Bu ilaçla zehirlenen 5 hastanın serum amitriptilin düzeylerine (bazıları 3—4 gün takip edilerek) bakılmıştır.

Alkol bağımlısı hastaların tedavisinde, hastanın durumuna bağlı olarak günde 5—60 mg. olarak kullanılan diazemin tedavi sürecinin 3. ve 7. günlerindeki serum düzeyleri araştırılmıştır.

Antiepileptiklerden fenitoin, karbamazepin, valproik asit ve fenobarbital kullanan çocuk ve yetişkin hastaların serum ilaç düzeyleri tayin edilmiştir.

Salisilat tedavisi yapılan 6—13 yaş arası hastaların serum salisilat düzeylerine ait bulgular tablo 1'de gösterilmiştir.

TABLO-1: Romatoid artritli hastalarda serum salisilat düzeyi (6-13 yaş) 1,2

Örnek No	Cinsiyet	Serum Salisilat düzeyi (%mg)
1	K	10.00
2	K	20.00
3	K	20.00
4	E	21.30
5	E	22.00
6	K	27.00
7	E	27.00
8	E	27.50
9	K	28.00
10	K	28.57
11	E	29.00
12	E	30.50
13	E	32.00
14	K	34.00
15	K	36.00
Toplam	15	7E, 8K
		26.19±6.60 (or. düzey ± S _d)
		10-36 (alt-üst sınırlar)

1) Tedavi dozu aralığı 60-100 mg/kg/gündür.

2) Kan örnekleri tedavinin 3. gününde alınmıştır.

Laboratuvarımıza salisilat zehirlenmesi şüphesi ile gelen kan örneklerine ait bulgular yaş gruplarına ayrılarak tablo 2'de gösterilmiştir.

TABLO-2: Salisilat zehirlenmelerinde serum salisilat düzeyleri

Yaş grubu	Vaka sayısı		(%mg)	alt ve
	E	K	Ortalama Kan düzeyleri ± st. sapma	üst sınır %mg
1-4 yaş	5	6	28,53 ± 13,22	10,6-50,0
5-9 yaş	3	4	28,68 ± 12,62	14,2-52,0
10-14 yaş	3	4	46,92 ± 35,77	15,8-120,0
15-19 yaş	5	9	47,64 ± 28,83	12,5-95,8
20-69 yaş	8	20	52,73 ± 30,87	22,0-188,0
70 yaşın üstü	-	-	-	-
Toplam	24	43		

Laroxyl veya triptilin ile tedavi gören psikiyatri hastalarının serum amitriptilin düzeyleri tablo 3'de görülmektedir.

TABLO-3: Psikiyatrik hastaların serum amitriptilin düzeyleri (21-59 yaş arası)

Örnek no	Cins	Ağrılıkla or.	Serum amitriptilin		Serum amitriptilin		Tedavi *
		Tedavi dozları (mg/gün)	düeyleri (ng/ml.) 3. gün	Tedavi** ataklığının	düeyleri (ng/ml.) 7. gün	Tedavi *	
1	K	30.0	13.55	<	36.37	<	
2	E	30.0	20.53	<	32.69	<	
3	K	42.8	498.85	kritik düzey	150.07	içinde	
4	E	50.0	39.16	<	45.34	<	
5	K	50.0	7.91	<	110.68	içinde	
6	E	50.0	53.36	içinde	93.90	içinde	
7	E	50.0	48.31	<	103.91	içinde	
8	K	72.8	67.39	içinde	8.22	<	
9	E	77.8	74.03	içinde	99.06	içinde	
10	E	84.2	102.38	içinde	74.03	içinde	
11	K	90.0	41.80	<	77.07	<	
12	K	100.0	145.75	içinde	239.32	>	
13	E	100.0	53.36	içinde	93.90	içinde	
14	K	127.7	96.66	içinde	268.19	>	
Top.	7E, 7K			6 vaka < 7 vaka içinde 1 vaka kritik		4 vaka < 2 vaka > 8 vaka içinde	
or. düeyl ± S _D			90.21±123.40		102.34±74.17	içinde	
alt-üst sınır			7.91-498.85		8.22-268.19		

* Amitriptilin için tedavi aralığı 50-200 ng/ml. dir.

+ Amitriptilin için kritik plazma düzeyi 400 ng/ml. dir.

Trisiklik antidepresan zehirlenme şüphesi ile hastanelerden gönderilen kanlarda tespit edilen amitriptilin düzeyleri tablo 4'de gösterilmiştir.

TABLO-4: Laroxyl ile akut zehirlenmelerde serum düzeyleri

Örnek no	Yaş	Cins	Serum amitriptilin düzeyi (ng/ml.)
1	14	K	109.22
2	21	K	334.68
3	25	E	259.34
4	32	K	137.82
5	12	K	547.55
			Alım sonrası ilkgün
			505.80 Alım sonrası akşamı
			447.90 Alım sonrası 2. gün
			273.76 Alım sonrası 3. gün
			144.47 Alım sonrası 4. gün

Alkol bağımlısı hastalarda, tedavide kullanılan diazemin serum düzeyleri tablo 5'de gösterilmiştir.

TABLO-5: Yetişkin hastaların serum diazepam düzeyleri

Örnek no	Cins	Tedavi dozu (mg/gün)	Serum diazepam düzeyleri (ng/ml.)		Serum diazepam düzeyleri (ng/ml.)	
			3. gün	Tedavi* aralığının	7. gün	Tedavi* aralığının
1	K	5.0	25.20	<	145.99	<
2	E	7.5	916.44	içinde	957.31	içinde
3	K	10.0	701.40	içinde	882.14	içinde
4	E	10.0	283.43	<	328.93	<
5	E	10.0	164.38	<	327.67	<
6	K	10.0	566.14	içinde	703.98	içinde
7	K	15.0	113.84	<	449.78	<
8	E	20.0	799.92	içinde	806.85	içinde
9	E	25.0	683.31	içinde	985.03	içinde
10	E	60.0	735.20	içinde	1098.12	>
Top.	6E, 4K			6 içinde 4 <		5 içinde 4 < 1 >
or. düzey ± Sd			498.92 ± 101.72		663.58 ± 1242.02	
alt-üst sınır			25.20 - 916.44		145.99 - 1098.12	

* Terapötik düzey 500 – 1000 ng/ml. dir (74).

Fenitoin kullanan epilepsi hastalarının serum düzeyleri tablo 6'de görülmektedir.

TABLO-6: Difetil hidantoin (fenitoin, eptantoin) serum düzeyleri

Örnek no	Cins	Yaş	Tedavi dozu (mg/gün)	Serum DPH düzeyi (µg/ml)	Tedavi aralığı 10-20 (µg/ml)
1	E	6	75	2.30	<
2	E	8	100	0.50	<
3	E	8	150	1.70	<
4	E	9	200	5.30	<
5	E	9	250	7.70	<
6	E	9	300	2.50	<
7	K	9	200	10.86	içinde
8	E	10	150	5.06	<
9	E	11	200	7.70	<
10	E	11	300	23.75	>
11	K	11	200	1.70	<
12	K	12	150	23.00	>çiftgörme
13	E	12	200	2.38	<
14	K	13	200	5.13	<
15	E	13	250	4.63	<
16	E	13	200	2.52	<
17	E	14	150	19.80	içinde
18	E	15	200	2.77	<
19	E	15	250	4.35	<
20	K	15	300	21.50	>
21	K	18	250	59.00	> nistagmus
22	E	30	200	3.60	<
23	E	31	300	23.30	>dürmeyen nöbetler
Top.	17E, 6 K				16 vaka < 5 vaka > 2 vaka terapötik aralık içinde
or. düzey ± Sd				10.74 ± 13.10	
alt-üst sınır				0.50 - 59.00	

Tegretol ile tedavi gören hastaların serum tedavi düzeyleri tablo 7'de görülmektedir.

TABLO-7: Epileptik hastaların serum karbamazepin düzeyleri

Örnek no	Cins	Yaş	Tedavi dozu (mg/gün)	Serum karbamazepin düzeyi (µg/ml)	Tedavi aralığı 4-10 µg/ml. olduğuna göre tedavinin < veya >
1	E	8	400	3.42	<
2	E	8	400	5.25	İçinde
3	E	8	300	4.98	İçinde
4	E	7	800	7.20	İçinde
5	K	10	400	7.43	İçinde
6	E	10	400	4.73	İçinde
7	E	10	600	7.41	İçinde
8	K	11	500	5.50	İçinde
9	E	12	800	7.00	İçinde
10	K	20	600	4.69	İçinde
11	E	22	600	8.33	İçinde
12	K	38	200	8.38	İçinde
13	E	45	300	5.78	İçinde
14	E	73	600	9.38	İçinde
Top.	10E,4K				1 vaka < 13 vaka terapötik sınırlar içinde
or. düzey ± Sd				6.42 ± 1.79	
alt-üst sınır				3.42 - 9.88	

Depakin ile tedavi gören hastaların serum valproik asit düzeyleri Tablo 8'de görülmektedir.

TABLO-8: Valproik asit (Depakin) serum düzeyleri

Örnek no	Cins	Yaş	Günlük tedavi dozu (mg/gün)	Serum valproat düzeyi (µg/ml)	Tedavi aralığı 50-100 µg/ml. olduğuna göre tedavinin < veya >
1	E	8 aylık	125	44.82	<
2	E	3	600	80.90	İçinde
3	K	7	400	0.35	<
4	K	9	1000	30.30	<
5	K	9	600	16.38	<
6	K	10	200	51.00	İçinde
7	E	11	700	111.00	>
8	K	12	600	102.45	>
9	E	14	600	24.40	<
10	K	16	800	31.81	<
Top.	4E,6K				6 vaka < 2 vaka > 2 vaka tedavi aralığında
or. düzey ± Sd				49.34 ± 36.24	
alt-üst sınır				0.35 - 111.00	

Luminal veya Luminaletten ile tedavi olan hastaların serum fenobarbital düzeyleri tablo 9'da gösterilmiştir.

TABLO-9: Epileptik çocuklarda fenobarbital serum tedavi düzeyleri

Örnek no	Cins	Yaş	Tedavi dozu (mg/gün)	Serum fenobarbi- lal düzeyi (µg/ml)	Tedavi aralığı 10-40 µg/ml. < veya >
1	E	6 aylık	150	30.36	içinde
2	K	1.5	500	8.03	<
3	K	4	400	24.5	içinde
4	K	5.5	75	10.00	içinde
5	E	6	500	29.76	içinde
6	K	6	400	18.80	içinde
7	E	6	400	15.42	içinde
8	E	6	500	22.80	içinde
9	K	7	400	18.98	içinde
10	E	9	500	42.20	>
Top.	5E,5K				1 vaka < 1 vaka > 8 vaka terapö- tik sınırlar içinde
or. düzey ± Sd				22.13 ± 10.30	
alt-üst sınır				8.03 - 42.20	

SONUÇ ve TARTIŞMA

Aspirin tedavisi altındaki 15 çocuk hasta üzerinde yaptığımız çalışmalarda bulduğumuz sonuçlar verilen günlük tedavi dozuna (60-100 mg/kg/gün) bağlı olarak % 10-36 mg arasında değişmekte olup, 3 hastanın serum salisilat düzeyinin kritik değer olan % 30 mg'ın üstüne çıktığı görülmüştür. Aspirine bağlı zehirlenme vakalarında 1-4 ve 5-9 yaş gruplarının ortalama serum düzeyleri zehirlenme vakası olmasına rağmen terapötik serum düzeyleri ortalamasına yakındır. Olası nedenlerden biri ilaç alımını takiben 2 saat içinde midenin yıkanmasıdır. 10 yaşından itibaren diğer gruplarda serum salisilat düzeylerinde artışlar görülmekte, hatta 188 mg/dl gibi yüksek düzeylere dahi rastlanılmaktadır. İki grup arasındaki farklılık bize küçük çocuklarda aspirin alımının kazara, yetişkinlerde ise büyük olasılıkla intihar amacıyla olduğunu göstermektedir.

3. gün serum Amitriptilin düzeyleri karşılaştırıldığında, 6 hastanın terapötik düzeyden düşük, birinin kritik seviyede, 7. günde ise 4 hastanın düşük, 2 hastanın terapötik sınırdan yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum, metabolizma hızında büyük genetik farklılıklar bulunduğunu ve amitriptilin kullanımında, plazma konsantrasyonu ile terapötik cevap arasındaki korelasyonun ekseriya negatif olduğunu göstermektedir.

Benzediazepin grubu ilaçlar arasında emniyeti, ucuzluğu ve geniş kullanım alanı dolayısıyla sıklıkla önerilen diazem, serum düzeyleri içinde tedavi aralığının geniş olması (terapötik düzey 500 – 1000 ng/ml) nedeniyle tercih edilmektedir (24). Diazemin kan seviyeleri araştırıldığında günde 60 mg. ilaç alan bir erkek hasta dışında serum düzeyleri tedavi aralığının altında olan 4 vakaya rastlanmıştır. Bahsi geçen erkek hastanın 1098.12 ng/ml olarak tespit edilen 7. gün serum diazepam düzeyi ile diazepam bağımlısı olduğu belirtilen bir başka erkek hastanın serum düzeyi arasında (1302.40 ng/ml) büyük bir fark olmadığı gözlenmiştir.

Fenitoin kullanan 6–31 yaş arasındaki 23 hasta üzerinde yapılan çalışmada 10–20/ng/ml olan tedavi aralığında bulunan iki serum difenilhidantoin ölçümüne rastlanılmıştır. 16 vakanın serum düzeyleri terapötik sınırın altında bulunmuş, nistagmus, çift görme, durmayan nöbet şikayetleri olan 5 vakada ise kan düzeylerinin terapötik sınırın üstünde olduğu saptanmıştır.

Epilepside çok kullanılan ilaçlardan biride karbamazepindir. Tedavide plazma karbamazepin düzeyi ile terapötik tesirler arasında lineer bir korelasyon vardır (25). Nitekim yaşları 6–73 arasında değişen 10 erkek, 4 kadın hastanın serum karbamazepin düzeyleri incelendiğinde sadece birinin, tedavi aralığı olan 4–10 ug/ml'nin altında olduğu gözlenmiştir.

Diğerlerine nazaran yeni olmasına rağmen tedavi alanında sıkça kullanılan antiepileptiklerden olan Depakin (Valproik asit) kullanan 10 hastanın serum valproat düzeylerine bakıldığında, 2 hastanın kan düzeyi terapötik aralıkta, 6 hastanınki düşük, 2 hastanınki ise yüksek bulunmuştur.

Grand mal epilepsi ile bebeklik ve çocukluk çağı konvülsiyonları ve febril konvülsiyonlarda güçlü etki gösteren uzun etkili barbitürat olan fenobarbital kullanan 5 erkek, 5 kız toplam 10 çocuk hastanın 8'inin kan düzeyi terapötik serum ilaç düzeyinde bulunmuştur. Bir hastada düşük, bir hastada ise biraz yüksek kan düzeyi tespit edilmiştir.

Sonuç olarak nistagmus, ataksi, çift görme, hematopoetikhepatik, dermal, kardiyovasküler ve sindirim sistemine etkileri, teratojenik etkiler ve yoksunluk sendromları gibi yan ve toksik etkilerinden (26) dolayı antiepileptik ilaçlarla uzun süreli tedavi altında bulunan hastaların serum ilaç düzeylerinin izlenmesinin doz ayarlamasında faydalı olacağı, bunun sonucu olarak da ilacın yan etkilerinin önlenmesini ve başarılı bir tedavi yapılmasını sağlayacağı açıktır.

KAYNAKLAR

- 1- Ayhan, İ.H., Usanmaz, E.S., Paloğlu, Ö: Plazma ilaç düzeylerinin Tedavinin Yönlendirilmesindeki Önemi. Türkiye Klinikleri Cilt 3, Sayı 1, S.45 Mart, 1983.
- 2- Bonora, M.R., Guaglio, R., Terzani, P-A, Rondanell, R: Clinical pharmacokinetics: The pharmacological monitoring of plasma levels in therapy. Int. J.Clin. Pharmacol Ther. Toxicol. 18, 73-87, 1980.
- 3- Deniz, G., Saygı, Ş: Application of Therapeutic Drug Monitoring in Health Centers. Gazi Ecz.Fak.Der. 6 (2), 119-127, 1989.
- 4- Marks, V: Therapeutic Drug Monitoring Clarke's Isolation and Identification of Drug. The Pharmaceutical. Press, London, 1986.
- 5- Crome, P: Poisoning due to TCA overdose clinical presentation and treatment. Medical Toxicology July/Aug. Vol. 1, 1, No. 4, 281-285, 1986.
- 6- Curtis, D.L., Piibe, R., Ellenhorn, MJ: Phenytoin toxicity: a review of 94 cases. Vet. Hum. Toxicol. 31, 162-163, 1989.
- 7- Done, A.K.: Aspirin Overdose: Incidence, Diagnosis and management. Pediatrics 62 (Suppl), 890-897, 1978.
- 8- Deeths, TM: Breeden, JT: Poisoning in Children. A Statistical Study of 1057 cases. J.Pediatr. 78 (2), 299-305, 1971.
- 9- Jacobsen, BJ, Rock, AR, Cohn MS, Litovitz, T: Accidental ingestions of oral prescription drugs: A multicenter Survey. AJP 79 (7), 853-856, 1989.
- 10- Jackson, R.H: Poisoning in Childhood. The Practitioner 227, 1451-1457, 1983.
- 11- Jammehdiabadi, M and Tierney, M: Impact of Toxicology screens in the diagnosis of a subjected overdose: Salicylates, TCA and Benzodiazepines. Vet.Hum.Toxicol. 33(1), 40-43, Feb. 1991.
- 12- Mc Coy, J.D, Trestrail, J.H: Findings of Ten Years of Clinical Drug Screening. Vet.Hum.Toxicol. 30 (1), Feb. 1988.
- 13- Wiseman, H.M.et. al: Accidental poisoning in Childhood - A multicenter survey. 1.General Epidemiology. Human Toxicol. 6, 293-301, 1987.
- 14- Yarah, N: 1988-1990 Yıllarında Dr.Sami Ulus Çocuk Hastanesinde yatan zehirlenme vakalarının retrospektif incelenmesi. Uzmanlık tezi, 1991.
- 15- Chamberlain, J: CRC Analysis of drugs in biological fluids. Third printing, 1987. CRC press, Inc. Boca Raton, Florida.
- 16- Ashy, AR et. al: Comparison of fluorescence polarization immunoassay and HPLC for the quantitative determination of phenytoin, phenobarbitone and carbamazepine in serum. J.Pharm. Pharmacol. Aug. 38 (8), 572-577, 1986.

- 17- Curry, A.S: Analytical Methods in Human Toxicology. Part 2, 1986. The Macmillan Press Ltd. London.
- 18- Sangalli, B.C: A new look at qualitative toxicology spot test in the Emergency Department. Vet.Hum. Toxicol. 31 (5), 445-447, Oct. 1989.
- 19- Sharp, M.E: A rapid screening procedure for Acidic and Neutral Drugs in blood by High Resolution Gas chromatography. J.of Anal. Toxicol. Vol. 11 Jan/Feb. 8-11, 1987.
- 20- Svensmark, O and Kriesten, P: Determination of diphenylhydantoin small amounts of serum. J.Lab. and Clin. Med. March Vol. 61 No. 3, 501-507, 1963.
- 21- Vesell, E.S., Passaranti, G.T: Utility of Clinical determinations of Drug Concentrations in Biological Fluids. Clinical Chemistry 17, 851-865, 1971.
- 22- Vural, N., Söylemezoğlu, T., Güvendik, G., Amitriptilin ve Nortriptilin'in biyolojik sıvılarda TLC ve GC yöntemi ile tayini. Ank.Üni.Ecz. Fak. Mec. Cilt 10, Sayı 1-2, 1980'den ayrı baskı.
- 23- Trinder, P: Rapid determination of salicylate in biological fluids. The Biochemical Journal Vol. 57, 301-303, 1954.
- 24- Ellenhorn, M.J., Barceloux, D.G: Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Elsevier, New York, 1989.
- 25- Eadie, M.J., Tyrer, J.H: Anticonvulsant Therapy Pharmacological Basis and Practice. Third edition. 1989. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne and New York.
- 26- Dukes, M.N.G: Side effects of Drugs. Annual 9, 76-79, Elsevier, 1985.

AN INVESTIGATION ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY CONTROLS OF THE OFFICINAL AND MAGISTRAL LIQUID MEDICATIONS PREPARED IN PHARMACIES

Kandemir CANEFE *
Ahmet AKIN **

Asuman BOZKIR*
Rıza OMMATY **

SUMMARY

The microbiological quality controls of the officinal and magistral liquid medications prepared in different pharmacies and the establishment of the degree and orijin of the contaminated preparations has were aimed. For this purpose, the pharmacies around the hospitals that were always encountered with such prescriptions were selected. Ten different magistral and officinal liquid medications were prepared successively in different pharmacies.

Each time five of these medications were prepared in four different pharmacies and microbiological controls were made immediately. At the same time, they were prepared by the authors according to GMP.

As a results, must of these medications prepared in the selected pharmacies were microbiologically contaminated compared with the ones that were prepared according to GMP.

The results show that, from time to time, during the preparation of the magistral and officinal medications in the pharmacies the necessary care has not been shown. For this reason, some of these medications might lead to serious health problems in the patient.

Key Words: Microbiological quality control, officinal liquid medications, magistral liquid medications

ECZANELERDE HAZIRLANAN OFİSİNAL VE MAJİSTRAL SIVI PREPARATLARIN MİKROBİYOLOJİK KALİTE KONTROLLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

ÖZET

Eczanelerde hazırlanan çeşitli ofisinal ve majistral sıvı preparatların mik-

* Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

** Mikrobiyoloji Bilim Dalı

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Tandoğan, Ankara-TURKIYE

robiyolojik olarak kalite kontrollerinin yapılması için kontamine olmuş preparatlarda kontaminasyon derecesinin ve orijininin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla yoğun reçete talebiyle karşılaşan hastanelerin çevresindeki bölgelerdeki eczaneler seçilerek, bu eczanelerde sıklıkla hazırlanan majistral ve ofisinal preparatlardan 10 değişik sıvı preparat saptanmış ve ayrı ayrı her eczaneden sağlanarak araştırmada kullanılmıştır. Bu preparatlar 5'li gruplar halinde her kezinde 4 eczaneye birden hazırlatılarak mikrobiyolojik kontrolleri yapmıştır. Aynı zamanda kontrol amacıyla da her preparat uygun imalat koşullarında yazarlar tarafından hazırlanarak mikrobiyolojik olarak incelenmiştir.

Sonuç olarak, kontrol amacı ile uygun imalat koşullarında hazırlanan preparatlara göre eczanelerde hazırlanan preparatların çoğunun mikrobiyolojik yönden olumsuz sonuçlar verdiği saptanmıştır. Buna göre, zaman zaman eczanelerde hazırlanan majistral ve ofisinal preparatlara gerekli özenin gösterilmediği ve bu preparatların bazılarının hasta sağlığı açısından sorun yaratabileceği anlaşılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Mikrobiyolojik kalite kontrolü, ofisinal sıvı preparatlar, majistral sıvı preparatlar

INTRODUCTION

For public health pharmacists and pharmacies carry very important responsibilities. Among these responsibilities the most important one is to give importance to the patients health and to offer drugs in the most proper forms. The neglect and lames in these services give important harms to public health.

In this study, the role of the pharmacies and pharmacists in the public health and the officinal and magistral medications that were prepared in the pharmacies were investigated.

Today, as in the past, it should be the aim to give optimal service to the patients health with the drugs that are prepared in the pharmacies. For this study, the services that were given by pharmacies around hospitals that are always encountered with such prescriptions in Ankara were investigated from the viewpoint of harm or use to public health.

MATERIAL AND METHOD

A) Technological Materials and Methods

Four different pharmacies around hospitals that are always encountered

with such prescriptions were selected as samples and the 10 different officinal and magistral liquid medications that takes place in Table 1 were chosen and prepared in these pharmacies.

At the same time, these medications were prepared by the authors according to GMP (6) in the laboratory, controlled paralely with other preparations, and microbiological controls were made.

B) Microbiological Analysis and Methods

The medications prepared in the pharmacies that were selected before and the medications that were prepared by the authors according to GMP (6) were promptly microbiologically analysed. For the aims of microbiological analyses (1-5, 7, 8).

- 1) Total aerobic bacteria counts,
- 2) Total yeast and mould counts,
- 3) Enterobacteriaceae,
- 4) Staphylococcus,
- 5) Streptococcus,
- 6) Pseudomonas species were determined in the samples.

RESULTS

The results of the study are shown in Tables 2-4.

TABLE-1: Used formulations in the study.

Therapeutic aim of the medications	Code Numbers	Formulations	
Ophthalmology	1	1 0.5 Atropin sulphate ophthalmic zoulle	
	2	1 0.3 Boric acid ophthalmic solution	
	3	1 4 Pilocarpin nitrate ophthalmic zoulle	
Otorhino laryngology	4	1 1 Borax solution Sodium bicarbonate 5 g Glycerin 30 ml Distilled waters.d..... 100 ml	
	5		
	6	Kuvamine0.3 g Glycerin30 g	
	7	1 1 Rivamal Sulfre Precipite10 g Talc	
Dermatology	8	Zinc oxide /an..... 30 g Glycerin Distilled water...../an..... 70 g Urbityl 4 g Talc	
		9	Zinc oxide/an..... 30 g Glycerin Distilled water/an..... 70 g
		10	Emulsi sodium 0.5 g Zphedim 1 g Distilled water 30 ml

TABLE-2: Total aerobic bacteria amount (germ/ml) in the preparations that were taken to analysis.

Sample Number	The pharmacies from where the samples were obtained				Preparations that were prepared in GMP
	A	B	C	D	
1	**	**	**	**	.
2	*	*	1000	*	*
3	*	*	*	250	*
4	*	*	*	**	*
5	*	200	**	200	*
6	100	300	**	100	*
7	**	100	.	.	20
8	200	*	*	30	*
9	400	10000	3000	800	70
10	8000	0000	3000	200	50

[*] Has not been isolated.

[**]Uncountable amount of.

TABLE-3: Total yeast and mould amounts (germ/ml) in the preparations that were taken to analysis.

Sample Number	The pharmacies from where the samples were obtained				Preparation that were prepared in GMP
	A	B	C	D	
1	**	**	**	**	.
2	*	*	800	*	*
3	*	*	*	*	*
4	*	2000	*	3000	*
5	*	2500	**	**	*
6	*	*	*	*	*
7	*	*	*	*	*
8	*	*	*	*	*
9	**	*	**	**	*
10	**	*	*	*	*

[*] Has not been isolated

[**]Uncountable amount of

TABLE-4: Pathogenic microorganisms and amounts (germ/ml) in the preparations that were taken to analysis.

	Pharmacies	Samples taken to analysis									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E.coli and Coliform	A	29	-	-	-	-	17	27	35	43	18
	B	71	-	-	-	-	5	-	18	34	13
	C	34	130	-	-	-	24	-	11	12	-
	O	31	-	-	-	-	3	1	12	53	18
	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmonella and Shigella	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Staph. aureus	A	-	-	-	-	-	-	-	-	18	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	23	-
	C	-	-	-	-	13	-	-	-	8	-
	D	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-
	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptococcus	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

DISCUSSION

I) Even there must not be any microorganisms in each milliliter or gram of the preparations number 1,2 and 3 in the respect of total aerob bacteria amount, but the determination of the uncountable number of aerob bacteria in each milliliter of the preparation number 1 that have been prepared in the Pharmacies A,B,C and D, 1000 germ in preparation number 2 that have been prepared in Pharmacy C and 2000 germ in number 3 that have been prepared in Pharmacy D.is not underrating data .

For the preparations whose numbers were 4,5 and 6×10^2 germ/ml or g was being permitted. But in our study; uncountable amount of germ in number 4 prepared in Pharmacy D, 2×10^2 germ/ml in number 5 prepared in Pharmacies B and D, and uncountable amount in number 5 prepared in Pharmacy C, 3×10^2 germ/ml in number 6 prepared in Pharmacy B, uncountable amount in number 6 prepared in Pharmacy C have been isolated.

For the last group of preparations whose numbers were 7, 8, 9 and 10, $10^3 - 10^4$ germ/ml or g. was being permitted. Among these; 18×10^3 germ/ml in number 10 prepared in Pharmacies A and B have been isolated.

II) When the data were investigated in respect of yeast and mould, uncountable amount in number 1 prepared in Pharmacies A, B, C and D, 8×10^2 germ/ml in number 2 prepared in Pharmacy C and 15×10^2 in Pharmacy E, 3×10^3 in number 4 prepared in Pharmacy D, uncountable amount in number 5 prepared in Pharmacies D and C, uncountable amount of yeast and mould in number 9 and 10 prepared in Pharmacy. A and number 9 prepared in Pharmacies C and D have been determined. Where as number 3, 6, 7 and 8 that were prepared in Pharmacies A, B, C, D and E have been found clean in respect of yeast and mould.

III) When all the preparations have been investigated in respect of pathogen microorganisms, contamination have been determined in all of them. Salmonella, Shigella and Streptococcus have not been isolated, Pseudomonas aeruginosa in number 5 prepared in Pharmacy C, Staphylococcus aureus in number 5 prepared in Pharmacies C and D and in number 9 prepared in Pharmacies A, B and C have been isolated.

IV) According to the obtained data; the preparation number 1 that have been prepared in the Pharmacies A, B, C and D, number 2 in the Pharmacy C, number 3 and 4 in Pharmacy D, number 5 in Pharmacies B, C and D, number 6 in the Pharmacies B and C, number 7, 8, 9 and 10 in the Pharmacies A and B have been microbial contaminated during the manufacturing process in contrary of the GMP rules and inconvenient to use and some of these preparations were dangerous for the health have been established.

The results of this limited study was being showed that, the only authorized and responsible person in the Pharmacy was the pharmacist and must be very meticulous and must work according to the GMP.

REFERENCES

- 1- Akm A: İlaçların mikrobiyolojik standardizasyonu, Ankara Üniv.Ecz. Fak.Mec., 11:70, 1981.
- 2- Bailey R W, Scott G E: Diagnostic Microbiology, A Textbook for the Isolation and Identification of Pathogenic Microorganisms, Fourth Edition., St Louis, Company, 1966.
- 3- British Pharmacopoeia, Volume II, Appendix XVI. London, Her Majesty's Stationery Office, 1980, A 186-A 194.
- 4- Dönmezer M: Tüketime sunulan çeşitli kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kontrolleri, Uzmanlık tezi S.B. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi, 1986.
- 5- FIP: Pureté microbiologique des formes pharmaceutiques non obligatoirement stériles méthodes d'examen. Pharm Acta Hemv., 50:285, 1975.
- 6- İzgü E, Canefe K, Agabeyoğlu İ, Baykara T., Alkan H., Tarımcı N., Çelebi N., Acartürk F., Kaynar N., Özyurt C., Ercan A.: Pharmaceutical Technology Practice Studies for Students. University of Ankara, Faculty of Pharmacy Publications No 57, Ankara University, Ankara Printing House, 1985.
- 7- Sonnenwirth C A, Jarrett L: Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, Vol II, Philadelphia, C V Mosby Company, 1980, 1391-1494.
- 8- U S Pharmacopoeia XXI, National Formulary XVI, Microbiological Tests, The United States Pharmacopoeia Convention, Inc. USA, 1151-1160.

ÇOCUKLARA AİT DIŞKI ÖRNEKLERİNDE ROTAVİRUS BULUNMA SIKLIĞI *

Ömer KOCABEYOĞLU **
Mustafa YILMAZ *****

Erdoğan KOŞAN ***

Ziya METE ****

İrfan ÖZPERÇİN *****

ÖZET

Çocuklara ait 101 dışkı örneğinde Rotazyme II (Abbott) ELISA kitleleri kullanılarak, Rotavirus araştırılmıştır. 101 dışkı örneğinin 14'ünde Rotavirus saptanmış olup bunların 7'sinin normal şekilli 7'sinin ise sulu ve mukuslu olduğu gözlenmiştir. Virolojik inceleme için gönderilen örneklerin % 22'sinde, parazitolojik ve bakteriyolojik inceleme için gönderilen örneklerin ise % 13'ünde Rotavirus pozitif bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları gastrointestinal yakınmaları olan çocuklarda Rotavirus enfeksiyonlarının gözardı edilmemesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Rotavirus, ELISA

FREQUENCY OF PRESENCE OF ROTAVIRUS IN STOOL SPECIMENS BELONGING TO CHILDREN *

SUMMARY

In this study, Rotavirus have been investigated in 101 stool specimens belonging to children with gastrointestinal symptoms, using Rotazyme II (Abbott) ELISA kits. Rotavirus was detected in 14 of 101 stool specimens,

-
- * XXV Türk Mikrobiyoloji Kongresinde (8-10 Eylül 1992 Club Altın Ceylan-Bursa) sunulmuştur.
** GATA Haydarpaşa Eğt. Hast.Mik. ve Kl.Mik., Srv. Doç.
*** GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv., Yrd.Doç.
**** GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Çocuk Sağ. ve Hast.Srv., Doç.
***** GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv., Uzm. Öğ.

half of which were normal shaped, others watery and mucous. Rotavirus was detected in 22 % of specimens send for virologic examination for Rotavirus. However Rotavirus was also detected 13 % of specimens sent for parasitologic and bacteriologic examination. Results of this study have shown that Rotavirus infections should be into consideration In children with gastrointestinal symptoms.

Key Words: Rotavirus, ELISA.

GİRİŞ

1973 yılında tanımlanan Rotaviruslar (RV) çocuk gastroenteritlerinin en önemli etkenlerinden biridir (2, 3). Reoviridae ailesinin bir üyesi olan RV'lar, 70 nm çapında çift katlı protein kapside sahip viruslardır. RV genomu, çift iplikli ve 11 segmentli RNA içerir (1-8). RV'ların hayvanlarda hastalık yapan türleri ile insanda hastalık yapan türleri morfolojik olarak benzer, antijenik olarak farklı yapıdadır (2, 3, 5, 8, 9). Yüzey proteinleri olan VP7 ve VP3 antijenleri serotiplendirmede kullanılır. Major dış kapsit glikoproteini olan VP7 antijeni tiplendirmede daha önemlidir (3, 10, 11). İnsan RV'larının 4 serotipi bulunmaktadır (3, 10, 12, 13, 14). Serotip 4 RV, 4A ve 4B olmak üzere iki alttipe ayrılmaktadır (15). Son yıllarda serotip 8 ve serotip 9 olmak üzere 2 yeni insan RV serotipi saptanmıştır (3). Serotip 5, 6 ve 7 ise hayvan serotipleridir (3, 16). Bu hayvan RV'larından farklı, bir serotip 10 un da varlığı saptanmıştır (17).

Rotavirus enfeksiyonlarının tanısında dışkıda viral antijen saptayan yöntemler daha çok kullanılmaktadır. Bunlar içerisinde en sık kullanılanlar, Latex aglutinasyonu ve ELISA yöntemleridir (3, 15, 16). Bu çalışmada farklı isteklerle laboratuvara gönderilen çocuk dışkı örneklerinde RV bulunma sıklığının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

1.01.1992 - 30.06.1992 tarihleri arasında yapılan bu çalışmada 6 ay 10 yaş arası çocuklara ait 101 dışkı örneği kullanılmıştır. Örneklerin 11'i parazit, 81'i kültür ve 9'u RV yönünden incelenmek üzere laboratuvarımıza gönderilmiştir. Tüm örneklerin makroskopik, mikroskopik, bakteriyolojik ve parazitolojik incelemeleri yapılmıştır. Dışkının makroskopik ve mikroskopik incelenmesinde, kıvamı, rengi, mukuslu olup olmadığı, lökosit ve eritrosit varlığı gibi bulgular kaydedilmiştir. Bakteriyolojik incelemede, taze dışkıdan öze ile alınan örnek selenit F çoğaltıcı besiyerine aktarılmış ve daha sonra MB ayırıcı besiyerine ekilmiştir. Boyama ve biyokimyasal testlerle bakteri identifikasyonu yapılmıştır. Parazitolojik incelemede; dışkı, tuzlu su preparasyonu ve basit çöktürme yöntemleri ile incelenmiştir.

RV aranmasında ELISA testi (Abbott Rotazyme II) kullanılmıştır. Kitte kobay kökenli Anti-RV antikor kaplı boncuklar ve pozitif kontrol olarak yeşil Afrika maymunu kökenli, inaktive edilmiş RV SA-11 suşu kullanılmıştır.

BULGULAR

Parazit araştırılması amacıyla gönderilen örneklerin % 13'ünde (11/84), kültür yapılması amacıyla gönderilen örneklerin % 13'ünde (1/8) ve RV araştırılması amacıyla gönderilen örneklerin % 22'sinde (2/9) RV saptanmıştır. Toplam olgularda RV bulunma sıklığı ise % 14 (14/101) olarak belirlenmiştir.

RV saptanan örneklerin yapılan makroskopik incelemelerinde 7 dışkı örneğinin sulu ve mukuslu, 7 dışkı örneğinin ise şekilli ve normal görünümlü olduğu saptanmıştır. Çalışmaya alınan örneklerin yapılan parazitolojik incelemesinde, RV saptanan 14 dışkı örneğinde parazit saptanmamıştır. RV yönünden negatif bulunan 87 dışkı örneğinin 5'inde *Giardia intestinalis*, 2'sinde *Enterobius vermicularis*, 1'inde *Ascaris lumbricoides* ve 1'inde *Cryptosporidium* saptanmıştır.

Yapılan bakteriyolojik incelemelerde, alınan örneklerin hiçbirinde patojen barsak bakterisi saptanmamıştır. Örneklerin büyük bir çoğunluğunda *E.coli* (% 84), daha az oranlarda *Klebsiella spp.* (% 9) ve *Klebsiella spp. - E.coli* (% 8) saptanmıştır. Antiserumları bulunamadığından *E.coli* suşlarının Serotiplendirilmesi yapılamamıştır.

TABLO-1: Çeşitli İsteklerle Laboratuvara Gönderilen Çocuk Dışkı Örneklerinde Rotavirus Bulunma Sıklığı

ÖRNEKLER	Pozitif		Negatif		TOPLAM
	Sayı	%	Sayı	%	
G.P.Y. isteği ile gelen örnekler	11	13	73	87	84
Kültür isteği ile gelen örnekler	1	13	7	87	8
Rotavirus isteği ile gelen örnekler	2	22	7	78	9
Genel Toplam	14	14	87	86	101

TARTIŞMA VE SONUÇ

RV enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir (3, 7). Hastalık genellikle kusma-ateş-ışhal semptom üçlüsü ile seyretmekte (2, 7) ancak bu

semptomlarla, dışkıda virus çıkarımı arasında belirgin bir ilişki bulunmamaktadır (18). RV'lar çocuk kliniklerinde ve gündüz çocuk bakım yuvalarındaki çocuklarda görülen ishallerin toplam olarak % 10'undan, kış aylarında ise % 50'sinden sorumludur (19, 20).

Gastroenteritli olgularda RV görülme sıklığı konusunda birçok yayın bulunmaktadır. Uhnoo ve ark. (21) hastaneye yatması gereken akut gastroenterit olgularında % 53 oranında, Vesikari ve ark. (22) akut gastroenteritlerde % 49 oranında RV'ların etken olduğunu bildirmişlerdir. Julkunen ve ark. (4) Gastroenteritli hastalara ait 570 dışkı örneğini ELISA, elektronmikroskopi ve latex aglütinasyon testleriyle incelemişler ve 127 örneği her üç yöntemle de pozitif bulmuşlar, 64 örnekte ise uyumsuz sonuç saptamışlardır. Cevenini ve ark. (23) akut gastroenteritli çocuklara ait 57 dışkı örneğini latex aglütinasyonu, elektronmikroskopi, immünfluoresans ve ELISA yöntemleriyle incelemişler ve 38 örneği dört yöntem ile de pozitif bulmuşlardır. Sırasıyla elektromikroskopi, immünfluoresans, ELISA ve latex yöntemlerinin % 96 – % 85.9 arasında değişen oranlarda sensitif olduğunu bildirmişlerdir. Morinet ve ark. (15) ishalleri çocuklara ait 112 dışkı örneğini ikisi ELISA olmak üzere 6 farklı yöntem ile incelenmişler ve Rotazyme ve Enzygnost testlerinde yalancı pozitiflik bulunmadığını belirtmişlerdir.

Ülkemizdeki çalışmalarda ise Tunçman ve ark. (24) ishalleri 47 çocuğa ait dışkı örneğinin 9'unda (% 17) latex aglütinasyon testi ile RV pozitifliği saptamışlardır. Mete ve Yenen (25) latex aglütinasyon testi ile yaptıkları bir çalışmada ise 17 ishalleri çocuk olgusundan 1'inde RV pozitifliği bildirmişlerdir. Gün ve ark. (26) gastroenteritli 5 gün – 2 yaş arası çocuklara ait dışkı örneklerinde ELISA testi ile % 26.7 RV pozitifliği saptamışlardır. Kocabeyoğlu ve ark. (9) yaptıkları serolojik araştırmada, 0–20 yaş grubunda RV IgG pozitiflik oranını IFAT ile % 88.6 olarak; yine Kocabeyoğlu ve ark. (27) bir başka serolojik çalışmalarında çocuklarda ELISA ile RV IgG pozitiflik oranını % 68 olarak bildirmişlerdir.

Bu çalışmada RV incelenmesi isteğiyle gönderilen olgulardaki % 22 pozitiflik oranı yanı sıra, değişik inceleme istekleriyle gönderilen dışkı örneklerinde saptanan % 13'lük pozitiflik oranı, gastrointesitinal yakınması olan çocuklarda RV'ların gözardı edilmemesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. Albert, M.J.: Rotavirus and immunobiologic failures. *J.Infect Dis*: 152:1354, 1985.
2. Bishop, R.: Viral gastroenteritis, *Infectious diseases and medical microbiology*. 2nd edtion, (Ed: Braude, A.I., Davis, C.E., Fierer, J.), Philadelphia, WB Saunders Company, 1986, 957.

- 3- Christensen, M.L., Howard, C.: Viruses causing gastroenteritis. Manuel of Clinical Microbiology Fifth Edition (Ed: Balows. A., Hausler Jr.W.S., H.Jr. Herrmann K.L., Isenberg H.D., Shadomy, H.S.) Washington, American Society for Microbiology. 1991, 950-958.
- 4- Julkunen. I., Savolainen, J., Hautanen, A., Hovi, T.: Detection of Rotavirus in fecal specimens by enzyme immunoassay, latex agglutination and electron microscopy, Scand J Infect Dis. 17: 245-249, 1985.
- 5- Kapikian, A.Z., Greenberg, H.B., Wyatt, R.G., Kalica, A.R., Kim, H.W., Brandt, C.D., Rodriguez, W.J., Parrott, R.H., Chanock, R.M.: Viral gastroenteritis, viral infections of humans, Second edition, Ed: Evans As), New York and London, Plenum medical book company, 1983, 283.
- 6- Ketchum, P.A: Microbiology, New York and Toronto, John Wiley and Sons, 1984, 430.
- 7- Stanley, N.F.: Reoviridae pathogenic for man, infectious diseases and medical microbiology. 2 nd edition (Eds: Braude, A.I., Davis, C.E., Fierer, J.), Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1986, 545.
- 8- Unat, E.K.: Tıp bakteriyolojisi ve virolojisi, ikinci baskı, İstanbul, Dergah Tıp Yayınları, 1987, 1102.
- 9- Kocabeyoğlu, Ö., Emekdaş, G., Yücel, N., Kerse, M.: Rotavirüs İfat antijenlerinin MDBK hücre kültürlerinde üretilmesi ve 0-20 yaş grubunda Rotavirus IgG antikorlarının araştırılması. Türk Mikrobiyol.Cem. Derg. 20 (1-2): 64-71, 1990.
- 10- Gerna, G., Passarani, N., Unhicomb, L.E., Parea, M., Sarasini, A., Battaglia, M., Bishop, R.F.: Solid-phase immun electron microscopy and enzyme linked immunosorbent assay for typing of human Rotavirus strains by using polyclonal and monoclonal antibodies: A comparative study. J Infect Dis. 159: 335, 1989.
- 11- Serter, : Klinik viroloji, Bornova/İzmir. Ege Üniversitesi Basımevi, 1986, 429.
- 12- Brussow, H., Werchall, H., Lerner, L., Mictens, C., Liedtke, W., Sidoti, J., Sotek, J.: Seroconversion patterns to four human Rotavirus serotypes in hospitalized infants with acute Rotavirus gastroenteritis, J Infect Dis 158: 588, 1988.
- 13- Ringenbergs, M., Albert, M.J., Davidson, G.P., Goldsworthy, W., Haslam, R.: Serotype-specific antibodies to Rotavirus in human colostrum and breast milk and maternal and cord blood. J Infect Dis. 158: 477, 1988.
- 14- Rubin, S.J.: Gastroenteritis viruses, clinical and pathogenic microbiology, (Ed: Howard, B.J.), Toronto, The C.V. Mosby Company, 1987, 829-833.
- 15- Morinet, F., Ferchal, F., Colimon, R., Perol, Y.: Comparison of six methods for detecting human Rotavirus in stools, Eur J Clin Microbiol. 136-140, 1984.

- 16- Holmes, I.H.: Reoviridae: The Rotaviruses. Laboratory diagnosis of infectious diseases principles and practice, Vol.II (Ed: Lenntte E.H., Halonen, P., Murphy F.A) Springen—Verlag New York Inc. 1988. 384—413.
- 17- Snodgrass, D.R., Fitzgerald, T., Campbell, I., Scott, F.M.M., Browning, G.F., Miller, D.L., Herring, A.J., Greenberg. H.B.: Rotavirus serotypes 6 and 10 predominate in cattle, J Clin Microbiol, Vol 28 No: 3 504—507, 1990.
- 18- Burke, V., Gracey, M., Masters, P.: Rotavirus in children. J.Infect Dis 152: 646 1985.
- 19- Bartlett III, A.V., Reves, R.R., Pickering, L.K.: Rotavirus in infant toddler day care centers: Epidemiology relevant to disease control strategies. J Pediatr 113: 435, 1988.
- 20- Kapikian, A.Z., Flores, J., Hoshino, Y., Midthun, K., Gorziglia, M., Green, K.Y., Chanock, R.M., Potash, L., Sears, S.D., Clements, M.L., Halsey, N.A., Black, R.E., Perez—Schael, I.: Prospects for development of a Rotavirus vaccine against Rotavirus diarrhea in infants and young children, Rev Infect Dis. 11: 539, 1989.
- 21- Uhnoo, I., Wandell, G., Svensson, L., Olding—Stenkvis, E., Ekwall, E., Mölby, R.: Aetiology and epidemiology of acute gastroenteritis in Swedish children, J Infection. 13: 73—89, 1986.
- 22- Vesikari, T., Maki, M., Sarkkinen, H.K., Arstila, P.P., Halonen, P.E.: Rotavirus, Adenovirus and non—viral enteropathogens in diarrhoea Archives of Disease in Chidhood. 56: 264—270, 1981.
- 23- Cevenini, R., Rumpianesi, F., Mazzaracchio, R., Donati, M., Falcier, E., Lazzarit, R.: Evaluation of a new latex agglutination test for detecting human Rotavirus in faeces, J.Infect, 7: 130—133, 1983.
- 24- Tunçman, S., Medeni, Z., Karasalihaoğlu, S.: 0—2 yaş arasındaki gastroenteritli çocuklarda Rotavirus araştırması, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 4 (2—3): 147, 1987.
- 25- Mete, Z., Yenen, O.Ş.: Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Çocuk Polikliniğine sürgün yakınması ile başvuran çocuklarda Rotavirus araştırılması. Enfeksiyon Derg. 3: 231, 1989.
- 26- Gün, H., Kocabeyoğlu, Ö., Yılmaz E., Güngör, S., Emekdaş, G.: Yenidoğanlarda ve çocuklarda ait gaitalarda Elisa yöntemiyle Rotavirus araştırılması, Türk Hij.Biyol.Derg. 45: 187, 1988.
- 27- Kocabeyoğlu, Ö., Yücel, N., Emekdaş, G., Koşan, E., Öztürkeri, H.: Rotavirus antikorları araştırılmasında Elisa yönteminin uygulanması ve 1—22 yaş grubunda Rotavirus antikorları dağılımı. Türk Mikrobiyoloji Cemiyetinin 27 Mart 1991 tarihinde Gata Haydarpaşa Eğt.Hast.de yapılan aylık toplantısında sunulan bildiri (Yayınlanmadı).

VIRKONUN BAZI VIRUSLAR ÜZERİNE VIRUSİDAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI *

Ömer KOCABEYOĞLU**
Mustafa KANMAZ ***

Zafer YAZICI ***

Erdoğan KOŞAN****
Suzan ADIN *****

ÖZET

Bu çalışmada virkonun bazı viruslar üzerine önerilen konsantrasyonlarda virusidal etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada virkonun vero hücreleri üzerine toksik olmayan maksimal konsantrasyonu araştırılmış ve bu konsantrasyon 1:3200 olarak bulunmuştur. İkinci aşamada ise dezenfektanın Herpes simpleks virus tip-1 (HSV-1), Poliovirus tip-1 (PV1), Coxsackie B virus tip-1 (CBV-1), ve Parainfluenza virus tip-1 (PIV-1) üzerine virusidal etkisi araştırılmıştır. Virkon PV-1, CBV-1, PIV-1 üzerine önerilen konsantrasyonlarda virusidal etkili bulunurken, HSV-1 üzerine önerilen konsantrasyonda virusidal etkisi saptanamamıştır.

INVESTIGATION OF VIRUCIDAL EFFECT OF VIRKON ON SOME VIRUSES

SUMMARY

In this study, investigation of virucidal effect of virkon on some viruses was aimed. The study was performed in two stages. First, Non-toxic concentration of virkon on vero cells was determined and was found at 1:3200

-
- * 8.Türkiye Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresinde tebliğ edilmiştir. 22-23-Mayıs-1993 Belek/ANTALYA
- ** Doç.Dr., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv.Şefi 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE
- *** Dr., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv., 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE
- **** Yrd.Doç., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv., 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE
- ***** Bio., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv. 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE

and further dilution. In the second stage, virucidal effect of virkon was investigated on Herpes simplex virus type-1 (HSV-1), Poliovirus type-1 (PV-1), Coxsackie B virus type-1 (CBV-1) and Parainfluenza virus type-1 (PIV-1). Virkon showed virucidal activity at proposed concentration for PV-1, CBV-1, PI-1, but no virucidal activity was detected at proposed concentration for HSV-1.

GİRİŞ

Günümüzde hastanelerde ve laboratuvarlarda oluşan enfeksiyonların önlenmesinde sterilizasyon ve dezenfeksiyonun ne kadar önemli olduğu bilinmektedir (1-3). Viral ve bakteriyel etkenlere bağlı enfeksiyonlar, gerek laboratuvar çalışanları gerekse hastane personeli için önemli bir tehdit oluşturmaktadır (4). Farklı virusların dezenfektanlara dirençlilik oranlarında farklılıklar bulunmakta ve son yıllarda üretilen modern dezenfektanlar bir çok virüsü süratli bir şekilde inaktive etmektedir (5). Zarlı viruslar, zarsız olanlara göre antiviral maddelere daha duyarlıdır (5, 6).

Hastane ve laboratuvar enfeksiyonlarının büyük önem kazandığı günümüzde bir çok ticari firma yeni dezenfektanları kullanıma sunmaktadır. Bu çalışma, son yıllarda hastaneler ve laboratuvarlarda kullanılan "Virkon" isimli dezenfektanın vero hücreleri için toksik olmayan maksimal konsantrasyonunun saptanması ve Herpes simplex virus tip-1 (HSV-1) Poliovirus tip-1 (PV-1) Coxsackie B virus tip-1 (CBV-1) ve Parainfluenza virus tip-1 (PIV-1) üzerine önerilen konsantrasyonlarda inaktive edici etkinliğinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

VİRUS: Virkonun virus grupları üzerine önerilen konsantrasyonlarda etkisini araştırmak amacıyla, HSV-1, PV-1, CBV-1, PIV-1 içeren dört tür virus kullanılmıştır. Bu viruslar, vero hücre kültürleri ile monolayer olarak kaplanmış 250 ml. lik flasklarda (Grainer 658170) üretilmiş ve stok virus titresi Frey ve Liessin (7), bildirdiği yöntemle saptandıktan sonra -40 C'lik derin dondurucuda saklanmıştır.

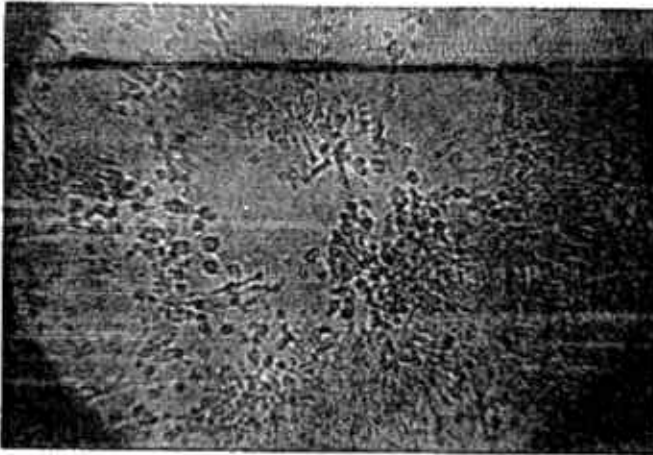
VİRKONUN VERO HÜCRE KÜLTÜRLERİNE TOKSİK ETKİ YAPMAYAN MAKSİMAL KONSANTRASYONUNUN SAPTANMASI: Virkonun kullanma tarifine uygun olarak Eagle MEM ile 1/25 oranında sulandırılarak stok solusyonu hazırlanmış ve 96 kuyucuklu mikroyeytin (Grainer 655180) ilk dört kuyucuğana 0.1 er ml bu sulandırmadan konulmuştur. Altta kalan kuyucuklara 0.05 er ml Eagle MEM konarak, çok kanallı pipet yardımıyla ilk dört kuyucuktan 0.05 er ml alınarak ikinci dört kuyucuğa aktarılmış ve bu işlem son sulandırma basamağına kadar devam ettirilmiştir. Böylece dezenfektanın 1/25-1/6400 arası iki katlı seri dilusyonları hazırlanmıştır. Daha sonra mikroyeytteki sulandırmaların tamamının

üzerine 0.05 er ml vero hücre kültürü (300.000 hücre/ml) ilave edilmiştir. Mikrop-
leytler 37 C'lik etüve konulmuş invert mikroskopla her gün kontrol edilerek dör-
düncü gün sonunda sonuçlar değerlendirilmiştir.

**VİRKON'UN HSV-1, PV-1 CBV-1 PIV-1 ÜZERİNE VİRUSİDAL ETKİ-
SİNİN ARAŞTIRILMASI:** 1/100 – 1/1600 arasındaki virkon solüsyonları üzeri-
ne yukardaki viruslardan 100 DKID 50/0.05 ml. ilave edilerek 37 C'de bir saat
bekletilmiştir. Bu süre sonunda dezenfektan-virus karışımı virkonun vero hü-
releri için toksik olmayan konsantrasyonuna (1/3200) getirilmiştir. kontrol kuyu-
cuklarına 1/3200 oranında sulandırılmış virkon solusyonundan 0.05 ml. konul-
muştur. Bu işlemlerden sonra mikropleytin tüm kuyucukları üzerine 0.05 ml.
vero hücre süspansiyonundan (300.000 hücre/ml) ilave edilerek 37 C'lik etüvde
inkübasyona bırakılmıştır. Pleytler hergün invert mikroskop ile CPE yönünden
kontrol edilmiş ve beşinci gün sonunda sonuçlar değerlendirilmiştir.

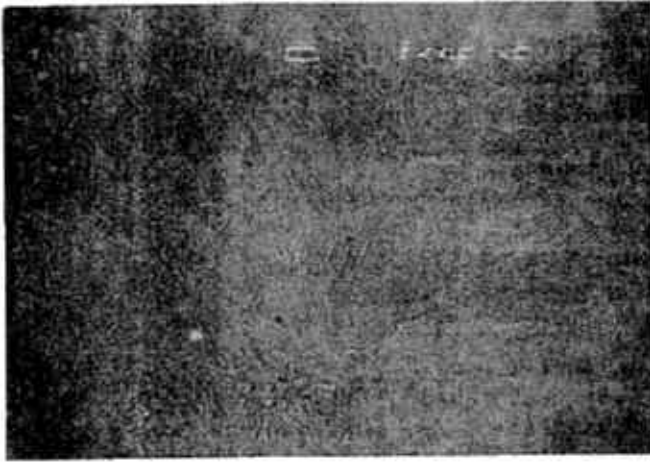
BULGULAR

Çalışmada kullanılan viruslardan CBV-1'in Vero hücre kültüründeki CPE'si
Resim 1'de ve aynı virusun virkon ile işlem gördükten sonra inaktivasyonuna bağ-
lı CPE'nin önlenmesi Resim 2'de görülmektedir.



Resim-1: CBV-1 in vero hücre kültüründe CPE'si

Virkonun vero hücre kültürlerinde yapılan toksite testinde hücre için toksik
olmayan maksimal konsantrasyonu 1/3200 olarak bulunmuştur.



Resim—2: Virkon ile işlem görmüş CBV—1'in inaktivasyonuna bağlı CPE'nin önlenmesi

Dezenfektanın virüsidal etkisi tüm sulandırma basamaklarını içerecek şekilde değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo—1'de gösterilmiştir.

TABLO—1: Virkon'un Önerilen Konsantrasyonlar ve Değişik Dilüsyonlardaki Virüsidal Etkisi

VİRUS GRUPLARI	VİRKONUN DİLÜSYONLARI VE CPE					
	1:200	1:280	1:600	1:800	1:1600	1:3200
HSV-1	+	+	+(*)	+	+	+
PV-1	-(*)	+	+	+	+	+
CBV-1	-(*)	+	+	+	+	+
PIV-1	-	-(*)	+	+	+	+

*Virkon'un kullanma prospektüsünde önerilen konsantrasyonlar.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Literatürlerde, laboratuvar çalışanlarında bakteriyel, viral, fungal ve paraziter kökenli laboratuvar enfeksiyonlarının 6000 kadar olduğu bildirilmektedir.

Bu olguların % 49.1 bakteriyel, % 31.6'sı ise viral orijindir. Ölüm oranları ise virus enfeksiyonları için % 7.3, bakteriyel enfeksiyonlar için % 4 olarak bildirilmiştir (8). Bu oranlar hastane ve laboratuvar enfeksiyonlarının önemini göstermektedir. Laboratuvar ve hastane enfeksiyonlarından korunmada çeşitli faktörlerin yanı sıra özellikle, sterilizasyon ve dezenfeksiyon önemli bir yer tutmaktadır (2, 5, 9, 10). Son yıllarda kullanım sahasına giren virkon isimli dezenfektanın 17 virus ailesine karşı etkili bir virusidal ajan olduğu bildirilmektedir.

Bu araştırmada virkonun hücreler için toksik olmayan maksimal konsantrasyonu saptanarak farklı 4 virus türü üzerinde virusidal etkisi araştırılmıştır. Mikro yöntemle hücreler için toksik olmayan maksimal konsantrasyonu 1/3200 olarak saptanan dezenfektanın daha yukarı konsantrasyonlarda hücreler için toksik olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan viruslar için önerilen etkin konsantrasyonların farklı olması ve bu konsantrasyonların kullanılan vero hücre kültürüne toksik etkisi nedeniyle virus-virkon karışımları belirtilen sürenin 3 katı kadar oda sıcaklığında bekletildikten sonra virkon-virus karışımındaki virkon konsantrasyonu hücre için toksik olmayan sulandırılma getirilerek kullanılmıştır.

Yapılan bu çalışma ile dezenfektanın özellikle PV-1, CBV-1 ve PIV-1 üzerine önerilen konsantrasyonlarda etkili olduğu doğrulanırken, HSV-1 için önerilen konsantrasyonların 3 katı daha yüksek konsantrasyonlarda da etkisiz olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, virkonun özellikle hastane ve laboratuvar dezenfeksiyonlarında belirtilen RNA virus gruplarına karşı etkili bir virusidal ajan olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Akman, M., Gülmezoğlu, E.: Tıbbi Mikrobiyoloji 2.Baskı H.Ü. yayınları 1976, 186-187.
- 2- Bilgehan, H.: Klinik mikrobiyolojide tanı. Barış yayınevi 1.Baskı 1992, 42-49.
- 3- Çetin, E.T.: Hastane enfeksiyonlarının önemi 1.Türk Hastane enfeksiyonu Kongre Kitabı, 1, 1992.
- 4- Bozkaya, E.: Nozokomiyal Viral Enfeksiyonlar 1.Türk Hastane Enfeksiyonu Kongre Kitabı, 42-47, 1992.
- 5- Fenner, F., Bachmann, A.P., Murphy, A.F., Studert, J.M, White, O.D.: Veterinary Virology, 1987, 50-53.
- 6- Lennette, H.E.: Laboratory diagnosis of viral infections Marcel Decker Inc. N.York and Basel, 1985, 13-17.
- 7- Frey, H.J., Liess, B.: Vermehrungskinetik und vermendbarkeit eines stark zytopathogenen virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der mikrotiter methode. Zentralbl. Vet.Med. 18, 61-71, 1971.

- 8- Shalaby, A.M., Sanousi, A.A.: Diagnostic Virology A.Laboratory manual Cairo University, 1991, 4-6.
- 9- Anderson, J.J., Hadler, S.J., Labep, C. at al: Nosocomial viral infections. eds: Lennette, E.H., Halonen, P., Murphy, F.A. Laboratory Diagnosis of infectious Diseases Principles and practice Vol: 2, N.York. Springer Verlag, 1988, 12-30.
- 10- Lawrance, C.A., Block, S.S.: Disinfection, sterilization and Preservation. Lea and Febigir Phieledelphia, 1986, 63-70.

ACYCLOVİRİN HSV-1 ÜZERİNE MİNİMAL İNHİBİTÖR
KONSANTRASYONUNUN İN VİTRO OLARAK
ARAŞTIRILMASI *

Ömer KOCABEYOĞLU ** Zafer YAZICI *** Mustafa KANMAZ ***
Erdoğan KOŞAN **** Hüsnü ALTUNAY ***** Suzan ADIN *****
E.Tülinay DURGUN *****

ÖZET

Bu çalışmada acyclovirin HSV-1 üremesini inhibe eden minimal konsantrasyonu vero hücrelerinde araştırılmıştır. Çalışma iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada acyclovirin vero hücre kültürü için toksik olmayan maksimal konsantrasyonu araştırılmış ve 39 mcg/ml olarak bulunmuştur.

İkinci aşamada ise acyclovirin vero hücre kültüründe herpes simplex virus tip 1 (HSV-1) için minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) araştırılmış ve 0.15 mcg/ml olarak bulunmuştur.

IN VITRO INVESTIGATION OF MINIMAL INHIBITOR
CONCENTRATION OF ACYCLOVIR ON HERPES
SIMPLEX VIRUS TYPE 1

SUMMARY

In this study, Minimal Inhibitor Concentration (MIC) of acyclovir has been investigated on Herpes Simplex virus type 1 (HSV-1) by using vero

-
- * 8.Türkiye Antibiyotik ve Kemoteropi (ANKEM) Kongresinde tebliğ edilmiştir. 22-28-Mayıs 1993, Belek/ANTALYA
- ** Doç.Dr., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv. Şefi, 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE
- *** Dr., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv. 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE
- **** Yrd.Doç., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast. Mik. ve Kl.Mik.Srv., 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE
- ***** Dr., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Enf.Hast. ve Kl.Mik.Srv., 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE
- ***** Bio., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mik. ve Kl.Mik.Srv., 81327, İSTANBUL/TÜRKİYE

cells. The study was performed in two stages. In first stage, non-toxic maximal concentration of acyclovir was determined on vero cells. Acyclovir were found non toxic at 39 mcg/ml or lower concentration. In the second stage, MIC of acyclovir for HSV-1 was investigated. In conclusion, MIC of acyclovir on HSV-1 has been found as 0.15 mcg/ml.

GİRİŞ

HSV-1, Herpesvirus familyasında yer almakta, çift iplikçikli DNA içermekte ve 162 kapsomeren oluşan bir nükleokapsid taşımaktadır (1-3). Virus deneme hayvanlarında in vivo, hücre kültürlerinde in vitro olarak üretilmektedir (2, 4, 5). HSV-1 dayanıksız bir virus olup, çevre şartlarından kısa sürede etkilenmektedir (5).

HSV-1 enfeksiyonlarından herpetik keratitiste geçmişte IUDr ile başlayan antiviral tedavi günümüzde acyclovir (9-2-hydroxyethomethyl) ve vidarabine (adenine arabinoside; 9-B arabinofuronosyladenine) ile önemli bir mesafe katetmiştir (6, 7). Bu iki önemli preparattan acyclovir, oral ve genital herpes enfeksiyonlarında mukokutanöz lezyonlarda ve ensefalitlerde, viderabine ise keratit, herpes labialis ve ensefalitis tedavisinde sık olarak kullanılmaktadır (2, 6). Ancak bu preparatlar HSV-1 enfeksiyonları tedavisine kesin bir çözüm getirmemektedir. Preparatların kullanımına ara verilmesi ile enfeksiyon daha hafif seyirli olmakla beraber, eski haline gelmektedir (2, 8).

Bu çalışmada HSV-1 enfeksiyonları tedavisinde kullanılan acyclovirin hücre kültürlerine toksik olmayan maksimal konsantrasyonu ve HSV-1 üzerine etkili olan minimal inhibitör konsantrasyonu araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

VİRUS: Bu çalışmada herpes virus enfeksiyonu yönünden şüpheli ve uçuk lezyonları olan bir hastadan alınan vezikül sıvısından izole edilen HSV-1 suşu kullanılmıştır. İzolatın HSV-1 antiserumu (N.J.Research Reagent No: 346-501-558, USA) ile nötralizasyon testine tabi tutularak HSV-1 olduğu doğrulanmıştır.

HÜCRE KÜLTÜRÜ: HSV-1'in üretilmesi amacı ile vero hücre kültürü kullanılmıştır. Hücre kültürü için % 10 inaktif daha serumu içeren Eagle MEM (Seromed, biochrome KG) ve 250 ml hacimli flasklar (Grainer 658170) kullanılmıştır. Muhtemel bir kontaminasyonu önlemek amacı ile hücre üretme vasatı içine 100 U/ml penisillin G, 100 mcg/ml streptomisin ve 250 U/ml mikostatin ilave edilmiştir.

VİRUSUN ÜRETİLMESİ: Monolayer oluşan hücre kültürünün vasatı dökülüp, stok virustan 1 ml ilave edilmiş, 37 C'de 60 dk virusun hücrelere adsorbe olması için bekletilmiştir. Hücre kültürü üzerine % 1 fetal dana serumlu (Seromed, bioch-

rome KG) Eagle MEM hücre üretme besiyeri konularak, 37 C'lik etüvde inkubasyona bırakılmış ve her gün doku kültürü mikroskobu ile sitopatik etki (CPE) yönünden kontrol edilmiştir. % 80–100 oranında CPE oluşan hücre kültürleri –40 C'lik derin dondurucuda 3 defa ard arda dondurulup çözüldükten sonra, 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant antijen olarak kullanılıncaya kadar –40 C'de saklanmıştır.

VİRUS ENFEKSİYÖZİTE GÜCÜNÜN SAPTANMASI: Vero hücre kültürlerinde üretilen virusun enfeksiyözite gücü, Frey ve Liess'in (9), bildirdiği mikrotitrasyon yöntemi ile saptanmıştır.

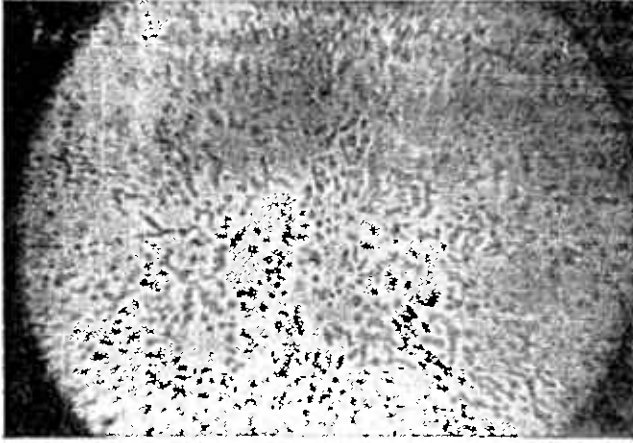
ACYCLOVİRİN HÜCRE KÜLTÜRÜ İÇİN TOKSİK OLMAYAN MAKSİMAL KONSANTRASYONUNUN SAPTANMASI: Bu amaçla acyclovir 1/25 (10 mg/ml) oranında Eagle MEM ile sulandırılmıştır. Mikropleyitin ilk dört çukuruna 0.1'er ml bu sulandırmadan, diğer çukurlara ise 0.05 ml Eagle MEM konmuştur. Çok kanallı pipetle ilk dört çukurdan ikinci dört çukura 0.05 ml aktarılmış, bu işleme son dört çukura kadar devam edilmiştir. Böylece acyclovirin 1/25 –1/6400 arası dilüsyonları hazırlanmıştır. Daha sonra tüm sulandırma basamakları üzerine hücre süspansiyonundan (300.000 hücre/ml) 0.05 ml ilave edilmiş ve 37 C'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Her gün invert mikroskop ile CPE yönünden kontrol edilmiştir.

ACYCLOVİRİN HSV-1 ÜZERİNE MİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYONUNUN (MIC) ARAŞTIRILMASI: Eagle MEM içinde acyclovirin hücre için toksik olmayan konsantrasyonundan başlamak üzere mikropleyterde 12 seri dilüsyonu yapılmıştır. Daha sonra tüm bu dilüsyonlar üzerine 100 DKID 50 HSV-1 ilave edilerek, 37 C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüm çukurlar üzerine % 10 fetal serumlu Eagle MEM içerisindeki vero hücre süspansiyonundan 0.05 ml ilave edilmiş (300.000 hücre/ml) ve 37 C'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Hücreler her gün invert mikroskop ile CPE yönünden kontrol edilmiştir.

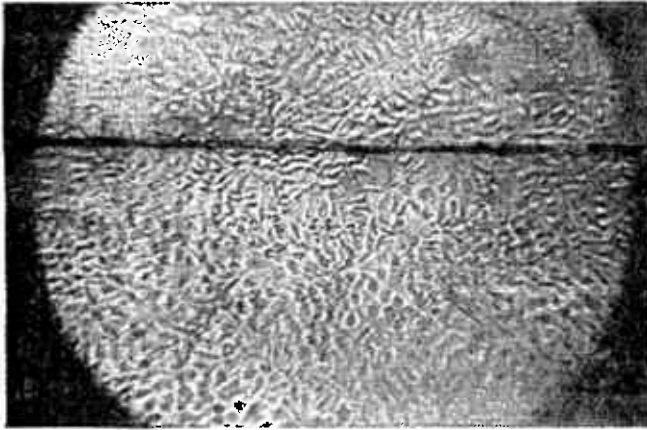
BULGULAR

Acyclovirin hücre için toksik olmayan maksimal konsantrasyonu mikronötralizasyon testi ile 39 mcg/ml olarak saptanmıştır. Kontrol amacıyla vero hücre kültürlerine inoküle edilen HSV-1'in 72 saat içinde hücre kültüründe % 80–100 oranında CPE oluşturduğu gözlenmiştir.

Stok HSV-1'in enfeksiyözite gücü mikrotitrasyon yöntemi ile 100.000 DKID 50/0.1 ml olarak bulunmuş ve virus 100 DKID 50/0.05 ml olarak kullanılmıştır. HSV-1'in vero hücre kültüründeki CPE'si Resim 1'de acyclovir ile işlem görmüş HSV-1'in inaktivasyonu sonucu CPE'nin önlenmesi Resim 2'de görülmektedir.



RESİM-1: HSV-1'in vero hücre kültüründeki CPE'si



RESİM-2: Acyclovir ile işlem görmüş HSV-1'in inaktivasyonu sonucu CPE' nin önlenmesi

Çalışmada acyclovirin HSV-1 üzerindeki minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) 0.15 mcg/ml olarak bulunmuştur. Acyclovirin vero hücreleri için toksik olmayan maksimal konsantrasyonunun HSV-1 için saptanan MIC değerinden oldukça yüksek olduğu saptanmıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde viral nedenli enfeksiyonların tedavisi ve bu enfeksiyonlara karşı etkili kemoterapötik preparatların geliştirilmesi için büyük çabalar sarfedilmektedir (2). Viral enfeksiyonlara karşı antiviral preparatların geliştirilmesine yönelik çalışmalarda HSV-1 ve HSV-2'ye karşı geliştirilen çeşitli antiviral preparatlar en iyi örnekleri oluşturmaktadır (2). HSV-1 enfeksiyonları tedavisinde günümüzde acyclovir ve vidarabine sıklıkla kullanılmaktadır.

Gerek acyclovir, gerekse vidarabine, virusun çoğalma siklusunda görev alan DNA polimeraz enzimi üzerine inhibitör etki yaparak virusun çoğalmasını engellemektedir (2, 10). İn vivo olarak yapılan araştırmalarda her iki preparatın kullanımına ara verildiğinde virusun tekrar aktif hale geçtiği ve enfeksiyon oluşturduğu bildirilmektedir (2). Çok uzun süreli tedavilerde ise bu preparatlara dirençli viral mutantların meydana gelme riski bulunmaktadır.

Bu çalışmada acyclovirin hücre için toksik olmayan maksimal konsantrasyonu 39 mcg/ml. olarak bulunmuş olup bu MIC değeri olan 0.15 mcg/ml. den 260 kat daha fazladır. Araştırmalarda acyclovirin HSV-1 üzerine etkili olan miktarların 0.1-1.8 mcg/ml arasında olduğu bildirilmektedir (6, 7). Crumpaier ve Ark. (11), vero hücre kültürü kullanarak plak redüksiyon testi ile acyclovirin HSV-1 için MIC değerini 0.15 +/- 0.09 mcg/ml olarak saptamışlardır.

Bu çalışmada elde edilen MIC değeri yukarıda bildirilen değerlere yakınlık göstermekte ve acyclovirin özellikle ilk dönemlerde HSV-1 üzerine oldukça etkili olduğu izlenimini vermektedir. Bulgularımız, acyclovirin HSV-1 üzerine düşük konsantrasyonlarda etkili bir antiviral ajan olduğunu doğrulamaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- AKAN, E.: Genel ve Özel Viroloji: II.Baskı; Desen Matbaası Ankara, 1989, 162-179.
- 2- DULBECCO, R., GINSBERG, S.H.: Herpesviruses: Microbiology, 4th Edition (Eds). DAVIS, D.B., DULBECCO, R., ELSEN, N.H., GINGSBERG, S.H.: Philadelphia, Lippocent Company, 1990, 929-936.
- 3- JAWETZ, E., MELNICK, L.J., ADELBERG, A.E.: Herpesvirus family. Review of Medical Microbiology 14 th edition, California, Lange Medical Publications, 1984, 484-494.
- 4- PAGONA, S.J., LEMON, M.S.: Herpesviruses: Medical Microbiology and Infectious Disease Philadelphia, W.B. Saunders Company: 1981, 541-550.
- 5- RAWLS, E.W.: Herpes simplex virus infections Type 1 and Type-2 Viruses: Laboratory Diagnosis of viral infections (Eds). LENNETTE, H.E.: New York and Basel. Marcel Decker Inc., 1985, 313-318.

- 6- LASKIN, L.O., DOUĞLAS, G.R.: Antiviral agents: A practical approach to infectious disease (3 th edition). Eds. REESE E.R, BETTS. F.R, Boston, Little Brown Company, 1991, 772-778.
- 7- LORIAN, V.: Drugs for herpesvirus infections: Antibiotics in Laboratory Medicine 2 th edition. Baltimore, Williams and Wilkins, 1986, 365-366.
- 8- KAHNON, J., WHITLEY, J.R.: Antibody response of the newborn after herpes simplex virus. J of Infect Dis No: 5, 158-160, 1988.
- 9- FREY, H.R., LIESS, B.: Vermehrungskinetik und vermend barkeit eines stark zytopathogenen VD-MD virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der mikrotiter methode. Zentralbl. Vet. Med. 18. 61-71, 1971.
- 10- KOCABEYOĞLU, Ö., YÜCEL, N., EMEKDAŞ, G.: HSV-1 antikorları araştırılmasında GATA'da üretilen ELISA kiti ile alınan sonuçlar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 21 (3-4), 343-353, 1981.
- 11- CRUMPAKLER, C.S., SCHNIPPER, L.E., ZAITA, J.A., LEVIN, M.J.: Growth inhibition by acycloguanosine of herpes viruses isolated from human infections. Antimicrob Agents Chemother 15, 642-645, 1979.

TÜRK SİLAHLI KUVVETLERİNDE HIV SEROEPİDEMIYOLOJİSİ

Aziz HACİBEKTAŞOĞLU*

Volkan ÖZGÜVEN**

Altuğ BARUT***

ÖZET

Türk Silahlı Kuvvetlerinde HIV enfeksiyonuna 1985—1993 yılları arasında 49 olguda rastlanılmıştır. Olguların tümü yurt dışında yaşayan ve askerlik hizmetini yapmak üzere Türkiye'ye gelen kişilerden oluşmaktaydı. Taranan 68.450 kişinin 49 anti-HIV seropozitiflik oranı ile HIV enfeksiyon prevalansı 100.000'de 71 olarak bulundu.

Anahtar Kelime: AIDS, Seroepidemioloji

HIV SEROEPIDEMIOLOGY In TURKISH MILITARY FORCES

SUMMARY

In Turkish Army Forces HIV Infection was detected in 49 cases. All the cases were living abroad and present for attending to perform their duty in the army. Antibodies against Human immunodeficiency virus (HIV) tested in 68.450 subjects and 49 were found to be positive. This implies that HIV infection has a prevalence 71 per 100.000 subjects.

Key Words: AIDS, Seroepidemiology.

* Doç.Dr.Infeksiyon Hastalıkları ve Kli.Mik.A.B.D. Başkanı

** Yard.Doç.Dr.Infeksiyon Hastalıkları ve Kli.Mik.A.B.D.

*** Dr.Infeksiyon Hastalıkları ve Kli.Mik.A.B.D.

GİRİŞ

HIV enfeksiyonunun prevalansı ülkemizde giderek artmakta ve bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de bir epidemi yaşanmaktadır. Dünya sağlık örgütüne 163 ülkeden HIV Enfeksiyonu ile ilgili resmi bildirim yapılmıştır (1). 1980 yılında bütün dünyada 100.000 olarak tahmin edilen HIV ile infekte kişi sayısı yaklaşık 10 yıl içinde 100—kat artarak 10 milyona ulaşmıştır (2, 3). Bu 10 milyon HIV ile infekte kişinin yaklaşık 6 milyonu Afrika'da, 3 milyonu Amerika ve Asya'da, 500.000'i ise Avrupa'da yaşamaktadır (3—5). GATA Enfeksiyon Hastalıkları Kliniğinde A.B.D. den askerlik hizmetini yapmak üzere gelen T.C. vatandaşı bir erkek olguda AIDS tanısı konulmuş ve bu olgu ülkemizde bildirilen ilk AIDS olgusu olarak kayıtlara geçmiştir. 1985 yılının Ekim ayında AIDS/HIV Enfeksiyonu bildirim zorunlu hastalıklar arasına alınmıştır. Ekim 1985 — Şubat 1993 yılları arasında T.C. Sağlık Bakanlığına bildirilmiş 259 AIDS/HIV enfeksiyonu olgusu vardır.

Ülkemiz için HIV Enfeksiyonu hala dış kaynaklı bir enfeksiyon olma özelliğini korumakla birlikte, yurt içinde çeşitli enfeksiyon kaynaklarından infekte olan ve yurt dışı ilişkisi olmayan T.C. vatandaşlarında da rastlanılmaktadır. Avrupa'da yaşayan Türk vatandaşlarının askerlik görevlerini yapmak için Türkiye'ye gelmeleri ve bedelli askerlik hizmetinden yararlanmaya başlamaları ile birlikte bu grupta 1987 yılından başlanarak Anti—HIV taraması yapılmaya başlanılmıştır. Bedelli askerlik dışında yurt dışında yaşayan ancak bedelli askerlik hizmeti için gerekli mali olanağı olmayan ve Türkiye'ye gelerek normal askerlik hizmeti (Bedelsiz) yapan, yurt dışında yaşayan Türk vatandaşlarının çeşitli nedenler ile yapılan Anti—HIV taramalarında pozitif sonuçlara rastlanılmaktadır. Sosyo—ekonomik ve kültürel seviyeleri yaşadıkları topluma oranla oldukça düşük olan bu popülasyonda HIV Enfeksiyonuna rastlanma oranı da yüksektir. Görüldüğü gibi yurt dışında yaşayan ve Türkiye'ye vatani hizmetini yapmak için gelen Türk vatandaşları HIV enfeksiyonu için önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Bu kaynak hepimiz için önemli bir sağlık sorunudur.

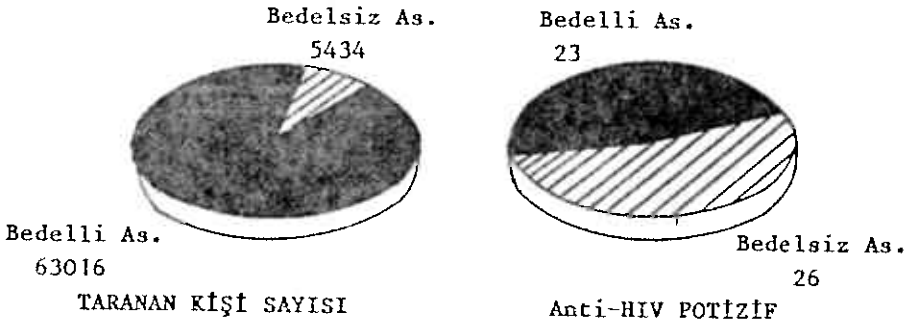
HIV SEROEPİDEMİOLOJİSİNİN ÖZELLİKLERİ

Anti—HIV seropozitif kişiler ülkemizde 1985 yılından beri çıkarılan özel kanunla takip edilmektedir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre bu güne kadar (Şubat 1993) 259 Anti—HIV pozitif kişi Sağlık Bakanlığı Bulaşıcı Hastalıklar dairesine bildirilmiştir. Bu olguların 91'inde AIDS saptanırken, 168 olgu asemptomatik taşıyıcı olarak kayıtlara geçmiştir. Benzer şekilde 1985 yılından beri T.S.K. özel sağlık yönetmeliği gereği Anti—HIV pozitif semptomatik veya asemptomatik olgular takip edilmektedir. Ayrıca 1987 yılından başlayarak bedelli askerlik çerçevesinde Türkiye'ye askerlik görevini yapmak için gelen yükümlüler Anti—HIV taramasına tabii tutulmaktadır. 1987 yılından başlayarak 3 aylık periodlar

halinde yapılan taramalarda 63.016 kişi taranmış ve bunların 23'ünde Anti-HIV pozitif bulunmuştur. 1989 yılından başlayarak bedelli askerlik ücretini ödeyemeyen 5434 Türk vatandaşı yükümlüler ise normal süresi içinde askerlik hizmetini yerine getirmek için başvuruda bulunmuştur. Bu kişilerin yapılan taramalarında ise 26 kişide Anti-HIV pozitif bulunmuştur (Şekil1).

1985 yılından başlayarak 1993 yılına kadar olan dönemde (Türk Silahlı Kuvvetleri (T.S.K.) da 49 kişide Anti-HIV pozitifliğine rastlanılmıştır. Bu olguların tümü yurt dışı kaynaklıdır. Sağlık Bakanlığına bildirilen 259 Anti-HIV pozitif olgunun % 18.9'u T.S.K. da saptanan kişilerden oluşmaktadır.

TARANAN OLGU SAYISI ve HIV SEROPOZİTİFLİĞİ



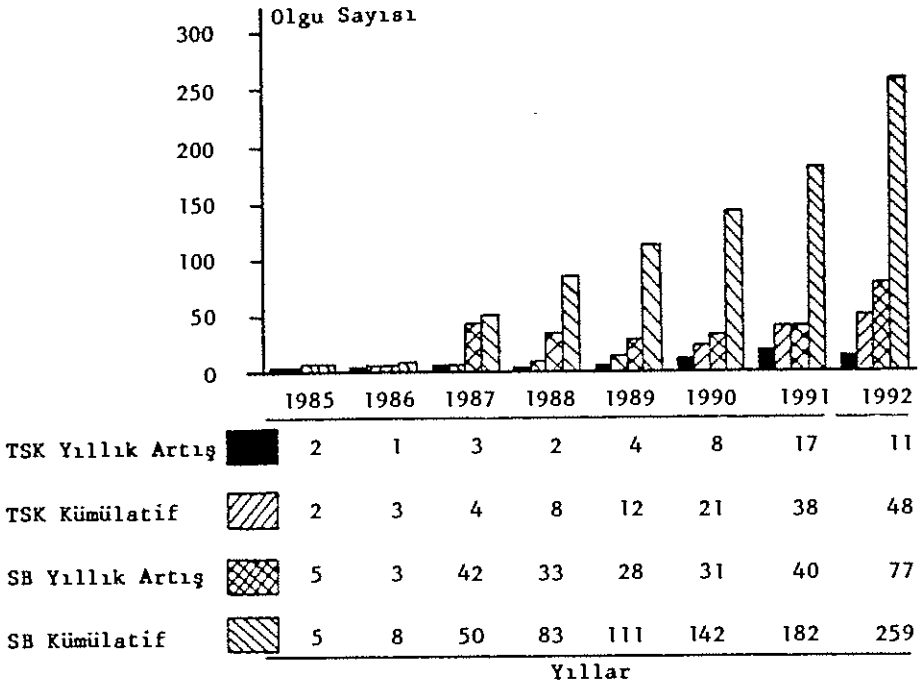
ŞEKİL-1: Taranan Kişi Sayısı ve Anti-HIV pozitiflik oranları

Şekil II'de Sağlık Bakanlığı ve T.S.K. de saptanan Anti-HIV pozitif olguların kümülatif sayı artışları ile yıllık artış miktarları yer almaktadır. Anti-HIV seropozitiflik oranı artış hızı 1987'den başlayarak ivme kazanmış olup 1990'lı yıllarda pik değerine ulaşmıştır.

T.S.K. da saptanan Anti-HIV pozitif 49 olgunun 6'sında semptomatik HIV enfeksiyonu saptanmış ve bunlardan ikisi AIDS'e bağlı komplikasyonlar ile kaybedilmiş olup 4'ü hala hayattadır. Söz konusu 4 kişiden yalnız bir tanesi Türkiye'de (Ankara) yaşamaktadır, diğer 3'ü yurt dışına geri dönmüştür.

Risk grupları açısından incelendiğinde 29 kişiye cinsel yolla enfeksiyonun bulaştığı gösterilmiştir. 7 kişide bulaşma yolu konusunda bilgi elde edilemezken, 12 kişide damar içi ilaç kullanımı, bir kişide transfüzyon HIV enfeksiyonunun bulaşma yolu olarak saptanmıştır. Cinsel yolla bulaşmanın saptandığı 29 kişide heteroseksüel temas ile bulaşma 18 kişide, homoseksüel temas ile bulaşma ise 9 kişide saptanmıştır.

AIDS ve Anti-HIV POZİTİF OLGULARI YILLARA GÖRE DAĞILIMI



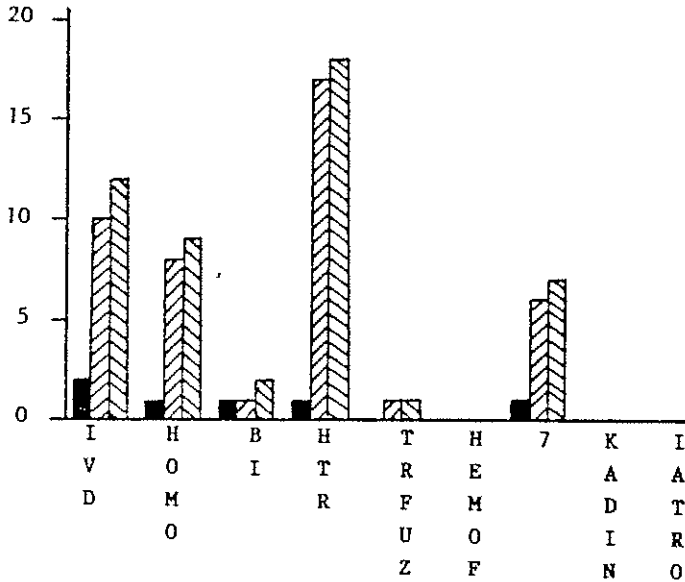
ŞEKİL-2: Sağlık Bakanlığı ve T.S.K da saptanan Seropozitif Olguların Yıllık Artış sayıları ve toplamları

Anti-HIV pozitif olguların risk grupları yönünden incelenmesi sonucunda heteroseksüel geçiş en büyük grubu oluşturmakta, bunu damar içi ilaç bağımlıları ve daha sonra da homoseksüel geçiş yolu oluşturmaktadır (Şekil III: T.S.K.da risk grupları).

Olgularımızın yaş dağılımları incelendiğinde olguların 26-35 yaşları arasında yer aldığını bulduk (Şekil IV).

Bu olguların yaşadıkları ülkelere göre Anti-HIV seropozitiflik oranının dağılımı incelendiğinde en yüksek oranın Hollanda'da yaşayan Türk vatandaşlarında olduğu görüldü (Şekil V).

RİSK GRUPLARININ DAĞILIMI

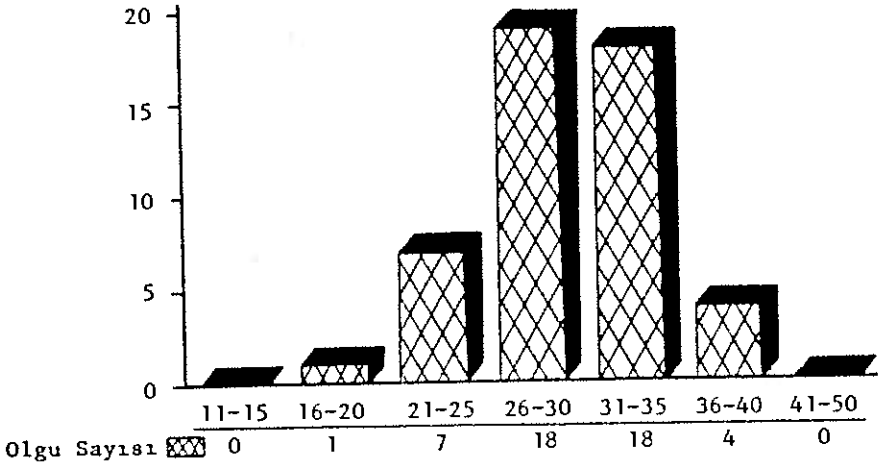


AIDS	■	2	1	1	1	0	0	1	0
HIV SEROPOZİTİF	▨	10	8	1	17	1	0	8	0
TOPLAM	▩	12	9	2	18	1	0	7	0

ŞEKİL-3: T.S.K'da Risk Gruplarının Dağılımı

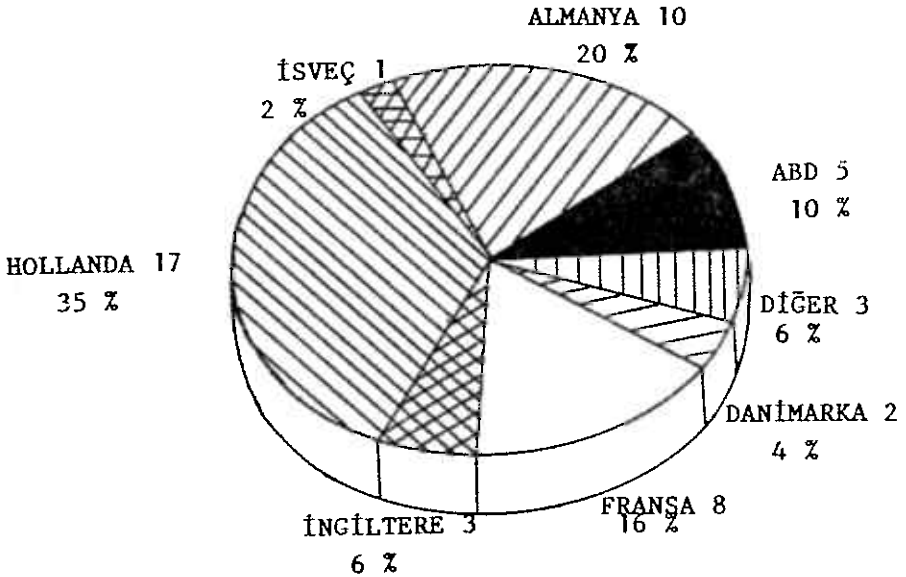
Bu bulgular ile T.S.K. de saptanan Anti-HIV pozitifliği Türkiye'de saptanarak Sağlık Bakanlığına bildirilen Anti-HIV pozitif olguların % 18.9'unu oluşturmaktadır. Taranan 68.451 kişinin 49'unda Anti-HIV pozitif bulunmuştur. Bu oran 100.000'de 71'e karşılık gelmektedir. Bedelli askerlik yapan kişilerin 23'ünde saptanan Anti-HIV pozitifliği ile oran 100.000'de 36, bedelli askerlik yapmak için gerekli parayı veremeyen ve sosyo-ekonomik koşulları iyi olmayan 5434 kişinin 26'sındaki Anti-HIV pozitifliği ile oran 100.000'de 480 dir.

HIV SEROPOZİTİFLERİN YAŞ DAĞILIMI



ŞEKİL-4: HIV Seropozitiflerin Yaş Dağılımları

HIV SEROPOZİTİF T.C. VATANDAŞLARININ YAŞADIKLARI ÜLKELER



ŞEKİL-5: HIV Seropozitiflerin Yaşadıkları Ülkeler

TARTIŞMA

Türkiye'deki HIV enfeksiyon prevalansının araştırılması, gerçek risk gruplarının gösterilmesi ve koruyucu hekimlik ile ilgili önlemlerin alınması ile halkın ve sağlık personelinin eğitilmesi gereklidir.

Saptadığımız HIV enfeksiyonlarında bulaşma yolu yaklaşık % 60 oranda cinsel temas ile olur. Sağlık Bakanlığı kayıtlarına göre bildirilen olgular arasında T.S.K. görülen dağılımla paralel şekilde heteroseksüel geçiş önemli bir yer tutmaktadır. Heteroseksüel geçişin bu denli yüksek olması HIV enfeksiyonunun bir homoseksüel hastalığı olmadığını açıkça göstermektedir (6, 7, 8, 9). Bütün dünyada heteroseksüel hastalığı olduğu konusunda birleşen HIV enfeksiyonunun homoseksüel geçişi Türkiye'de, bu tip ilişkilerin örf ve adetlerimize uygun olmaması nedeniyle daha çok heteroseksüel yol ile olmaktadır (10, 11). Damar içi ilaç kullanımı, bağımlı kişilerde HIV enfeksiyonunun ikinci sırada sık rastlanan bulaşma yolunu oluşturmaktadır. Özellikle sosyo-ekonomik şartların iyi olmadığı, yabancı ülkelerde yaşayan Türk vatandaşlarında ilaç bağımlılığına doğru bir itilme söz konusudur. Bu itilme yaşanan ortamdaki iletişimsizlik, dışlanma, davranış farklılıkları, etnik azınlık olma gibi pek çok faktörden etkilenmektedir (12).

Sosyo-ekonomik yapılanma bu enfeksiyonun yayılmasında önemli bir faktördür. Yurt dışında yaşayan kendisinin veya ailesinin belirli bir işi olan kişilerde HIV seroprevalans oranı düşüktür. Bu kişiler sonuçta bu enfeksiyonun kucağına daha güç itilmektedirler. Buna en iyi örnek bedelli askerlik hizmetini para ödeyerek yapan grup oluşturmaktadır. Bu bedelin verilmesi hem belli bir ekonomik güç hem de mevcut bir işin devamlılığı gibi sosyal yapılanmanın devamını gerektirmektedir. Bu grupta prevalansı 100.000'de 71'dir. Buna karşılık sosyo-ekonomik koşulların yetersiz olduğu kişilerde bu oran 100.000'de 480 bulunmuştur. Bu iki grubun prevalanslarındaki farklılık çarpıcı ve düşündürücü bir sonuçtur.

Türkiye'de halkın eğitilmesine yönelik çalışmalarda tanıtıcı broşür kullanımı, kitle haberleşme araçları ile korunma yöntemlerinin tanıtılması, okullarda bu konu ile ilgili eğitim verilmesi için henüz hazırlık aşamasında çalışmalar vardır. Gelişmiş ülkelerde halkın bu konuda bilgilendirilmesine yönelik çalışmalar önemli aşamalar kaydetmesine rağmen bu eğitim faaliyetleri yabancılarla tam olarak ulaşamamıştır (13, 14). Yurtdışında yaşayan ve lisan bilmediği için eğitim programlarının içine giremeyen Türk vatandaşları HIV enfeksiyonu /AIDS konusunda çok az bilgili olup korunamamaktadır. Yurtdışında özellikle homoseksüel dernekleri korunma yöntemlerini üyelerine öğretmek bu enfeksiyon hastalığının bu kişiler arasında yayılmasını önemli ölçüde geriletmişlerdir.

Yurt dışında yaşayan Türk vatandaşları AIDS eğitimi ve enfeksiyonun önlenmesi ile ilgili özel ihtiyaçları olan bir grup olarak kabul edilmelidir. Bu ihtiyaçlar yaşadıkları ülkenin nüfus çoğunluğu ile karşılaştırıldığında farklıdır, bu farklılıklar dil ve kültür farklarıdır. Ayrıca bu ülkelerde yaşayan Türk nüfusu içerisinde fark-

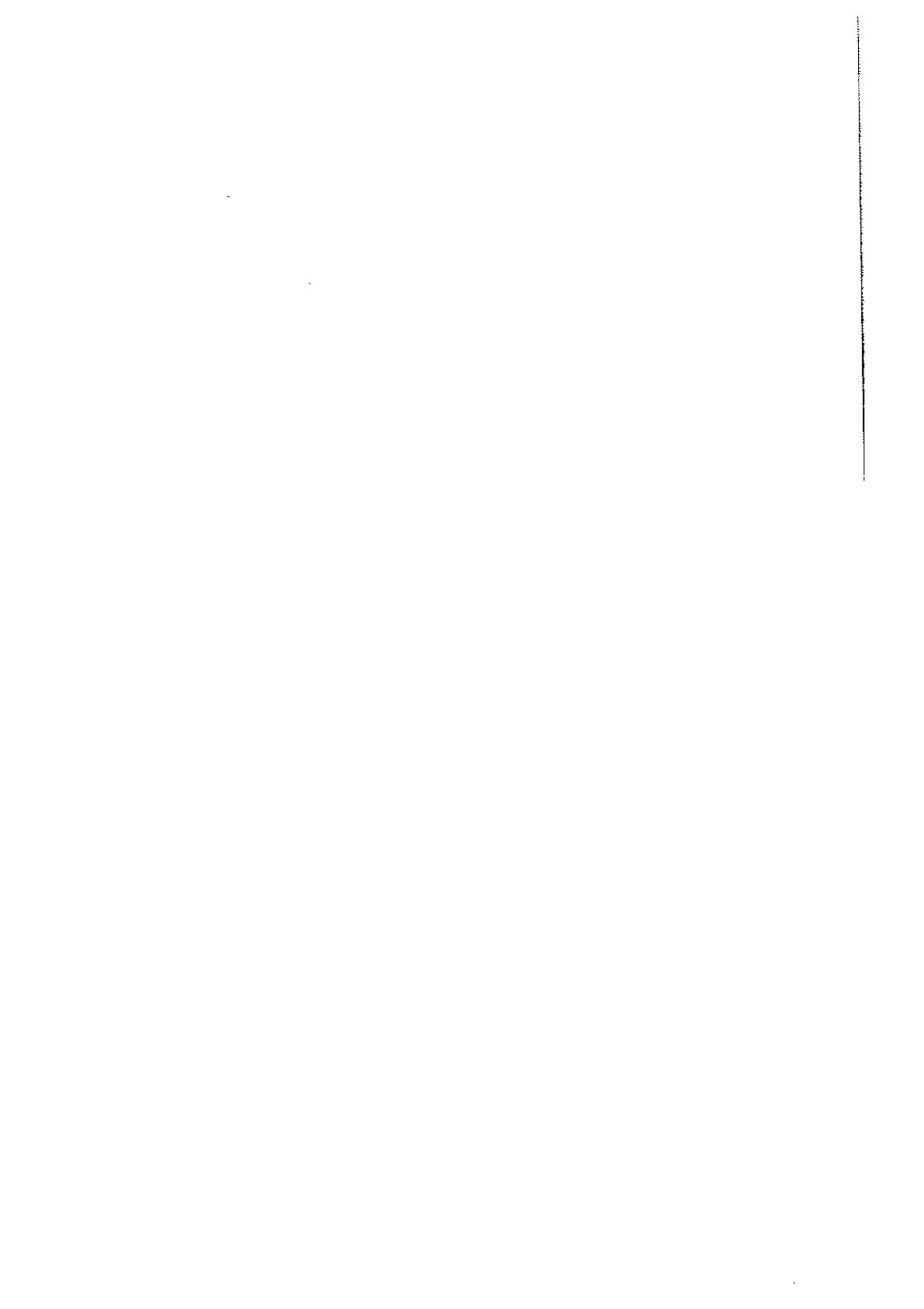
lı hedef grupları oluşturulmalıdır (11, 12). Bu hedef gruplar kadın-erkek, genç-erişkin, homoseksüel, damar içi uyuşturucu kullanan, alkolik gibi bölümlerde incelenmelidir (15-17).

Görüldüğü gibi T.S.K.'de saptanan bütün HIV enfeksiyonu olguları dış kaynaklı ve yalnız bir kısmı risk grubu içinde yer alan davranış şekilleri olan kişilerdir. Yalnız T.S.K.'de saptanan olgular değil aynı zamanda sağlık Bakanlığımıza bildirilen ve yurdumuzda saptanan olgular içinde enfeksiyonun en önemli kaynağı yurtdışıdır. Bu nedenle hem Türk toplumuna hem de yurt dışında yaşayan Türk vatandaşlarına bu konuda yeterince eğitim verilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1- Brettle RP,Lean CLS: The Natural History of HIV and AIDS in Woman, AIDS. s:1283-1292, 1991.
- 2- Gerting DM, Marion SA, Schechter MT: Estimating the Extent of Underreporting in AIDS Surveillance, AIDS. s:1157-1164, 1991.
- 3- Mann JM: AIDS-The Second Decade: A Global Perspective, J.Infect. Dis. 165(2): 245-250, 1992.
- 4- World Health Organization Global Statistics: Statistics from the World Health Organization and the Centers for Disease Control, AIDS. s:349-353, 1991.
- 5- Centers for Disease Control: Update: Acquired Immunodeficiency Syndrome-United States, 1981-1990, MMWR. 40:358-369, 1991.
- 6- Chin J,Lwanga SK: Estimation and Projection of Adult AIDS Cases: A Simple Epidemiologic Model, Bull. of WHD. 69 (4): 399-406, 1991.
- 7- Coman DN, Pomerantz RS, Wann ZF, Goldenbaum M,Brundage JF: Human Immunodeficiency Virus Infection Among Members of the Reverse Components of the US Army Prevalence, Incidence and Demographic Characteristics, J.Infect. Dis. 162: 827-836, 1990.
- 8- Biggar RJ: AIDS Incubation in 1891 HIV Seroconverters from Different Exposure Groups, AIDS. 4:1059-1066, 1990.
- 9- Baggaley JP, Fineberg HV: AIDS Prospects and Epidemiology in 1992, Bull.of WHO, 73 (1): 33-39,1993.
- 10- Hacibektaşoğlu, A.Pahsa, A.: HIV Seroepidemiology in Turkey. Medical Corps 5 (6): 137-143, 1990.
- 11- Satırlar N: Türkiye'de AIDS Epidemisinin Durumu, 1.nci Türkiye AIDS Kongresi, Kongre Kitabı, 4-5, İstanbul, 1993.
- 12- Duijhuizen RV, Çinibulak K, Demirkıran H: Avrupa'daki Türk Toplumlarında AIDS'in önlenmesi, 1.nci Türkiye AIDS Kongresi, Kongre Kitabı, 4-5, İstanbul, 1993.
- 13- Smith WA, Debus M: The Role of Qualitative Research in AIDS Prevention, in Acquired Immunodeficiency Syndrome-Prevention and Control, Ed.World Health Organization, 19-21, Ins. Macmillans, 1992.

- 14- Fuchs M: HIV and AIDS Epidemiology in 1992 Reported by Centers for Disease Control, MMR, 42:847—851, 1993.
- 15- Moynihan M: Adult Cases of HIV and AIDS and Surveillance in Developed Countries, Bull. of WHO, 72 (9): 300—306, 1992.
- 16- Schoepf EG: Guide to Planning Health Promotion for AIDS Prevention and Control, AIDS, 7:86—92, 1992.
- 17- Hyman CF, Sheatsly P: AIDS Education, Bull. of WHO, 73 (1): 33—39, 1993.



ESKİŞEHİR'DE ÇEŞİTLİ SAĞLIK KURULUŞLARININ
POLİKLİNİKLERİNDE DEZENFEKSİYON VEYA
STERİLİZASYON İŞLEMİ YAPILMIŞ
MALZEMELERİN MİKROBİYOLOJİK
İNCELENMESİ

Selma METİNTAŞ*

Tercan BOLATLI**

ÖZET

Çeşitli sağlık kuruluşlarının Polikliniklerine ait dezenfeksiyon veya sterilizasyon işlemi yapılmış alet ve gereçlerden 99 örnek alınıp mikrobiyolojik incelemesi yapıldı. Üç örnekte saprofit, 14 örnekte patojen bakteri olmak üzere toplam 17 örnekte (% 17.1) mikroorganizma izole edildi. Sağlık ocaklarında üreme sıklığı (% 21.05) hastanelerden (% 14.75) yüksek gibi görünmesine rağmen istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık gösterilemedi.

MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF EQUIPMENT WHICH
WAS STERILISED OR DISINFECTED BELONG TO THE
POLICLINICS OF VARIOUS HEALTH CENTERS IN
ESKİŞEHİR

SUMMARY

Ninety-nine microbiologic samples were taken from some sterile or disinfected medical equipment which was used in various health centers or hospitals and were examined microbiologically.

Microorganism was isolated on total 17 samples (17.1 %). Three of them had saprofitic and 14 had pathogenic. The isolate of microorganisms in the health centers (21.05 %) was high than the hospitals (14.75 %), but there was not a statistically significant difference among these.

* Yrd.Doç.Dr.Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğr.Üyesi

** Yrd.Doç.Dr.Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğr.Üyesi

GİRİŞ

Dezenfeksiyon cansız ortamdan patojen mikroorganizmaların sterilizasyon ise tüm mikroorganizmaların ortadan kaldırılması işlemidir (1, 2). Tanı yöntemlerinin uygulanması ve tedaviye yönelik işlemlerde başarı için sterilizasyon ve dezenfeksiyon temel noktadır (3).

Philipp Semmelweis 1847 yılında "Doktorlar ellerinizi yıkayınız" sözleriyle günümüz hekimliğinin tüm dallarında büyük özen gösterilmesi gereken asepsi ve antisepsinin başlatıcısı olmuştur. Hekimliğin temel ilkesi, Galenos'un koyduğu ifade ile "hastaya zarar vermemek"tir (4). Hastalara tanı, tedavi veya koruma amacıyla yapılan bazı uygulamalar istenmeyen patojenlerin vücuda sokulmasına ve enfeksiyöz olaylara neden olabilmektedir (5).

Çalışmamızda, steril ya da dezenfekte olması gereken malzemelerden örnek alıp mikrobiyolojik incelemesini yaparak sterilizasyon ve dezenfeksiyon işleminin çeşitli sağlık basamaklarının polikliniklerindeki durumunu araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmamızda, 5 kır tipi, 4 kent tipi sağlık ocağı ile Devlet ve Sosyal Sigortalar Hastaneleri ve Tıp Fakültesi Hastanelerinin polikliniklerinden toplam 99 örnek alınmıştır. Benzerlik oluşturabilmek için örnekler hastanelerin yalnız acil servisleri ile polikliniklerinden tesadüfi örnekleme ile seçilmiştir.

Çalışma kapsamına alınan araç ve gereçler Favero'nun yaptığı sınıflamada kritik (gazlı bez, dikiş seti, eldiven v.b.) veya yarı kritik grubu (abeslang, otoskop v.b.) arasına girmektedir (5).

Malzemelerden steril eküvyonla alınan sürüntü örneği Stuart-taşıyıcı besiyeri içerisinde en kısa zamanda-kırsal sağlık ocaklarında azami 2 saatte Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına ulaştırılarak kanlı, EMB ve Sabouraud besiyerlerine ekildi. 37 C'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra üreme saptanan plaklarda etkene yönelik identifikasyon işlemleri uygulandı.

BULGULAR

Çeşitli sağlık kuruluşlarından elde edilen 99 örneğin 15'inde (% 17.1) üreme olmuştur. Örneklerin üreme durumlarının alındıkları sağlık kuruluşlarına göre dağılışları Tablo I'de gösterilmiştir.

Kır ve şehir tipi Sağlık Ocakları arasında alınan örneklerde bakteri üreme sıklığı açısından fark bulunamadı ($t = 1.33 : p > 0.05$). Benzer ilişki hastaneler arasında da görüldü ($t = 0.70 : p > 0.05$).

Örneklerden izole edilen mikroorganizmaların dağılışları Tablo II'de izole edilen mikroorganizmaların örneklerin alındıkları yere göre dağılışı Tablo III'de gösterilmiştir.

TABLO-1: Üreme Olan Örneklerin Alındığı Sağlık Kuruluşlarına Göre Dağılımları

Örneğin Alındığı Yer	Alınan Örnek Sayısı	ÜREME OLAN ÖRNEK	
		Sayı	%
Kır tipi Sağlık Ocağı	21	6	28.6
Şehir tipi Sağlık Ocağı	17	2	11.8
Devlet ve Sosyal Sig.Hast.	40	5	12.5
Tıp Fakültesi Hast.	21	4	19.4
TOPLAM	99	17	17.1

TABLO-II: Alınan Örneklerden İzole Edilen Mikroorganizmalar

İzole Edilen Mikroorganizmalar	Sayı
E.coli	4
Koagülaz (-) Staphylococcus	4
Koagülaz (+) Staphylococcus	2
Klebsiella	3
B.subtilis	3
Alkaligenes	1
TOPLAM	17

TABLO-III: İzole Edilen Mikroorganizmaların Örneklerin Elde Edildiği Yere Göre Dağılımları

İzole Edilen Mikroorganizmalar	Örnek Alınan Yer		TOPLAM
	Sağlık Ocağı	Hastane	
E.coli	3	1	4
Koagülaz (-) Staphylococcus	2	2	4
Koagülaz (+) Staphylococcus	-	2	2
Klebsiella	1	2	3
B.subtilis	2	1	3
Alkaligenes	-	1	1
TOPLAM	8	9	17

Çeşitli sağlık kuruluşlarından aldığımız örneklerde izole ettiğimiz mikroorganizmaların kritik ya da yarı kritik malzemeden oluşlarına göre dağılımları Tablo IV'de verilmiştir.

TABLO—IV: İzole Edilen Mikroorganizmaların Aldıkları Malzemelerin Yarı Kritik Ya Da Kritik Oluşlarına Göre Dağılımları

İzole Edilen Mikroorganizmalar	Yarı Kritik Malzeme	Kritik Malzeme	TOPLAM
E.coli	3	1	4
Koagülaz (–) Staphylococcus	2	2	4
Koagölaz (+) Staphylococcus	–	2	2
Klebsiella	2	1	3
B.subtilis	2	1	3
Alkaligenes	–	1	1
TOPLAM	9	8	17

TARTIŞMA

Sağlık hizmetleri, her aşamada disiplin ve kontrolü gerektiren bilgili ve titiz ellerde başarıya ulaşan insan hayatına yönelik ciddi bir konudur. Bu hizmetlerin büyük bir kısmı sterilizasyon ve dezenfeksiyon ile iç içe ve sıkı sıkıya ilgilidir.

Birinci basamak sağlık hizmetlerinde, sağlık ocakları gibi yataksız kurumlarda hastaya tam tedavi veya koruma amaçlı girişimlerde ölümlenirken enfeksiyon riskinin hastanelere göre düşük olması beklenir (7). Bunun nedeni sağlık ocaklarının yataksız kurumlar olması, hasta sayısının az olması, sağlıklı kişilerden veya daha az komplike vakaların başvurmaktaki olması ve daha az invazif girişimlerde bulunulmasıdır. Ancak sterilizasyon işlemi için kullanılan aletlerin ve uygulama tekniklerinin sağlık ocakları bazında daha yetersiz olduğu da bilinen bir gerçektir.

İncelediğimiz örneklerin % 17.1'inde mikroorganizma izole ettik. Sağlık Ocaklarında elde ettiğimiz değer % 21.05 iken, hastanelerde % 14.75'dir. Sağlık Ocaklarında üreme sıklığı hastanelerden yüksek gibi görünmesine rağmen istatistik açıdan anlamlı bir farklılık gösterilememiştir ($t = 0.829; p > 0.05$).

Örnek aldığımız kritik (dokuya direk temas edenler) malzemelerde üreme hızı % 14.8 (8/54) iken yarı kritiklerde (sadece mukoza ile temas edenler) % 20.0 (9/45) olup üreme sıklığı açısından aralarında fark bulunamamıştır ($\chi^2 = 0.17; p > 0.05$). Steril edilmemiş veya dezenfekte olmamış kritik ve yarı kritik kategorisinden nesnelere enfeksiyonları bulaştırmada önemli rolleri olduğu bilinmektedir (8).

Yaşar ve arkadaşları Ameliyathane'de kullanılan dezenfekte edilmiş aletler üzerinde yapmış oldukları çalışmada % 45'lere varan oranlarda patojen bakteri elde etmişlerdir (9).

Erbaydar ve arkadaşları Halkalı—Avcılar Sağlık Grup Başkanlığı'na bağlı üç ve bağlı olmayan bir sağlık ocağında gerçekleştirdikleri çalışmalarında 44 örneğin 6'sında saprofit, bir örnekte'de patojen bakteri izole ettiklerini bildirmişlerdir (7).

Üzerinde çalıştığımız 99 örneğin 3'ünde saprofit bakteri özole ettik. Üreyen saprofit bakterilerin birisi de kritik malzemeden alınan örnekte üremiştir.

Kır tipi Sağlık Ocaklarından ikisinde sterilizasyon için kuru hava sterilizatörü kullanılırken, üçüncü kaynatma metodu uygulanmaktadır. Şehir tipi Sağlık Ocakları ile Hastanelerde ise otoklavlardan yararlanılmaktadır.

Aletlerin dezenfeksiyonu için her kuruluştaki genellikle kimyasal dezenfektanlardan yararlanılmaktaydı. Oysa ki, aletlerin dezenfeksiyon sıvılarına batırılarak temizlenmeleri ancak özel hallerde başvurulacak bir metod olmalıdır (5).

Her tür sağlık kuruluşunda sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemlerinde iyileştirilmeye gidilmelidir. Malzeme eksikleri giderilmeli, sorumlu personel ve hekimler eğitime tabii tutulmalıdır. Sterilizasyon işlem zinciri başından sonuna kadar periyodik olarak kontrol edilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1- Seymour S.Block: Disinfection. Sterilization and Preservation. 2.Edition. ISBN 0—8121—0544—3. Print No: 543 21, 1977.
- 2- Çetin, E.T.: Dezenfeksiyon—Antisepsi—Sterilizasyon (DAS) İşlemleri ve Hastahanedeki Uygulanışları. I.baskı. İstanbul Univ.İstanbul Tıp Fakültesi 1982.
- 3- Kartoğlu, U., Aykar, M.: Sağlık Ocakları ve Sağlık Evlerinde Sterilizasyon ve Pansuman. Akyurt Sağlık Ocağı Bülteni Eğitim Dizisi Ankara 1.bsk. 1 Ocak 1983.
- 4- Eren, N.: "Asepsi Tekniğinin Öyküsü" Sağlık ve Sosyal Yardım Vakfı Dergisi 4 (4): 23—27: 1991.
- 5- Samastı, M.: "Sağlık Kurumlarında Kullanılan Teşhis Tedavi Vasıtalarının İnfeksiyonları Bulaştırmadaki Roller ve Alınacak Önlemler". Sağlık Hizmetlerinde Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon. İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği. Yayın No: 4, İstanbul s:22—33, 1988.
- 6- Favero, M.S.: Sterilizasyon, Disinfektion and Antisepsis in the Hospital. Ed. Lennette, E.H.: Manual of Clinical Micro—biology. 4.ed. American Society for Microbiology. Washington, 129, 1985.
- 7- Erbaydar, T., Derbentli, Ş., Tümerdem, Y.v.a.: Sağlık Ocaklarında Dezenfeksiyon, Sterilizasyon İşlemleri ve İnfeksiyon Riskleri. III. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi 30 Nisan 1992—2 Mayıs 1992. Kongre Özel Kitabı, s: 66, Hacettepe Univ. Tıp Fak.Halk Sağlığı A.B.D.

- 8- Derbentli, Ş.: Dezenfektanların Yanlış Kullanımı ve Dezenfeksiyon Politikası. 1.Türk Hastane İnfeksiyonu Kongresi Kongre Kitabı. 7-10 Ocak 1992. s: 81-84 . İstanbul Univ.İstanbul Tıp Fakültesi.
- 9- Yaşar. A., Aytaç, J., Seber, E.: Ameliyathanede Kullanılan Otoklava Girmeyen Aletlerin Dezenfeksiyon Sonrası Yapılan Kültür Sonuçları. I.Türk Hastahane İnfeksiyonları Kongresi Kongre Kitabı, s: 211. 7-10 Ocak 1992. İstanbul.

INVESTIGATION OF MALARIA CASES AT MILITARY HOSPITALS DURING 1988 – 1992 *

Tuncer HAZNEDAROĞLU **

Mehmet TANYÜKSEL **

Hüseyin GÜN **

SUMMARY

Malaria is one of the main health problems in our country. In this study, we have studied the prevalence of diagnosed malaria cases at Military hospitals in Turkey during the last five years.

We have found that 116 cases of malaria have been reported from the hospitals the years between 1988 and 1992. Of these, 18 cases were in 1988, 17 cases were in 1989, 10 cases were in 1990, 43 cases were in 1991 and 28 cases were in 1992.

Most of the cases were from the Diyarbakır Military Hospital. The number of cases were found to increase in Autumn by 69.7 %. This consistent with the tend appearance time of its vector (Anophel) and the incubation period of the disease.

1988–1992 YILLARI ARASINDA ASKERİ HASTANELERDEKİ SİTMALİ OLGULARIN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Sıtma, ülkemizde en önemli sağlık problemlerinden biridir. Bu çalışmamızda, son beş yıldır Türkiye'deki Askeri Hastanelerindeki sıtmalı olguların prevalansı araştırılmıştır.

1988–1992 yılları arasında hastanelerden 116 sıtmalı olgu bildirilmiştir. 1988'de 18 olgu, 1989'da 17 olgu, 1990'da 10 olgu, 1991'de 43 olgu ve 1992'de 28 olgu bulunmaktaydı.

Olguların çoğunluğu Diyarbakır Askeri Hastanesinden oluşmaktaydı. Olgu sayısı % 69.7 ile Sonbahar'da artış saptanmıştır. Bu, hastalığın inkübasyon periyodu ve vektör (anofel) ile temasıyla yakından ilgilidir.

* This study was presented in 29. International Congress of Military Medicine (18–25 September 1993, İstanbul).

** Gülhane Military Medical Academy, Dept. of Microbiology and Clinical Microbiology, Ankara, Türkiye.

INTRODUCTION

Malaria is the most widely spread infectious disease of man affecting almost half of the world's population. Control of malaria remains one of the world's biggest health challenges (1). Malaria affects the lives of hundreds of millions of people. Drug therapy is becoming less effective, a vaccine has yet to be developed, and one to two million children die annually as a result of malaria (2).

Development of vaccines has been considered a valid and necessary complement to control malaria in addition to the control measures of the vectors (1). The aim of the present study is to determine the prevalence of the malarian cases in Turkish Military Hospitals for five years.

MATERIALS AND METHODS

116 malarian cases were reported in Turkish Military Hospitals between 1988–1992. According to the data obtained from the Chairmanship of Malaria Eradication Division of Ministry of Health in our country.

RESULTS

TABLE 1— Distrubution of malarial cases (year)

Years	No.of cases	%
1988	18	15.5
1989	17	14.6
1990	10	8.6
1991	43	37.6
1992	28	24.1
TOPLAM:	116	

TABLE 2— Malaria surveillance in Strata—IA

	No.of cases				
	1988	1989	1990	1991	1992
ADANA	2579	1972	1991	2108	3126
İÇEL	878	653	667	823	823
HATAY	389	288	353	473	453

TABLE 3— Distribution of cases (months)

Months	Years					Tot.	%
	1988	1989	1990	1991	1992		
January	-	-	-	-	-	-	-
February	-	-	-	-	-	-	-
March	-	-	2	-	-	2	1.7
April	-	2	1	1	-	4	3.4
May	1	-	-	-	-	1	0.8
June	-	2	-	1	2	5	4.3
July	3	2	4	-	-	9	7.7
August	3	5	2	-	2	12	10.3
September	4	1	-	15	5	25	21.5
October	4	3	-	1	9	17	14.6
November	2	1	1	25	10	39	33.6
December	1	1	-	-	-	2	1.7

TABLE 4— Distribution of Malaria cases at Military Hospitals (year)

Years	Military hospitals and no of cases	
1988	ANKARA	15
	İSTANBUL	3
1989	ANKARA	11
	İSTANBUL	2
	MERZİFON	2
	ÇORLU	2
1990	ANKARA	7
	SAMSUN	1
	MANİSA	2
1991	DIYARBAKIR	28
	ANKARA	9
	ÇORLU	2
	ERZURUM	2
	TEKİRDAĞ	1
	ÇANAKKALE	1
1992	ANKARA	15
	DIYARBAKIR	10
	ÇORLU	2
	MERZİFON	1

TABLE 5— Malaria surveillance at Military Hospitals in last five years (1988-1992)

	No of cases	%
ANKARA	57	49.2
DIYARBAKIR	38	32.8
ÇORLU	6	5.2
İSTANBUL	5	4.4
MERZİFON	3	2.6
ERZURUM	2	1.7
MANİSA	2	1.7
TEKİRDAĞ	1	0.8
ÇANAKKALE	1	0.8
SAMSUN	1	0.8

DISCUSSION

Malaria is still a major cause of illness and death in the world; in 1984 over ten million cases were reported, compared with two million cases of measles (3). The incidence of malaria in the United States has directly paralleled military troop involvement in endemic regions ever since the disease was eradicated from the United States in the late 1940s. The close of the Vietnam War era resulted in an initial marked decrease in the total number of cases of malaria in the United States (4).

These data shown that malaria cases increased until 1990, but it has been decreasing since 1991. 17312 of the cases were from three cities Adana, İçel, and Hatay which are shown as Strata IA. This makes 25.5 % of general total number. It is noticed that the cases are being reported more frequently in Autumn and Summer and especially November with 39 cases, September with 25 cases. October with 17 cases are the months at the top of the list. So, this explains us the role of contact with the vector and incubation period involved.

Especially, abundance of the cases reported from Diyarbakır Military Hospital. 1168/138 cases, 32.8 %, is emphasizing the importance of more effective preventive studies.

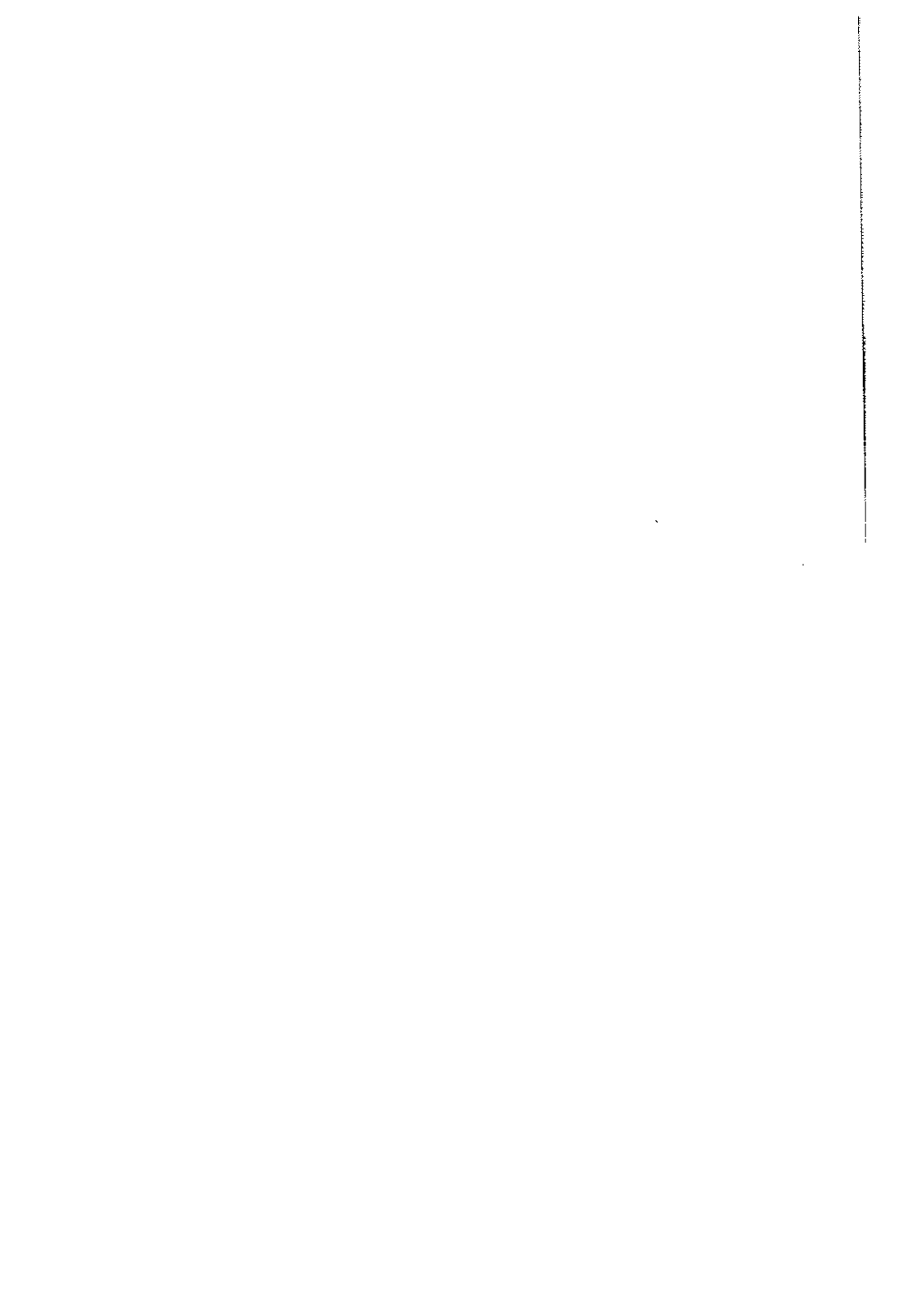
The prevention of malaria includes (1) the reduction of gametocyte carriers, the source of infection, (2) mosquito control, and (3) the protection of susceptible people against mosquitoes (5).

Mechanical barriers such as proper screening undoubtedly are helpful. Well-controlled studies have demonstrated the efficacy of bed nets (mosquito nets) in the prevention of malaria in hyperendemic areas (6-8).

We think that it will be very useful to ascertain the sanitization studies against malaria, on of the strategical parasitic infection may take in future because of SAP (Southeast Anatolia Project).

REFERENCES

1. Kabilan, S.L.: Host immune response to Plasmodium. *Indian-J.Malariaol* 28 (3): 189-196, 1991.
2. Good, M.F.: Malaria vaccine development: Recent progress towards a sporozoite vaccine. *Semin-Immunol.* 2 (5): 361-367, 1990.
3. Playfair, J.H.L., Blackwell, J.M., Miller, H.R.P.: Modern vaccines. *Lancet* May 26:1263-1266, 1990.
4. Wyler, D.J.: Plasmodium species (Malaria). Mandell, G.L., Douglas, R.G., Bennett, J.E. (eds) *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Third Ed., New York, 1990, 2058-2059.
5. Brown, H.W., Neva, F.A.: *Basic Clinical Parasitology*, Fifth Ed., Prentice/Hall International INC, Englewood Cliffs 1987, 93-98.
6. Bradley, A.K.: Bed-nets (mosquito-nets) and morbidity from malaria. *Lancet* 2: 865, 1986.
7. Nevill, C.G.: Comparison of mosquito nets, proguanil hydrochloride, and placebo to prevent malaria. *Br.Med.J.* 297: 401-403, 1988.
8. Lindsay, S.W., Gibson, M.E.: Bednets revisited—old idea, new angle. *Parasitol. Today.* 4:270-272, 1988.



LABORATUVAR FARELERİNDE (MUS MUSCULUS VAR.
ALBINOS) ORNITHONYSSUS (BDELLONYSSUS,
LİPONYSSUS) BACOTİ (HIRST, 1913) OLGUSU

Abdullah İNCİ *

Cahit BABÜR **

ÖZET

Bu çalışma Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Mikrobiyoloji-Parazitoloji laboratuvarında ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Laboratuvarında bulunan laboratuvar fareleri (*Mus musculus var. albinos*) üzerinde yapılmıştır.

Her iki laboratuvarda farelerden toplanan acarların mikroskopik muayeneleri yapılmış ve morfolojik özelliklerine göre *Ornithonyssus bacoti* olarak tanımlanmıştır.

Bu çalışmayla Türkiye'de ilk kez laboratuvar farelerinde *O.bacoti* enfestasyonu bildirilmektedir.

Enfeste fareleri *O.bacoti*'den arındırmak için % 2'lik neguvan ile bir kez banyo yaptırmak yeterli olmuştur.

STUDY ON THE OCCURENCE OF ORNITHONYSSUS BACOTI
OF LABORATORY MICE AND ITS CONTROL

SUMMARY

This study was carried out on laboratory mice (*Mus musculus var. albinos*) in the Microbiology-Parasitology laboratory of the Refik Saydam Central Institute for Hygiene and the Pharmacology Laboratory of the Medical Faculty of Gazi University.

In both laboratories, mites were collected from the mice, examined microscopically and identified on a morphological basis as *Ornithonyssus bacoti*.

This study reveals for the first time *O.bacoti* infestations in laboratory mice in Turkey.

The infested mice were free of *O.bacoti* by the applications of 2 % neguvan.

* Arş.Gör.Dr.Ank.Üni.Vet.Fak.Protozooloji ve T.Entomoloji Bilim Dalı,
ANKARA-TÜRKİYE

** Mikrobiyoloji Uzmanı, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı,
ANKARA-TÜRKİYE.

GİRİŞ

Laboratuvar hayvanlarının deneysel çalışmalarda büyük önemi vardır. Bu hayvanlar, özellikle biyo—medikal araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar içerisinde beyaz fareler (*Mus musculus var. albinos*), en yaygın olarak kullanılan laboratuvar hayvanlarıdır. Diğer pek çok laboratuvar hayvanında olduğu gibi, beyaz farelerde de birçok endo ve ekto parazit bulunur. Halbuki, laboratuvar hayvanları üzerinde yürütülen mukayeseli çalışmalar, üniform populasyonlar gerektirdiğinden bu hayvanların sağlıklı, iç ve dış parazitlerden de arınmış olmaları gereklidir (1—3). Laboratuvar farelerinin derisi üzerinde ve tüyleri arasında birçok acar bulunur ve veteriner hekimliği ile insan hekimliği yönünden önemli enfestasyonlara yol açarlar (1—13). Dinçer (2), Bean—Knudsen ve ark.'na atfen bu enfestasyonların, üreme ve yetiştirme kolonilerinde olduğu gibi, araştırma kolonilerinde de önemli problemlere yol açtıklarını; Owen'a atfende, acar enfestasyonlarının, beyaz fareler üzerinde yapılan uzun süreli deneysel çalışmalarını örneğin, biyolojik, farmakolojik, toksikolojik, patolojik ve immünolojik araştırmaları menfi yönde etkilediğini; büyümede gerilemenin yanında hipersensitiviteye sebep olarak bağışıklık sisteminin bozulabileceğini bildirmiştir.

Farelerde bulunan acar'ların bir bölümünü Dermanyssidae ailesinde yer alan türler oluşturmaktadır. Bu ailede yer alan acar'lardan bir tanesi de *Ornithonyssus bacoti*'dir (12). *O. bacoti* başlıca fare, rat, hamster, yabancı kemiriciler, yabancı karnivorlar, tavuk, diğer kuşlar ve insanlardan da kan emer (1,4—7,9, 12,14). Yunker (13), kafesde beslenen laboratuvar kemiricilerinin, *O. bacoti* için ideal konakçı olduklarını bildirmiştir. İlk defa 1913 yılında Hirst tarafından Mısır'da tespit edilmiş olan, kozmopolit tabiatlı ve genellikle de tropikal fare acar'ı olarak tanımlanan bu türe, dünyanın her tarafında rastlanır (1,4—6,9,12—14).

Hem Türkiye'de laboratuvar farelerinde *O. bacoti*'nin meydana getirdiği enfestasyonlar ile ilgili herhangi bir kayıdın bulunmaması ve hem de bu acar'ın sebep olduğu acarodermatitis ile ilgili yayınların çok az oluşu; dolayısıyla bu tip olguların diğer cilt hastalıkları ile rahatlıkla karışabileceği düşüncesiyle; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Laboratuvarı ve Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Mikrobiyoloji—Parazitoloji laboratuvarlarında, deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere bulundurulmuş beyaz farelerde tespit ettiğimiz *O. bacoti*'den ve bunun sebep olduğu enfestasyonlarla ilgili gözlemlerimizden bahsetmeyi uygun bulduk. Yöntem ve bulgularımızı takdim etmeden önce bu acar'ın sistematikteki yeri, morfolojisi, biyolojisi ve tıbbi öneminden bahsetmek yararlı olacaktır.

Soulsby (12)'e göre bu acar'ın sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir.

Anaç	:	Arthropoda
Anaç Bölümü	:	Chelicerata
Sınıf	:	Arachnida Lamarek, 1815
Dizi	:	Acarina Nitzsch, 1818
Dizi Bölümü	:	Mezostigmata Canestrini, 1891
Aile	:	Dermonyssidae Kolenati, 1859
Soy	:	Ornithonyssus Sambon, 1928 (Bdellonyssus Fonseca, 1941, Liponyssus)
Tür	:	Ornithonyssus (Bdellonyssus, Liponyssus) bacoti (Hirst. 1913).

Baker (1)'a göre *Ornithonyssus bacoti*'nin dişi 750 – 1000 mikrondur. Rengi beyaz, kırmızı, siyah arasında emdiği kan miktarına göre değişiklik göstermektedir. Chelicer'leri dişli değildir. Dorsal plak vücudu örtmez. Bu plak, II. ve III. çift bacaklar hizasında en geniş durumda, posteriore doğru tedricen daralır ve posterior ucu anal plaktan daha dardır. Dorsal plağın üzerinde muhtelif sayıda uzun kıllar bulunur. Bu kıl çiftlerinin sayısı, dorsal plağın arka yarısında 6 veya 7 çift iken ön yarısında daha fazladır. Palplerin distal segmentinde ventral bir çıkıntı vardır. Chelicer'leri dişli değildir. Sternal plakta üç çift kıl vardır. Bunlardan birinci çift, plağın ön kenarına yerleşmiştir, sternal plağın arka ucu konkavdır. Genito-ventral tedricen darlaşır ve arka ucunda nokta şeklinde bir görünüm alır. Bir çift genitoventral kıl mevcuttur. Anüs, anal plağın ön yarısındadır; üç adet anal kıl mevcuttur; adanal kıl çifti ya anüsün arka ucuna yakın ya da aynı hizaya kadar ulaşır. Peritrem IV. çift coxanın foveasıyla posteriora kaynaşmıştır; peritremal tüp, I. çift coxanın üstünde bir noktaya önden uzanır. II. çift coxa keskin bir antero-dorsal çıkıntı taşıırken diğer coxalar çıkıntı taşımazlar. Ayaklarının ucunda bir çift tırnak bulunur.

Bu acar'ın gelişiminde yumurta, larva, protonymph, deutonymph ve ergin olmak üzere beş safha vardır. Bunlardan larva döneminde üç çift ayak bulunurken, protonymph, deutonymph ve imago dönemleri dört çift ayaklıdır. O. bacoti yumurtalarını konakçının üzerine değil, farelerin gizlendikleri oyuk ve çatlaklara, fare yuvalarına bırakırlar (1,5,9,12,14). Williams (15)'a göre yumurtlamada rutubet (% 70) ve ısı (21° C) etkilidir ve kan emmiş bir dişi her defasında 7 ya da daha fazla sayıda yumurta üretebilir; yumurtadan 38.5 ile 53.5 saat sonra da larva çıkar; 19–24 saat sonra yumurtadan çıkan larva kan emmeksizin gömlek değiştirerek 8 bacaklı protonymph dönemine geçer. Baker ve ark'na (1) göre kan emmiş bir dişi 1 veya 2 kez yumurtlar ve hayatı boyunca yaklaşık 98 yumurta üretebilir; yumurtlamada ısı ve nem etkilidir; yumurtadan 1–2 günde çıkan larva kan emmek-

sizin 24 saatte protonymph olur; protonymph döneminde bir kez kan emer, gömlek değiştirir deutonymph olur; deutonymph, larva döneminde olduğu gibi kan emmeksizin gömlek değiştirir 24–36 saat sonra ergin olur. Soulsby (12)'e göre acar'ların % 75'i 11–16 günde yumurtadan ergin hale geçer.

Ornithonyssus bacoti'nin Rickettsia, sıçanların endemik tifüsü, Q humması, bazı filaria'ları naklettiklerinin anlaşılmasıyla (1, 4–6, 8, 9, 14–17) ve ayrıca insanlarda meydana getirdikleri acarodermatitis dolayısıyla tıbbi önemleri daha da artmıştır (7,9–11,13,15–21).

Belding (4)'e göre O.bacoti bazı kemiricilerin (Sigmodon hispidus, Mus norvegicus) filariosu'nu meydana getiren Listosomoides cornii'ye arakonakçılık yapar.

Chandler (6)'e göre, Amerika Birleşik Devletleri'nde O.bacoti'ye sık sık rastlanmakta ve insanlara Q hummasını nakletmektedir.

Bazı araştırmacılara (1,7,8,13,14): göre, O.bacoti fareden fareye ve fareden insana endemik tifüsün etkeni Rickettsia typhi'yi nakletmektedir.

Schelmire atfen Mimioğlu ve Sayın (18), bu acar'ın insanlarda meydana getirdiği acariase olgusunun önceleri, uyuz etkenlerinin meydana getirdikleri lezyonlar ile, vücut biti, tahta kurusu, pire ve kan ile beslenen diğer haşerelerin sebep oldukları dermatitisle karıştırıldığını fakat sonraları ayırıcı teşhisin yapılabildiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar (18) ve diğer bir kısım araştırmacı (19,20)'da insanlarda O.bacoti'den ileri gelmiş, şiddetli kaşıntıyla seyreden dermatitis vak'alarını Ankara ve İstanbul'da saptadıklarını bildirmişlerdir.

MATERYAL VE METOD

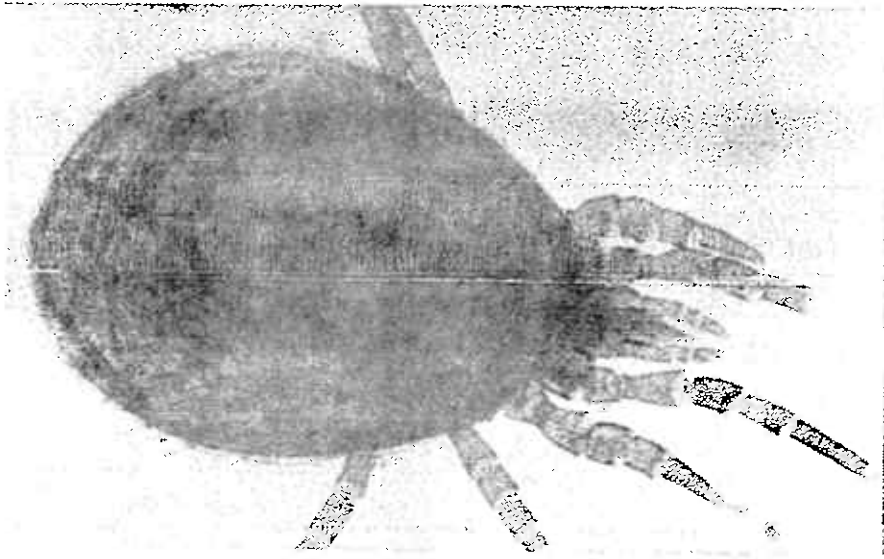
Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Mikrobiyoloji–Parazitoloji Laboratuvarında, laboratuvar fareleri ile ilgilenen bakıcının şiddetli kaşıntı ve buna bağlı olarak el ve kollarında meydana gelen lezyonlar nedeniyle, deneysel çalışmalarda kullanılmak amacıyla laboratuvarında bulundurulmuş beyaz farelerin (Mus musculus var. albinos) muayeneleri yapılmış ve bu hayvanlar üzerinde acar'lar tespit edilmiştir. Fareler üzerinde bulunan acar'lar, içerisinde % 70'lik etil alkol bulunan bir şişeye toplanmışlar ve teşhis için Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Protozooloji ve T.Entomoloji Bilim Dalına getirilmiştir. Diğer taraftan bu olaydan kısa süre sonra Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji laboratuvarında deneysel çalışmalarda kullanılan beyaz farelerde ve yavrularında ölümler olmuş, ölümlere bağlı olarak farelerin muayenesi yapılmış ve fareler üzerinde bazı ektoparazitlerin olduğu tespit edilmiş; ölmüş bir laboratuvar fare yavrusu teşhis için üzerindeki acar'larla birlikte içerisinde % 70'lik etil alkol bulunan bir şişeye konularak A.Ü.Vet.Fak. Protozooloji ve T.Entomoloji Bilim Dalına getirilmiştir. Ölmüş fare yavrusu üzerinden toplanan acar'lar içerisinde % 70'lik etil alkol bulunan şişeye konmuştur.

% 70'lik etil alkol içerisinde tespit edilmiş olan acar'lar, Mimioğlu ve Sayın (12) tarafından en uygun şeffaflandırma metodu olarak bildirilmiş olan yöntemle şeffaflandırılmışlardır.

Bu yöntemle göre, % 70'lik etil alkolden alınan acar'lar, 24 saat aralıklarla sırasıyla önce % 50'lik sonrada % 30'luk etil alkolde tutulmuşlardır. Bunu takiben yine her basamakta 24 saat bekletilmek şartıyla aşağıda sırasıyla belirtilen maddelerde tutulmuşlardır. 1) % 6'lık KOH, 2) Distile su, 3) % 30'luk etil alkol, takiben sırasıyla % 50, % 70, % 80, % 96 ve % 100'lük etil alkoller, 4) Birebir oranında karıştırılmış saf alkol ve kreozot, 5) Saf kreozot, 6) Şeffaflandırılmış acar'lar Kanada balzamıyla lam üzerine monte edilmişlerdir.

Hazırlanmış olan acar preparatları steromikroskopta incelenmişler ve mikroskopta resimleri çekilmiştir (Resim 1).

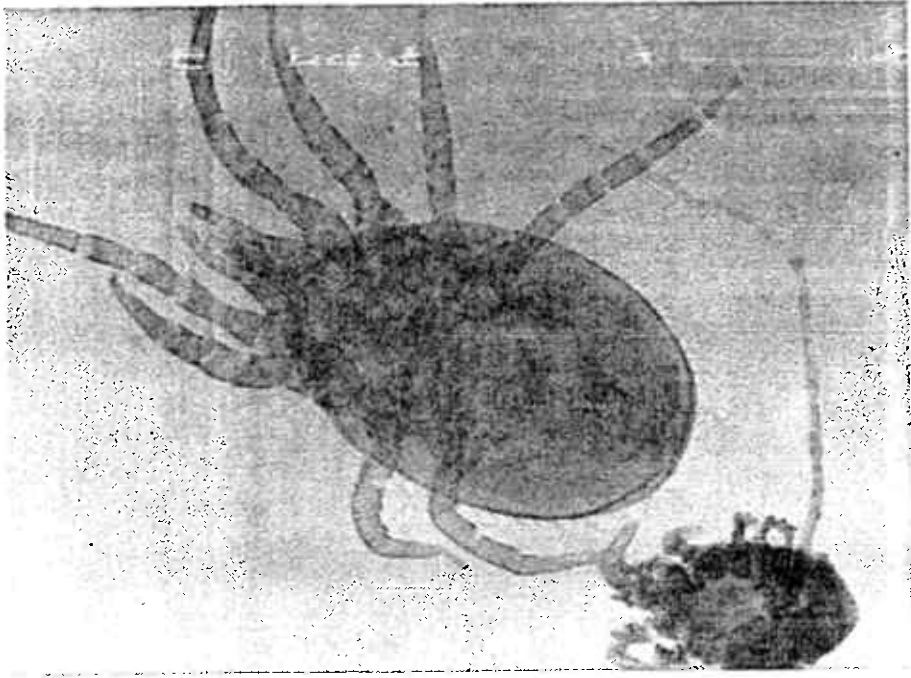
Resim 1: Ornithonyssus bacoti'nin a—dorsal b—Ventral görünüşü



BULGULAR

Laboratuvar farelerinden toplanan ve laboratuvarda şeffaflandırıldıktan sonra mikroskopik muayenesi yapılan acar'ların Ornithonyssus bacoti'nin morfolojik özelliklerini taşıdıkları tespit edilmiştir.

Laboratuvarda bu farelerle ilgilenen kişilerden alınan anemnezlerde, bu insanlar, şiddetli kaşıntıdan rahatsız olduklarını beyan etmişlerdir. Ayrıca fare bakıcılarının el ve kollarında şiddetli kaşıntıdan ileri gelmiş dermatitis tablosu gözlemlenmiştir.



Ornithonyssus bacoti enfestasyonuna maruz kalmış farelerin tüyleri bozulmuş ve seyrekleşmiştir. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Laboratuvarında fare ve özellikle de yavru farelerin ölmesinde ağır *O.bacoti* enfestasyonu sorumlu bulunmuştur.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Laboratuvar hayvanlarında pek çok ektoparazit bulunur. Çeşitli araştırmacıların (1,4-9,12-17,21,22) bildirdiklerine göre, *Ornithonyssus bacoti*, başlıca fare, rat, hamster, yabancı kemiriciler, yabancı karnivorlar, tavuk, diğer kuşlar ve insandan kan emer. Kozmopolit tabiatlı bu türün dünyanın bir çok yerinde görüldüğü bildirilmiştir (1, 13, 14, 16,17). Türkiye'de Mimioglu ve Sayın (18), Ankara'nın Samanpazarı semtinde bir evde; Unat (19), İstanbul'da bir evde; Yalçinkaya (20), Ankara'nın Gaziosmanpaşa ve Etlik semtlerinde iki farklı evde *Ornithonyssus bacoti* enfestasyonlarını bildirmişler ancak bugüne kadar laboratuvar farelerinde tespit edildiğine dair bir kayıda rastlanılamamıştır.

Türkiye'de laboratuvar hayvanlarının parazitleri üzerine yapılan çalışma sayısı esasen çok sınırlıdır. Dinçer (2), laboratuvar fareleri üzerinde yaptığı bir çalışmasında Türkiye'de ilk kez beyaz farelerde (*Mus musculus var. albinos*) *Myobia muscu-*

li ve *M.musculus*'a beyaz ratlarda ise *Radfortia ensifera*'yı tespit etmiştir. Aynı araştırmacı (2), bu laboratuvar hayvanlarında *Ornithonyssus bacoti*'ye rastlayamadığını bildirmiştir.

Diğer taraftan bazı araştırmacılar (13, 15), *O.bacoti*'nin laboratuvar farelerinde enfestasyon meydana getirdiğini ileri sürmüşlerdir.

Bu çalışma ile, Türkiye'de ilk kez laboratuvar farelerinde *O.bacoti* enfestasyonu tespit edilmiştir. Laboratuvar farelerinin *O.bacoti* ile enfeste olmasında muhtemelen ev fareleri ve binalarda bulunan diğer kemiriciler önemli rol oynamaktadırlar.

Ornithonyssus bacoti enfestasyonuna maruz kalmış laboratuvar farelerinin tüylerinin bozulduğu, kılların seyredildiği ve dermatitis tablosunun meydana geldiği (15); ağır enfestasyonlarda acar'ın emdiği kan dolayısıyla konakçıda anemi, halsizlik, üremede azalma, ve ölümlerin meydana geldiği bildirilmiştir (13). Literatürde bahsedilen bu bilgiler bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Deneyel çalışmaların sağlıklı olabilmesi için, deney hayvanlarının parazitlerden arındırılmış olması gerekir. Birçok araştırmacı (2,3,7,11,12,22) farelerdeki acar enfestasyonlarına karşı çeşitli ilaçlar önermişlerdir. Bunlardan Hiepe ve Ribbeck (7) klorlu hidrokarbonlular ve organik fosforlu akarasidlerin ya lokal ya da banyo yöntemiyle uygulanmasını önermişler; püskürtme ile lindan bileşiklerinden; banyo şeklinde % 2'lik malation ve % 2'lik metrifonat'dan iyi sonuçlar alındığını bildirmişlerdir. Yunker (13) kimyasal ilaçların enfeste hayvanlara direkt olarak uygulanmasının her zaman gerekli olmadığını, bu acar'ın sadece kan emmesi esnasında konakçıda bulunduğunu, diğer zamanlarda konakçıyı terk ettiğini, bu sebeple konakçının ilaçlanmasıyla birlikte, konakçının bulunduğu kafeslerin ve civarında ilaçlanması gerektiğini ileri sürmüştür.

Diğer (2), *Myobia musculi*, *Myocoptes musculus* ile enfeste laboratuvar farelerini ve *Radfortia ensifera* ile enfeste ratların tedavisinde % 2'lik neguvon ve farelerde 250 ppm amitraz solüsyonunu kullanmış ve ilk banyodan sonra acar'ların elimine edildiğini bildirmiştir.

Diğer taraftan Soulsby (12), sentetik bir pyrethroid olan "permethrin"nin *O.bacoti* enfestasyonunda mükemmel sonuç vereceğini ileri sürmüştür.

Laboratuvar farelerinde karşılaştığımız her iki *O.bacoti* enfestasyonunda, % 2'lik neguvon ile banyo yaptırılmış ve birinci banyodan sonra farelerin bu acar'dan arındıkları tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuç, literatürlerde bahsedilen bilgilerle kıyaslandığında, acar'ların çeşitli akarasidlere duyarlı oldukları anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak, laboratuvarda yetiştirilen laboratuvar farelerinin ve diğer laboratuvar hayvanlarının, deneysel çalışmaları aksatmayacak şekilde zaman zaman uygun akarasidlerle ilaçlanmaları araştırmaları olumlu yönde etkileyecektir.

KAYNAKLAR

- 1- Baker, E.W., Evans, T.M., Gold, D.J., Hull, W.B., Keegan, H.L.: A manual of parasitic mites of medical or economic importance. A technical Publication of the National Pest Control Assoc. Inc. New York p. 22—26, 1956.
- 2- Dinçer, Ş.: Laboratuvar fare(*Mus musculus var. albinos*) ve ratlarında (*Rattus norvegicus var. albinos*) bulunan akar(acarı: Myobiidae, Mycophytidae)'lar ve bunların kontrolü üzerine araştırmalar, A.Ü.Vet.Fak.Derg. 35 (1): 389—406, 1987.
- 3- Holmes, D.D.: Clinical laboratory animal medicine an introduction. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, p. 3—11, 1984.
- 4- Belding, D.L.: Textbook of clinical parasitology. Appleton Century Crofts, In. New York, p. 761, 1942.
- 5- Brumpt, E.: Précis de parasitologie II. Marson et Cie Editeurs, Paris, P. 1070—1071, 1949.
- 6- Chandler, C.: Introduction to parasitology. With special reference to the parasites of man. 10 th Ed. John Wiley et sons Inc. New York, London p. 673—674, 1961.
- 7- Hiepe, T. und Ribbeck, R.: Veterinärmedizinische Aracho—Entomologie. Gustow Fisher Verlag Stuttgart. p. 438, 1982.
- 8- Lapage, G.: Veterinary Parasitology. Oliver and Boyd, London, p. 673—674, 1956.
- 9- Matheson, R.: Medical Entomology. 2 nd Ed. Comstock Publishing Assoc. A Division of Cornell University Press, Ithaca, New York, p.94—98, 1950.
- 10- Melhorn, H.: Parasitology in Focus. Springer—Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, p. 130—132, 1988.
- 11- Merdivenci, A.: Medical Entomoloji, Hilal Matbaacılık Koll.Şti. İstanbul. S. 249—251, 1981.
- 12- Soulsby, E.J.L.: Helminths, Arthropods and Protozoa of domesticated animals. 7 th Ed. Baillere Tindall, London, Philadelphia, Toronto, Mexico City, Rio De Joneiro, Sydney, Tokyo, Hong Kong. P.449—450, 1986.
- 13- Yunker, C.: Mites. Ed.R.J.Flynn. In: "Parasites of laboratory animals". The Iowa State University Press/AMES, P. 425—427, 1973.
- 14- Piekarski, C.: Luhrbuch der Parasitologie. Springer Verlag, Berlin, p.478 479, 1954.
- 15- Williams, R.W.: The laboratory rearing of the tropical rat—mite. The Journal of Parasitology, 32, 3: 252—256, 1946.
- 16- Mönning, H.O.: Veterinary Helmintology and Entomology. Baillie're Tindall and Cox, London, P.397, 1946.

- 17- Neveu—Lemaire, M.: Traide d' Entomologie Medicale et Veterinaire Vigot Fre'ves Editeurs, Paris, P.464, 1939.
- 18- Mimioglu, M., Sayın, F.: Ankara'da tespit edilen ilk Liponyssus bacoti Hirst, 1913 vak'ası. A.Ü.Vet.Fak.Derg. S (1—2): 21—25, 1958.
- 19- Unat, E.K.: İstanbul'da bir ailede BdeUonyssus bacoti enfeksiyonu Türk Tıp Enc. Arş., VII: 38—39, 1960.
- 20- Yalçınkaya, F.: Ankara'da rastladığımız Liponyssus bacoti vak'alarına dair. Türk Hij. ve Tecrü. Biyo. Derg. XXX (3): 267—274, 1970.
- 21 Noble, E.R. and Noble, G.A.: Parasitology. 2 nd Ed. Lea and Febriger, Philadelphia, P. 12—513, 1964.
- 22- Oytun, H.Ş.:Tıbbi Entomoloji. Güzel İstanbul Matbaası Ankara, S.176—177, 1961.

İZOMERİZM VE ÖNEMİ

Pınar BULUT *

Murat ŞUMNU **

ÖZET

Pek çok sentetik ilaç stereoisomerizm göstermekte ve bu ilaçların büyük çoğunluğu rasemik karışım halinde piyasada satılmaktadır. Rasemik karışımında genellikle enantiomerlerin biri esas terapötik aktiviteden sorumludur, diğer enantiomer ise inert olabileceği gibi farklı farmakolojik aktivite gösterebilir veya yan etkilere neden olabilir. Bu makalede ise stereoizomerizm hakkında genel bilgi verilmiş ve farmakodinamik açıdan ilaç enantiomerleri arasında görülen farklılıklardan bahsedilmiştir.

IMPORTANCE OF DRUG ISOMERISM

SUMMARY

A large proportion of synthetic drugs exhibit stereoisomerism and the significant portion of these substances are sold as racemic mixture. One of the enantiomers in racemic mixture usually have the therapeutic activity and the other enantiomer can have different pharmacological activities or may cause side effects. In this paper, the general knowledge is given about stereoisomerism and it has been mentioned the pharmacodynamic differences between drug enantiomers.

Key words: Isomerism, Stereoisomerism, Chirality, Enantiomer

"All artificial bodies and all minerals have superposable images. the essential products of life, are asymmetric and possess such asymmetry that they are not superposable on their images This establishes perhaps the only well marked line of demarcation that can at present be drawn between the chemistry of dead matter and chemistry of living matter.

Louis Pasteur, 1860

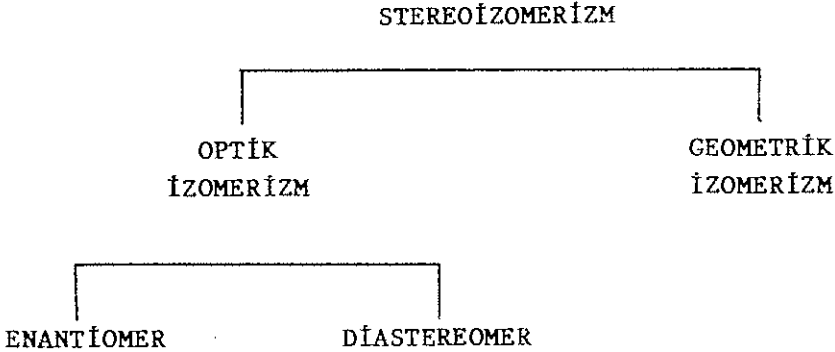
* Ecz. R.S.H.M.B. İlaç ve Kozmetikler Araştırma Müdürlüğü, Ankara – TÜRKİYE

** Prof.Dr. H.Ü. Eczacılık Fak. Farmasötik Teknoloji A.B.D., Ankara – TÜRKİYE

GİRİŞ

Bir moleküldeki grupların uzayda yerleşimindeki farklılık ile ortaya çıkan yapısal izomerizme stereoisomerizm denmektedir. Stereoizomerler geometrik izomerler ve optik izomerler olmak üzere iki gruba ayrılır (1) (Tablo 1).

TABLO-1: Stereoizomerizmin sınıflaması (1)



Geometrik izomerizm asimetric atom mevcudiyetine bağlı olmayıp, bir bağın iki tarafındaki grupların dispozisyonuna göre tanımlanır. Geometrik izomerleri tanımlamak için cis ve trans terimleri kullanılır. Cis, iki grubun aynı tarafta olduğunu, trans ise grupların karşıt taraflarda olduğunu gösterir. Bir ilaçta geometrik izomer bulunuyorsa ilaç olarak sadece bunlardan biri kullanılır, diğer izomer ise impurite kabul edilir. rnek olarak dietilstilbestrol tedavide trans izomer olarak kullanılır, cis izomeri ise impurite kabul edilir.

Optik izomerizm ise molekülde asimetric atom bulunması "kiralite" sonucu ortaya çıkmaktadır. Molekülde böyle bir stereomerkez bulunması sonucu olan asimetric yapıdaki "kiral" maddeler, bir çift eldiven gibi birbirine benzer, ancak bir kiral yapıda madde kendisinin ayna görüntüsüyle üstüste çakışamaz. Bir kiral molekülün aynadaki görüntüsüne eşdeğer diğer molekül ise enantiomer veya anti-pod olarak adlandırılır. Aynı molekülün iki stereoisomeri arasında ayna görüntüsü açısından böyle bir ilişki yoksa, bu stereoisomerlere ise diastereomer denmektedir. Enantiomerlerin polarize ışık karşısındaki davranışları hariç diğer fiziksel özellikleri birbirine benzer, halbuki diastereoisomerlerin fiziksel özellikleri birbirinden çok farklıdır.

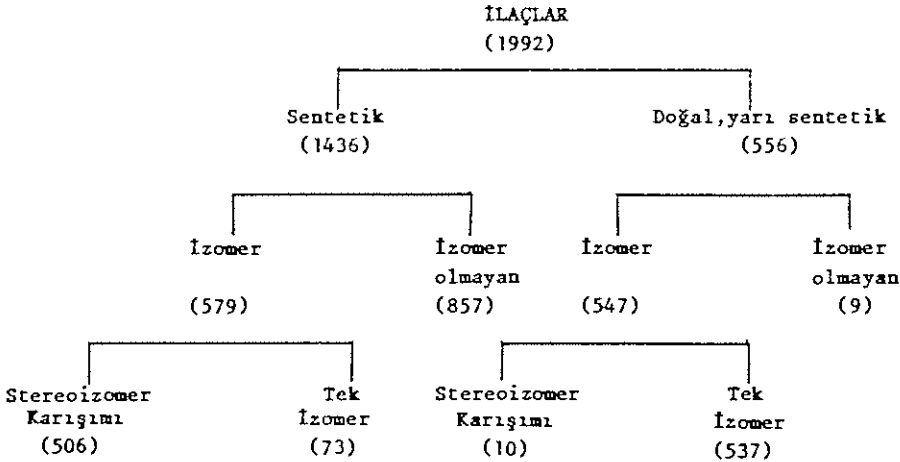
Molekülde asimetri en sık olarak karbon atomu mevcudiyetinde görülür. Karbon atomu dışında katerner azot atomu veya siklofosfamidde olduğu gibi fosfor atomu asimetric atom olarak bulunabilir. Molekülde birden fazla stereo merkez varsa, birçok stereoisomer ortaya çıkacaktır. Kural olarak n adet asimetric karbon

atom ihtiva eden bir molekül için en çok 2^n kadar stereoisomer bulunabilir.

Stereokimyasal isimlendirme ve semboller ile ilgili diğer tanımlar ekte verilmiştir.

Amino asitler, şekerler, peptidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyolojik moleküllerin büyük çoğunluğu asimetrik yapıdadır. Keza doğal kaynaklı ilaçların çoğu optikçe aktiftir. Örneğin, kinin ve kinidinin yapılarında dört asimetrik karbon atomu bulunur. Buna göre teorik olarak 16 optik izomeri bulunması mümkün iken, tabiatta sadece kinidin, kinin, epikinidin, epikininin olarak dört izomeri bulunmuştur ve rasemik bileşiği yoktur. Keza afyondan sadece (–) morfin, yüksek otundan sadece (+) digitoksin elde edilmektedir. Doğal ürünlerin tersine sentetik maddeler genellikle, rasemat veya diastereoisomer karışımı halinde elde edilirler. Ancak asimetrik sentez veya stereoisomerlerin ayrılması yollarıyla saf izomerler elde edilebilir. Bu işlemler zor ve pahalı olduğundan, pekçok ilaç stereoisomer karışımı olarak piyasada bulunmaktadır (2). Tablo 2’de görüldüğü gibi ilaçların yaklaşık % 25’i, izomerizm gösteren ilaçların ise % 88’i; stereoisomer karışımı olarak ilaç piyasasında satılmaktadır. Ayrıca stereoisomerizmin beşeri ilaçlar kadar pestisitlerde de sözkonusu olması nedeniyle çevrenin büyük ölçüde rasematta bulunan yararlı insektisit izomerleri ile kirletildiğine dikkat çekilmektedir. Zira 550 pestisit 83 tanesinin (% 15) rasemat olduğu bildirilmektedir (3, 4).

TABLO—2: 1992 adet ilacın izomerizm açısından sınıflaması (2)

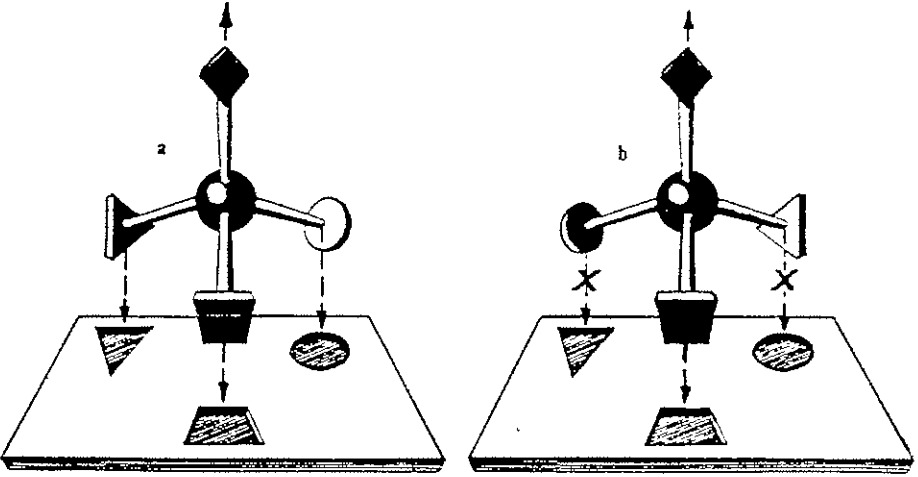


İzomerlerin biri farmakolojik olarak aktif, diğeri inaktif ise; rasematlar % 50 impurite içeren etken madde olarak kabul edilebilir. Hatta inaktif olmanın ötesinde belki de asıl farmakolojik etkiden sorumlu olmayan izomer, tam tersine yan etkilerden sorumlu olabilecektir. Böyle bir olay talidomid ile yaşanmıştır. Talido-

midin iki enantiomeride eşit sedatif etki gösterir, ancak 1-enantiomer ve bunun glutamik asit metaboliti teratojenik etkilidir. Bu husus önceden araştırılarak piyasaya sadece d-enantiomer olarak sunulsaydı, yaşanan talidomid felaketini önlemek mümkün olabilirdi.

Farmakodinamik Açından İzomerizm :

İlaç etkisini açıklamak için geliştirilen reseptör teorisi stereoizomerlerin farmakolojik etkilerindeki farklılıkları açıklamak için yardımcı olmaktadır (Şekil 1) Şekilden şematik olarak görüldüğü gibi izomerin biri ile reseptörün üç noktada etkileşmesi mümkün iken onun stereoizomeri ile ancak bir noktada etkileşebilecek ve reseptöre bağlanma farmakolojik etkinin ortaya çıkmasında belirleyici olacaktır.



ŞEKİL-1: Reseptörde etkileşme (1).

- Üç noktada etkileşme mümkün
- Bir noktada etkileşme mümkün

Rasemik karışım olarak bulunan ilaçların her iki izomeride terapötik etkinlik gösterebileceği gibi, bazen sadece enantiomerlerden biri terapötik etkinlikten sorumlu olabilir. Diğer enantiomerin istenmeyen özellikleri veya farklı terapötik etkinliği bulunabilir ya da iki izomer arasında etki yönünden kantitatif farklılık bulunabilir. Ariens, rasematlarda farmakolojik etkiden sorumlu olmayan izomerin inaktif olarak kabul edilmemesi gerektiğine işaret ederek sonuçta farmakodinamiyi etkileyecek tam 11 çeşit ilişki kurulabileceğine dikkat çekmiştir (5). Bu şekilde farklı farmakodinamik ve farmakokinetik özellikleri olan stereoizomerlerin rasemik

karışımında bir arada bulunması iki ayrı ilacı aynı zamanda hastaya vermeye benzetilebilir. Bu nedenle stereoizomerlerin herbirinin farmakolojik özellikleri değerlendirilerek rasemik karışımın risk/fayda oranı araştırılmalıdır (6). Bu yaklaşıma bir örnek olarak indakrinon verilebilir. İndakrinonun (–) izomeri diüretik etki gösterir, bu arada ürik asit tutulmasına neden olur. (+) izomer ise ürikozürük etkilidir, böylece (–) izomerin yan etkisini antagonize etmektedir. Ancak 1:1 izomer oranının klinik açıdan optimum olmadığı, 1:4 veya 1:8 oranının tercih edilmesi gerektiği belirtilmektedir (7). Bu gibi farmakodinamik açıdan farklılık gösteren ilaçlar için aşağıdaki örnekler verilebilir.

– Levodopa: Rasemik karışımın çok ciddi yan etkileri vardır. Bu nedenle d–enantiomer tedavide kullanılmaz (8).

– Ibuprofen: S (–) enantiomer aktif, diğeri inaktiftir (9).

– Warfarin: S (–) enantiomer, diğere göre 2–5 kat daha aktiftir (10).

– Alfa metil dopa: Farmakolojik etki tamamen S–enantiomere aittir (1).

– Propranolol: S–propranolol, beta adrenerjik reseptörler üzerinde R–propranolole nazaran 100 misli etkilidir (11).

– Levamisol: S (–) enantiomerin antihelmentik etkisi daha kuvvetli, yan etkisi daha azdır (12).

– Naproksen: Farmakopelerde aktif olan S (+) enantiomer yer almıştır (13, 14).

– Siklofosfamid: (–) Siklofosfamid, (+) siklofosfamide nazaran 2 misli aktif ve daha az toksiktir (15).

– Kinin ve kinidin: Kinidin, kinine nazaran daha çok antiaritmik ve anti-ma-teryal aktivite gösterir. Ancak kinin kardiodepresan aktivitesi kinidinden daha az olduğu için emniyet açısından malarya tedavisinde tercih edilir (16, 17).

– Barbitüratlar: (+) Barbitüratlar santral sinir sisteminde eksitasyona neden olurlar, (–) barbitüratlar ise sedatif etkilidir (18).

– Penisillamin: D–formu kullanılır. L–penisillamin ve rasemat çok toksiktir (14, 28).

– Timolol: S (–) timolol, glokom tedavisi için topik olarak gözlere uygulandığında sistemik dolaşıma geçmekte ve beta adrenerjik reseptörleri bloke etmesi nedeniyle bronkokonstrüksiyona neden olmaktadır. Bunun sonucu olarak bronşiyal astım veya diğer kronik pulmoner rahatsızlığı olan hastalarda oküler tatbikten sonra 16 ölüm vakası bildirilmiştir (19, 20). Halbuki R (+) timolol göz içi basıncını önemli derecede düşürmekte, fakat adrenerjik reseptörler üzerindeki blokatif etkisi diğer izomer kadar olmamaktadır. Bu yüzden R–enantiomer glokom tedavisi için daha emniyetli bir ilaçtır.

– Mianserin: (+) izomerin antidepressan etkisi daha güçlüdür (21).

– Verapamil: Enantiomerlerin kalp üzerine etkileri dikkate alındığında (+) enantiomer emniyet açısından tercih edilmesi gereken bir antianginal ilaç olarak görülmektedir (22, 23).

– Propoksifen: Dekstropoksifen analjezik bir ilaçtır, halbuki levopropoksifen antitussiv etkilidir (24).

– Ketamin: (–) Enantiomer hem yan etkilerden sorumludur, hem de anestezi etkisi daha düşüktür (25).

– İndakrinon: (–) izomer diüretiktir, ancak ürik asit tutulmasına da neden olur. Bu yan etki (+) izomer tarafından antagonize edilir (7).

– Bupivakain: (–) İzomerin lokal anestetik etkisi daha uzundur, zira bu izomer vazokonstriktör etkilidir (26). Ayrıca lokal anesteziye kullanılan prilokain ve mepivakain için de aynı durum sözkonusudur (27).

– Estron: (+) form östrojenik hormondur, (–) form inaktiftir (28).

– Selegilin: (–) izomerinin MAO inhibitörü etkisi diğer izomerden daha güçlüdür, ayrıca biyotransformasyon sonucu (+) selegilinden daha toksik (+) amfetamin oluşmaktadır (5).

SONUÇ

Bilindiği gibi pek çok sentetik ilaç asimetrik atom içermekte ve bunun sonucu olarak çeşitli izomerlere sahip olmaktadır. Bu izomerler ise farklı farmakokinetik, farmakodinamik ve toksikolojik özelliklerde olabilirler. Gene bilinen bir husus ilaç etken maddelerinin piyasada çoğunlukla izomer karışımı olarak rasemik formda bulunmalarıdır. Bu nedenle ilaç üreticilerinin yeni ilaç moleküllerinin ruhsatlandırılması sırasında, ruhsatlandırılması istenen madde ister saf enantiomer, isterse rasemik karışım olsun; maddenin izomerlerinin özellikleri hakkında yeterli bilgiye sahip olmaları ve bu bilgileri resmi makamlara iletmeleri gerekmektedir (29).

TABLO–3: Yeni ruhsat alacak kiral yapıdaki bir ilaç için uygulanması gereken testler (30).

Piyasada bulunan	Piyasada yeni çıkan	Farmakolojik, Toksikolojik, Farmakokinetik, Klinik Çalışmalar
-	Tek enantiomer	a) Standart işlemler (*)
-	Rasemat Enantiomer oranı = 1	a) Rasemat ile çalışılmalı b) İzomerler ile çalışılmalı
-	Enantiomer karışımı Enantiomer oranı < > 1	a) Karışım ile çalışılmalı b) İzomerler ile çalışılmalı
Rasemat	Tek enantiomer	a) Standart işlemler b) Diğer enantiomerin, aktif izomerin tesir ve kinetiğine etkisine dair çalışmalar
Enantiomer	Diğer enantiomer	a) Standart işlemler
Enantiomer	Rasemat veya karışım	a) Rasemat veya karışım ile çalışılmalı b) Yeni enantiomerle çalışma

(*) Yeni moleküllere uygulanan standart çalışmalar

Ancak birkaç kiral merkezi olan bir ilaç gözönüne alındığında bu hususun oldukça zor yönleri olduğu anlaşılmaktadır (30). Buna rağmen resmi makamlar tarafından bir ilacın rasemat halinde veya enantiomer olarak kullanılması ile ilgili kriterler saptanmalıdır. Bu konuda ruhsat aşamasında Campbell (30) kimyasal açıdan bütün izomerlerin ve oranının tayinini, sentez sırasında seriler arasında izomer bileşimindeki değişimi ve izomerlerin kesin yapılarının bilinmesini şart koşturma ve yapılacak farmakolojik, toksikolojik, farmakokinetik ve klinik çalışmalarla ilgili önerilerde bulunmaktadır (Tablo 3).

Sonuç olarak bu konuda çeşitli ülkelerin ruhsat ve farmakope komisyonlarının, üniversiteler ile ilaç üreticilerinin önlerinde çetin bir yol olduğu anlaşılmaktadır.

EK: Stereokimyasal isimlendirme, semboller ve terimler

Stereoisomerizm: Bir moleküldeki grupların uzaydaki sıralanışında farklılık ile ortaya çıkan izomerizm. Geometrik ve optik izomerizm olarak iki çeşittir.

Kiral: Kendisinin ayna görüntüsü ile üst üste çakışmayan asimetric yapıdaki molekül.

Enantiomer (antipod): Biri diğerinin ayna görüntüsü olan stereoizomerler.

Diastereomer: Birden fazla kiral merkez ihtiva eden molekülün ayna görüntüsü ile çakışmayan stereoizomerleri.

+, - (d/l): Polarize ışığın titreşim düzleminin ne yöne çevrildiğini gösterir. (+) saat yönünde, (-) saatin ters yönünde çevirir. Bu sistem d/l sistemiyle eşanlamlı olup, d (+) ve l (-) anlamındadır. (\pm) rasemik karışımı gösterir.

Cis/trans: Geometrik izomerizmi tanımlamak için kullanılır. cis, iki grubun aynı tarafta olduğunu, trans gruplarının zıt taraflarda olduğunu gösterir. Gene geometrik izomerizmde kullanılan Z/E notasyonu cis-trans notasyonuna benzer. Gruplar aynı tarafta ise Z-izomer (zusammen), karşıt tarafta ise E-izomer (entgegen) olarak adlandırılır.

D/L: Kiral merkezin kesin stereokimyasını tanımlamak için kullanılır. Normalde aminoasitler, karbonhidratlar ve bunların türevleri için kullanılır. IUPAC ise kesin yapıyı tanımlamak için R (rectus) ve S (sinister) olarak izomerleri belirten sistemi benimsemiştir.

Eutomer: Farmakolojik aktif enantiomer.

Distomer: Farmakolojik yönden inaktif enantiomer.

Meso: Kiral merkezi olan bir molekülün yarısı, diğer yarısının ayna görüntüsüdür. Buna meso-izomer denir. Meso-izomer optikçe aktif değildir, çünkü bir yarısının optik çevirmesi diğer yarısı tarafından tamamen nötr hale getirilir (meso-tartarik asit)

Epimer: Birkaç kiral merkez ihtiva eden bir molekülde, birçok stereoizomer olabilir. Kiral merkezlerin yalnız biri aynı konfigürasyonda olan izomerler epimer olarak isimlendirilir.

Alfa, beta: Bazı halkalarda, özellikle steroidlerde stereokimyasal tanımlama için kullanılır. Yapı iskeleti tek planda çizildiğinde; öne doğru olan substitüentler beta, arkada kalan substitüentler alfa olarak isimlendirilir.

KAYNAKLAR

- 1- Seymour, M. "Stereoisomerism in Pharmaceuticals" *The Pharmaceutical Journal* 244, 6, 25-29 (1990)
- 2- Martens, J., Bhushan, R. "Importance of Enantiomeric Purity and Its Control by Thin Layer Chromatography" *J.Pharm. Biomed. Anal.* 8, 3, 259-269 (1990)
- 3- Ariens, E.J. "Stereochemistry, a Basis for Sophisticated Nonsense in Pharmacokinetics and Clinical Pharmacology" *Eur.J. Clin. Pharmacol.* 26, 663-668 1984.
- 4- Ariens, E.J., Wuis, E.W. "Stereoselectivity of Bioactive Xenobiotics—A Pre-Pasteur Attitude in Medicinal Chemistry, Pharmacokinetics and Pharmacology" *Biochem. Pharmacol.* 37, 1, 9-18 1988
- 5- Ariens, E.J. "Chirality in Bioactive Agents and its Pitfalls" *Trends Pharm. Sci.* 7, 200-205 1986
- 6- WHO/General Information "Isomerism as a Determinant of Pharmaceutical Activity" *WHO Drug Information* 4, 2, 58-60 (1990)
- 7- Tobert, J.A., Cirillo, V.J., Hitzengerger, G., James, I., Pryor, J., Cook, T., Buntinx, A., Holmes, I.B., Lutterbeck, P.M. "Enhancement of Uricosuric Properties of Indacrinone by Manipulation of the Enantiomer Ratio" *Clin. Pharm. Ther.* 29, 344-350, 1981.
- 8- Cotzias, G.C., Papisillio, P.S. Gellene, R. "Modification of Chronic Treatment with L-dopa" *N.Engl.J.Med.* 280, 337-345, 1969.
- 9- Romero, A.J. Rhodes, C.T. "Approaches to Stereospecific Preformulation of Ibuprofen" *Drug Develop. Indust. Pharm.* 17,5, 777-792, 1991
- 10- Williams, K., Edmund, L. "Importance of Drug Enantiomers in Clinical Pharmacology" *Drugs* 30, 333-354, 1985
- 11- Barrett, A.M. Cullum, V.A. "The Biological Properties of the Optical Isomers of Propranolol and their Effects on Cardiac Arrhythmias" *Brit. J. Pharmacol.* 34, 43-55, 1968.
- 12- Thienpont, D. Brugmans, J.Abadi, K. Tanamol, S. "Tetramisole in the Treatment of Nematode Infections in Man" *Amer. J.Trop.Med. Hyg.* 18,520-525 1969
- 13- USP XXII/NF XVII, The United States Pharmacopeial Convention, Inc, 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, USA

- 14- Kean, W.F., Lock, C.J.L., Howard—Lock, H.E. "Chirality in Antirheumatic Drugs" *Lancet*, 338, Dec. 21/28, 1565—1568, 1991
- 15- Cox, P.J. Farmer, P.B. Jarman, M. Jones, M. "Observations on the Differential Metabolism and Biological Activity of the Optical Isomers of Cyclophosphamide" *Biochem. Pharmacol.* 25, 993—996, 1976
- 16- White, N.J. Loocareesuman, S. Warrell, D.A. "Quinine and Quinidine: A Comparison of EKG Effects during the Treatment of Malaria" *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 5, 173—175, 1983
- 17- Drayer, D.E. "Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Differences between Drug Enantiomers in Humans: An Overview" *Clin. Pharm. Ther.* 40, 2, 125—132, 1968
- 18- Ho, I.K. Harris, R.A. "Mechanism of Action of Barbiturates" *Ann.Rev. Pharmacol. Toxicol.* 21, 83—111, 1981
- 19- Fraunfelder, F.T. Barker, A.F. "Respiratory Effects of Timolol" *N.Engl. J.Med.* 311, 1441—1445, 1984
- 20- Richards, R. Tattersfield, A.E. "Bronchial Beta Adrenoceptor Blockage following Eyedrops of Timolol and its Isomer L—714, 465 in Normal Subjects" *Brit. J.Clin. Pharmacol.* 20, 459—462, 1985
- 21- Hand, T.H., Marek, G.J., Seiden, L.S. "Comparison of the Effects of Mianserin and its Enantiomers and Metabolites on a Behavioral Screen for Antidepressant Activity" *Psychopharmacology*, 105, 453—458, 1991
- 22- Ferry, D.R. Glossmann, H. Kaumann, A.J. "Relationship between the Stereoselective Negative Inotropic Effects of Verapamil Enantiomers and Their Binding to Putative Calcium Channels in Human Heart" *Brit. J.Pharmacol.* 84, 811—824, 1985
- 23- Satoh, K. Yanagisawa, T. Taira, N. "Coronary Vasodilator and Cardiac Effects of Optical Isomers of Verapamil in the Dog" *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2, 309—318, 1980
- 24- American Medical Association, Drug Evaluations 6.Ed. pg.62, W.B. Saunders Company 1986
- 25- White, P.F. Ham, J. Way, W.L. Trevor, A.J. "Pharmacology of Ketamine Isomers in Surgical Patients" *Anaesthesiology* 52, 231—239, 1980
- 26- Aps, C., Reynolds, F. *Brit. J.Clin. Pharmacol.* 6, 63—68, 1978
- 27- Calvey, T.N. "Chirality in Anaesthesia" *Anaesthesia*, 47, 93—94, 1992
- 28- Fassihi, A.R. "Racemates and Enantiomers in Drug Development" *Int. J.Pharm.* 92, 1—14, 1993
- 29- Sorensen, A.M. "Requirements of the Quality of Chiral Drug Substances" *Acta Pharm. Nordica* 2,3, 181—184, 1990
- 30- Campbell, D.B. "The Development of Chiral Drugs" *Acta Pharm. Nordica* 2, 3, 217—226, 1990

DÜZELTME

Dergimizin Cilt 50 Sayı 1, Yıl 1993 baskısında, "Türkiye'de Neonatal Tetanoz Sorumu" başlıklı makalede birinci yazar olan Levent Ekir'in soyadı "Levent Eker, M.Ali Biliker, Ayten Egemen" şeklindedir.

CORRECTION

In the issue Volume 50, No.1, Year 1993, the first author of the article entitled "Neonatal Tetanus Problem in Turkey" was misprinted. The correct form of the authors should be;

"Levent Eker, M.Ali Biliker, Ayten Egemen"

Instead of;

"Levent Akın, M.A" Biliker, Ayten Egemen"

DÜZELTME

Dergimizin Cilt 50 Sayı 1, Yıl 1993 baskısında, "Türkiye'de Üretilen Bazı Sıvı Yağların Bileşiminde Bulunan E Vitamini Miktarı ve Bekleme Sonucu Oluşan Kayıpların Araştırılması" başlıklı makalenin yazarları;

"Zuhal Demirörs, Ayten Egemen, Orhan Köksal, Mehmet Bozkurt"

Şeklindedir.

CORRECTION

In the Issue Volume 50, No 1, Year 1993, the authors of article entitled "Determination of vitamin E content of some vegetable oils produced in Turkey assessing the loss during storage" should be;

"Zuhal Demirörs, Ayten Egemen, Orhan Köksal, Mehmet Bozkurt"