

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
REFİK SAYDAM HIFZISSIHHA MERKEZİ
BAŞKANLIĞI

TÜRK HIJYEN VE DENEYSSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

Cilt : 51 - No : 2
(1994)

ISSN 0377 - 9777

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

TÜRK HIJ.DEN.BİYOL.DERG.
VOL : 51 - No : 2
(1994)

Aile Planlaması ve Ana Çocuk Sağlığı Genel Müdürlüğü
Malbaası - ANKARA

TÜRK

HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ

DERGİSİ

Sahibi : Refik Saydam Hifzissihha Merkezi Başkanlığı adına
Başkan (President) : Prof.Dr.Nazmi ÖZLER

YAYIN KURULU (Editorial Board)

Mik.Uz.İngin GÜVENER (Editör)
Gıda Müh.Serdar Alp SUBAŞI
Dr.Nilay ÇÖPLÜ (Kıml Sekreteri)
Dr.Ecz.Nida BESBELİ
Ecz.Tezer BURAT
Mik.Uz.Çiğdem ARTUK
Bio.Kim.Uz.Şükran ERDİR
Kim.Yük.Müh.Banu PAYER
Mik.Uz.Valide KOÇAK
Ecz.Bora YAĞIZATLI

Teknik Yönetmen Nevzat IŞIK (Yay.Dak.Müdüml)
Mizanpaj Murat DUMAN
Dizgi Nesrin AYABAKAN

ISSUED BY
PUBLISHED BY
HERAUSGEGEBEN VOM

REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü
Ankara-TÜRKİYE

Seneede iki defa çıkar
The Bulletin is Issued twice a year
Revue paraittent deux fois par an
Die Zeitschrift erscheint zweimal Jaehrlich

YAZIM KURALLARI

1- Türk Hıjyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'nde Refik Saydam Hıfzısıssıha Merkezli Başkanlığı'nda yürütilen fızmeller ile ilgili olarak aşı ve serum, çevre, ilaç ve kozmetik, toksikoloji, mikrobiyoloji, gıda, biyokimya ve benzeri konularda aşığıda belirtilen özellikleri taşıyan yazılar yayımlanabilir.

- a) Bilimsel araştırmalar, yukarıda belirtilen konularla ilgili orđinal laboratuvar çalışmaları,
- b) Kısa bildiriler
- c) Derleme yayınlar

2- Yazılar beyaz kağıda, solda 3 cm. boşluk bırakılıp, 2 satır aralıklı olarak yazılmalı, TÜRKÇE yada İNGİLİZCE üç kopya halinde gönderilmelidir.

3- Orđinal araştırmalar : Türkçe başlık, İngilizce başlık, Türkçe özel (50-100 kelime), İngilizce özel, Giriş (en çok 200 kelime), Gereç ve yöntem, Bulgular, Tartışma, Kaynaklar bölümlerini içermelidir. Eserin başlığı meline uygun, kısa ve açık olmalı, yazar veya yazarların adı soyadı başlık altına yazılmalı, ünvanı ve lam adresleri yıldızla işaretilenip dipnot olarak verilmelidir.

4- Kaynaklar, melinde parenlez içinde (örneğin (1) şeklinde) numaralandırılıp belirtilmeli, melin sonunda eser içinde verililş sırasına göre yazılmalıdır. Kaynak belirtilirken řu özelliklere uyulmalıdır.

Kaynak Bir Makale İse : Yazarın soyadı, adının baş harfi, makalenin lam başlığı, derginin adı (varsa uluslararası kısaltmaları), cilt numarası, sayı, başlangıç ve bitilş sayfa numarası, yıl. Örneğin : Oakes A.R., Badger R, Grove D.I. Comparison of direct and standardized testing of infected urine for antimicrobial susceptibility by disk diffusion. J. Clin. Microbiol. 32; 1; 40-45, 1994.

Kaynak Bir Kitap İse : Yazarın soyadı, adının baş harfi, kitabın adı (varsa editörü), kaçınıcı baskı olduğu, yayımlandığı yer, yayınevi, yayın yılı, Örneğin : Balows A, Hausler Jr. W.J, Hermann K.L, Isenberg H.D, Tenenbaum H.J. Manual of Clinical Microbiology, fifth ed. Washington, American Society of Microbiology.

Kaynak Kitaptan Bir Bölüm İse : Bölüm yazarının soyadı, adının baş harfi, bölümün adı, bölümün alındığı kitabın adı ve parenlez içinde editörün adı, kaçınıcı baskı olduğu, yayımlandığı yer, bölüm sayfa numarası, yıl ve varsa seri kaydı. Örneğin; Gür D. Anıbiyotiklerde direnç mekanizmaları. Anıbiyotikler Temel Bilgiler ve Klinik Kullanımları (Akalin H.E) Birinci baskı, Ankara, 27-32, 1989.

5- şekil ve tablolar, çini mürekkebi ile aydınger kağıl ya da beyaz kuşe kağıda çizilmeli yada laser prinleri bilgisayarla hazırlanmalı, resimler parlak folograf kağıdırına nel 12 X 8 cm. ebadında basılmış olmalıdır. Eserde kullanılan grafik ve folograflar da şekil olarak isimlendirilmeli numaralandırılmalıdır. şekil 13 X 18 cm.'den daha büyük olmalıdır. şekil ve tabloların altında, şekil yada tabloda verilen bilgileri açıklayıcı bir cümle yada başlık bulunmalıdır.

6- Kısa bildiriler : Üç sayfayı aşmayan, önemli sonuçları zaman kaybetmeden yayımlayan orđinal yazılardır. Kısa bildirilerde özet yazılmaz.

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

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

9- Türkçe yazılarda Türkçe imla kurallarına uyulmalı, cümleler açık ve anlaşılır olmalıdır. Kısaltmalar uluslararası normlara uymalıdır.

10- Yazılar yayın kurulunun uygun göreceği kişilerce incelenir. İnceleyen ve yazı sahiplerinin adı gizli tutulur.

11- Yazıların daha önce hiçbir yerde yayımlanmamış olması ve yayın için başka bir dergiyeye verilmemiş olması gerekmektedir.

12- Yayımlanmayan yazılar geri gönderilmez.

13- Dergide yayımlanan yazıların her türlü sorumluluğu yazara aittir.

Yazılar aşığıdaki adrese gönderilmelidir.

Refik Saydam Hıfzısıssıha Merkezli Başkanlığı
Türk Hıjyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi
Yayın ve Dokümanlasyon Müdürlüğu SİHHİYE / ANKARA

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

1- Manuscripts containing vaccination and antisera, environmental science, drug and cosmetic, toxicology, microbiology, food, biochemistry and related subjects which are researched in Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı can be published in Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology and should have the special features below.

- a) The original articles
- b) Short communications
- c) Reviews

2- Manuscripts should be written on white paper, there should be blank 3 cm from the left, written by typewriter in double space format and three copies in Turkish or English.

3- Original articles should contain : Turkish title, English title, Turkish summary (50 - 100 words), English summary, Introduction (not more than 200 words), material and method, results, discussion and references. The title should be concise and descriptive, name of the authors should be written below the title, address and the title of the authors should be written as footnote.

4- References should be numbered consecutively as they are cited. The style of the references should be as below :

If the reference is an article : Surname and the first letter of the name of the author, title of the article, name of the journal, volume, number, page and year. e. g. Oakes A.R, Badger R, Grove D.I. Comparison of direct and standardized testing of urine for antimicrobial susceptibilities by disk diffusion. J.Clin.Microbiol. 32; 1; 40-45; 1994.

If the reference is a book : Surname and the first letter of the name of the author, title of the book (name of the editor, if there is), publication place and year. e.g. Balows A, Hausler Jr. W.J, Herrmann K.L, Isenberg H.D, Shadomy H.J, Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Washington, American Society of Microbiology.

If the reference is a chapter of a book : Surname and the first letter of the name of the author of that chapter, title of the chapter, title of the book and the name of the editor in parentheses, publication place, edition, page of the chapter, publication year and the serial number if there is.e.g. Keusch G.T, Bennett M.L. Shigellosis, Bacterial Infections in Humans (Evans A.S, Brachman P.S), USA, sec. ed., 593-621, 1991, 0-306-43343-5.

5- Figures and tables should be written in Indian ink on heavy glazed paper or by computer, photographs should be on bright paper, 12 X 8 cm. Figures should not be greater than 13 X 18 cm. Title and the number of the figures or tables should be written below.

6- Short communications should not be more than 3 papers, should be about important results that should not waste time. There is no need for the summary.

7- Reviews : Title in Turkish and English, name of the authors, review and the references should take place.

8- Authors of research articles should disclose at the time of submission any financial arrangement that may have with a institution as a footnote, eg. Tübbak has supported this research.

9- Articles are controlled by the editors chosen by the publisher. There will be no information about the names of the author and the editor.

10- Manuscripts that has not been published or submitted elsewhere are acceptable.

11- Manuscripts that has not been published will not be returned back

12- The responsibility of the article belongs to the author.

Address: Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü
Ankara / TÜRKİYE

İÇİNDEKİLER *

SAVFA

- 1- Nural AYDINURAZ, Nezîha YILMAZ, Çiğdem ARTUK
Belirli İlerde Parah Seks Yapan Kayıtlı Kadınların HIV-1 Seropozitifitelei Yümünden Fakipleri. 73
- 2- Abbas YOUSEFİ RAD, Cahit HABÜR, Nezîha YILMAZ, Miğce SEVİNÇ, Nazif KOLANKAYA
Ankara'nın Hazır İbölgeleirindeki Kuşun Sularında Enterik İbakterilerin Araştırılması. 79
- 3- İsa ŞEN, Üvat GURAY
Hıyrsanal ve İtikisel Orijinli Hazır Kuşun Çırhalanın İCMSE (International Commission on Microbiological Specification for Foods) ve FSE'NÜN Mikrobiyolojik Standartlarına Uygunluğunun Smannası. 87
- 4- Mustafa TAYAR, Cengiz ÇETİN, Cem ŞEN, Aysin ŞEN, Ayşegül EYİĞİR
İlursa Et ve Bahk Kurumunda Keşlen Koyun ve Keçilerin Hareketli Acromonastlar Yümünden İncelemesi 97
- 5- Enfal BEŞER, Şekrîran İ.İİAYFAN, Deniz AKKOYUNLU, Mustafa GÜL
Beslenme Alışkanlığı, Hematokrit Düzeyi ve Vücut Kitle İndeksinin Sigara İçimi İle İlişkisi 105
- 6- Nislişah RAKICIOĞLU, Gülden PEKCAN
Ratlarla, Diyete Eklenen Kahve ve Kafenin Besin Tüketimi ve Vücut Ağırlığı Üzerine Etkisi 113
- 7- Pınar ZARAKOLU, Gülşay Gürlek KORUKLUOĞLU, Gülşnur GÜRİSOY, Orhan Cem AKTEPE
Toplum Kaynaklı Staphylococcus Aureus Suşlarının Metisilin Direnci. 121
- 8- Gürol EMEKDAŞ, Carit CAN, Ümer KOCABEYOĞLU
Üdiner Sistemi Enfeksiyonlu Hastaların İrarından İzole Edilen Escherichia Coli ve Klebsiella Suşlarının Antibiyoetik Duyarlılıkları 125
- 9- Gürol EMEKDAŞ, Ümer KOCABEYOĞLU
Coxsackie B Virus Antikorları Saptanmasında Eflsa Yönteminin Değeri. 131
- 10- Abbas Yousefi RAD, Güler AYDIN, Miğce SEVİNÇ
Gastroenterit Olgularında Cryptosporidium spp. ve Diğer Enteropatojenlerin Prevalansı 139
- 11- Selami CANDAN, Hasrı EREN, Cahit HABÜR
Ankara Yöresinde Yakalanan Kör Farelerde (Spalax Lemnodon) İlk Trypanosoma Levisi (Kent, 1880) Olgusu 145
- 12- İhidaverdi GENBEROV, İbrahim ÇAKIR
Kırmızı Et Üzerinde Rastlanan Patojen ve Saprotit Mantarlar 149
- 13- Murat ŞUMNU, Tezer İURAT, Tamer İAYKARA
İlaç Ruhsatlamasına İlişvirmaları İçin Stabilitte Rehberi Taslağı. 153

* Bu sayıda yer alan makele ve derlemeler önceki yazım kurallarına göre eski yayım kurulu tarafından kabul edilmiştir.

CONTENTS

- 1- Nural AYDINURAZ, Nezih YILMAZ, Çiğdem ARTUK
Follow-Up Women, Who Work As Registered Prostitutes In Certain Cities With Respect To Their
HIV-1 Seropositivity 71
- 2- Abbas YOUSEFİ RAD, Cahit BAHÜR, Nezih YILMAZ, Miğce SEVİNÇ, Nazif KOLANKAYA
Investigation Of Enteric Bacteria In Well Water At Some Parts Of Ankara. 79
- 3- İsa ŞEN, Ümit GURAY
A Study On Microbiological Standards Of Icecuf And Tse For Animal And Vegetable Dried Soups. 87
- 4- Mustafa TAYAR, Cengiz ÇETİN, Cem ŞEN, Aysin ŞEN, Ayşegül EYİGÖR
A Study On Motile Aeromonas Species From Sheep And Goat Slaughtered In Bursa Meat And
Fish Organisation 97
- 5- Erdal HEŞER, Şükrücan İLHAYTAN, Deniz AKKOYUNLU, Mustafa GÜL
Cigarette Smoking, Eating Behavior, Blood Hematocrit Level And Body Mass Index 103
- 6- Nedîşah RAKICIOĞLU, Gülden PEKCAN
The Effect Of Coffee And Caffeine On Food Consumption And Body Weight In Rats 111
- 7- Pınar ZARAKOLU, Gölşay Gürlek KORUKLUOĞLU, Gülnur GÜRSOY, Orlhan Cem AKTEPE
The Methicillin Resistance Of Community-Isolated Staphylococcus Aureus 121
- 8- Gürol EMEKDAŞ, Cavit CAN, Ümit KOCAHEYOĞLU
Antibiotic Susceptibility Of Escherichia Coli And Klebsiella Strains Isolated From Urine Of
Patients With Urinary Tract Infection 125
- 9- Gürol EMEKDAŞ, Ümit KOCAHEYOĞLU
Evaluation Of Elisa Method In Determination Of Coxsackie B Virus Antibody Levels. 131
- 10- Abbas YOUSEFİ RAD, Güler AYDIN, Miğce SEVİNÇ
Cryptosporidium spp. In The Gastroenterit Facts And Other Prevalance Of
Enteropatoğens 139
- 11- Selami CANDAN, Hasan EREN, Cahit BAHÜR
The First Report Of Trypanosoma Lewisi (Kent, 1880) In Spalax Leucodan
(Rodentia: Spalacidae) In Ankara 145
- 12- Hlaventli GENIEROV, İbrahim ÇAKIR
Saprophytic And Pathogenic Fungi Isolated From Raw Meat. 149
- 13- Murat ŞUNMID, Tezer BURAT, Tamer BAYKARA
Haç Rulıatlandırma Haşvuruları İçin Stabilitė Redhisi Taslağı. 153

BELİRLİ İLLERDE PARALI SEKS YAPAN KAYITLI KADINLARIN HIV-1 SEROPOZİTİVİTELERİ YÖNÜNDE TAKİPLERİ

Nural AYDINULAZ *

Nezihâ YILMAZ **

Çiğdem AYTUK *

ÖZET

İl Sağlık Müdürlükleri aracılığıyla, 1989 - 1993 yılları arasında AIDS ARAŞTIRMA VE DOĞRULAMA MERKEZİNE gönderilen, 5 değişik il genelevinde cadısan toplam 400 kadın, HIV-1 antikor yönünden test edilmiştir. Mikroelisa yöntemi ile yapılan HIV-1 antikor taramasında hiçbirinde seropozitiflik saptanmamıştır. Daha sonra düzenli olarak kontrole gelen 14 genelev kadınının kan serümları en az 2 aylık aralıklarla, diğerleri ise değişik aralıklarla olmak üzere, 4 yıl boyunca 2-10 kez HIV-1 antikorları yönünden test edilmiştir.

Bu kadınların hiçbirinde seropozitiflik saptanmamıştır.

FOLLOW-UP OF WOMEN, WHO WORK AS REGISTERED PROSTITUTES IN CERTAIN CITIES WITH RESPECT TO THEIR HIV-1 SEROPOSITIVITY

SUMMARY

The blood samples of four hundred women, who work as registered prostitutes in legally permitted red lightdistricts at five different cities, were examined serologically for HIV-1 antibodies in AIDS Research and Confirmation Center at Refik Saydam Hygiene Institute Virology Laboratory in the period of 1989 and 1993.

These sera were collected and transported to the laboratory by the Health Directorate of these cities. In these screening studies 14 women out of 400 came to control regularly in every two months. The others come to control at least 2 to 10 times for HIV-1 antibody testing during the period of four years between 1989 and 1993.

No seropositivity were detected.

GİRİŞ ve AMAÇ

Dünyayı altüst eden AIDS salgını milliyet, seks ve yaş sınırlarını zorlamaktadır. AIDS'e yol açan HIV enfeksiyonu, gelişmiş ülkelerde olduğu kadar gelişmekte olan ülkelerde de kadın, erkek ve çocuk ayrımı gözetmeksizin toplumun her kesiminde görülmektedir. Dünyada pek çok ülkede son yıllarda, kadınlar arasında gerek AIDS olgularının, gerekse aile

plamlaması, doğum öncesi bakım ve düşük gibi ireme sağlığı ile uğraşan kliniklere başvurular arasında saptanan HIV pozitif olguların hızla arttığı görülmektedir. HIV enfeksiyonları da diğer kadın ve aile sağlığı gibi kadının toplum ve aile içindeki statüsünden etkilenir.

Bu nedenle toplum ve aile içindeki statüsünün düşük olduğu ülke veya kesimlerde genel

* Mikrobiyoloji Uzm., Refik Saydam Hifzıssıhha Merkez Başkanlığı, Viroloji Lab. Ankara/TÜRKİYE

** Enf.Hasl.ve Klin.Mik.Uzm.Dr., Refik Saydam Hifzıssıhha Merkezi Başkanlığı Viroloji Lab. Ankara/TÜRKİYE

sağlık sorunları ve doğum kontrolü sorunlarıyla birlikte, HIV enfeksiyonları da kadınlar için büyük bir tehlike oluşturacaktır. Kadınlar arasında da en yüksek riski taşıyanların para karşılığında seks yapanlar olduğu açıktır.

AIDS etkeni olan HIV'in perinatal olarak, cinsel ilişki, enfekte kan ve kan ürünleri olmak üzere başlıca üç yolla bulaştığı bilinmektedir (1-4). Bir tedavi inkamı bulununcaya kadar bu hastalığı kontrol etmenin tek yolu, insan bağışıklık eksikliği virusu (HIV) enfeksiyonunun üç yayılma şekline yönelik koruma önlemleri almaktır. Söz konusu enfeksiyonun kan infüzyonu veya inokülasyonu yoluyla yayılmasının önlenmesi için transfüzyonda kullanılan kanların ve kan ürünlerinin sıkı denetimi altında tutulması ve intravenöz uyuşturucu kullanımlarının, alınacak önlemler konusunda eğitilmesi gerekir. Enfeksiyonun perinatal olarak yenidoğana bulaşı, anne adaylarının HIV antikoları yönünden taraması ve pozitif sonuç alınarlarda gebelikten sakınılması, gebe kalınış olanlarda ise, medikal abortus önerilmesi uygundur (3,5).

Burada üçüncü ve en sık rastlanan bulaşma şekli olan cinsel ilişkiyle bulaşmanın kontrol altına alınma stratejilerini ele almaya çalıştık.

AIDS vakalarının daha çok eşcinsel ilişkide bulunan kimselerde görüldüğü bilinmekle birlikte bu sendromun karşı cinsle kurulan (heteroseksüel) ilişkiyle de bulaşabileceği bilinmektedir (6-9). ABD'deki Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) 1987 başlarında yaptığı bir saptamada, o zamana kadar bildirilen bütün AIDS vakalarından % 1,9'unun AIDS bulaşı yönünden yüksek riskli grupta ki kimselerle heteroseksüel ilişkiye girenler olduğunu ortaya koydu (10,11). Özellikle Afrika'daki süratli yayılımda heteroseksüel geçişin önemli rol oynadığı saptanmış paralı seks yapanların bu enfeksiyonun yayılımından sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır. AIDS sendromunun heteroseksüel ilişkiyle yayılması çeşitli çalışmalarda incelenmiştir (12-15).

Gerçekte, Afrika ülkelerinin aksine batı ülkelerinde paralı seks yapanlarda HIV enfeksiyonu oranı kısmen düşüktür. Paralı seks yapan-

larda HIV enfeksiyon riski intravenöz uyuşturucu kullanımı, cinsel ilişki sayısı, toplumdaki HIV/AIDS oranı, cinsel temasla bulaşan diğer hastalıkların varlığı, prezervatif kullanma sıklığı, düşük sosyo-ekonomik düzey gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak, coğrafik bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Tüm bu faktörler gözönüne alındığında, paralı seks yapanlar kadar onların heteroseksüel müşterileride, enfeksiyonun yayılımından aynı derecede sorumludur (16-18).

Gerek I.V uyuşturucu kullanma, gerekse enfekte kişilerle cinsel temas sonucu paralı seks yapanların enfekte olabileceği açıktır. Ancak, enfeksiyonun seksüel geçişteki sürekliliğini sağlamada ki rolleri pek bilinmemektedir. Amerika ve Avrupa ülkelerinde hastalığın yayılmasında paralı seks yapanların rolünün önemli olduğunu bildirilmiştir. Bizde 5 farklı ilde ait genelevde çalışan toplam 400 paralı seks yapan kadın değişik aralıklarla HIV enfeksiyonu yönünden yaklaşık olarak 4 yıl boyunca serolojik olarak test ettik. Yapılan bu takip süresince hiçbirinde HIV-1 antikoları yönünden seropozitiflik saptanmadı.

MATERYAL ve METOD

Refik Saydam Merkez Başkanlığı, AIDS ARAŞTIRMA VE DOĞRULAMA LABORATUVARI'na 1989-1993 yılları arasında İl Sağlık Müdürlükleri aracılığıyla gönderilen, beş farklı il genelevinde çalışan (paralı seks yapan) 400 kadına ait kan serumunda, Wellcome-Wellcozyme Recombinant Mikro Elisa kiti ile HIV-1 antikoru test edildi. Daha sonra, bu kişilerden düzenli olarak kontrole gelen 14 kişiye ait kan örnekleri en az 2 ay aralıklarla, diğerleri ise değişen aralıklarda olmak üzere 4 yıl boyunca 2-10 kez HIV-1 antikoru yönünden serolojik olarak takip edildi. HIV enfeksiyonunun bulaşması bakımından önemli bazı faktörlere ait yeterli bir anamnez alınmadı.

BULGULAR

Tüm kadınlara ait ilk kan serumlarında ve daha sonra alınan kan örneklerinde, bu takip süresince (yaklaşık 4 yıl) HIV-1 seropoziti-

tifliğine rastlanılmadı. HIV-1 antikorü yönünden taranan ve değişik sürelerde takip edilen bu kadımlara ait bulgular Tablo-1 ve Tablo-2'de gösterilmiştir

kullanıcılarla eşcinsel veya hişeksüel erkekler, ve hemofili hastalarıdır. HIV enfeksiyon tehlikesi daha düşük olanlar ise büyük kentlerin dışındaki yerlerde yaşayan intravenöz uyuşturucu

TABLO-1 : Paralı seks yapan kadımların illere göre dağılımı ve takip süreleri

Test Edilme Sayısı	İLLERE GÖRE VAKA DAĞILIMI							TOPLAM TEST EDİLEN KİŞİ SAYISI
	NVŞİ	ÇORUM	KSTMN	KRMŞ	YOZGAT	VAN	TOKAT	
1	15	44	6	8	20	19	9	121
2	—	23	15	5	20	15	—	78
3	—	48	14	2	18	19	—	101
4	—	37	4	—	—	9	—	50
5	—	8	2	—	—	6	—	16
6	—	6	4	—	—	3	—	13
7	—	5	2	—	—	—	—	7
8	—	4	1	—	—	2	—	7
9	—	—	2	—	—	5	—	7
Toplamı	15	175	50	15	58	78	9	400

Bu tablodan da anlaşılacağı üzere kadımlar değişik periyodlarla 2 ile 9 kez test edilmiştir.

TABLO-2: Paralı seks yapan kadımlar HIV-1 antikor prevelansı

Takip Süresi	Test Sayısı	HIV-1 ab.prevelansı		Toplamı
		Negatif	Pozitif	
Bir yıldan az	1-3	300	—	300
Bir yıl	4	50	—	50
İki yıl	5-7	36	—	36
İki yıldan fazla	7-9	14	—	14
Toplamı		400	—	400

Test edilen kadımların hiç birinde HIV-1 seropozitifliği saptanamadı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

HIV enfeksiyon tehlikesi en yüksek olanlar, büyük kentlerdeki intravenöz uyuşturucu

ruca kullanıcılarla, eşcinsel veya hişeksüel erkekler ve hemofili hastalarıdır. Paralı seks yapan kadımlar, heteroseksüel yayılımın sık olduğu (Haiti ve Orta Afrika gibi) bölgelerden gelen

heteroseksüeller ile HIV enfeksiyon prevalansını yüksek olduğu bölgelerde çok sayıda kan transfüzyonu uygulanmış kişilerdir (3).

Vajinal yolla kurulan cinsel ilişki sırasında kadını erkeğe göre enfekte olma olasılığı daha güçlü olmakla birlikte bimmü derecesi tam olarak bilinmemektedir. Bögün elimizdeki bilgiler vajen yoluyla cinsel ilişki sırasında kadını erkekte enfeksiyon kapma ihtimali % 0.2 veya daha düşük olduğunu göstermektedir. Anal ilişki ve genital herpesin varlığı, virüs için giriş kapısını hazırlayabilen ve böylelikle enfektiviteyi artıran değiştirilebilir iki faktördür. Değiştirilemeyen tek faktör ise enfeksiyonun dönemidir. Yapılan bir çalışmada prezervatif kullanımının HIV enfeksiyonunun % 10 oranında azalttığı hesaplanmıştır. Her zaman gereken şekilde ve özellikle de spermisid kremlerle birlikte kullanılan prezervatiflerin HIV enfektivitesini azalmakta daha etkili olabileceği öne sürülmüştür (3).

Afrika ülkelerinin tersine batı ülkelerinde paralı seks yapanlarda HIV enfeksiyon oranı kısmen düşüktür. Orta Afrikada'ki heteroseksüel ilişki ile yayılım, o yöredeki cinsel ilişki ile bulaşan diğer hastalıkların sık oluşu ile açıklanmaktadır. Paralı seks yapan kayıtlı kadınlar da sağlık kontrolleri düzenli olarak yapıldığından, bu kişiler kayıtsız olarak paralı seks yapanlardan daha az risk taşıyor gibi görünmektedir.

Cinsel davranışlarla HIV bulaşma tehlikesi arasındaki ilişkiyi değerlendirebilmek için, serimdeki HIV antikör durumunu çeşitli faktörlerle birlikte değerlendirilmelidir. Bunlar;

- 1- Belirlenen toplam (vajinal, anal, oral) cinsel ilişki sayısı
- 2- Prezervatif kullanım
- 3- Özel cinsel aktivite uygulamaları
- 4- Hayat boyu geçirilmiş, cinsel temasla bulaşan diğer enfeksiyonların sayısı ve bunlara ait serolojik kanıtlar
- 5- Cinsel ilişki kurulan eş sayısı
- 6- İlişkide bulunulan eşin AIDS riski yönünden bulunduğu kategori (hemofiliak, intravenöz ilaç kullanımı, homoseksüel ya da heteroseksüel ilişki)
- 7- İlişkide bulunan kişinin enfektivit yönünden bulunduğu dönem (ki enfektivite olasılıkla, hastalık ilerledikçe artacaktır) (3,6).
- 8- Eşlerin genetik özellikleri, virüsün süresi, ilaç tedavisi (zidovudin kullanılması), yaş veya bimmü bilinmeyen birçok faktöre bağlı olabilmektedir

Paralı seks yapan bu kadınlarda yaptığımız tarama ve takip sonucunda HIV-1 antikör yönünden tamamen negatif olmaları bunların HIV/AIDS riski taşımadığı anlamına gelmeyip bu sektörde çalışan kadınların ve müşterilerinin eğitim ve kontrollerinin süreklilik gerektirdiğini ortaya koymaktadır.

Sayılan bu faktörler çözümlene alındığından, enfeksiyon riski, ne olursa olsun erkeklerin ve kadınların, karşı cinsten (heteroseksüel) ilişkiyle HIV bulaşma olasılığını azaltacak önlemler bakımından eğitilmesinin son derece önemli olduğu, açıkça ortadadır (6).

KAYNAKLAR

- 1- Alan R. Lifson, MD, MPH: AIDS'in Değişik Bulaşma Yolları Var mı? Gelişim Jama Derg. 1:5, pp:325-29, 1988.
- 2- Update: Human immunodeficiency virus infections in health-care workers exposed to blood of infected patients. MMWR 36: 235-289, 1987.
- 3- Norman Hearst, MD, MPH; Stephen B. Rosen, MD: Karşı cinsten (heteroseksüel) AIDS Bulaşmasını Önleme. Gelişim Jama Derg.1:7 p: 490-97, 1983.
- 4- Jaffe HW, Hardy Am, Morgan WM, et al: The acquired immunodeficiency syndrome in gay men. Ann Intern Med. 103 pp:662-664, 1985.

- 5- Friedland GH, Klein RS: Transmission of the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med.* 317 p:1125-35, 1987.
- 6- Nancy Padian, PhD; Linda Marquis; Donald P. Francis; et al: Erkekten kadma HIV bulaşması. *Gelişim Jama Derg.*, 1:12, p:65-67, 1988.
- 7- Masur H, Michelis MA, Wormser GP, et al: Opportunistic infection in previously healthy women: Initial manifestations of a community acquired cellular immunodeficiency. *Ann Intern Med.* 97:533-539, 1982.
- 8- Harris C, Small CB, Klein RS, et al: Immunodeficiency in female sexual partners of men with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 308: 1181-84, 1983.
- 9- Pitchenik AE, Fischl MA, Spira TJ: Acquired immunodeficiency syndrome in low risk patients: Evidence for possible transmission by an asymptomatic carrier. *Jama* 250: 1310-12, 1983.
- 10- AIDS Weekly Surveillance report, April 27, pp1-5, 1987.
- 11- Thomas A, Peterman Rand L, James R, Harold W, et al: Transfüzyon nedeniyle AIDS'e yakalanmış heteroseksüel erişkinlerden HIV bulaşma riski. *Gelişim Jama Kasım* 1:11 p: 797-800, 1988.
- 12- Padian N: The heterosexual transmission of acquired immunodeficiency syndrome: International perspectives and national projections. *Rev Infect Dis.* in press.
- 13- Jason JM, Mc Dougal JS, Dixon G, et al: HIV-1 antibody and immune status of household contacts and sexual partners of persons with hemophilia. *Jama* 255: 212-15, 1986.
- 14- Sallzman HR, Friedland GH, Vileo JL, et al: Epidemiologic and clinical features of heterosexual men and women with AIDS. Read before the Second International Conference on AIDS, Paris June 21-25, 1986.
- 15- Winkelstein W, Lyman DM, Padian N et al: Sexual practices and risk of infection by the human immunodeficiency virus: The San Francisco Men's Health Study. *Jama* 257: 321-325, 1987.
- 16- Institute of Medicine: Confronting AIDS: Directions for public Health Care and Research. Washington, DC, National Academy Press, 1986.
- 17- Human immunodeficiency virus in the U.S.: A review of current knowledge. *MMWR* 36 (suppl 8-6): -43, 1987.
- 18- Antibody human immunodeficiency virus in female prostitutes. *MMWR* 36: 384-385, 1987.

ANKARA'NIN BAZI BÖLGELERİNDEKİ KUYU SULARINDA ENTERİK BAKTERİLERİN ARAŞTIRILMASI

Abbas YOUSEFİ RAD *

Müge SEVİNÇ ***

Cahit BABUR **

Nezih YILMAZ **

Nazif KOLANKAYA ***

ÖZET

Ankara çevresinde gecekondü mahallelerinde kuyu sularından toplanan örneklerde enteropatojen mikroorganizmalar ve fekal kontaminasyon açısından kirlilik oranları araştırıldı. Kuyu suyu örneklerinin toplanması ve mikroorganizmaların identifikasyon işlemleri rutin bakteriyolojik çalışmalara uygun olarak yapıldı. Örnekler, Ankara'nın beş ilçesinden 20'şer örnek olacak şekilde toplandı. Her su örneği koliform bakteri açısından KMS yöntemi ile araştırıldı. 100 kuyudan 91'inde koliform bakteri tespit edildi. Fekal koliform açısından 91 örnekten 66'sında (% 72.5) E.coli tipi 1 bulundu.

Ayrıca katı besiyerinde koliform bakterilerin cins düzeyinde identifikasyonu yapıldı. 100 örnekten izole edilen 144 mikroorganizmadan 70 tanesi (% 48.6'sı) E.coli, 15 tanesi (% 10.4) Enterobacter spp., 14 tanesi (% 9.7) Citrobacter spp., 45 tanesi (% 31.2) Klebsiella spp. izole edildi. Erken ve geç kontaminasyon açısından yapılan çalışmada, % 13 fekal streptokok, % 44 Cl. perfringens bulundu. KMS yöntemi ile koliform bulunmayan 9 örnek kolifaj açısından değerlendirildi ve 4 (% 44.4) kolifaj tesbit edildi.

Toplam mezofil aerobik mikroorganizma sayımında 100 örnekten sadece 40 örneğin 100 mililitresinde 500 ve 500'den az mezofil aerobik mikroorganizma sayılandı.

Enteropatojen bakterilerin araştırılmasında Salmonella spp., Vibrio cholerae, Shigella spp. tespit edilemedi.

100 kuyu suyunun çalışma sonuçları Gıda Maddeleri Tüzüğü'ne göre değerlendirildiğinde sadece % 8'inin içme ve kullanmaya uygun olduğu görüldü.

INVESTIGATION OF ENTERIC BACTERIA IN WELL WATER AT SOME PARTS OF ANKARA

SUMMARY

In this research, enteropathogen bacteria such as Salmonella spp., Vibrio cholerae, Shigella spp. were investigated in water well obtained from some regions of Ankara.

Fecal contamination rates of water were also observed. The collection of water samples and the bacterial identification were performed using routine bacteriological methods. Twenty water samples were collected in each of the five regions of Ankara province.

Each water sample was tested for coliform with the Most Probable Number (MPN) method. In 91 out of these water samples included coliform microorganism and 66 of them were fecal coliform (E.Coli type 1) (72.5 %). These coliform bacteria were identified at the genus level by using

* Bayındır Tıp Merkezi, Mikrobiyoloji Lab.Mik.Uzm.Ankara/ TÜRKİYE

** Refik Saydam Hıfzıssıhha Mrk.Bşk., Mik.Uzm., Klinik Mik.ve İnf.Hast.Uzm.Dr.,Ankara/TÜRKİYE

*** Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Arş.Gör., Prof.Dr. Ankara/TÜRKİYE

solit media. In total 144 bacteria were isolated and 70 of them were identified as *E. Coli* (48.6 %), 15 as *Enterobacter* spp. (10.4 %), 14 as *Citrobacter* spp. (9.7 %) and 45 as *Klebsiella* spp. (31.2 %).

For early and late contamination 13% fecal streptococcus and 44% *Clostridium perfringens* were observed respectively. Nine samples with dilution contain coliform according to the MPN method, were tested for coliphage presentation but 4 of them (44.4%) were positive.

In this investigation mesophilic aerobic microorganism counts of water samples were also detected. Only 40 out of 100 samples (40 %) contained 500 or less mesophilic microorganism per 100 cc.

In this investigation none of the 100 water samples contained *Salmonella* spp., *V. cholerae*, *Shigella* spp.

As a result of this work 8 out of 100 water well samples were potable which is according to Turkish Food Regulation.

GİRİŞ

Temel ihtiyaç olan su içilebilir ve kullanılabilir olmalıdır. Temiz ve hijyenik şartlara uygun suyun sağlanması bir sağlık problemi olarak önemi sınırlanmaktadır. Temiz su temini için yapılan çalışmalar, su standartlarını geliştirmek, içilebilir ve kullanılabilir özellikte olan sular için belirli kriterler ortaya koymaktadır. Çeşitli ülkelerde suyun bakteriyolojik standartları 100 ml sudaki koliform miktarına bağlı olarak farklı şekilde düzenlenmiştir (1). İnsan sağlığı açısından suyun temizliği önemli olup tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de suyun kalitesi yüksek su elde etmek ve bu suların kontrolüne ilişkin çalışma ve araştırmaların geliştirilmesi için büyük çabalar harcanmaktadır. Kırsal kesimle ve kanalizasyonu olmayan bölgelerde ise bu çalışmaların önemi daha da artmaktadır.

Su mikrobiyasıyla fotosentetik ve fotosentetik olmayan morfolojik bakımları çok farklı türler bulunmaktadır. Doğal olarak suda *Spirillum*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Chromobacterium* türleri ile *Micrococcus* ve *Sarcina*'nın bazı türleri bulunur. Bu bakterilerin saf kültürler halinde izole edilmesi çoğu zaman güçtür. Sucul bakterilerin çoğu besince fakir ortamlarla yavaş bir üreme göstermekte ise de, seçici ortamlarla izole edilmeleri ve saflaştırılmaları için günler ve haftalar boyu süren inkübasyon gerekmektedir. Bu bakterilerin optimum üreme sıcaklığı 25°C veya daha azdır. Toprak kaynaklı bakteriler toprağı yıkaması sonucu suya karışırlar. Başlıcaları *Bacillus*, *Streptomyces*, *Enterobacteriaceae*'nin saprofit üyeleridir (1-3).

Suda bulunan belli başlı zararlı biyolojik ajanlar, patojen bakteriler, virüsler, parazit ve diğer mikroorganizmalardır. İnfeksiyonlar fekal veya üreme sistemlerinde bulunan patojen ajanları saçan hastalar veya jerm taşıyıcıları tarafından yayılır. İçme suyu fekal oral infeksiyon zincirinin en önemli halkasıdır. Suyla geçen infeksiyonların kökünü kazanması büyük ölçüde suyun kirliliğinin önlenmesine ve temizlenmesine bağlıdır. Yörenin coğrafi konumu, altyapı tesisleri, atık maddelerin görüldüğü işleme, toplumun sosyo-ekonomik kültürü gibi faktörlere bağlı olarak patojen bakteri ve diğer mikroorganizmalar dışkı ve benzeri yollarla sulara karışır.

Suda bulunması mümkün enteropatogen mikroorganizmaların başlıcaları *E. coli*, *Streptococcus faecalis*, *Clostridium perfringens* ve diğer enteropatogenlerdir. Sularla bulaşan önemli mikroorganizmalar:

a) Bakteriler: *Salmonella*, *Shigella*, *Leptospira*, *Brucella*, *Mycobacterium*, ve *Vibrio* türleridir. Ayrıca *Yersinia enterocolitica*, *Franciella tularensis* de sayılabilir.

b) Virüsler: İnfeksiyöz hepatit, Polio virus, Coxsackie virus, ECHO virus, etyolojisi bilinmeyen su ile yayılan diare ve üst solunum yolu infeksiyonları olan sarımsı bazı virüsler.

c) Protözö: *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Balantidium coli*dir (1,4-8).

YÖNTEM

Ankara'nın merkez ve çevre ilçeleri olan beş bölgeyi 20'şer örnek alınarak toplam

100 kuyu suyu örneğinde inceleme yapıldı. Çalışmada kuyu rengine 100 cc ve 500 cc'lik steril su şişeleri kullanıldı. Suların alınması ve gerekli işlemlere tabi tutulmasına kadar geçen sürede prosedüre uyuldu. Toplanan örnek kuyu sularında kuvvetle mutemmel Suyun (KMS) yöntemi ile koliform sayımı için 100 ml'lik şişelerdeki sular kuvvetlice çalkalanarak steril koşullarda, 10 ml çift kuvvetli laktozlu bıyyon içeren tüpe 10 ml, 10 ml tek kuvvetli laktozlu bıyyon içeren tüpe 1 ml, 10 ml tek kuvvetli laktoz bıyyon içeren tüpe 0.1 ml olmak üzere ekildi. Tüm tüpler 37°C 24-48 saat inkübe edildi. Durulam tüplerinde bireme olanlar bu talmın deneyinden sonra doğrulama testi için Brillant green laktozlu bıyyona pasajlandı ve Eijkman testi yapıldı. Takiben katı besiyerlerinde (kanlı, EMB) doğrulama yapılarak tamamlama testine geçildi (9-13).

Suda fekal streptokokların varlığını sapıtma için 5-6 ml sodyum azid besiyeri bulunan tüpe 1 ml su ekilip 45°C 18-24 saat termaride inkübe edildi. Mor rengin sarıya dönmesi pozitif olarak değerlendirildi (12-15).

Suda *Campylobacter* tanısı için sülfid poliyüksin sülfatiazin (SPS) agar kullanıldı. 100 ml'lik münime şişesinden steril koşullarda alınan 1 ml örnek 80°C sıvı bula getirilmiş tüp içindeki besiyerinin dip kısmına üfleyerek pipetle ekildi. 37°C'le 48 saat inkübe edildi (12, 13, 15). Suda kolifaj tamsında KMS için 100 ml şişelerden ekim yapıldıktan sonra geri kalan su örneği talmın ve doğrulama test sonuçları belli oluncaya kadar 72 saat 37°C etüvle bekletildi. KMS sonuçları negatif olanlar 4000 rpm'de 1 saat santrifüj edildi. Süpernatant steril koşullarda filtreden süzildi. Süzintü 1/10, 1/100, 1/1000 olacak şekilde steril distile su ile seyreltildi. Her dilüsyondan 3 bölgeye ayrılmış petri kalmındaki *E.coli* kültürü üzerine pastör pipeti ile damlatılarak ekim yapıldı. 37°C'de 24-48 saat kontrol *E.coli* kültürü ile birlikte inkübe edildi. Faj içeren örneklerin damlatıldığı petrielerde faj plakları gözlemlendi (5, 16).

Toplanan mezofil aerobik canlı jerm sayımında su örnekleri iyice karıştırıldıktan sonra

steril koşullarda 1 ml su örneği 9 ml steril serum fizyolojik talmın deney tüpüne kondu ve vorteks ile karıştırılarak 1/10'lük sularının hazırlandı. Bu sularından seri olarak 1/100, 1/1000, 1/10000'lik dilüsyonlar yapılarak her bir dilüsyondan steril şartlarda 1 ml alınarak steril petri kutusuna konuldu. Önceden hazırlanarak 45°C'de sıvı bula getirilmiş 12 ml tripton glikoz yeast (SPC) agar petri içindeki su ile iyice karıştırıldı ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. 30 - 300 koloni içeren petrilerdeki koloni sayısı dilüsyon katsayısı ile çarpılarak suyun 1 ml'sindeki jerm sayısı hesaplandı (9,17).

Sırdaki fekal patijenlerin incelenmesi için fazla miktarda su örneği deneye sokularak seçici besiyerleri kullanıldı. 500 ml kadar alınan su örneğinden steril koşullarda 0.1 ml EMB, kanlı jeloz, Mannar besiyerine tek koloni ekimleri yapıldı. Örnek suyun yarısı (250 ml) eşit miktarda santrifüj tüplerine konularak 4000 rpm'de 20 dk. santrifüj edildi. Çöktelleri bir tüpte toplanarak üzerine 5-6 ml selenit-F konularak 6-7 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra *Salmonella-Shigella* (SS) ve Wilson-Blair besiyerine pasajlandı. 37°C'de 24 saatlik inkübasyonları sonra şişirileli kolonilerden KIA'ya ekim yapıldı. Biyokimyasal karakterlerini araştırmak için IMVIC testine alındı ve serolojik identifikasyonu yapıldı.

Geri kalan 250 ml su üzerine aynı miktarda alkali peptidolu su konularak 37°C'de 18 saat inkübe edilerek 5 mm çaplı öze ile yüzeyden Alkış, Mannar, Kanlı jeloz, TCBS besiyerlerine tek koloni ekimleri yapıldı. 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra şişirileli koloniler serolojik ve biyokimyasal testlere tabi tutuldu (8, 9, 12, 18, 19).

BULGULAR

Ankara'nın merkez ve çevre ilçelerine ait 5 bölgedeki kuyu sularından toplanan örnekler incelendi (Tablo 1). Kuyu sularından alınan 100 örneğin koliform sayımları standart yöntem olan KMS ile yapıldı. Talmın ve doğrulama deneylerinin sonuçlarına göre 5 ayrı bölgeden sağlanan 100 adet kuyu suyunun 91'inde (%91)

TABLO-1: Beş bölgeden toplanan 100 su örneğinin bakteriyolojik analiz sonuçları

İlçe	Mabde	Bölge	100 ml su örneğinden elde edilen (%)					Fekal streptokok	Fekal koliform	Fekal streptokok	CL perfringens	Kolibaj	Toplam ** eroduk memeli jerm	Gıda Maddeleri Tuzlu suun 425 maddesine göre iğne ve kültürüne uygun polimer miktar
			95	23	19	9	0							
			Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	
Çankaya	Karakonaklar	A	10 (50)	5 (25)	0 (0)	1 (5)	0 (0)	4 (20)	0 (0)	11 (55)	1 (5)	14 (70)	0 (0)	
		B	8 (40)	6 (30)	1 (5)	1 (5)	0 (0)	4 (20)	11 (55)	3 (15)	9 (45)	1 (5)	10 (50)	
		C	8 (40)	2 (10)	0 (0)	3 (15)	1 (5)	3 (15)	15 (75)	6 (30)	7 (35)	1 (33.3)	7 (35)	
		D	7 (35)	5 (25)	1 (5)	2 (10)	2 (10)	2 (10)	14 (70)	2 (10)	5 (25)	2 (10)	10 (50)	
		E	6 (30)	8 (40)	0 (0)	3 (15)	0 (0)	3 (15)	0 (0)	15 (75)	1 (5)	9 (45)	0 (0)	

* :240'dan fazla
** :100 ml suya 500 ve 500'den az mesofil mikroorganizma içeren su örnekleri

koliform bakteri saptanırken 9'unda koliform bakteri saptanamadı.

Bu 9 örnek kolifaj yönünden değerlendirildiğinde 4'ü (% 44,4) pozitif bulundu. A ve E bölgelerinden sağlanan toplam 40 adet su örneğinin hepsinde koliform saptandı. B bölgesinden alınan 20 örneğin 4'ünde, C bölgesinden alınan 20 örneğin 3'ünde, D bölgesinden alınan 20 örneğin 2'sinde koliform bakteri saptanmadı. Doğrulama deneyi sonunda 100 su örneğinin 91'inde koliform bakteri varlığı saptandı. Doğrulama deneyi kontrolü açısından deney bir daha katı besiyeri kullanılarak bakterilerin en azından cins seviyesinde tanımlanması yapıldı. İzole edilen 144 mikroorganizmanın 70'i (% 48.6) E.coli, 15'i (% 10.4) Enterobacter spp. 14'ü (% 9.7) Citrobacter spp. 45'i (% 31.2) Klebsiella spp. idi.

Eijkman deneyi olarak bilinen ve fekal koliformların (E.coli tip 1) saptanmasında kullanılan deney sonucunda 100 örneğin 91'inin 66 (% 72.5) tanesinde pozitif olarak bulundu. A ve B bölgelerinde 11'er (% 55), C ve E bölgesinde 15'er (% 75), D pozitif bölgesinde ise 14 (% 70) pozitif sonuç bulundu (Tablo 1).

Fekal streptokokları saptamak için 100 su numunesi sodyum azid besiyerine ekildi. C bölgesinde 6 (% 30), B bölgesinde 3 (% 15), D bölgesinde 2 (% 10), A ve E bölgelerinde ise 1 (% 5) fekal streptokok pozitifliği saptandı (Tablo 1).

Cl.perfringens oranını tespit etmek için sülfat polimiksin sülfadiazin (SUS) besiyerine yapılan ekimi sonucu 100 örneğin 44'ünde üreme görüldü. Bu mikroorganizmanın bölgelere göre dağılımı ise şöyle idi. A bölgesinde 14 (% 70), B ve E bölgesinde 9 (% 45), C bölgesinde 7 (% 35), D bölgesinde 5 (% 25) pozitif sonuç alındı (Tablo 1).

KMS sonunda negatif sonuç alınan sular kolifaj yönünden değerlendirildiğinde 9 suyun 4'ünde kolifaj tespit edildi. D bölgesinde 2, B ve C bölgelerinde 1'er kolifaj bulundu.

Çalışmaya alınan su örnekleri toplam jerm açısından test edildi. Türkiye Gıda Maddeleri Tüzüğüne göre 1 ml de 500

den az aeroluk jerm içeren sular A bölgesinde 4 (% 20), C bölgesinde 7 (% 35), B ve D bölgesinde 10 (% 50), E bölgesinde 9 (% 45) kuyuda bulundu (Tablo 1).

Salmonella, *Shigella* ve *Vibrio cholerae* türünden araştırılığında suların hiçbirisinde üreme olmadı.

100 su örneğinin 91'i kulfürün içermele birlikte 58'inin (% 63.7) 500 ve üzeri aeroluk jerm içerilği saptandı. Kulfürün yüzünden negatif bulunan 9 (% 11.1) örnekten sadece birinde jerm sayısı 500 den fazla bulundu.

TARTIŞMA

Bütün dünyada emin ve güvenilir içme suyunun sağlanması toplum sağlığını temelli bir önşürdür. Bu konuda her insan topluluğu temiz su sağlanması için gerekli önlemleri hükümetleri ışığında almaya çalışmışlardır. 1900 yılına kadar Amerika'da en çok kullanılan teknik olan tahmin deneyinin esası glikozdan gaz oluşumuna dayanmakta ve kulfürün bulunulduğunun mutlak göstergesi sayılmakta idi. Glikozdan gaz oluşumunun en az bir kulfürün varlığına delalet etmekte idi. Daha sınırları kulfürün dışındaki bakterilerinde glikozdan gaz oluşumunu nedeni ile bromun yerine laktözün kullanılması değiştirilmiştiir. Araştırmacılar standart bir yöntem geliştirmek için çeşitli çalışmalar yapmışlar ve bugün kullandığımız Tahmin—Düğürlama ve Tanımlama deneylerini geliştirmişlerdir (1, 9).

Eken kirliliğın göstergesi olarak *St.faecalis*, geç kirliliğın göstergesi olarak *Cl.perfringens* aranmasına rağmen gıda maddeleri üzüğümler her iki bakterinin de indikatör olarak varlığı açıklık kazanmamıştır (10, 20).

Şehir dağıtım suları ruinin olarak kullanmakta ve bakteriyolojik kontrolleri yapılmaktadır. Ancak birçok bölgede henüz alı yapı tesislerinin bulunmaması, suların sık sık kesilmesi kurullarda nasıç değişim önşürümekte, böylece birçok mikrobiyolojizmasını şehir sularına karışmasına neden olmaktadır. Özellikle alı yapı tesislerinin hiç bulunulduğu ya da şehir suyunun henüz ulaşmadığı düzensiz yerleşim bölgeleri olan geçekimdeki semtleri sağlıklı suyu sağlamakta

güçlük çekmektedir. Bu çalışmada özellikle suşya—ekimimic düzeyi düşük, düzensiz yerleşim bölgelerindeki kuyru suları seçilmiş ve 100 aile kuyru suyundan ancak 8'inin gıda maddeleri üzüğümlerinde bilinen standartlara uygun üzüğümler bulunmuştur.

Kirli bulunan sularla spesifik etkiler araştırılığında toplum sağlığı açısından çok önemli olan *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Vibrio cholerae* gibi bakteriler izlenilemedi.

ABD ve Avrupa ülkeleriyle içme suyu standartları olarak 100 ml de kulfürün organizma bulunmaması esas alınır (10). Fransa'da kapalı menula sularının 100 ml sinde *E.coli* tür 1, 50 ml sinde *St.faecalis* ve 20 ml sinde *Cl.perfringens* bulunmaması standart olarak önerilirken, İngiltere'de içme sularında 100 ml'de 10 dan az kulfürün bulunması kabul edilmektedir (1).

Büyük ölçekte daha güvenilir ve daha çabuk sonuç veren testler önerilmekte ise de bunların hiçbir tek başına Tahmin—Düğürlama—Tanımlama testlerinin yerini alamamıştır. Yapılan bir çalışmada mamimul 14°C merdivenle fekal kulfürmlerin saptanması tanımlanmış ancak, pahalı bir yöntem olup her su örneğinde 50'den fazla fekal kulfürün bulunulduğu zaman geçerlilik kazanmaktadır. Başka bir çalışmada ise su ve besin maddelerindeki kulfürmlerin tanımlanması için pürveya konsantrasyon yöntemi önerilmişse de bununda henzeri teknik zorlukları vardır (21).

Membran filtre yöntemi ile KMS yöntemi karşılaştırılığında membran filtre yöntemi KMS ye üstün gibi görülmekte ise de KMS için güvenilirlilik sınırının % 95, membran filrenin ise % 94—100 arasında olması, güvenilirliğın önemli hususlarla bulunulduğın göstermektedir (22).

Türkiye'de suyun bakteriyolojik analizi uzun yillardan beri yapılmaktadır. 1978'de Ankara'da 500 su örneğininde yapılan analize 3 aile *Vibrio cholerae* türü 11 *Top serotipi* *ogawa* (% 0.6), 4 *NAG* (% 0.8), 4 *S.purariypli B* (%0.8), 2 *Sh.Hexneri* (% 0.4) saptanmıştır (23).

1981'de Ankara'da hem içme hem de kullanma sularıyla yapılan bakteriyolojik araş-

tırmada 154 çeşme suyunun 50'siyle (% 32.47), 102 kuyu suyunun 68'inde (% 66.67) koliform bulunmuştur. Toplam 315 örneğin 113'ünde spesifik etken saptanmış bu spesifik etkenlerden 12'si *Shigella* spp., biri *S.paratyphi B* olarak identifiye edilmiştir (24).

1984'de yine Ankara'nın çeşitli bölgelerine ait 304 içme suyu örneğini 195'inde (% 64.4) koliform bakteri bulunmuş ve Eijkman testi ile koliform olduğu tespit edilen 195 örneğin 166'sında (% 80.5) fekal koliform olduğu doğrulanmıştır (25).

1985'de Ankara Çayı'ndan alınan 64 örneğin 3'ünde *S.paratyphi B*, 2'sinde *S.typhimurium*, 2'sinde de *Sh.flexneri* olmak üzere toplam 7'sinde spesifik etken saptanmıştır (18).

Bizim yaptığımız çalışmada koliform içermeyen örnekler kolifaj açısından değerlendirilmeye alındı. Kolifajların kirlilik göstergesi olarak rolü araştırıldığında koliformlar ve kolifajlar arasında sürekli bir ilişki saptanamadı (26).

1989'da 3 farklı bölgede yapılan bir çalışmada ise 2 bölgedeki toplam koliform, fekal koliform ve kolifaj düzeyi arasında bir ilişki bulunmasına rağmen daha az kirliliğe sahip bölgede böyle bir ilişki bulunamamıştır (27). Başka bir çalışmada ise fekal koliform ile kolifajlar arasında istatistiksel olarak bir ilişki bulunmuş ancak bunun lineer olmadığı görülmüştür. Fekal koliform ve kolifaj oranlarında zaman zaman büyük farklılıklar saptanmış ve bu farklılıklar büyük ölçüde dışkıların suya karıştığı ilk anda yüksek olup fekal koliformların ölüm hızı daha yüksek olduğundan zaman geçtikçe fekal koliform/kolifaj oranı giderek daha düşmektedir (5).

Çalışmamızda koliform içermeyen sulara kolifaj aranarak bu suların gerçekten koliform içermediği ya da koliformların kolifajlar tarafından parçalandığı için mi böyle bir sonuç

alındığına karar vermek oldukça zor olup başka çalışmalar da gerektirmektedir. Dokuz örneğin 5'inde kolifaj tespit edilmesi bu suların büyük bir olasılıkla daha önceden koliform bakteri içerdiğinin bir göstergesi olabilir.

Suların rutin bakteriyolojik analizinde koliformun testine ek olarak en çok kullanılan bir metod jerm sayımı olup 100 örneğin 60'unda 1 ml'de 500 veya daha fazla jerm saptadığımız için bu örnekleri kirliliğe kabul ettik. Koliform tespit edilemeyen 9 su numunesinin yalnızca 1'inde jerm sayısı 500'den fazla bulunuldu. Türkiye'de Gıda Maddeleri Tüzüğü'nün 425. maddesine göre içme ve kullanma sularının ml'sinde 500'den daha fazla aerobik jerm ürememesi ve 100 ml'sinde koliform bakteri bulunmaması gerekmektedir. 1988'de yapılan bir çalışmada Ankara kuyularının içilebilirlik oranının % 13.3 olduğu saptanırken bu oran bizim çalışmamızda koliform içermeyen 9 örneğin birinde ml'de 500'den fazla jerm içerdiğin % 8 olarak bulunmuştur (28).

Toplum sağlığı açısından suyun hijyenik kuşulları taşınmasını ne kadar önemli olduğu çeşitli çalışmalarda önemle vurgulanmakta ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yapmış olduğu yayımlarda bu konuya dikkatleri çekmektedir (10, 11). Bu nedenle suların düzenli olarak mikrobiyolojik yünden tetkik edilerek hijyenik şartlara uygun olması esas olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu görev ilgili kuruluşlar ile Belediyeler arasında koordineli olarak çalışılmakla sağlanacaktır. Fakat bu çalışmadan da anlaşılacağı üzere, özellikle gecekondu bölgelerindeki kuyu sularında yeterli denetim yapılmadığından daha çok kuyu sahiplerinin bilinçlerine terk edilmiş görünmektedir. Bu nedenle halkın bu konuda eğitilmesinin yanında, düzenli mikrobiyolojik incelemelerin organize olmuş kuruluşlar tarafından sıkı denetimlerle yapılmasını zorunlu olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Tekinşen O.C.: Suyun bakteriyolojik muayenesi. Ankara Uni.Basımevi, 34-37, 45-69, 97.s., Ankara 1976.
- 2- Tamer A.Ü.: Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Anadolulu Üni., Fen Fakültesi, Eskişehir, 1989.

- 3- Black A.J.: Technology of polluted water, 37-47 p., Iran-Tehran, 1985.
- 4- Jawetz E., Melnick S.L., Auelber E.A.: Review of medical microbiology. Lange Newalk, Connecticutos Atlas, 233-234, 237, 256 p. California, 1987.
- 5- Çiftçi U.: Sularda fekal kirlenme derecesinin kolifaj sayımı yöntemi ile saptanması. H.Uni., Tıp Fak., Mik.Ens. (Doktora Tezi), Ankara, 1978.
- 6- Karakaya M.: Tryptophanlı Lauryl tryptose mannitol besiyerinde E.coli'nin araştırılması ve doğrulanması. (Uzmanlık tezi), R.S.H.M. Ankara, 1989.
- 7- Sürcü G.: Evolution of microbiological quantity of water, 7p., Environ., Engineering Department, M.E.T.U., Ankara 1977.
- 8- Howard J.B., Kloas J., Rubin A.S. et al.: Clinical and pathogenic microbiology. 222, 363, 611, 691, 702 901p., The CV Mosby Company, 1987.
- 9- Akman M.A.: Su, süt ve türevlerinin rutin bakteriyolojik muayeneleri. Sağlık Bakanlığı Ankara, 1961.
- 10- WHO International Standarts for Drinking Water. WHO Publication, 41 p. 1963.
- 11- WHO "European Standarts for Drinking Water". Genova 4 p. WHO, 1984.
- 12- Beşe M.: Mikrobiyolojide kullanılan biyokimyasal testler ve besiyerleri. Ankara Uni., Vet.Fak. yayını., 298, Ankara Uni.Basımevi, Ankara 1974.
- 13- A.B.D.: Public Health Association Standart methods for the examination of water and waste water., 13 th. Ed., American Public Association, Inc., Washington D.C., 1971.
- 14- Alkış N., Mart 1975'te Burdur ili merkezinde zehir eden Shigellozis epidemisi, Türk Hijyen ve Terciibi Biyoloji Dergisi, 251,19-24 s., Ankara 1975.
- 15- Alkış N.: Çıda mikrobiyolojisi. Yeni inci Matb., Ankara, 1982.
- 16- Özeengiz E.: Çeşitli içme ve kullanma sularında fekal kontaminasyonunun araştırılmasında kolifaj yönteminin değeri ve koliform yöntemi ile karşılaştırılması. (Uzmanlık tezi). R.S.H.M.Ens. Ankara 1982.
- 17- Brishir L.: Microbinlogy in practice Harper and Row. Publishers New York, 159, 190-192, 238-240, 250-255 p.1983.
- 18- İşat E.: Ankara Çuyu'nu Salmoneella Shigella ve V.cholerae araştırılması (Uzmanlık tezi). R.S.H.Ens., Ankara 1985.
- 19- Finegold S.M., aml Baron E.J.: Diagnostic microbiology. Moshy Company. St.Louis, 1986.
- 20- Türkiye Gıda Maddeleri Tiziiğı.
- 21- Re Asmer D.J., Geldreich E.E.: Detection of fecal coliforms in water by using 14 C mannitol., Appl., Envir., Microbiol., 55(4): 907-911 p., 1989.
- 22- Shushodia S.K. and Mathur R.p.: Recovery of coliform bacteria from freshwaters-comparison of multiple tube and membrane filter techniques. Environ., Technol., 9, 1257-1260 p., 1988.
- 23- Damoğlu A.: İçme ve kullanma sularında indikator bakterilerle patojen harsak bakterilerinin araştırılması (Uzmanlık tezi). R.S.H.Enst., Ankara 1978.
- 24- Yohlaş S.: İçme ve kullanma sularında koliform bakteri, Salmonella, Shigella, ve V. cholerae araştırılması. (Uzmanlık tezi). R.S.H.Enst. Ankara, 1983.
- 25- Kayvanlıod V.: Ankara Çubuk ve Gölhaşı bölgelerinin çeşitli yerleşim birimlerindeki içme sularının total ve fekal koliform bakteriler yönünden araştırılması., R.S.H. Enst. (Uzmanlık tezi). Ankara, 1984.
- 26- Hilton M.P. and Statzky G.: Use of coliphages as indicators of water pollution. Can.J.Microbiology., 19:747-751 p., 1973.
- 27- O'keefe b., Green J.: Coliphages as indicators of fecal pollution at three recreational beaches on the firth forth. Maxwell Pergaman Mc millan Plc., 23(8): 1027-1030p., 1989.
- 28- Yuluğ N., Tuğ A.: Ankara'nın gecekondü bölgelerinde kuyu sularının mikrobiyolojik incelenmesi. Mikrobiyoloji Bilt., 22:164-171 s., Ankara, 1988.



HAYVANSAL ve BİTKİSEL ORJİNLİ HAZIR KURU ÇORBALARIN İCMSEF
(International Commission on Microbiological Specification for Foods) ve
TSE'NÜN MİKROBİYOLOJİK STANDARDLARINA UYGUNLUĞUNUN
SINANMASI *

İsa ŞEN **

Örat GÜRAY ***

ÖZET

Çalışmamızda 5 ayrı firmaya ait 66 adet bitkisel ve 24 adet hayvansal orijinli olmak üzere toplam 90 adet Hazır Kuru Çorba, İCMSEF ve TSE'nin önerdiği mikrobiyolojik kültür metodlarıyla incelemeye alınarak standartlara uygunluğu (hem çorba türlerine hem de firmalara göre) sinanmıştır.

Hayvansal orijinli çorbalarda İCMSEF'in limitlerini aşan örneklerle istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). TSE'nin bu tip çorbalarla ilgili standardı yoktur.

Bitkisel orijinlilerde sadece TSE'nin limitlerine göre E.coli ve Küf açısından çorba türleri arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($P < 0.05$).

Firmalara göre dağılımda ise TSE'ne göre Küf açısından A ile B ve B ile E firmaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

A STUDY ON MICROBIOLOGICAL STANDARDS OF İCMSEF AND TSE FOR
ANIMAL AND VEGETABLE DRIED SOUPS

SUMMARY

Our work is done by using 66 samples with vegetable origin and 24 samples with animal origin. Totally 90 samples from 5 different factories are classified according to the microbiological methods of İCMSEF and TSE.

Within the soup samples with animal origin that pass over the limits of İCMSEF there wasn't any difference statistically ($P > 0.05$). There isn't any standard of TSE for animal origin soups.

E.coli and mold comparisons show noticeable amount of difference statistically about only limits of TSE for vegetable origin soups ($P < 0.05$).

In the dissociation of vegetable origin soups of different factories according to TSE standard there was a noticeable difference of mold content statistically between A to E and B to E factory products ($P < 0.05$).

GİRİŞ

Kurutulmuş gıdaların uluslararası ticarete önemi gün geçtikçe artmaktadır. Kuru çorbaların raf ömürleri su aktivitelerinin düşüklüğü nedeniyle uzundur (1). Diğer kuru karışımlar

gibi kuru çorbaların ilk mikrop florası, taşıdığı kuru işgürlüğünün florasına bağlıdır (2). Bu yüzden bulunan mikroorganizmalar kalite ve sağlık açısından risk oluşturabilmektedir.

* Çalışma, 5.1.1993 tarihinde Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

** Biolog, Halk Sağlığı Lab.Mühd. SAKARYA-TÜRKİYE

*** Prof.Dr.İ.Ü.İst.Tıp.Fak.Halk Sağlığı A.B.D.-İSTANBUL-TÜRKİYE

Çalışmamıza esas olan hayvansal ve bitkisel orijinli 10 çeşit çorbamın genel ingredientleri şöyledir. Et, etsıyn, kırntılmış sebze ve mları, baharatlar, şeker, nişasta, sıt tozu, bitkisel yağ, tız, aroma arttırıcılar, renklendiriciler ve antioksidanlar.

Diğer dışık nemli gıdalarda olduğu gibi kuru çorbalarda da en sık raslanan kontaminantlar spor formulu bakteriler olup genellikle zararsız Bacillaceae türleridir. Ancak *B.cereus*, *B.mesentericus* veya *Clostridium perfringens* gibi patojenik formlar da bulunabilmektedir. *Escherichia-Aerobacter* grubu da görülebilir. *Shigella*, *Klebsiella* ve *Salmonella* türleri, tahıllar, sıt tozu ve baharatlar başta olmak üzere bütün dışık nemli gıdalar için sorun olabilir.

Ayrıca bu tür gıdalarda esas sorunun küflerden kaynaklanabileceği ve küfler içinde kseroofilik türlerin dominant olmakla birlikte özellikle ürünün heterojen yapısı nedeni ile işleme, depolama koşullarında hammaddelerin kontaminasyonundan *Eupenicillium*, *Penicillium*, *Aspergillus* türleri gibi toksik küflerin bulaşabileceği ifade edilmektedir. Mayalar içinde sorun olabilecek türler *Sacharomyces*, *Candida* ve *Hansenula* cinslerdir (3).

Çalışmamızda araştığımız mikroorganizma türleri şimlardır. Toplam Bakteri sayısı, Koliform *E.coli*, *Staph.aureus*, *Cl.perfringens*, *Salmonella*, Küf ve Maya.

Çalışmamızda ilikemizde bilhassa kentsel yaşamda pratikliği sebebiyle geniş tüketim ve pazar alanı bulan Hazır Kuru Çorbaların İCMSF ve TSE'nin mikrobiyolojik standartlarına uygunluğunun smatması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

MATERYAL

Piyasada bulunan 5 firmaya ait (A,B,C,D ve E firmaları*) 70 gr'lık bitkisel ve hayvansal orijinli hazır kuru çorba paketleri gıda marketlerinden temin edilerek materyal olarak sečilmiştir.

Bitkisel orijinliler; Domates, Kremalı sebze, Kremalı mantar, Mercimek, Yayıla,Ezogelin ve Tarhana. Hayvansal orijinliler; Şelriyeli tavuk, Kremalı tavuk ve İşkembe çorbaları kullanılan süreleri içinde olmak koşunluyla herbirinden ikişer adet olmak üzere toplam 90 adet örnek incelenmiştir. B ve C firmalarına ait İşkembe, D firmasına ait Domates, Yayıla, ve Şelriyeli tavuk çorba örnekleri bulunmamıştır.

TABLO-1: TSE, İCMSF ve AİBP* tarafından Hazır kuru çorbalar için belirlenen mikrobiyolojik limitler.

	TS 3190 kuru çorba Max.	İCMSF Hay.Orj. Max.	İCMSF Bit.Orj. Max.	AİBP Kuru çorba Max.	AİBP Instant çorba Max.
Toplam Bakteri	10 ⁶ /gr	10 ⁶ /gr	10 ⁶ /gr	-	-
<i>E.coli</i>	0 /gr	-	-	-	10 /gr
Koliform	-	10 ³ /gr	-	-	-
<i>Cl.Perfringens</i>	-	10 ⁴ /gr	10 ⁴ /gr	10 /gr	10 /gr
<i>Staph.aureus</i>	-	-	10 ⁴ /gr	100/gr	100/gr
<i>Salmonella</i>	-	0/25gr	0/25gr	0/25gr	0/25gr
Küf	500/gr	-	-	-	-
Maya	1000/gr	-	-	-	-

* AİBP: Association Internationale de l'Industrie de Bonillans et Potages

METOD:

Örnekler ICMSF'ın önerdiği yöntemlere göre mikrobiyolojik analize hazırlanmıştır (4,5).

Toplam Bakteri sayımı Plate-Count Agarda yapılmıştır (5). Koliform ve E.coli aranmasında Lauryl-Sulphat Tryptose (LST) ve Brilliant Green Broth kullanılmıştır. Sayı değerleri KMS tablosuna göre değerlendirilmiştir (6). Staphylococcus aureus için Staphylococcus Medium No: 110 (M110), Nutrient Broth kullanılmıştır (7). Salmonella izolasyonunda Selenite-Cystine Broth, Brilliant Green Agar ve SS Agar, TSI Agar ve Salmonella aglutinın serumları kullanılmıştır. Cl.perfringens için Sulphite Polymyxine Sulphadiazine (SPS) Agar kullanılmıştır (4). Kif ve Maya aranmasında Potato Dextrose Agar (PDA) kullanılmıştır (8). İstatistik analizler Fisher'in kesin ki kare testiyle yapılmıştır.

BULGULAR

Hayvansal orijinli 24 adet çorba örneği ICMSF'ın bitkisel orijinli 66 adet çorba örneği

ilem ICMSF ile de TSE'nin önerdiği mikrobiyolojik limitlere göre değerlendirilmiştir. TSE'nin TS 3190 numaralı hazır kuru çorba standardı sadece bitkisel orijinli çorbaları içermektedir. Bu yüzden hayvansal orijenlerde TSE'nin standardı ile ilgili bir değerlendirme yapılmamıştır.

Tablo 2'de görüldüğü gibi ICMSF'ın limitlerine göre hayvansal orijinli 24 çorba arasında 6 tanesi koliform açısından limiti aşmış olmasına rağmen türler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($P > 0.05$). 66 adet bitkisel orijinli çorba örneği arasında ICMSF'ın önerdiği limitleri aşan örnek bulunmamıştır.

Tablo 3'te 66 adet bitkisel orijinli çorba örneği TS 3190 numaralı standarda göre değerlendirilmiştir. Buna göre 66 adet örnekten 14 tanesinde E.coli, 14 tanesinde kif ve 2 tanesinde maya, limiti aşmıştır. Toplam bakteri yönünden limiti aşan örnek bulunmamıştır. Bulguların istatistiksel yönden değerlendirilmesi şöyledir. E.coli açısından sırasıyla Ezogelin ile Domates, Yayla, Tarhana ve Mercimek ile

TABLO-2: ICMSF'ın önerdiği limitleri aşan Hayvansal orijinli çorba örneklerinin türlere göre dağılımı :

Hayvansal Orijinli ÇORBA TÜRLERİ	Örn. Sayısı (n)	LİMİTLERİ AŞAN ÖRNEK SAYISI ve ÖLÇÜM DEĞERLERİ			
		10^6 /gr Top. Bak.	10^3 /gr Koliform	10^4 /gr Cl. Perf.	0/25gr Salmonella
Şehriyeli Tavuk	8	-	2	1100	-
				1100	
Kremalı Tavuk	10	-	2	2400	-
				2400	
İşkembe	6	-	2	2400	-
				2400	
TOPLAM	24	(0) %0.0	(6) %25.0	(0) %0.0	(0) %0.0

* Firma isimleri arşivimizde saklıdır.

Tarhana arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Diğer çorba türleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$). Kif açısından Ezogelin ile Tarhana örneklerinin Kremalı sebze örneği arasındaki fark anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Toplam Bakteri yükünden limiti aşan örnek bulunmamıştır.

Tablo 4'te ICMSF'ün limitleri açısından hayvansal orijinli çorbaların firmalara göre dağılımı verilmiştir. B, C ve E firmalarında 2/1 adet çorba arasında 2'şer adet olmak üzere toplam 6 çorba örneğinde Koliform miktarı li-

miti aşmaktadır. İstatistiksel olarak firmaların arasında anlamlı bir fark yoktur ($P > 0.05$).

Tablo 5'de TSE (TS 3190) standardında verilen limitleri aşan bitkisel orijinli çorba örneklerinin firmalara göre dağılımı verilmiştir. İstatistiksel olarak kif açısından A ile E ve B ile E firmaları arasında anlamlı bir fark yoktur ($P > 0.05$). A firmasına ait 1/1 çorbadan 2 tanesinde saptanan E.coli, 6 tanesinde kif sayıları limitin üzerindedir. B firmasına ait 1/1 çorbadan 4 tanesi E.coli, 1 tanesi kif ve 2 tanesi maya açısından limitin üzerindedir. C firmasına ait 1/4 çorbadan 4 tanesi E.coli, 2 tanesi kif, D firmasına ait 1/0 çorbadan 2 ta-

TABLO-3: TS 3190 numaralı standardta verilen limitleri aşan bitkisel orijinli çorba örneklerinin türlerine göre dağılımı

Bitkisel Orijinli Örnek ÇORBA TÜRLERİ	Sayıları (n)	LİMİTLERİ AŞAN ÖRNEK SAYISI ve ÖLÇÜM DEĞERLERİ						
		10^6 /gr Top. Bak.	0/gr E.coli	500/gr Kif	10^3 /gr Maya			
		Aşan Sayı	Ölçüm Değeri	Aşan Sayı	Ölçüm Değeri	Aşan Sayı	Ölçüm Değeri	
Domates	8	-	-	-	2	2500 2500	-	-
Kremalı Sebze	10	-	2	460 460	-	-	2	2000 2500
Kremalı Mantar	10	-	2	9 9	2	750 750	-	-
Mercimek	10	-	4	1100 1100 2400 1100	2	800 800	-	-
Yayla	8	-	-	-	-	-	-	-
Ezogelin	10	-	6	240 240 240 1100 1100	4	2200 8000 7600 2000	-	-
Tarhana	10	-	-	-	4	2400 2500 900 900	-	-
TOPLAM	66	(0)	(14)	221.2	(14)	221.2	(0)	20.0

nesi E.coli, 2 lanesi kiif ve E firmasına ait 14 çorbadan 2 lanesi E.coli açısından limitin üzerindedir.

Ta' ki 6'da Bitkisel orijinli ve Hayvansal orijinli çorba örneklerinin 1 gr'ında saptanan minimum ve maksimum mikroorganizma ölçüm değerleri verilmiştir.

Çalışmamızca, ortalama Toplam Bakteri sayısı hayvansal orijinli örneklerde 77×10^3 /gr. ve bitkisel orijinli örneklerde 43×10^3 /gr. olarak saptanmıştır.

Tablo 7'de mikroorganizma üreyen çorba örneklerinin aritmetik ortalama, standart sapma ve medyanları verilmiştir.

TABLO-4: ICMSF'ün önerdiği limitleri aşan hayvansal orijinli çorba örneklerinin firmalara göre dağılımı

FİRMALAR	Örnek Sayısı (n)	LİMITLERİ AŞAN ÖRNEK SAYISI ve ÖLÇÜM DEĞERLERİ					
		10^6 /gr Top. Bak.	10^3 /gr Kaliform	10^4 /gr Cl. per Fring.	1/25gr Salmonella		
			Aşan say		Ölç. değ.		
FİRMA-A	6	-	-	-	-	-	-
FİRMA-B	4	-	2	1100 1100	-	-	-
FİRMA-C	4	-	2	2400 2400	-	-	-
FİRMA-D	4	-	-	-	-	-	-
FİRMA-E	6	-	-	2400 2400	-	-	-
TOPLAM	24	(0) %	(6) %	(0)	(0)	(0)	(0)

TABLO-5: TSE (TS 3190) standardında verilen limitleri aşan Bitkisel orijinli çorba örneklerinin firmalara göre dağılımı

FİRMALAR	Örnek Sayısı (n)	LİMITLERİ AŞAN ÖRNEK SAYISI ve ÖLÇİM DEĞERLERİ						
		10 ⁶ /gr Top. Bak.	0/gr E. Coli	500/gr Küf	10 ³ /gr Maya	Aşan Sa. Ölç. de.	Aşan Sa. Ölç. de.	Aşan Sa. Ölç. de.
FİRMA-A	14	-	2	240 240	6	750 750 800 800 2000 2200	-	-
FİRMA-B	14	-	4	460 460 9 9	4	2500 2500 8000 7600	2	2500 2500
FİRMA-C	14	-	4	1100 1100 240 240	2	2400 2500	-	-
FİRMA-D	10	-	2	1100 1100	2	900 900	-	-
FİRMA-E	14	-	2	1100 1100	-	-	-	-
TOPLAM	66	(0) %0.0	(14) %21.2		(14) %21.2		(2) %3.0	

TABLO-6:66 adet Bitkisel ve 24 adet Hayvansal çorba örneklerine, 1 gr'da tesbit edilen Minimum ve Maksimum Mikroorganizma ölçüm değerleri

Bitkisel	Top. Bak.	Koliform	E. Coli	Staph. aureus	Clostridium perfringens	Salmo-	Küf	Maya
Min.	2X10 ²	< 3	9	10	-	-	20	20
Max.	51X10 ⁴	> 2400	> 2400	90	-	-	8000	2500
Hayvansal	-	-	-	-	-	-	-	-
Min.	2X10 ³	< 3	23	10	-	-	10	50
Max.	44X10 ⁴	> 2400	> 2400	60	-	-	3500	60

TABLO-7: Mikroorganizma üreyen çorba örneklerinde Aritmetik ortalama, Standart sapma ve Medyan'lar (Clostridium perfringens ve Salmonella hiç bir çorba türünde üremediği için tabloya alınmamıştır).

ÇORBA TURLERİ	Top Num	TOPLAM BAKTERİ		KOLIFORM		E. COLI		STREPTOKOKUS		KİP		MAYA							
		Üre- (n)	Yen	Üre- (n)	Yen	Üre- (n)	Yen	Üre- (n)	Yen	Üre- (n)	Yen	Üre- (n)	Yen						
Domates	8	4800 ± 8149,67	500	8	3	0	-	2	45 ± 7,07	45	8	765 ± 1060,29	250	1	120 ± 0	120			
Kıyama Sebze	10	69400 ± 108297,34	30000	10	574	978,43	7	2	460 ± 0	460	10	69 ± 34,84	80	4	1440 ± 1297,87	1015			
Etli Sebze	10	5480 ± 2294,80	6000	10	19,6	11,40	23	2	15,5 ± 11,94	3	6	46,66 ± 21,60	45	10	266 ± 256,43	100			
Mezelenek	10	117840 ± 204964,36	30000	10	962,2	1212,74	121,5	4	1475 ± 632,55	1100	4	52,5 ± 23,62	70	10	238 ± 287,23	390			
Soyun	8	21225 ± 19669,17	17500	8	176,5	302,77	122	0	-	2	20 ± 0	20	261 ± 128,49	300	4	522,5 ± 511,42	550		
Domatesli	10	63000 ± 43553,28	56000	10	891,8	892,16	460	6	526,66 ± 4,4	10	240	50 ± 20,20	60	10	2094 ± 2115,45	270	2	110 ± 14,14	10
Tarhana	10	5940 ± 4245,23	8500	10	3,1	0,43	3	0	-	2	65 ± 7,07	65	751 ± 955,67	325	2	20 ± 0	20		
Yoğurtlu	8	24750 ± 22111,63	22500	8	278,25	507,19	5	2	240 ± 0	240	4	42,5 ± 18,05	40	6	450 ± 232,37	600	0	-	-
Etli Tarvuk	10	122220 ± 150445,97	18000	10	574	978,95	4	4	240 ± 0	240	4	42,5 ± 5	40	10	809 ± 1426,07	115	2	55 ± 7,27	55
Çiğdemli	6	53667 ± 59210,36	19000	6	823,66	1229,80	93	4	891,5 ± 1234,46	571,5	6	25 ± 18,70	25	6	195 ± 82,15	195	2	60 ± 0	60

TARTIŞMA ve SONUÇ

Elde edilen bulgular ICMSF'ün ve TSE'nin standartları temel alınarak iki ana grupta incelenmiştir. Birinci grupta çorbaların türlere göre dağılımı ele alınmış ve bunlar hayvansal ve bitkisel orijinli çorbalar olmak üzere iki alt grupta incelenmiştir. İkinci grupta ise çorbaların firmalara göre dağılımı değerlendirilmiştir. Bunlar da hayvansal ve bitkisel orijinliler olarak iki alt gruba ayrılmıştır.

Tablo 3'te görüldüğü gibi Ezogelin çorbasının Domates, Yaya ve Tarhana çorbalarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olmasının nedeninin Ezogelin çorbasının içeriğindeki ingredient sayısının diğer çorba türlerinden fazla oluşması ileri geldiği düşünülmektedir. Kuru çorbaların ilk mikrobiyel florası, taşıyıcıları kuru ingredientleri florasına bağlıdır (9). Düşük nemli gıdaların heterojen yapıda olması halinde çereceği mikroflara daha riskli olarak hildirilmiştir (3).

DAGNEAUX ve MOSSEL (1968), 107 adet hayvansal orijinli çorba ile yaptıkları benzer çalışmada ortalama bakteri sayısını 0.5×10^4 /gr ve maksimum Toplam Bakteri sayısını 1.3×10^5 gr olarak saptamışlardır (10). MLODECKI (1974) 36 adet çorba örneğinde Toplam Bakteri sayısını 10^5 /gr'ı aşmadığını saptamıştır (11). Çalışmamızda ortalama Toplam Bakteri sayısı 77×10^3 /gr, maksimum sayı ise 44×10^4 /gr'dir. Bu durumla çalışmamızda ortalama Toplam Bakteri Sayısı DAGNEAUX ve MOSSEL (1968) göre yüksek, MLODECKI (1974)'e göre ise maksimum Toplam bakteri sayısı düşük bulunmuştur (11). Maksimum Toplam Bakteri Sayısı ise DAGNEAUX ve MOSSEL (1968)'e göre yüksek bulunmuştur (10).

GÜNGÖR ve ark'ları hayvansal orijinli 5 çorba örneğiyle ortalama Toplam Bakteri Sayısını 19×10^3 /gr, maksimum sayıyı ise 40×10^3 /gr. olarak saptamışlardır (10). Söz konusu değerler çalışmamızda daha yüksek bulunmuştur.

Örneklere limiti aşan koliform yüzdesi çalışmamızda % 25 olup GÜNGÖR ve ark.'larında % 20'dir. E.coli yüzdesi çalışmamızda

% 41.1 olup GÜNGÖR ve ark.'larıyla % 40'tür (10).

Çalışmamızla bitkisel orijinli çorha örneklerini ortalama Toplam Bakteri Sayısı 43×10^3 /gr.'dır. Maksimumu sayı ise 51×10^4 /gr.'dır. DAGNEAUX ve MOSSEL (1968)'in çalışmasında bu ortalama 1.1×10^4 /gr., maksimumu sayı ise 1.8×10^5 /gr. olarak saptamıştır. Söz konusu değerler çalışmamızla araştırmalara göre yüksek bulunmuştur. GÜNGÖR ve ark.'ları Toplam Bakteri ortalamaşını 15×10^3 /gr. maksimumu miktarı 37×10^3 /gr. olarak tesbit etmişlerdir (10). YAKUTLAR, Toplam Bakteri ortalamaşını 13×10^3 /gr., maksimumu sayıyı 34×10^3 /gr. olarak saptamıştır (12). Eriteli yüzdesi çalışmamızla % 21, DAGNEAUX ve MOSSEL (1968) tarafından % 13, GÜNGÖR ve ark.'larınca % 20 ve YAKUTLAR tarafından % 0 olarak saptamıştır.

Çalışmamıza esas olan toplam 90 adet çorha örneği ile *Staphylococcus aureus* yüzmünleri ICMSF'nin önerdiği limitleri aşan çorha örneği bulunmamıştır. Saptadığımız maksimum sayı, bitkisel orijinli çorhalarla 90/gr., hayvansal orijinlilerle 60/gr. alettir. DAGNEAUX ve MOSSEL (1968) 2 bitkisel orijinli çorha örneğinde 100/gr. alet *Staph. aureus* izole etmişlerdir (10).

Çalışmamızda *Chytridium perfringens* ve *Salmonella* izale edilememiştir. DAGNEAUX ve MOSSEL (1968) 107 adet bitkisel orijinli çorha örneğinin % 2'si ile *C.perfringens* saptamışlardır (10).

Çalışmamızla bitkisel orijinli çorha örneklerinin 14 tanesi küf ve 2 tanesi ile Maya yüzmünleri TSE'nin belirttiği limitleri aşmıştır.

Hazır kuruy çorhalarla ve diğer işlenmiş gıdalarla mikrobiyel riskleri azaltmak için hammahlele, işleme, nakliye ve saklanmaya kadar bütün basamaklarda hijyen kurallarına özen göstermek gerekmektedir. Besin sanitasyonunun amacı gıdaların temiz ve hijyenik koşullarla üretim ve dağıtımını sağlanmasıdır (13).

Ülkemizde bitkisel orijinli çorhalar TS 3190'a göre üretilmektedir. Hayvansal orijinli veya hayvansal ürünlerinin de ingredien olarak kullanılacağı çorhalar ise Sağlık Bakanlığının ilgili izni ile üretilmektedir. Bu çorhalar için de bir standartın çıkarılması gerekmektedir.

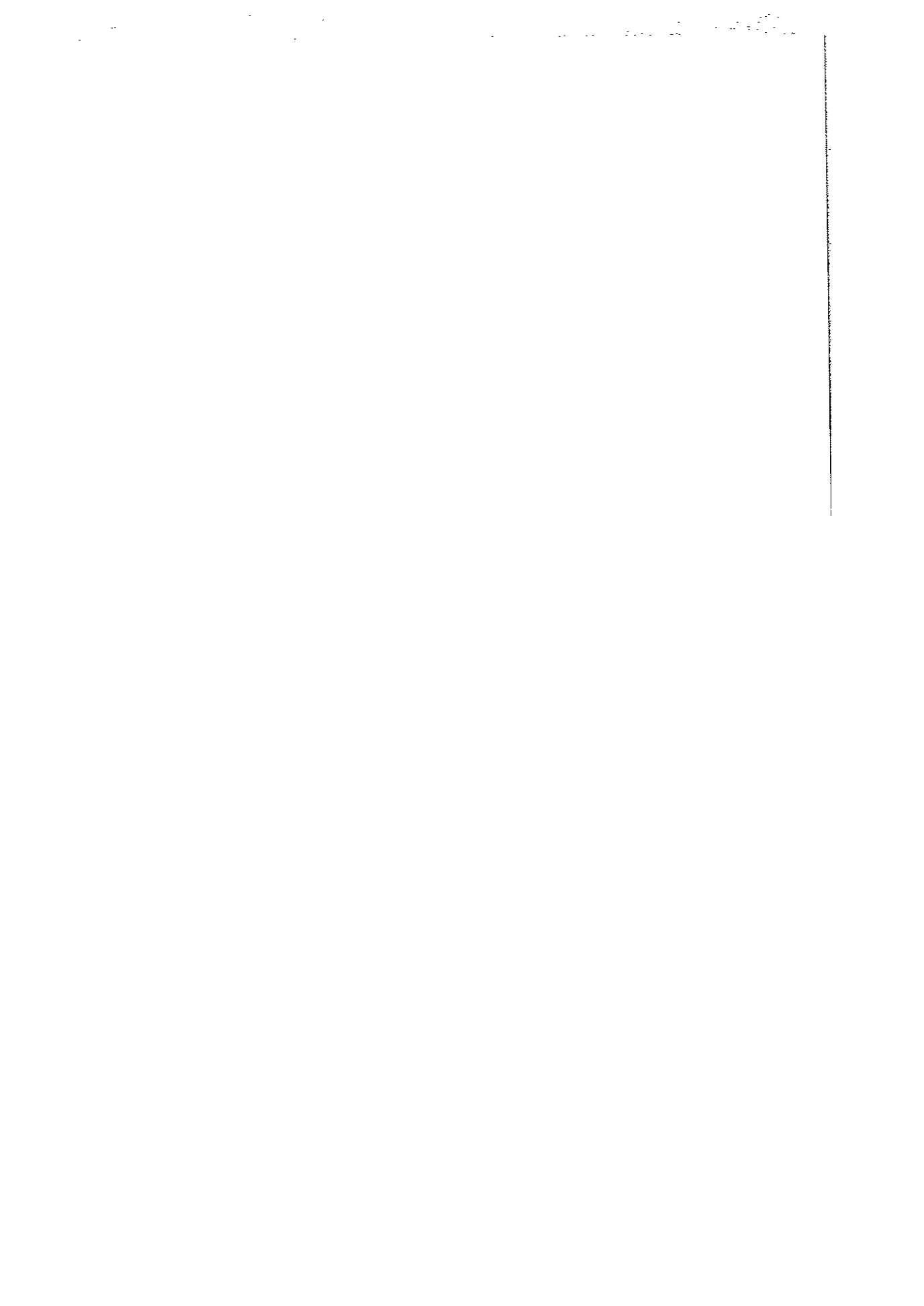
Kuruluşlar arasında mikrobiyolojik limitler için gösterilen mikanorganizma tipleri arasında bir uyumun mevcut olmaliği görülmektedir (Tablo 1)(AİBP'in değerleri hiçli amacıyla verilmiştir). ICMSF'nin limitleri instant çorhalar için olmakla birlikte AİBP ve TSE'nin limitlerinden çok farklıdır. Bu yüzden daha sağlıklı ve kaliteli gıdalar üretimi açısından aynı limitlerle hareket edilebilir.

Gıdaların mikrobiyolojik standartizasyonunun olarak sağlanarakla birlikte AT'ın günür aşamasındaki illerimizle gerek Standartlarımızla ve gerekse Gıda mahleleri Tüzüğüümüze süz konusu Uluslararası kuruluşlara paralel hükümler yer alınabilir.

KAYNAKLAR

- 1- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods): Microorganisms in Foods, Vol: 2, Sampling Plans for Dried Foods. University of Toronto (Chapter 10) p:110, (1982).
- 2- İNAL, T.: Gıda Mikrobiyolojisi Ders Notları. İstanbul, Şh: 145-173, (1984).
- 3- TOPAL, Ş.: Düşük Nemli Gıdalarla Mikrobiyolojik Riskler ve Azaltılma Olanakları. Gıda Teknolojisi Dergisi Yayın. C: 10 S: 4, Şh: 377-386.
- 4- KARAPINAR, M.: Gıdaların Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü. İzmir, Şh: 27-116, (1990).
- 5- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods): Microorganisms in Foods, Vol: 1, Their significance and methods of enumeration. University of Toronto Press, p: 106-274, (1974).

- 6- TÜHTAK-MARMARA ARAŞTIRMA MERKEZİ, Gıda Sanayinde Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü Eğitim Programı, Sh: 26, (1992).
- 7- ÜNALP, E.K.: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Dergah Tıp Yayınları, İstanbul, Sh: 451, (1982).
- 8- TSE, Yoğurt Standartı, TS 1330/Mart 1974, (1974).
- 9- ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods): Mikrobiyal Ecology of Foods, Vol: 2, Food Communities Miscellaneous Foods, Academic Press (Chapter 27), p: 392, (1980).
- 10- GÜNGÖR, S ve Ark.: Hazır Kurum Çubuklarının Mikrobiyolojik Analizi ve TSE ve Uluslararası Standartlara Uygunluğu, Lisans Tezi, Ege Üniv. Müh.Fak.Gıda Müh. Böl.Yay.No:15-1986, (1986).
- 11- MLODECKI, H.: Food Science and Technology Abstract (FSTA) Vol:6, 126799, (1974).
- 12- YAKITLAR, H.D.: Kurutulmuş Çubukların Mikrobiyolojik Yöntemlerle Araştırılması, Yük.Lisans Tezi, Ege Üniv.Müh.Fak. Gıda Müh.Böl. Yay.No: 24-1981, (1981).
- 13- VELİCANGİL, S.: Kuruyem Hekimlik ve Halk Sağlığı, Kurutulmuş Malzemesi, İstanbul, Sh: 351, (1965).



BURSA ET VE BALIK KURUMUNDA KESİLEN KOYUN VE KEÇİLERİN HAREKETLİ AEROMONASLAR YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Mustafa TAYAR *

Cengiz ÇETİN **

Cem ŞEN *

Ayşin ŞEN ***

Ayşegül EYİĞÖR ****

ÖZET

Aeromonas cinsine ait hareketli aeromonas türleri (*A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae*) çeşitli hayvan türlerinde enfeksiyonlar oluşturmakta, insanlarda ise sindirim sistemi ve ekstraintestinal sistem hastalıklarına neden olmaktadır.

Bu çalışmada; Bursa E.B.K. kombinasında kesilen 113 adet koyun ile keçiye ait karkas ve dışkı örneklerinden izole edilen hareketli aeromonas türleri, morfolojik, kültürel ve biyokimyasal özellikleri yönünden incelenerek tanımlanmıştır.

İncelenen toplam 241 örneğin 21'inden (% 8.71) hareketli Aeromonas izole edildi. İzolasyon oranları karkas örneklerinde 13/113 (% 11.50) rektal içerik örneklerinde 8/113 (% 7.07) olarak saptandı. İzole edilen aeromonasların 14/21'i (% 66.66) *A. hydrophila*, 5/21'i (% 23.80) *A. sobria* ve 2/21'i (% 9.52) *A. caviae* olarak tanımlanmıştır. Su örneklerinden (serbest klor miktarı 0.34 ± 0.04 mg/l) aeromonas izole edilemedi.

Sonuç olarak, kesim sırasında koyun ve keçi karkaslarının dışkı ile kontamine olduğu ve bu karkasların insanlar için bir tehlike olabileceği kanaatine varıldı.

A STUDY ON MOTILE AEROMONAS SPECIES FROM SHEEP AND GOAT SLAUGHTERED IN BURSA MEAT AND FISH ORGANISATION

SUMMARY

Motile aeromonas spp., included in Aeromonas genus, both cause infections in several kinds of animals and gastrointestinal, extraintestinal system infections in human.

In this study morphological, cultural, biochemical characteristics of motile aeromonads were examined which isolated from 113 carcasses and faecal samples of sheep and goat slaughtered in Bursa Meat and Fish Organisation Slaughterhouse.

The isolation rates were determined as 13/113 (11.50 %) in carcasses and 8/113 (7.07 %) in rectal swabs. Isolation rates of the identified aeromonas species are as follows; 14/21 (66.66 %) *A. hydrophila*, 5/21 (23.80 %) *A. sobria* and 2/21 (9.52 %) *A. caviae*. No aeromonads were found in water samples (with free chlorine amount of 0.34 ± 0.04 mg/L.).

As a result motile aeromonas contaminated sheep and goat carcasses during slaughter can be convinced as a source of infection for human beings.

* Yrd.Doç.Dr.U.Ü.Vet.Fak.Besin Hij.ve Tek.Anabilim Dah, Bursa/TÜRKİYE

** Dr.U.Ü.Vet.Fak.Mikrobiyoloji Anabilim Dah, Bursa/TÜRKİYE

*** Yrd.Doç.Dr.U.Ü.Vet.Fak.Mikrobiyoloji Ana Bilim Dah, Bursa/TÜRKİYE

**** Arş.Gör.U.Ü.Vet.Fak.Besin Hij.ve Tek.Anabilim Dah, Bursa/TÜRKİYE

GİRİŞ

Gıdalara bağlı akut barsak enfeksiyonları en sık görülen hastalıklar arasında, sulunum sistemi enfeksiyonlarının hemen ardından ikinci sırayı almaktadır (1, 2). Bu enfeksiyonlarla mücadele ve eradikasyon için etiyojilerini belirlemek giderek önem kazanmakta ve daha kapsamlı incelemelere gerek duyulmaktadır (3). Çünkü etiyaların % 35-70'inde etken tanımlanamamaktadır (4, 5). Bir zamanlar bakteriyel besin zehirlenmesi olaylarında *Staph. aureus*, *Cl. perfringens* ve *Salmonella*'lar akla gelirken günümüze kadar yeterince önemsenmedikleri için az tanınan, *Vibrio parakleimolyticus*, *Campylobacter* ve *Aeromonas* enfeksiyonlarına gittikçe artan oranlarda rastlanmaktadır (2, 3,6-8).

Aeromonas olarak tanımlanan bakteri ilk olarak 1890 yılında çeşme sızıyından izole edilmiş ve *Bacillus putetatus* olarak adlandırılmıştır (3). *Enterobacteriaceae*'lerle ve özellikle *E.Coli* ile karıştırılmış olan *Aeromonas*'lar son yıllarda ayrı tür olarak tanımlanmıştır (3,9) *Aeromonas* genus'un, *Vibrionaceae* familyasında yer alan, kesin olarak tanımlanmış iki alt gruptan oluşan bir cinstir (9,10). İlk grup psikrofilik ve hareketsiz *aeromonas*ları, ikinci grup ise mezofilik ve hareketli *aeromonas*ları kapsar ve *A. hydrophila*, *A. salmonicida* ve *A. caviae* olmak üzere üç tür altında incelenir (9,11). Hareketli *aeromonas* türleri yaygın olarak yüzeysel su, çamur ve atık sularda bulunur (12,13). Sağık kanlı hayvanlarda ve balıklarda çeşitli hastalıklar oluşturur (14). Son yıllarda sıcak kanlı hayvanlarda ve insanlardaki çeşitli enfeksiyonlardan izole edilmiştir (15). Akutik çevrede yaygın olmalarına rağmen, çeşitli hayvanların fekal materyalinden de izole edilen *aeromonas*lar hayvansal orijini gıdaların doğal kontaminantı olarak kabul edilmektedir. Kesin işlenilci sırasında kolayca kakaslara hulaşabilmektedir (16-20). *Aeromonas* türleri son yıllarda dünyanın her yerinde gastroenteritis etkenleri arasında gösterilmektedir. Gerek erişkin ve gerekçe çocuklarda görülen

diğerleri benzeri klinik tabloların kolera benzeri tür enteronoksin üreten *aeromonas*ların etkisiyle oluştuğu kabul edilmektedir (1, 15,20-23). Son yıllarda, potansiyel tehlike kaynağı olarak değerlendirilen *aeromonas*larla ilgili çalışmalar ülkemizde sınırlı sayıda (1,13,24).

Bu çalışmada Bursa E.B.K. kombinasyonunda kesilen koyun, keçi karkas ve dışkılarından hareketli *aeromonas* türlerinin dağılımını ve ırası kontaminasyon kaynaklarından biri olarak, kullanılan sulardaki varlığının belirlenmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hareketli *aeromonas* türlerinin izolasyonu amacıyla Bursa Et ve Balık Kanunio kombinasyonunda kesilen koyun ve keçilerden steril swablar ile karkas ve rektal içerik ve münneleğin toplandığı günlerde kesim salına yakına suyu örnekleri alındı. İncelenen örneklerin orijin ve sayıları Tablo-1'de gösterilmiştir.

TABLO-1: Hareketli *Aeromonas* Türlerinin İzolasyonunda Kullanılan Örneklerin Orijin ve Sayısı

Örneklerin Orijini	Örnek Sayısı
Karkas	
Koyun	100
Keçi	13
Rektal İçerik	
Koyun	100
Keçi	13
su	15
TOTLAM	241

İzolasyon için örnekler önce zenginleştirme amacıyla APW(Alkali Peptone Water)'ye transfer edildi ve aerobik koşullarda 28°C'de 24 saat inkübe edildi (17,26). Daha sonra %7 steril defibrine koyun kanı içeren kanlı agar ve 100.000 İ.Ü.Sodyum Penicillin G/L içeren GSP-Glutamate Starch Phenol Red-Agar'a (Merck) ekimler yapıldı. İnkübasyon (28°C'de 24 saat) sonunda üreyen mikroorganizmaların koloni özellikleri aeromonas yönünden incelendi. Şüpheli koloniler seçilerek Gram boyama yöntemi ile boyandı. Gram negatif ve çomakçık şeklindeki mikroorganizmalara ait kolonilerden Nutrient buyyona ekimler yapılarak 28°C de bir gece inkübe edildi. Sıvı besi yerinde üreme özelliği incelenerek lam lamel arası hareket muayenesi ve Gram boyama yöntemi ile boyanarak saflık kontrolü yapıldı. Gram negatif, hareketli çomakçıklara ait kültürler identifikasyon için gerekli olan testlerde kullanılmak üzere -20°C de saklandı.

İzole edilen suşlar, oksidaz, katalaz, oksidasyon fermentasyon (glikoz ile), indol, nitrat redüksiyonu, Voges-Proskauer, lizin de-

karboksilaz, tuzsuz ve %6 tuzlu buyyon da üreme, mannitol, arabinöz ve salisin fermentasyonu, eskulin hidroliz ve glikozdan gaz testleri ile identifiye edildi (38,9,14). Su örneklerinde serbest klor miktarı T.S.266 (25)'a göre saptandı.

BULGULAR

Toplanan 241 adet materyalden izole ve identifiye edilen aeromonas türlerinin sayısı ve oranları Tablo-2'de gösterilmiştir.

İncelenen 214 adet örneğin 21'inden(%8.71) hareketli aeromonas türü izole edildi. İzolasyon oranları karkas örneklerinde 13/113 (%11.50), rektal içerik örneklerinde 8/113 (%7.07) olarak saptandı. İzole edilen aeromonasların 14/21'i (%66.66) *A.hydrophila*, 5/21'i (%23.80) *A.sobria* ve 2/21'i (%9.52) *A.caviae* olarak identifiye edildi (Tablo-3).

Su örneklerinden (Serbest klor miktarı ortalama 0.34 ± 0.04 mg./lt) aeromonas izole edilemedi.

TABLO-2: Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyonunda Kullanılan Örneklerin Orijinleri, İzolat Sayı ve Yüzdeleri

Örneklerin Orijini	Örneklerin Sayısı	Pozitif numune say.	Pozitif numune %'si
Karkas	113	13	11.50
Koyun	100	11	11.00
Keçi	13	2	15.38
Rektal İçerik	113	8	7.07
Koyun	100	8	8.00
Keçi	13	-	0.00
Su	15	-	0.00
TOPLAM	241	21	8.71

TABLO-3: İzole Edilen Hareketli Aeromonas Türlerinin Orijinlerine Göre Dağılımı

Örnek Tipi	İzolat Sayısı	Aeromonas spp.		
		A.hydrophila	A.sobria	A.caviae
Karkas				
Koyun	11	7(% 63.63)	3(% 27.27)	1(% 9.09)
Keçi	2	2(%100.00)	-	-
Rektal İçerik				
Koyun	8	5(% 62.50)	2(%25.00)	1(%12.00)
Keçi	-	-	-	-
Su	-	-	-	-
TOPLAM	21	14(% 66.66)	5(%23.80)	2(% 9.52)

TABLO-4: İzole Edilen Aeromonas Türlerinin Bazı Biyokimyasal Özellikleri

T E S T	A. hydrophila	A. sobria	A. caviae
Hareket	+	+	+
Oksidaz	+	+	+
Katalaz	+	+	+
O/F	+	+	+
İndol	+	+	+
Nitrat redüksyonu	+	+	+
Voges-proskauer	d(1)	d(2)	-
Lizin dekarboksilaz	d(3)	d(4)	-
NaCl'süz buyyonda üreme	+	+	+
%6 NaCl'li buyyonda üreme	-	-	-
Mannitol fermentasyonu	+	+	+
Arabinoz fermentasyonu	+	-	+
Salisin fermentasyonu	+	-	+
Eskulin hidrolizi	+	-	+
Glikozdan gaz oluşu	+	+	-

d= Suşlar arasında değişiklik gösterdi

1= Suşların %87.71'i pozitif

2= Suşların %60'ı pozitif

3= Suşların %57.14'ü pozitif

4= Suşların %40'ı pozitif

Hareketli aeromonas türleri, aerobik koşullarda 28 °C'de 24 saatte kanlı agarda, gri-beyaz, yuvarlak, düzgün kenarlı, 2-3 mm çapında, GSP agarda ise geniş, sarı renkli koloniler oluşturdular. İzole edilen suşların hepsi Gram negatif ve aktif hareketli bulundu. Mikroskopik incelemede etkenler tek tek veya ikili çomakçıklar şeklinde görüldü.

İzole edilen hareketli aeromonas türlerinin çeşitli özellikleri Tablo 4'de özetlenmiştir. İzole edilen 21 suş; hareketli, oksidaz, katalaz, indol ve nitrat redüksiyonu testleri yönünden pozitif ve O/F testinde fermentatif bulundu. Tüm suşlar tuz içermeyen buyyonlarda öreme gösterirken, liçbiri %6 NaCl içeren buyyonda üremedi. Suşların tümü inannitol fermentasyonu yönünden pozitif bulundu. Voges-Proskauer testinde *A. hydrophila* suşlarının 12/14'ü (%85.71), *A. sobria* suşlarının 3/5'i (% 60), lizin dekarboksilaz testinde *A. hydrophila* suşlarının 8/14'ü (% 57.14), *A. sobria* suşlarının 2/5'i (% 40) pozitif reaksiyon verdi. *A. caviae* suşları ise her iki test yönünden negatif bulundu.

Hareketli aeromonasların tür düzeyindeki identifikasyonu; arabinoz ve salisin fermentasyon, eskulin hidrolizasyon ve glukozdan gaz testlerine göre yapıldı. Sözü edilen bu testler yönünden pozitif bulunan suşlar *A. hydrophila*, glukozdan gaz testi yönünden pozitif diğer testler yönünden negatif bulunan suşlar *A. sobria* ve arabinoz ile salisin fermentasyon, eskulin hidrolizasyon testl yönünden pozitif, glukozdan gaz testl yönünden negatif bulunan suşlar ise *A. caviae* olarak identifiye edildi.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, Bursa E.B.K. Kombinasi'nda kesilen koyun ve keçilerin karkas ve rektal içeriklerinden hareketli aeromonas suşları izole edildi. Bu suşların morfolojik, kültürel ve biyokimyasal özellikleri incelenerek identifikasyonları yapıldı.

İncelenen 241 örneğin 21'inden (% 8.71) hareketli aeromonas izole edildi. İzolasyon oran-

ları karkas örneklerinde 13/113 (% 11.50), rektal içerik örneklerinde 8/113 (% 7.07) olarak saptandı. Majeed ve ark. (17) kuzularda yaptıkları çalışmada 50 karkas örneğinin 11'inde (% 22), 47 dışkı örneğinin 5'inde (% 10.63), bir başka çalışmada (16) ise koyun dışkılarında 10/111 (% 9.0) oranında hareketli aeromonas suşu izole edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen oranlar ile diğer araştırmacıların sonuçları karşılaştırıldığı zaman koyun karkaslarındaki izolasyon oranı Majeed ve ark. (17)'nin elde ettikleri orandan düşük bulunurken, dışkı örneklerindeki izolasyon oranı ise her iki çalışmayla paralellik gösterdi. Keçi karkas ve rektal içerikleri ile ilgili benzer çalışmalara rastlanmadığı için sonuçlar karşılaştırılamamıştır. Çalışmalar arasındaki izolasyon oranları farkı kullanılan metodlar ve izolasyon yapılan hayvanların kesildiği mezbahalardaki hijyenik şartlar ile ilgili olabilir.

Klorlanmış sulardan aeromonas izolasyonu ile ilgili çalışmalar (13, 24) olmasına rağmen, çalışmamızda işlenen su örneklerinin hiçbirinden aeromonas izole edilemedi. Van Der Kooij (12) sularda aeromonas varlığı üzerinde serbest klor miktarının çok etkili olduğunu 0.3 mg/lt miktarındaki serbest klorun aeromonasları tamamen elimine ettiğini bildirmiştir. Elde edilen sonuç kurumda kullanılan suyun kontrollü ve sistemli olarak klorlanması ile açıklanabilir.

Hareketli aeromonas türlerinin izolasyonu için çeşitli besiyerleri bildirilmiştir (27-29). Bu çalışmada hareketli aeromonas suşlarının izolasyonu amacıyla 100.000 İ.U.Sodyum Penicilin G/L içeren GSP-Glutamate Starch Phenol Red Agar-(Merck) ve kanlı agar kullanıldı. GSP agar'da izole edilen ve aeromonas şüpheli olarak ayrılan tüm suşlar daha sonra biyokimyasal özellikleri incelendiğinde *Aeromonas* spp. olarak identifiye edildi. Ancak antibiyotik içeren besiyerlerinin bazı suşların üremesini inhibe edebileceği de daima göz önünde bulundurulmalıdır.

Hareketli aeromonas suşlarının identifikasyonu, morfolojik kültürel ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılmaktadır (3, 9). Çalış-

mada izole edilen suşların gerek cins ve gerekse tür düzeyinde ayrılması için yapılan biyokimyasal test sonuçları diğer araştırmalarda (15, 18) bildirilen bulgulara ve hareketli aeromonas suşlarının klasik özelliklerine (9) uygunluk gösterdi.

Sonuç olarak gıda zehirlenmelerinde rol

oynayabilecek organizmalardan olan hareketli aeromonas türleri sadece soğuk kanlı hayvanlarda ve sulara değil evcil memeli hayvanlarda da bulunabilmektedir. Ayrıca hijyenik olmayan kesim koşullarında kolayca karkaslara bulaşabilmekte ve olası tehlike kaynağı olarak ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- BİLGEHAN, H.: V.parahaemolyticus, Aeromonas, Plesimonas, Campylobacter ve infeksiyonları. Ülkenizde yeterince incelenmeyen enterik patojenler, (Ed) TÖRECI, K., A.Ü.Tıp Fakültesi, 47-68, 1989 .
- 2- JOHNSON, E.A.: Infrequent microbial infections, Food Borne disease (Ed) CLIVAR, D.O., Academic Press Inc., 260-273, 1990 .
- 3- VON GRAEVENITZ, A.: Research on Aeromonas and Plesimonas, Experientia, 43, (4), 347-374, 1987 .
- 4- OKREND, A.J.G., ROSE, B.E., BENNETT, B.: Incidence and toxigenicity of Aeromonas species in retail of poultry, beef and pork, J. Food Protection, 50, (6), 509-513, 1987 .
- 5- BUCHANAN, R.L., F'ALUMBO, S.A.: Aeromonas hydrophila and Aeromonas sobria as potential food poisoning species: A review, J. Food Safety, 7 (1), 15-29, 1985 .
- 6- FRAZIER, W.C.WESTHOFF, D.C.: Food microbiology, McGraw-Hill Ed., Singapore, 430-470, 1988 .
- 7- MORGAN, D.R., LINDSEY, V.W.: Is aeromonas sp.a foodborne pathogen ? review of clinical data, J. Food Safety, 9, 59-72, 1988 .
- 8- KHARDORI, U., FAINSTEIN, V.: Aeromonas and plesimonas as etiological agents, Ann.Rev.Microbiol. 42: 395-419, 1988 .
- 9- POPOFF, M: Aeromonas. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Ed) KRUEG, N.R, HOLT, J.G.: Vol. 1, 541-548, Williams Wilkins, Baltimore London, 1984 .
- 10- LJUNGH, A., WANDSTRÖM, T.: Aeromonas toxins, Pharmac. Ther. 15, 339-354, 1982 .
- 11- LALLIER, R., HIGGINS, R.: Biochemical and Toxigenic characteristics of Aeromonas spp. isolated from disased mammals, moribund and healthy fish, Vet. Microbiol. 18: 63-71, 1988 .
- 12- VAN DER KOOIJ, D.: Properties of aeromonads and their occurence and hygienic significance in drinking water, Zentralblatt für Bacteriologie und hygiene, B 187, 1-17, 1989 .
- 13- ARAUJO, R.M., ARRIBAS, R.M., LUCENA F., PARES, R.: Relation between Aeromonas and faecal coliforms in fresh waters, J.Appl. Bacteriol. 67: 213-217 1989 .
- 14- F'ALUMBO, S.A., BENCIVENGO, M.M., CORRAL, F.D., WILLIAMS, A.C., BUCHANAN, R.L.: Characterization of the Aeromonas hydrophila Group isolated from retail foods of animal origin, J.Clin.Microbiol., 27 (59): 854-859, 1989 .
- 15- MOYER, N.P.: Clinical significance of Aeromonas species isolated from patients with diarrhea, J.Clin. Microbiol., 25: 2044-2048 1987 .
- 16- GRAY, S.J.: Aeromonas hydrophila in livestock: Incidence, biochemical characteristics and antibiotic susceptibility, J. Hygiene, 92: 365-375, 1984 .
- 17- MAJEED, K.N., EGAN, A.P., MACRAE, I.C.: Incidence of aeromonads in sample from an abattoir processing lambs. J.Appl. Bacteriology, 67: 6,597-604 1989 .
- 18- AKAN, M.: Hayvanlardan ve çevresel kaynaklardan izole edilen hareketli aeromonas türlerinin biyokimyasal, toksijenik, enzimatik ve yüzey özellikleri, Doktora Tezi, A.Ü.Vet.Fak., Ankara, 95 sf. 1993 .

- 19- MAJEED, K.N., EGAN, A.F., MACRAN, I.C.: Enterotoxigenic aeromonads on retail lamb meat and offal, J. Appl. Bacteriol. 67: 2, 165-170, 1989 .
- 20- STERN, N.J., DRAZEK, E.S. JOSEPH, S.W.: Low incidence of *Aeromonas* spp. in livestock faeces. J. Food Protection 50: 66-69 1987 .
- 21- KINDSCHUH, M., PICKERING, L.K., CLEARY, T.G. PALACIOGIS, G.R.: Clinical and biochemical significance of toxin production by *Aeromonas hydrophila*, J. Clinical Microbiology, 25, 5, 916-921, 1987 .
- 22- MILLERSHIP, S.E., BARER, M.R., TABA-OCHALI, S.: Toxin production by *Aeromonas* spp. from different sources, J. Med. Microbiol. 22; 311, 1986 .
- 23- BARER, M.R., MILLERSHIP, S.E., TABA-OCHALI, S.: Relationship of toxin production to species in the genus *Aeromonas*, J. Med. Microbiol. 22; 303-309, 1986 .
- 24- GÜRSOY, K.: Ankara'daki askeri birliklerin su kaynaklarında *Aeromonas*'ların bulunmuşu, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Vet. Fak. Ankara, 66 sf. 1993 .
- 25- ANONYMOUS: T.S. 266 İçme suları standardı Türk Standartlar Enstitüsü 1986 .
- 26- BARON, E.J., FINEGOLD, S.M.: Bailey Scott'sy Diagnostic Microbiology, Eighth Ed. C.V. Mosby Comp. pp. 665, (1990).
- 27- KAY, B.A., GUERRERO, C.E., SACK, R.B.: Media for the isolation of *Aeromonas hydrophila*, J. Clin. Microbiol. 22: 5, 888-889, 1985 .
- 28- KAPER, J., SEIDLER, R.J., LOCKMAN, II., COLWELL, R.R.: Medium for the presumptive identification of *Aeromonas Hydrophila* and Enterobacteriaceae, Appl. Environ. Microbiol. 38: 5, 1023-1026 1979 .
- 29- MISIR, S., NAIR, G.B., BIADRA, R.K., SIKDER, S.N., PAL, S.A.: Comparison of selective media for primary isolation of *Aeromonas* species from human and animal faeces, J. Clin. Microbiol., 25: 11, 2040-2043, 1987 .

BESLENME ALIŞKANLIĞI, HEMATOKRİT DÜZEYİ VE VÜCUT KİTLE İNDEKSİNİN SİGARA İÇİMİ İLE İLİŞKİSİ

Erdal BEŞER *

Şükrican H.BAYTAN **
Mustafa GÜL **

Deniz AKKOYUNLU **

ÖZET

Bu çalışma kesitsel (cross-sectional) tipte bir araştırma olup veriler anket yöntemiyle toplanmıştır. 1 Aralık 1991 ve 31 Ocak 1992 tarihleri arasında Trabzon'da 5 sağlık ocağında rastgele küme ve tabakalı örnekleme yöntemlerinin kullanılması ile araştırma grubu saptanmıştır. 18-70 yaş grubundan 1669 kişi (851 erkek, 818 kadın); sigara içmeyenler ve sigara içenlerde günlük sigara sayısına göre 3 grupta toplanmışlardır. Araştırmamızın amacı; sigaraya karşı yürütülen eğitim programlarında yararlanması için; sigaranın beslenme alışkanlıkları, çay, kahve, alkol tüketimi üzerine etkileri, hematokrit düzeyi ve vücut kitle indeksi (BMI) üzerine etkilerini tartışmaktır. Erkeklerin % 64.98'i, kadınların % 44.50'si sigara içmektedir. Sigara içenlerde hematokrit değerleri içmeyenlere göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$ - $P < 0.0001$). Sigara içenlerde içmeyenlere göre daha fazla alkol ve kahve, sigara içen kadınlarda daha fazla çay ama daha az et, sigara içen her iki grupta yeşil sebze ve tüm meyveler daha az tüketilirken hayvani veya satüre yağ daha fazla tüketilmektedir ($P < 0.05$ - $P < 0.0001$). ≥ 25 sig./gün içen her iki cinsde BMI içmeyenlere göre fazladır ($P < 0.01$). Bu veriler birçok kanser türünde ve koroner kalp hastalığı prevalanslarını artmasında sadece sigara değil sigara içenlerdeki beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerinde en az sigara kadar etkili olduğunu göstermektedir.

CIGARETTE SMOKING, EATING BEHAVIOR, BLOOD HEMATOCRIT LEVEL AND BODY MASS INDEX

SUMMARY

This study is designed to assess the influence of the present educational programs against smoking and to evaluate the effects of smoking on dietary habits including tea, coffee, and alcohol intake, hematocrit levels and body mass index. Cross sectional type of investigation based on a questionnaire form was applied between December 1, 1991 and January 31, 1992. Cluster-stratified and random sampling methods were used to select the samples from five health stations in Trabzon province, Turkey. 1669 adults (851 male, 818 female), who ranged in age from 18 to 70 years divided into four groups as one non-smoker group and three smoking groups according to the number of cigarettes smoked a day. 64.98 % of men and 44.50 % of women were smokers. Blood hematocrit levels of smokers were found significantly higher than non-smokers ($P < 0.05$ - $P < 0.0001$) in both sexes. Smokers were found to consume more alcohol, coffee, saturated fat than non-smokers

* Karadeniz Technical University, Medical School, Department of Public Health, Trabzon/Turkey
** Karadeniz Technical University, Medical School, Department of Physiology, Trabzon/Turkey

($P < 0.05 - P < 0.0001$). Smoking women consumed more tea and less red and white meat than non-smoking women. Smokers also consumed less green vegetables and fruits than non-smokers in both sexes ($P < 0.05 - P < 0.0001$). Additionally, Body mass index in 25 or more cigarettes a day smokers was found higher ($P < 0.01$) than non-smokers regardless of sex. These results suggest that not only smoking itself but also food consumption habits among smokers might increase the prevalence of several cancer types and coronary heart diseases.

Keywords: Smoking, food habits, eating behavior, diet, hematocrit, body mass index

INTRODUCTION

The most important indicator of the World Health Organization's "Global strategy for health for all by the year 2000" is the life expectancy (1). At least three millions of death every year are caused by cigarette smoking throughout the world (2). Doubtlessly, primary prevention against smoking should decrease the deaths related to smoking and a following increase in life expectancy should be expected.

Not only the primary effects of the smoking but also altered dietary habits caused by smoking impairs prevention of smoking related diseases (3, 4). Depending on unsatisfactory dietary habits among smokers, they obtain less vitamins A, C and beta carotene which are sanctioned as preventive agents for several cancer types (5). Hematocrit levels (Htc) are also found higher in smokers than non-smokers (7-9). Surprisingly some studies show that some smokers could be anemic even though their Htc levels are normal (9). Food consumption habit alterations among smokers also effects the body mass index (BMI).

In the study we aimed to get more information about the beneficial effects of the anti smoking education programs, and to discuss the effects of smoking on eating behavior including tea, coffee and alcohol consumption, Htc level and BMI.

METHODS

This research was carried out in one of the northern cities of Turkey, Trabzon, a typical Eastern Blacksea city of widely expanded inha-

bitation in which most people (60 %) live on privately owned tea gardens, filbert groves and tobacco plantations (10), in a 2-months period between December 1, 1991 and January 31, 1992.

Cluster-stratified and random sampling methods were used in the selection of the samples. In the primary stage, five "health station" submits of the health centers each serving 2500 citizens and staffed by midwives, were taken as cluster units. In the second stage urban and rural health stations were grouped and later clusters representing each were randomly selected. In the third stage persons in the 18-70 age group were stratified by the age groups according to the information present in their personal health files/cards, and the subjects representing different age groups were randomly selected.

1669 adults 851 males (M) and 818 females (F) who ranged in age from 18 to 70 years were included in the research. Smoking history was obtained from all subjects. Individuals were placed into categories of current smokers, former smokers and never-smoked groups, current smokers were divided into categories of light, moderate and heavy smokers based upon the cigarette (s) smoked a day, 1-14 (< 15 cig./day), 15-24 (15-24 cig./day), 25 or more (≥ 25 cig./day), respectively. There were no pipe or cigar smokers. There were 33 ex-smokers and they are accepted as non-smokers (20 Male, 13 Female). Initial analyses showed that there are few differences in food consuming behavior from 24-hour recalled data between

never smoked and former smokers and therefore they were combined, creating a group of current non-smokers. (Non-smokers: 298 M, 454 F; < 15 cig./day: 190 M, 217 F; 15-24 cig./day: 220 M, 94 F; \geq 25 cig./day: 143 M, 53 F).

These subjects were interviewed at their homes or working places. Data is obtained from questionnaires administered by intern doctors who are trained for the objective. Food intake amount was scored by asking one day backwards diet of individuals same as Wilson et al's method (11), and food intake amounts were determined. Only visible fat in the meat category was taken into account as saturated fat besides other saturated fat sources. Alcohol, coffee and tea intakes were measured by weekly amounts. All individuals' Htc levels were measured by micro method, Htc levels between 47 ± 7 % dl in men and 42 ± 5 % dl in women accepted as normal values (12), peripheral blood smears were also evaluated. This work was planned as a cross-sectional study. We did not evaluate hemoglobin level measurements because routine Sahli method in the health stations and health centers seemed not reliable. Body-mass index was calculated by the formula: mass in kg/ (height in metas)²(5).

Statgraphics statistical package program (version 5.0) and IBM 386 DX clone computers were used for statistical computations. "Significance test for the difference of two means" and "analysis of variance with repeated measurements" were used in this study.

RESULTS

Table 1. presents comparisons among non-smokers and three smoker groups' food intake amounts or scores including tea, coffee and alcohol consumption and also Htc levels and BMI.

As seen in Table 1. Htc levels (% gr/dl) were found higher in smokers than in non-smokers regardless of sex ($P < 0.05 - P < 0.0001$). Even though Htc levels of 47.54 ± 0.26 in men and 44.43 ± 0.31 in women were found among \geq 25 cig./day smokers, anemia was

detected by peripheral blood smears in 3.50 % of men (n:5) and in 5.66 % of women (n:3) in this group. Statistical analysis of anemia among groups could not be performed because sample numbers were inadequate.

Except < 15 cig./day female group, all smoking groups consumed significantly more alcohol than non-smokers ($P < 0.0001$). Also all smoking groups (Except < 15 cig./day M) consumes significantly more coffee ($P < 0.01 - P < 0.0001$). On the other hand, our results also showed that there was no difference in tea consumption among all male groups, and smoker women consumed more tea than non-smoker women significantly ($P < 0.0001$). No difference was found between smoker and non-smoker men in red meat, poultry and fish consumption ($P > 0.05$), but smoker women consumed less both meat groups (red meat and poultry & fish) than non-smokers ($P < 0.01 - P < 0.0001$). 15-24 cig./day and \geq 25 cig./day groups in both sexes consumed less green vegetables than non-smokers ($P < 0.01 - P < 0.0001$), also all smoker groups regardless to sex consumed less fruit than non-smokers ($P < 0.01 - P < 0.0001$). Results showed that there is no difference among all groups in unsaturated fat consumption contrary to that all smoking groups consumed more animal originated and/or saturated fat ($P < 0.05 - P < 0.0001$). \geq 25 cig./day consumers' body mass index is found higher than non-smokers in both sexes ($P < 0.01$).

DISCUSSION

Most of the studied individuals who are between 18 and 70 years of age, 64,98 % of men and 44,50 % of women smoke. Prevalence of smoking was twice as much higher in our study area than average developed countries prevalence (2). Besides studies shows that prevalence of smoking tends to decrease in developed countries (2). For the reason that there is no reliable former investigation about this issue in our study area we could not perform any comparison with previous years.

Htc levels were found higher in smokers than in non-smokers ($P < 0.05 - P < 0.0001$) which correlates with the literature (7-9, 13). Increased Hemoglobin and Htc levels in smokers can be considered as compensation of anoxia and increase in carboxyhemoglobin levels as in literature (9, 13). In this study despite ≥ 25 cig/day smoking men and women groups have $47.54 \% \pm 0.26$ and $44.43 \% \pm 0.31$ Htc levels respectively, in the same groups anemia was observed 3.50 % in men and 5.66 % in women. Anemia diagnosis on subject individuals can be misleading if only blood Hemoglobin and Htc levels are used because of the masking effect of the smoking (9), for eliminating misleading results, subjects have to be evaluated at least by blood smears or a better way, Coulter S technique has to be used whenever it is available (13-14).

As seen in Table 1, all smoker groups, except < 15 cig./day smoking females, take more alcohol significantly than non-smokers ($P < 0.0001$). Similar results are observed in literature (15). A decrease in smokers prevalence could decrease alcohol intake, further research has to be conducted about the issue. Also all smoker groups, except < 15 cig./day male group, consume more coffee than non-smokers ($P < 0.01 - P < 0.0001$) in accordance with the literature (15, 16). Similar to alcohol results, further prevalence researchs have to be conducted about coffee consumption too. As seen in Table 1, in spite of tea consumption is not different between smoker males and non-smoker males ($P > 0.05$) smoker females consume significantly more tea than non-smoker women ($P < 0.0001$). In literature both male and female smokers consume more tea than non-smokers. We believe that this depends on high tea consumption in Turkey especially in the study area, the East-Blacksea Region where the Turkey's all tea production and processing is performed, also most of the women are unemployed in this area because of high unemployment rate, and tea is the most favorite beverage which people drinks in working places regularly and

offers to others as a cultural behavior, makes tea intake indifferent among smoker and non-smoker men. It is the same in alcohol and coffee consumption, a decrease in smoking prevalence could decrease tea consumption. We believe that this subject has to be re-studied further.

As shown in Table 1, there is no difference between smoker and non-smoker males in red meat and poultry and fish consumption ($P > 0.05$), but smoking females consume less both meat groups ($P < 0.01 - P < 0.0001$). First reason of the 91.35 % anemia prevalence among pregnant and breast feeding women in our study area is inadequate consumption of the red meat, and the second one is excessive tea consumption and consuming tea just after meals or with meals (17-19). A decrease in cigarette smoking could result a decrease in tea drinking and more meat consuming and this can lead to decreasing anemia prevalence which is the biggest health issue among women in this region. A demand for further studies about the subject is certain.

When all smoker groups consume less fruit than non-smokers ($P < 0.01 - P < 0.0001$), these groups except < 5 cig./day smokers consume less all green vegetables regardless of sex ($P < 0.01 - P < 0.0001$), just as similar results reported before (6, 15, 20). Reports show that smokers, who consumes same food traits with non-smokers, have less blood vitamin C levels than non-smokers, and they also metabolically consume more vitamin C than non-smokers (21, 22). It is reported that smoking could lead a less fruit eating desire (via nicotine) among smokers (6). Also insufficient vitamin C intake could result in less iron absorption and anemia (23). Inadequate green vegetables and fruit consumption among smokers causes lower intakes of cancer protective agents such as vitamins A, C, beta carotene and fibers (5, 6, 24). Cigarette smoking is held responsible for one out of three of all cancer types by some reports, just like unsatisfactory nutritional conditions cause one third of all cancers (5). From here, it is not hard to conclude that smo-

TABLE-1: Comparison between smokers and non-smokers on nutritional habits, tea, coffee, alcohol consumption, hematocrit levels and body mass index.

PARAMETER	SEX	Smoking Status ^a							
		NON-SMOKER M:298, F:454		1-14 CIG./DAY M:190, F:217		15-24 CIG./DAY M:220, F:94		≥25 CIG./DAY M:143, F:53	
		P(1:2)		P(1:3)		P(1:4)			
HEMATOCRIT (X)	M	42.72 [±] 0.19	44.18 [±] 0.25	<0.05	46.29 [±] 0.16	<0.0001	47.54 [±] 0.26	<0.0001	
	F	38.49 [±] 0.18	39.90 [±] 0.13	<0.05	43.00 [±] 0.18	<0.0001	44.43 [±] 0.31	<0.0001	
ALCOHOL (cc/week)	M	32.77 [±] 5.76	84.34 [±] 8.81	<0.0001	187.79 [±] 29.19	<0.0001	134.44 [±] 16.42	<0.0001	
	F	2.76 [±] 1.22	9.49 [±] 3.91	NS	32.40 [±] 9.06	<0.0001	188.63 [±] 33.53	<0.0001	
COFFEE (cc/week)	M	18.23 [±] 3.70	30.39 [±] 5.36	NS	81.15 [±] 13.17	<0.0001	127.39 [±] 30.33	<0.0001	
	F	40.18 [±] 1.52	116.29 [±] 3.07	<0.005	136.27 [±] 15.39	<0.005	99.50 [±] 17.28	<0.01	
TEA (cc/week)	M	4398 [±] 177.25	4434 [±] 161.00	NS	4656 [±] 153.02	NS	4825 [±] 194.25	NS	
	F	1630 [±] 78.02	3065 [±] 231.07	<0.0001	3099 [±] 342.12	<0.0001	4725 [±] 364.21	<0.0001	
RED MEAT ^c	M	2.98 [±] 0.22	2.58 [±] 0.14	XS	3.00 [±] 0.17	NS	3.13 [±] 0.18	NS	
	F	2.98 [±] 0.03	2.04 [±] 0.03	<0.01	1.00 [±] 0.11	<0.0001	1.00 [±] 0.33	<0.0001	
POULTRY & FISH ^c	M	3.53 [±] 0.20	3.14 [±] 0.19	NS	3.53 [±] 0.19	NS	3.77 [±] 0.24	NS	
	F	4.04 [±] 0.09	2.40 [±] 0.13	<0.001	1.63 [±] 0.18	<0.001	2.45 [±] 0.21	<0.01	
ALL GREEN VEGETABLES ^c	M	8.15 [±] 0.12	7.61 [±] 0.17	NS	7.05 [±] 0.13	<0.031	7.13 [±] 0.13	<0.01	
	F	8.17 [±] 0.08	8.34 [±] 0.15	NS	6.13 [±] 0.16	<0.01	6.09 [±] 0.27	<0.01	
ALL FRUITS ^c	M	8.53 [±] 0.10	7.67 [±] 0.12	<0.01	7.32 [±] 0.10	<0.0001	7.21 [±] 0.09	<0.0001	
	F	9.27 [±] 0.02	7.43 [±] 0.08	<0.0001	7.10 [±] 0.12	<0.0001	6.87 [±] 0.09	<0.0001	
UNSATURATED FAT ^c	M	2.05 [±] 0.06	2.33 [±] 0.03	NS	2.03 [±] 0.07	NS	1.90 [±] 0.01	NS	
	F	2.18 [±] 0.02	2.65 [±] 0.01	NS	2.04 [±] 0.06	NS	3.6 [±] 0.06	NS	
ARIMAL & SATURATED FAT ^c	M	2.00 [±] 0.01	2.36 [±] 0.03	<0.05	2.50 [±] 0.01	<0.05	2.54 [±] 0.05	<0.05	
	F	1.56 [±] 0.06	2.57 [±] 0.09	<0.001	2.60 [±] 0.12	<0.001	2.73 [±] 0.14	<0.001	
BODY MASS INDEX ^d	M	23.62 [±] 0.27	23.67 [±] 0.18	NS	23.71 [±] 0.17	NS	24.61 [±] 0.26	<0.01	
	F	23.43 [±] 0.12	22.58 [±] 0.17	NS	23.53 [±] 0.16	NS	25.83 [±] 0.04	<0.01	

a = mean ± Standard error mean (S.E.M.)

b = M = Male, F = Female

c = (Wilson, (11) (Explained in materials and methods)

d = Body mass Index = body mass in kg / (height in meters)²

kers not only have increased risk of cancer just because of smoking but also they have more cancer risks from cigarette dependent unsatisfactory nutritional factors.

In our study also; mostly animal originated saturated fat consumption which is a predisposing factor for prostate cancer in men, breast cancer in women and coronary heart diseases in both sexes is found higher in smokers ($P < 0.05$ $P < 0.0001$) (5). Similarly less consumption of fruit and vegetables, smoking leads to high cancer risk with direct effect and indirectly by causing more saturated and/or animal originated fat consumption which is also enhances some other cancer risks.

In the study we also found ≥ 25 cig.per day smokers has bigger BMI values than non-

smokers ($P < 0.01$). There are contradictory reports even though some of them are parallel with our results (25, 26), some of them reported less BMI in smokers (27, 28).

Our overall conclusion is; smokers are caught more lung, breast, prostate, bladder, oral cavity and cervical cancers caused by additional effects of insufficient consumption of foods which contain cancer protective agents such as fruit and vegetables (6). They also consume more coffee, tea, alcohol and saturated fat. Those factors increases cancer risks at least 100 % when compared to non-smokers. Anti-smoking educational programs could be more effective if programs also deal with those indirect effects of smoking.

REFERENCES

- 1- WHO: Global strategy for health for all by the year 2000 Geneva: World health Organization, 1981.
- 2- WHO: Global estimates for health situation assessment and projections 1990. Geneva: World Health Organization 1990.
- 3- Fisher, M., Gordon, T.: The relation of drinking and smoking habits to diet: The Lipid Research Clinics Prevalence Study. *Am. J.Clin.Nutr.* 41: 623-630, 1985.
- 4- Stryker, W.S., Kaplan, L.A., Stein, E.A., Stampfer, M.J., Sober, A., Willet, W.C.: The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. *AM.J. Epidemiol.* 127: 283-296, 1988.
- 5- WHO: Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. Geneva: World Health Organization, 1990.
- 6- Sobar, A.F., Harlan, L.C., Mattson, M.E.: Food and nutrient intake differences between smokers and non-smokers in the US. *Am.J.Public Health.* 80 (11): 1323-1329, 1990.
- 7- Gudmundsson, M., Bjelle, A.: Plasma, serum and whole-blood viscosity variations with age, sex, and smoking habits. *Angiology.* 44 (5): 384-391, 1993.
- 8- Lowik, M.K., Orlink, J., Kok, F.J., Oekhuizen, T.: Hematocrit and cardiovascular risk factors among elderly men and women. *Gerontology.* 38 (4): 205-213, 1992.
- 9- Nordenberg, D., Yip, R., Binkin, N.J.: The effect of cigarette smoking on hemoglobin levels and anemia screening. *JAMA.* 264 (12): 1556-1559, 1990.
- 10- State Institute of Statistics Prime Ministry Republic of Turkey.: Statistical yearbook of Turkey 1991. Ankara: State Institute of Statistics, 1993.
- 11- Wilson, E.D., Fisher, K.H., Fuguma, M.E.: Selection of an adequate diet. *Principles of Nutrition.* Wiley, 1965.
- 12- Bauer, J.D.: Numerical evaluation of formal elements of blood in Sonnenwirth, AC, Jarret L. *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis.* C.V. Mosby. St. Louis, 1980.
- 13- Beşer, E.: Üniversite öğrencilerinde sigaranın eritrosit ve lökositlere etkileri. *Türk. Hij.Den.Hiyol.Derg.* 46: 77-90, 1989.
- 14- Helman, N., Rubenstein, S.L.: The effects of age, sex, and smoking on erythrocytes and leukocytes. *Amer. J.Clin. Path.* 63: 35-44, 1975.

- 15- Whiclow, M.J., Erzinlioğlu, S.W., Cox, B.D.: A comparison of the diets of non-smokers and smokers. *Br.J.Addict.* 86(1): 71-81, 1991.
- 16- Lee, D.J., Markides, K.S.: Health behaviors, risk factors, and health indicators associated with cigarette in Mexican Americans: Results from the Hispanic HANES. *Am. J. Public Health.* 81 (7): 859-864, 1991.
- 17- UNICEF 8c T.C. İhtikimeti.: Türkiye'de anne ve çocukların durumu analizi. Ankara: Yeniçog Matbaası, 1991.
- 18- Disler, P.B., Lynch, S.R., Charlton, R.W., Torrance, J.D., Bothwell, T.H.: The effect of tea on iron absorption. *Gut.* 16: 193-200, 1975.
- 19- Beşer, E.: Üniversite öğrencileriyle çay içme alışkanlığı ile hemoglobin düzeyi ilişkisi. *Beslenme ve Diyet Dergisi.* 17: 67-73, 1988.
- 20- Preston, A.M.: Cigarette smoking—nutritional implications. *Prog.Food. Nutr. Sci.* 15 (4): 183-217, 1991.
- 21- Kaltner, A.B., Hartmann, D., Hornig, D.H.: Requirements of ascorbic acid in man: Steady-state turnover and body pool in smokers. *Am. J.Clin. Nutr.* 34: 1347-1355, 1981.
- 22- Beşer, E., Baysal, A., Çiliv, G.: Üniversite öğrencilerinde sigara içimi ile plazma C vitamini düzeyi ilişkisi. *Türk.Hij.Den.Biyol.* 45: 153-160, 1988.
- 23- Derman, D., Sayers, M., Lynch, S.R., Charlton, R.W., Bothwell, T.H., Mayrt, F.: Iron absorption from a cereal diet containing cane sugar fortified with ascorbic acid. *Br.J.Nutr.* 33: 261-269, 1977.
- 24- Riboli, E., Pequinot, G., Repetto, F., et al.: A comparative study of smoking, drinking and dietary habits in population samples in France, Italy, Spain, and Switzerland. I. study design and dietary habits. *Rev. Epidemiol. Sante. Publique.* 36 (3): 151-165, 1988.
- 25- Istvan, J.A., Cunningham, T.W.: Smoking rate, carboxyhemoglobin, and body mass in the Second National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES II). *J. Behav. Med.* 15 (6): 559-572, 1992.
- 26- Williamson, D.F., Forman, M.R., Binkin, N.J., Gentry, E.M., Remington, P.L., Trowbridge, F.L.: Alcohol and body weight in United States adults. *Am.J.Public Health.* 77 (10): 1324-1330, 1987.
- 27- Klesges, R.C., Klesges, L.M., Meyers, A.W.: Relationship of smoking status, energy balance, and body weight: analysis of the Second National Health and Nutrition Examination Survey. *J.Consult. Clin. Psychol.* 59 (6): 899-905, 1991.
- 28- Albanes, D., Jones, D., Micozzi, M.S., Mattson, M.E.: Associations between smoking and body weight in the US population: analysis of NHANES II. *Am.J.Public Health.* 77 (4): 439-444, 1987.

RATLARDA, DİYETE EKLENEN KAHVE VE KAFEİNİN BESİN TÜKETİMİ VE VÜCUT AĞIRLIĞI ÜZERİNE ETKİSİ

Neslişah RAKICIOĞLU *

Gülden PEKCAN *

ÖZET

Bu çalışmada, büyümesini tamamlamış 50 erkek Wistar Albino ratını normal ve kolesterol içeren (aterojenik) diyetlerine, kahve veya kafein eklenmesini besin tüketimi ve vücut ağırlık kazanımına olan etkisi, 30 gün süreyle incelenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kahve eklenmiş gruplardaki ratlar daha fazla yem tüketmelerine karşın ($p < 0.01$), ağırlık kazanımlarının daha az olduğunu görmüştür ($p < 0.01$). Kahvenin kilo kazanım etkinliğini azaltmasında, diyetin bileşimliliği, kafeini veya kahvedeki kafein haricindeki diğer öğelerin de etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

THE EFFECT OF COFFEE AND CAFFEINE ON FOOD CONSUMPTION AND BODY WEIGHT IN RATS

SUMMARY

This study was carried out on fifty male adult Wistar-Albino rats for 30 days. In order to determine the effect of coffee and caffeine on food consumption and body weight gain, coffee and caffeine are added to standard or cholesterol containing diets.

Food intake is increased in the coffee consuming group than controls ($p < 0.01$), but weight gain is less ($p < 0.01$). Results indicate that the composition of diet, caffeine or the other substances in coffee has an important effect on weight gain efficiency.

GİRİŞ

Türk halkının beslenme kültüründe, yemek sonrası ve ikram içeceği olarak kahvenin önemli bir yeri vardır. Son yıllarda ülkemizde geleneksel Türk kahvesinin yanı sıra instant kahve de sıklıkla tüketilir olmuştur. Kafein; sadece kahvenin bileşiminde değil çay, kakao, çikolata, kolalı içeceklerde, katkı maddesi olarak bazı yiyeceklerde ve sıklıkla kullanılan birçok ilacın bileşiminde de bulunmaktadır (1-3). Bu nedenle de yaygın olarak tüketilmektedir.

Kahve ve etkin maddelerinden birisi olan kafeini, insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, 1900'ü yılların başlarında incelemeye

başlanmıştır. Akut olarak alındığında idrar üretimi ve gastrik salgını artırıldığı, iştahı ve uyku durumunu değiştirdiği bilinmektedir (4). Gastrointestinal, renal ve merkezi sinir sistemlerini yanı sıra kahve ve kafeinin besin tüketimi üzerinde olan etkileri de önem taşımaktadır. Kafeinin metabolik hızı ve lipolizi artırarak kilo kazanım etkinliğini azaltması (5), şımanlarda kahvenin zayıflatıcı etkisinden yararlanılabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada farklı bileşimde diyet verilen ratlarda kahve ve kafeinin, besin tüketimi dolayısıyla kilo kazanımına olan etkileri incelenmiştir.

* Hacettepe Üniversitesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Dr., Prof. Dr. Ankara—TÜRKİYE

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmada büyümesini tamamlanmış olan ikibuçuk aylık erkek, Wistar Albino ratlar kullanılmıştır. Çalışma, her grupta on rat olmak üzere beş grup üzerinde yapılmıştır. Gruplardaki onar hayvan, dört-dört-iki düzeninde yerleştirilerek her grup için üç kafes ayrılmıştır. Hayvanların kulakları işaretlenerek ayırt edilmeleri sağlanmıştır. Ratlar çelik kafesler içerisinde oda ısısında barındırılmış, haftada bir banyolarını temizlemiştir.

Birinci gruptaki hayvanlara (kontrol grubu) sadece piyasada satılan standart rat yemi verilmiştir. İkinci grubun (kahve) standart yemine neskahve eklenmesi yapılmıştır. Kahvenin miktarı, 70 kg ağırlığında bir erkeğin günde 12 fincan kahve içimine eşdeğer miktar olarak 220 g ağırlığındaki rat (30 günlük diyetten sonraki ortalama ağırlık) için, metabolik vücut ağırlığı (kilogramı 0.75) kullanılarak ve ratın günlük 15-16 g yem tüketebileceği düşünülerek hesaplanmıştır (6-8). Instant kahve hazırlanırken bir fincan suya (200-250 cc) 4.5-5 g kahve konsantrasyonu kabul edilerek 100 g yeme 5 g kahve eklenmesi yapılmıştır. Üçüncü gruptaki (kafein) ratların yemine 12 fincan kahvenin içerdiği kafein miktarına eşdeğer olacak şekilde 100 g yeme 120 mg saf kafein eklenmiştir. Araştırmada Nestle-Nescafe Soluble Cafe kullanılmıştır ve kafein analizi Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Merkez Hıfzısıssıha Enstitüsü Laboratuvarlarında yaptırılmıştır. Kullanılan kahvenin 100 gramı 2.4 g kafein içermektedir. Dördüncü gruba (kofesterol) aterosjenik diyet oluşturmak amacıyla standart yemin 100 gramına 1 g kolesterol ve kolesterolün metabolizmasını arttırmak için 0.2 g kolik asit eklenerek verilmiştir. Beşinci gruptaki (kolesterol - kahve) ratlara ise, dördüncü gruptaki kolesterol içeren yemin 100 gramına insanların 12 fincan kahve tüketimine eşdeğer olacak şekilde 5 g kahve eklenerek oluşturulan diyet tükettirilmiştir.

Standart yemin haricindeki diğer grupların yemleri, birer kilogram hazırlanan stoklardan günlük olarak ratların tahmini tüketebilecekleri miktarlarda hazırlanmıştır. Çuvallarda bulunan

standart rat yemi eklenmeden sonra, gruplar için belirtilen eklemeler yapılarak stok yem hazırlanmıştır. Tüketilecek miktar su ile yoğunlaştırılıp pelet haline getirildikten sonra oda ısısında kurutulmuş, ertesi gün ratlara tükettirilmiştir.

Diyetler ve su ad-libitum olarak hergün aynı saatte verilmiş, günlük yem tüketim miktarları kaydedilmiştir. Hayvanların ağırlık ölçümleri ise iki günde bir olmak üzere haftada üç kez yapılmıştır.

Bu araştırmalarla, bir ay süre ile farklı yemlerle beslenen beş grup ratın; yem tüketimi, ağırlık değerlerine ilişkin ortalama (\bar{x}) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri bulunmuştur. Haftalara göre ağırlık kazanımı durumu incelenirken, hayvanların ağırlıkları iki günde bir ölçüldüğünden 3. ve 9. günün farkını birinci hafta, 9 ve 15. günün farkını ikinci hafta, 15 ve 21. günün farkını üçüncü hafta, 21 ve 27. günün farkını ise dördüncü hafta olarak düşünülmüş istatistiksel açıdan uygun bulunmuştur. Gruplar arası farklılıkların saptanmasıyla, iki ortalama arasındaki farkın önemlilik kontrolü testi, aynı grubun haftalık değişimlerinin saptanmasında ise iki eş arasındaki farkın önemlilik kontrolü testi kullanılmıştır (9).

BULGULAR

Ratların, haftalık ve ortalama yem tüketim durumunu Tablo 1'de verilmiştir. Günlük ortalama yem tüketimi; kahve ve kolesterol + kahve eklenmiş gruplar haricinde tüm gruplarda, istatistiksel açıdan önemli derecede farklı bulunmuştur ($p < 0.01$). Genelde gruplar arasında yem tüketiminde farklılıklar olmakla birlikte, aynı gruptaki ratların haftalara göre yem tüketimleri de değişme göstermiştir (Şekil 1). Dört haftalık dönemin sonunda kolesterol eklenmiş gruptaki ratların, günlük ortalama yem tüketimlerinin diğer gruplara göre en yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Kahve ve kafein eklenmiş grupların yemlerinin 100 gramı eşit miktarda kafein içerecek şekilde hazırlanmasına karşın, her iki grubun ortalama yem tüketimindeki farklılık önemli bulunmuş ($p < 0.01$) (Tablo 1), ve

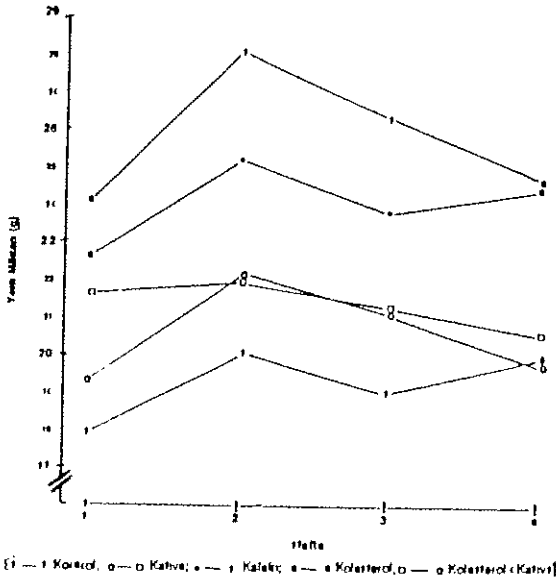
üçüncü gruptaki ratların daha fazla kafein tükettikleri saptanmıştır. Araştırmanın sonucunda; ikinci gruptaki ratların toplam 6052 g/30 gün yem tükettiklerine bağlı olarak 24.2 mg/gün/ kafein aldıkları, üçüncü gruptaki ratların ise

toplam 6922/g/30 gün yemle birlikte 27.7 mg/gün/kafein aldıkları saptanmıştır.

Ratların, araştırma başlangıcı ve sonundaki ağırlıkları ile ağırlık kazanımına ilişkin ortalamaya (\bar{x}), standart hata ($S \bar{x}$) değerleri Tablo 2'de

TABLO-1: Ratların Haftalara Göre ve Ortalama Yem Tüketimi (g/gün)

GRUPLAR	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	Ortalama Yem Tüketimi
	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	
Kontrol	17.89 \pm 0.52	19.96 \pm 0.36	18.85 \pm 0.64	19.64 \pm 0.30	19.01 \pm 0.24
Kahve	19.44 \pm 1.73	22.14 \pm 0.56	20.92 \pm 0.63	19.63 \pm 0.72	20.22 \pm 0.34
Kafein	22.56 \pm 0.72	25.11 \pm 1.20	23.74 \pm 0.82	24.35 \pm 0.61	23.57 \pm 0.44
Kolesterol	24.07 \pm 0.49	27.94 \pm 0.43	26.20 \pm 0.36	24.71 \pm 0.61	25.19 \pm 0.37
Kolesterol + Kahve	21.69 \pm 0.90	22.07 \pm 0.73	21.07 \pm 0.38	20.58 \pm 0.51	20.86 \pm 0.38



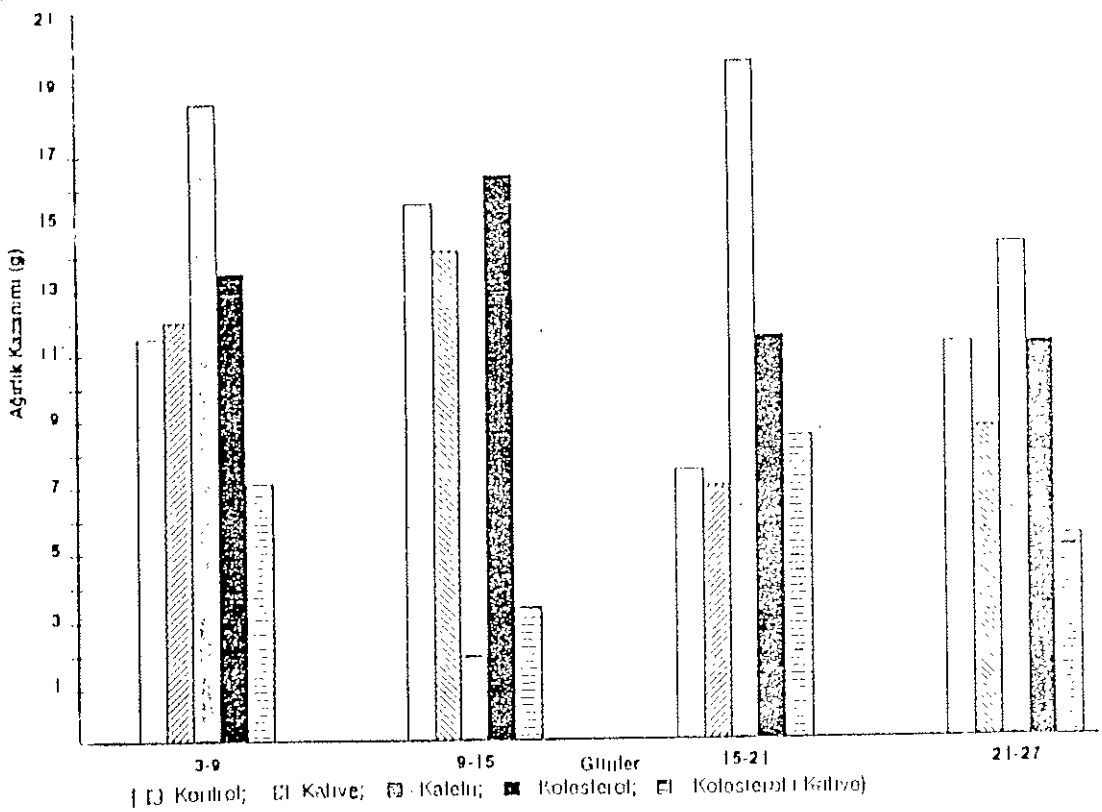
Şekil 1: Haftalık Yem Tüketim Durumu

verilmiştir. Başlangıç ağırlıklarında gruplar arası farklılık olmamasına karşın, araştırmanın sonucunda en düşük düzeyde ağırlık kazanımının, kahve eklenmiş gruplar da olduğu görülmüştür. Kolesterol + kahve eklenmiş grupta ağırlık kazanımı 29.2 ± 6.05 g (% 17.9) iken, sadece kahve eklenmiş grupta ise 40.2 ± 8.68 g (% 24.7) olarak bulunmuştur (Tablo 2). Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; kolesterol+kahve eklenmiş (beşinci grup) ratların, sadece kafein ve sadece kolesterol eklenmiş diyet ile beslenen ratlara göre daha az yem tükettikleri ve vücut ağırlıklarının da daha düşük olduğu görülmüştür ($p < 0.01$).

Yine beşinci gruptaki ratlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise, daha fazla yem tükettiklerine karşın daha az ağırlık kazanmışlardır ($p < 0.01$) (Tablo 1, 2). Kahve kafein eklenmiş gruplarda yem tüketimindeki farklılık, saf kafein

TABLO 2: Ratların Araştırma Başlangıcı ve Sonundaki Ortalama Ağırlıkları ile Ağırlık Kazanım Durumu

GRUPLAR	Başlangıç Ağırlığı (g)	Son Ağırlık (g)	Ağırlık Kazanımı (g)	% Ağırlık Kazanımı
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Kontrol	160.5 \pm 1.71	220.0 \pm 4.73	59.5 \pm 4.04	37.10 \pm 3.15
Kahve	163.8 \pm 2.25	204.0 \pm 8.45	40.2 \pm 8.68	24.74 \pm 5.39
Kafein	160.5 \pm 3.00	225.4 \pm 7.74	64.9 \pm 6.24	40.34 \pm 3.79
Kolostrol	162.4 \pm 3.49	223.5 \pm 8.47	61.7 \pm 7.05	37.99 \pm 4.15
Kolostrol + Kahve	162.4 \pm 3.32	191.6 \pm 7.60	29.2 \pm 6.05	17.97 \pm 3.64



Şekil 2: Ratların Hareketlerine Göre Ortalama Ağırlık Kazanımındaki Değişim

aları ratlarda ağırlık kazanımı ile kendini göstermiştir ($p < 0.05$).

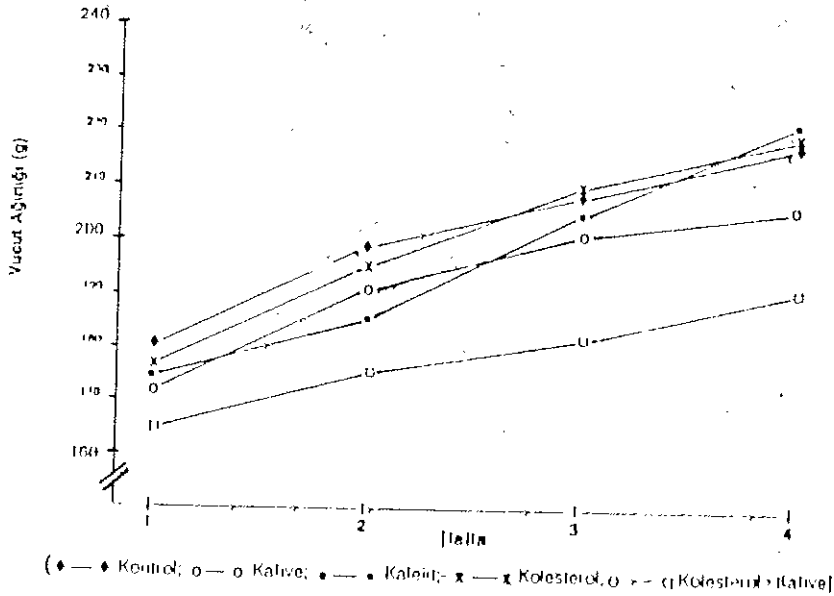
Ratların haftalara göre ortalama ağırlık kazanımı durumu Tablo 3 ve Şekil 2'de verilmiştir. Sadece kafein eklemesi yapılan grupta, 1 ve 2, 2 ile 3 ve 4. haftalarda ağırlık kazanım durumu farklı bulunmuştur ($p < 0.01$).

Ratların haftalara göre ortalama vücut

ağırlıkları Tablo 4'de verilmiştir. Haftalık ortalama vücut ağırlığını, tüm gruplarda genellikle artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 3). Sadece kolesterol + kalve eklenmiş grupta, dört hafta süresince ortalama vücut ağırlığı, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan belirgin şekilde düşük bulunmuştur ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.01$).

TABLO-3: Ratların Haftalara Göre Ağırlık Kazanımı (g) Ortalama ve Standart Hata ($\bar{x} - S\bar{x}$) Değerleri

GRUPLAR	Haftaların Gösteleri			
	3-9. Gün	9-15. Gün	15-21. Gün	21-27. Gün
Kontrol	11.6 ± 2.09	15.5 ± 1.54	7.6 ± 3.11	11.2 ± 2.24
Kalve	12.0 ± 2.64	14.1 ± 2.10	6.8 ± 2.74	8.2 ± 4.11
Kafein	10.7 ± 1.93	2.0 ± 2.12	19.7 ± 4.17	14.2 ± 2.93
Kolesterol	13.3 ± 2.14	16.4 ± 3.46	11.3 ± 1.20	11.2 ± 1.84
Kolesterol + Kalve	7.1 ± 1.95	3.3 ± 1.80	8.5 ± 2.32	5.3 ± 1.72



Şekil 3: Ağırlık Durumunun Haftalara Göre Değerlendirilmesi

TABLO-4: Ratların Haftalara Göre Ortalama Vücut Ağırlıkları (g)

GRUPLAR	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	$\bar{x} \pm S \bar{x}$	$\bar{x} \pm S \bar{x}$
Kontrol	179.03 \pm 3.22	197.95 \pm 3.82	206.20 \pm 4.40	218.00 \pm 4.39
Kahve	171.57 \pm 2.80	190.70 \pm 4.71	199.45 \pm 4.75	204.07 \pm 8.32
Kafein	175.00 \pm 3.98	188.60 \pm 4.97	202.70 \pm 7.56	222.07 \pm 7.64
Kolesterol	175.03 \pm 4.57	195.30 \pm 6.01	207.45 \pm 6.98	221.23 \pm 8.06
Kolesterol + Kahve	165.30 \pm 5.27	175.55 \pm 4.73	180.00 \pm 6.21	188.87 \pm 7.20

TARTIŞMA

Dört haftalık çalışma periyodu süresince ad-libidum olarak beslenen, beş grup hayvanın yem tüketimleri incelendiğinde kahve ve kolesterol + kahve eklenmiş grupların haricinde, tüm gruplardaki yem tüketimleri birbirinden farklı bulunmuştur ($p < 0.01$). Ortalama günlük yem tüketimi kontrol grubunda en düşük düzeyde (19.0 ± 0.24 g/günde/rat, 5667 g/30 gün/grup) iken, kolesterol eklenmiş grupta en yüksek düzeyde (25.2 ± 0.37 g/gün/rat, 7614 g/30 gün/grup) bulunmuştur (Şekil 1).

Yem tüketimindeki farklılıklara bağlı olarak, grupların kafein tüketimleri de etkilenmiştir. Kafein eklenmesi yapılan grupta yem tüketiminin fazla olması nedeniyle ratlar 27.7 mg/gün/rat kafein alırken, ikinci gruptaki ratlar ise daha az yem tüketimine bağlı olarak 24.2 mg/gün/rat kafein tüketmişlerdir. Buna karşın kahve ve kolesterol + kahve eklenmesi yapılmış gruplardaki hayvanların yem tüketimleri benzer olması nedeniyle kafein alımlarının da benzer olduğu söylenebilir. Nitekim beşinci grupta kafein tüketimi 24.8 mg/gün/rat olarak bulunmuştur.

Gruplardaki hayvanların başlangıç ağırlıkları aynı olmasına karşın, dört haftanın sonunda, beşinci gruptaki ratların ağırlık kazanımının (% 17.9) kontrol, kafein ve kolesterol eklenmesi yapılmış gruplardan belirgin şekilde düşük olduğu görülmüştür (sırasıyla % 37.2, 40.3, 37.9) ($p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.01$). Kahve eklenmesi yapılmış ikinci ve beşinci gruptaki hayvanların benzer yem tüketimlerine bağlı olarak ağırlık kazanımları da benzer bulunmuştur. Bu iki grup, kontrol grubu ile karşılaştırılacak olursa belirgin şekilde daha fazla yem tüketimlerine karşın ($p < 0.01$); ağırlık kazanımı kahve eklenen grupta kontrol grubundan farklı bulunmazken, kolesterol + kahve eklenmesi yapılan grupta istatistiksel açıdan belirgin şekilde daha az bulunmuştur ($p < 0.01$). Yapılan bir çalışmada, kafein alımının miktara bağlı olarak (100, 200 ve 400 mg) enerji harcamasını ve termojenik yanıtı pozitif yönde artırdığı saptanmıştır (10). Dullo ve arkadaşları (11), deneklerin 250–500 mg/gün kafein tükettikleriyle enerji harcamasında % 3–4'lük artış olduğunu bildirmişlerdir. Yine benzer bir çalışmada, denek-

lere günde 4 mg/kg saf kafein (3 fincan instant kahve karışığı) verilmesinin metabolik hızı % 12 oranında arttırdığı saptanmıştır (12). Bu miktar 8/mg/kg kafeine (4-5 fincan kahve) çıkartıldığında metabolik hız % 16'lık artış göstermişti. Bununla beraber kafeine termojenik yanıt, fiziksel aktiviteyi de arttırmaktadı (13). Nitekim Mc Naughton ve arkadaşları (14), yüksek miktarda kafein kullanılması, kas glikojen kullanımını engellediğini ve dokuları tarafından yağ kullanımındaki tercihin artması ile fiziksel çalışma kapasitesinin arttığını göstermişlerdir. Birçok hayvan çalışmaları da bu bulguları desteklemektedir. Yaşamlarının ilk haftasında, 1 veya 9 mg/kg kafein verilen rat yavularının, daha yavaş geliştikleri saptanmıştır (15). Dokuz hafta süre ile ratların diyetlerine kafein eklenmesi, eklenen miktara bağlı olarak vücut kilo kazanım elverişliliğini (kilo kazanımı g/tüketilen yem m) değiştirmiş, kilo kazanım hızında azalmaya neden olmuştur (16). Benzer şekilde ratlara 10 hafta süreyle içme suyu yerine instant kahvenin verilmesi, kahve içeren gruplardaki hayvanların besin tüketimi ve kilo kazanımlarında azalmaya neden olmuştur (17). Yine insanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, 12 hafta süre ile 140 ml'lik fincanlarda günde 4-6 fincan demlendirilmiş veya filtre edilmiş kahve (22.4-33.6 g) içenlerde, vücut ağırlığının yavaş yavaş azalarak hiç kahve içmeyenlere göre belirgin düzeye ulaştığı saptanmıştır (18).

Bu çalışmada da kahve eklenmiş grupların kontrol grubuna göre daha fazla yem tüketmelerine karşın kilo kazanımlarının az olması yemlerin kafein içeriklerinden dolayı metabolik hızdaki artış nedeniyle, enerji harcamasının artmasına bağlanabilir. Benzer şekilde düşünülecek olursa kafein eklenmesi yapılan üçüncü gruptaki ratların da yem tüketimi kontrol grubundan belirgin şekilde yüksek ($p < 0.01$) olmasına karşın, dördüncü haftanın sonuna vücut ağırlığı kazanımı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hafif artış göstermiş (% 37.2'ye karşın % 40.3) fakat bu istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 2). Bu durum üçüncü gruptaki hayvanların kahve eklenmiş

gruplara göre daha fazla yem tüketmesi sonucu ($p < 0.01$), enerji harcamasındaki artışı daha iyi kompanse ettikleri şeklinde açıklanabilir. Kafein eklenmesi yapılan grupta yem tüketiminin kahve ve kolesterol + kahve eklenmiş gruptan belirgin şekilde fazla olması ($p < 0.01$), bu grupta ağırlık kazanımının da belirgin şekilde yüksek olmasına neden olmuştur ($p < 0.05$, $p < 0.01$).

Ortalama vücut ağırlığında, gruplar arası farklılık olmakla birlikte, genelde tüm gruplarda vücut ağırlığının, araştırmanın akışına paralel olarak artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 3). Kafein eklenmiş grupta haftalık ağırlık kazanımı, 9-15. günleri hariç, diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Nitekim, bu grupta eşlerarası farklılık incelendiğinde, ikinci hafta (9-15.günler) ağırlık kazanımı diğer haftalardan belirgin şekilde daha az bulunmuştur ($p < 0.01$) (Tablo 3). Haftalara göre ortalama vücut ağırlığı ise kolesterol + kahve eklenmiş grupta, dört hafta süresince, kontrol grubundan belirgin derecede daha düşük bulunmuştur (Tablo 4). Yine bu durum daha fazla yem tüketilmesine karşın, kafeinden dolayı metabolik hızdaki artış ve kilo kazanım etkinliğindeki azalma ile açıklanabilir.

Sonuçta, kahve ve kafein eklenmesi yapılmış gruplardaki ratların kontrol grubuna göre belirgin şekilde daha fazla yem tüketmelerine karşın ağırlık kazanımlarının, farklı olduğu görülmüştür. Kolesterol + kahve grubunda bu farkın en fazla olması buna karşın kafein eklenen grupta farkın daha az bulunması kilo kazanım etkinliğiyle etkin madde kafein kadar tüketilen diyetin bileşiminin ve kahvede kafein harcindeki diğer bazı öğelerinde etkili olabileceği görüşünü düşündürmektedir. Kafein metabolik hızı ve dokuları tarafından yağ kullanımındaki tercihi arttıracığı olgusundan hareketle zayıflama diyetlerinde kahvenin önerilmesi için bu konuda destekleyici çalışmaların yapılması gereklidir. Ayrıca kahvenin tüketilen diyete, bireysel ayrıcalıklara ve kahvenin türüne bağlı olarak serum lipid düzeyinde artışa neden olabileceği de unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

- 1- Gilibert, R.M., Marshman, J.A., Schwieder, M., Jerg, R., Tech. D.: Caffeine Content of Beverages as Consumed, *Can. Med. Assoc.*, 114:205-8, 1976.
- 2- Schreiber, G.B., Maffeo, C.E., Robins, M., Masters, M.N., Bond, A.P.: Measurement of Coffee and Caffeine Intake: Implications for Epidemiologic Research, *Prev. Med.*, 17:280-91, 1983.
- 3- Anon: Evaluation of Caffeine Safety, A Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologists Expert Panel on Food Safety and Nutrition, *Food Technol.*, in Australia, 10:106-15, 1983.
- 4- Curatolo, F.W., Robertson, D.: The Health Consequences of Caffeine, *Ann. Intern. Med.*, 98: 641-53, 1983.
- 5- Dr. vs. P.B. (Edi.): Caffeine, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 1981.
- 6- Spiller, G.A.: The Methylxanthine Beverages and Foods: Chemistry, Consumption, and Health Effects, Alan R Liss, Inc., New York, 1984.
- 7- Akinyanju, P., Yudkin, J.: Effect of Coffee and Tea on Serum Lipids in the Rat, *Nature*, 214: 426-427, 1967.
- 8- Naismith, D.L., Akinyanju, P.A., Yudkin, J.: Influence of Caffeine-Containing Beverages on the Growth, Food Utilization and Plasma Lipids of the Rat, *J. Nutr.*, 97: 375-381, 1969.
- 9- Sıhnhitoğlu, K.: Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Maliş Yayınları-3, Çağ Matbaası, Ankara, 1978.
- 10- Astrup, A., Touhro, S., Cannon, S., Hein, P., Breim, L., Madsen, J.: Caffeine: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Its Thermogenic, Metabolic, and Cardiovascular Effects in Healthy Volunteers, *Am. J.Clin. Nutr.*, 51: 759-767, 1990.
- 11- Dulloo, A.G., Reissler, G.A., Horton, T., Collins, A., Miller, D.S.: Normal Caffeine Consumption: Influence on Thermogenic and Daily Energy Expenditure in Lean and Postobese Human Volunteers, *Am. J. Clin. Nutr.* 49: 41-50, 1989.
- 12- Acheson, K.J., Zahorska-Markiewicz, H., Pittel, M.D., Anantharaman, K., Jequier, E.: Caffeine and Coffee: Their Influence on Metabolic Rate and Substrate Utilization in Normal Weight and Obese Individuals, *Am. J.Clin. Nutr.*, 33:939-97, 1980.
- 13- Le Blanch, J., John, M., Côté, J., Sanson, P., Labrie, A.: Enhanced Metabolic Response to Caffeine in Exercise-Trained Human Subjects, *J. Appl. Physiol.*, 59: 332-7, 1985.
- 14- McNaughton, L.R.: The Influence of Caffeine Ingestion on Incremental Treadmill Running, *Brit. J.Sports Med.*, 20: 109-12, 1986.
- 15- Zimmerberg, B., Carr, K.L., Seoll, A., Lee, H.H., Weider, J.M.: The Effects of Postnatal Caffeine Exposure on Growth, Activity and Learning in Rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 39: 333-4, 1991.
- 16- Bokowiecki, L.J., Lipien, J., Foltea, N., Jahjah, L.: Effects of Sucrose, Caffeine, and Cola Beverages on Obesity, Cold Resistance, and Adipose Tissue Cellularity, *Am.J.Physiol.*, 244:R 500-7, 1983.
- 17- Hosmark, A.P., Spystevold, E., Lystad, E., Haug, A., Eilertsen, E., Ejerkedal, T.: Coffee Drinking Plasma Lipoproteins and Fecal Cholesterol Excretion in the Rat, *Nutr. Rep. Int.*, 35: 317-24, 1987.
- 18- Bakk, A.A.A., Grohsee, D.E.: The Effect on Serum Cholesterol Levels of Coffee Brewed by Filtering or Boiling, *N.Engl. J.Med.*, 24: 1432-7, 1989.

TOPLUM KAYNAKLI STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ METİSİLİN DİRENÇİ

Pınar Z. RAKOLU *

Gülşay Gürlek KORUKLUOĞLU **
Orhan Cem AKTEPE *

Gülşah GÜRSOY *

ÖZET

1993 yılında polikliniğimize başvuran hastalardan alınan çeşitli klinik materyallerden izole edilen toplum kaynaklı *Staphylococcus aureus* suşlarının metisilin direnci saptandı. 200 *Staphylococcus aureus* suşunun 39'u metisiline dirençli bulundu. Dirençli suşlar oksasiline de dirençli saptandı. Birine dirençli diğerine hassas suş bulunmadı. Çalışmamızda toplum kaynaklı *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direnci % 19,5 olarak tespit edildi.

THE METHICILLIN RESISTANCE OF COMMUNITY-ISOLATED STAPHYLOCOCCUS AUREUS

SUMMARY

The methicillin resistance of community-isolated *Staphylococcus aureus* of different clinical material that reached to our laboratory in 1993 are tested. 39 of 200 *Staphylococcus aureus* isolates were resistant to methicillin. Methicillin resistant isolates were also resistant to oxacillin. There was no isolate resistant to methicillin but susceptible to oxacillin. We observed the methicillin resistance of community isolated *Staphylococcus aureus* as 19.5%.

GİRİŞ

Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) suşlarının tanımlanması, ilk kez 1961 yılında Avrupa'da penisiline dirençli *S.aureus* suşlarına karşı metisilin'in klinik kullanma sokulmasından çok kısa bir süre sonra olmuştur. Daha sonraları Amerika ve Avustralya gibi ülkelerde izole edilmeye başlanmıştır (1, 2). Günümüzde ise hemen tüm hastanelerde sorun olmakla kalmayıp hastane dışı infeksiyonlardan da sorumlu olabilmektedir (3).

S.aureus'ün metisilin direnci açısından hastane ve toplum suşları arasında farklılıklar

olabileceği düşünülmektedir (4). Çalışmamızda toplum kaynaklı *S.aureus* suşlarının metisilin direncini saptamayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

1993 yılında polikliniğimize başvuran hastalardan alınan çeşitli klinik materyallerden izole edilen toplum kaynaklı 200 *S.aureus* suşu üzerinde çalışıldı.

S.aureus olarak izole edilen suşların metisilin direncine yönünden araştırıldı. Strainlar 20 mg Diflaman ağarında 1 µg oksasilin (Mikrocek)

* Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı, Dr., Ankara-TÜRKİYE

** Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı, Dr., Ankara-TÜRKİYE

metisilin (Oxoid) diskleri kullanılarak standart disk difüzyon yöntemi uygulandı. 35 ° C'de 24-48 saat inkübasyonu sonrası zon çapları değerlendirildi (NCCLS Document M2-A4).

Oksasilin diski için 11 mm'den küçük zon çapı gösteren suşlar dirençli, 11-12 mm orta duyarlı, 13 mm duyarlı olarak değerlendirildi. Metisilin diski için 10 mm'den küçük zon çapı dirençli, 10-13 mm orta duyarlı, 14 mm'nin üstü duyarlı olarak kabul edildi (5).

BULGULAR

Toplum kaynaklı 200 *S.aureus* suşunun metisiline direnci belirlendi. 39'u metisiline dirençli bulundu. Tüm dirençli suşlar oksasilinde dirençliydi.

Buna göre toplum kaynaklı *S.aureus* suşlarında metisilin direnci % 19.5 olarak tespit edildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Tüm dünyada hastane infeksiyonlarının önemli bir etkeni olan *S.aureus*, toplumda da sıklıkla infeksiyonlara sebep olmaktadır. Bu bakterinin antibiyotik direnci zaman içinde değişik coğrafya bölgelerinde değişik hastanelerde farklılıklar göstermektedir (6).

S.aureus'un toplum ve hastane suşları arasında antibiyotik direnci bakımından da farklılıklar bulunduğu ifade edilmektedir. Kural olarak hastane suşları arasında dirençli olanların oranının toplum suşları arasındakilerden daha

yüksek olduğu belirtilmektedir (6-8).

MRSA suşları çoklu dirence sahip oldukları için saptanmaları önem taşımaktadır. Yıllan yıla artış gösteren MRSA suşlarının diğer beta laktam antibiyotiklere de dirençli oldukları kabul edilmekte ve tedavide bu antibiyotikler önerilmemektedir (3, 6). 1988 CDC raporlarına göre MRSA insidansı büyük eğitim hastanelerinde % 11.3, küçük eğitim hastanelerinde % 4.6, eğitim vermeyen hastanelerde % 6'dır (4,9). 1990 CDC raporları ise Amerikan hastanelerinde izole edilen nosokomial *S.aureus* suşlarının % 15'inin MRSA olduğunu göstermektedir (4).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda *S.aureus*'larda metisilin direnci oranı % 31-48 arasında değişmektedir (3). Türkiye MRSA'sının ilk bildirildiği ülkelerden biridir (4, 10). 1988 yılında Ankara Tıp Fakültesinden bildirilen metisiline dirençli stafilokok oranı % 30, 1990'da Hacettepe Tıp Fakültesinden bildirilen oran % 37, 1990'da Haydarpaşa Numune Hastanesinden bildirilen oran % 28'dir (4).

Ülkemizde çeşitli merkezlerden bildirilen sonuçlar birbirlerinden farklılıklar gösterebilmektedir. Nosokomial suşlar arasındaki bu farklılıkların değişik coğrafya bölgelerinde veya değişik hastanelerde olduğu dikkati çekmektedir. Bizim çalışmamızda MRSA oranı % 19.5'dir. Bu oranı daha düşük olmasının nedeni, toplum kaynaklı suşlar olmasına bağlanabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Tilton RC, Howard BC. Antimicrobial susceptibility testing. Howard BC, Klaas J, Rubin SJ, Weissfeld AS, Tilton RC. Clinical and Pathogenic Microbiology. St. Louis. Washington DC:Toronto. 121-153: 1987.
- 2- Jorgensen JH. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and methods for laboratory detection. Infect. Control Hosp Epidemiol. 12: 14-19: 1991.
- 3- Wilke A. Staflokoklarda metisiline direnç mekanizmaları ve belirlenmesi. Ankeni derg. 6 (2): 288-291: 1992.
- 4- Köksal İ. Metisiline dirençli staflokokların epidemiyoloji ve diğer antibiyotiklere duyarlılığı. Ankeni derg. 6 (2): 292-295: 1992.
- 5- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard M2-A4. NCCLS, Villanova, PA 1990.
- 6- Anç. Ü. Staflokoklarda antibiyotik direnci. Klinik Derg. 2 (3): 87-90: 1989.
- 7- Töreci K. Antibiyotikler ve hastane infeksiyonları. Ankeni derg. 5(1): 79-88: 1991

8. Utsalo SJ. Characterization of hospital and community strains of *S.aureus* for resistance to antimicrobial drugs, metallic ions, disinfectants, thermal injury and solar radiation. *Acta Microbiol. Hung.* 33: 183-191; 1986.
9. Çetin ET, Gürler N, Sarpel C, Töreci K: Mıyane maddelerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının kemoterapötiklere duyarlılığı. *Ankem derg.* 2:113; 1988.
10. Çetin ET, Anđ. Ö: Staphylococci resistant to methicillin. *Br Med J:* 51: 1962.

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLU HASTALARIN İDRARINDAN İZOLE EDİLEN ESCHERİCHIA COLI VE KLEBSIELLA SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Gürül EMEKDAŞ *

Cavit CAN **

Ömer KUCAREYÜĞLÜ ***

ÖZET

Bu çalışmada; üriner sistem enfeksiyonu olan 109 hastanın idrar kültürlerinden izole edilmiş 75 *Escherichia coli* ve 25 *Klebsiella* suşunun 29 antibiyotikçe karşı duyarlılığı Disk Agar Diffüzyon yöntemiyle araştırıldı.

E.coli suşlarına en etkili antibiyotiklerin Enoksasin (% 100.0), Ofloksasin (% 98.7), Amikasin (% 97.2) ile Netilmisin, Siprofloksasin ve Sefizoksim (% 93.3) oldukları saptanmıştır. *Klebsiella* türlerine ise en etkili antibiyotiklerin Ofloksasin (% 100.0), Amikasin ve Enoksasin (% 96.0) ile Siprofloksasin (% 92.0) olduğu saptanmıştır.

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF ESCHERİCHIA COLI AND KLEBSIELLA STRAINS ISOLATED FROM URINE OF PATIENTS WITH URINARY TRACT INFECTION

SUMMARY

In this study, antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* and *Klebsiella* strains which were isolated from urine, was investigated by using 29 antibiotics with disk agar diffusion test.

The most effective antibiotics on *Escherichia coli* strains are enoxacin (100%), ofloxacin (98.7%), amikacin (97.2%) and netilmicin, ciprofloxacin, ceftizoxime (93.3%). However ofloxacin (100%), amikacin, enoxacin (96.0%) and ciprofloxacin (92.0%) are the most effective antibiotics on *Klebsiella* strains.

GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonlarının (USE) büyük bir çoğunluğu enterobakteriler tarafından meydana gelir. En sık rastlanılan etkenler ise *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türü bakterilerdir (1, 2).

Günümüzde artma eğilimi gösteren bakteriyel direnç gelişimi, antibiyotiklerin kullanımı sırasındaki hasta ve hekim için önemli sorunlar yaratmaktadır. Antibiyotiklere karşı direnç geli-

şimine eskiden heri sık kullanılan antibiyotiklerde daha sık rastlanmakta ve bu antibiyotiklerin kullanımını yarasız hale getirmekte ve aynı zamanda daha önerleni patojen olmadıkları düşünülen bakterilerin de patojen hale gelmesine neden olmakla kalmayıp bu bakterilerin enfeksiyonlarda "en sık rastlanan etken patojenler" olarak karşımıza çıkmasına neden olmaktadır. Gerek toplumdan ve gerekse hastaneden kazınmış enfeksiyonlarda olası patojen

* Uzm.Dr., 600 Yıl Mevki Asker Hastanesi Mikrobiyoloji Lab. Şefi, Ankara/TÜRKİYE

** Uzm.Dr., 600 Yıl Mevki Asker Hastanesi Erkeği Servis Şefi, Ankara/TÜRKİYE

*** Doç.Dr., GATA Haydarpaşa Eğt.Hastanesi Mikrobiyoloji Servis Şefi, İstanbul/TÜRKİYE

etken ve bakteriyel direnç gözönüne alınarak ampirik tedavide kullanılacak olan antibiyotiklerin yeniden gözden geçirilmesi ve güncelleştirilmesi gerekmektedir. Ampirik tedavi amacıyla hastalara eskiden beri kullanılmakta olan antibiyotiklerin verilmesi, bazı riskleri de beraberinde getirmektedir. Bakteriyel direnç, bu tip eski antibiyotiklerin kullanımını yetersiz hale getirebileceğinden, hem hasta hem de hakimi için zaman ve para kaybına neden olmakta ve tedavinin gecikmesi nedeniyle hastalık daha karmaşık hale gelebilmektedir (3).

Bu çalışmada ÜSE olan hastaların idrar kültürlerinden izole edilen E.coli ve Klebsiella spp. suşlarının değişik antibiyotiklere duyarlılıkları araştırılarak en etkin antibiyotiklerin saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

1. Bakteriler: Çalışmada kullanılan bakteri suşları 1993 yılında üriner sistem enfeksiyonu tanısıyla gönderilmiş hastaların alınan idrar örneklerinden izole edilmiştir. Bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre identifikasyonları yapılmıştır (4). E.coli ve Klebsiella suşları ayrılıp 5 ml. Triplec Soy Broth (Biolife) besiyerinde bir gece üretilikten sonra çalışılacağına kadar -40 C'de saklanmıştır (2,4).

2. Antibiyotik Diskleri: Çalışmada 29 değişik antibiyotik disk (Oxoid) kullanılmıştır.

3. Disk Agar Diffüzyon Testi: Çalışmada NCCLS M2-A4 standartlarına uygun olarak Disk Agar Diffüzyon Testi kullanılmıştır (5).

4. Sonuçların Değerlendirilmesi: 35 °C 18-24 saat inkübasyon süresi sonunda meydana gelen inhibisyon zon çapları ölçülerek kaydedilmiş ve değerlendirilmede duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak yorumlanmıştır (6, 7).

BULGULAR

ÜSE'li hastaların idrar kültürlerinden elde edilen 75 E.coli suşlarının 29 antibiyotiğe duyarlılıkları tablo-1'de, sayısal ve yüzde olarak gösterilmiştir. Yine aynı yolla idrar kültürlerinden izole edilen 25 Klebsiella suşlarının 29

antibiyotiğe duyarlılıkları tablo-2'de sayısal ve yüzde olarak gösterilmiştir.

Üriner E.coli suşlarında kullandığımız 29 antibiyotiğe % 13-100.0 oranlarında bir dirençlilik saptanırken bu oran Klebsiella suşlarında % 40-100.0 olarak saptanmıştır. E.coli suşlarına en etkili antibiyotiklerini Enoksasin (% 100.0), Ofloksasin (% 98.7), Amikasin (% 97.2) ile Netilmisin, Siproflüksasin ve Sefizoksım (% 93.3) oldukları saptanmıştır. Klebsiella suşlarına en etkili antibiyotiklerin ise Ofloksasin (100.0), Amikasin, Enoksasin (% 96.0) ve Siproflüksasin (% 92.0) olduğu gözlenmiştir.

TABLO-1: Escherichia coli suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları (s = 75)

	DUYARLI		SİRENÇLİ	
	ORTA		DİRENÇLİ	
	Sayı	%	Sayı	%
SEFALOTRİM	45	60.0	11	14.7
SEFALOTRİM	57	76.0	-	-
SEFTRİAKSİM	60	80.0	7	9.3
SEFTRİAKSİM	70	93.3	3	4.0
SEFTRİAKSİM	66	88.0	2	2.7
SEFTRİAKSİM	59	78.7	9	12.0
SEFTRİAKSİM	67	89.3	7	9.3
SEFTAZOLİM	66	88.0	3	4.0
SEFTAZOLİM	66	88.0	2	2.7
SEFTAZOLİM	70	93.3	2	2.7
SEFTAZOLİM	69	92.0	-	-
SEFTAZOLİM	66	88.0	1	1.3
SEFTAZOLİM	73	97.3	1	1.3
SEFTAZOLİM	70	93.3	1	1.3
SEFTAZOLİM	70	93.3	1	1.3
SEFTAZOLİM	74	98.7	1	1.3
SEFTAZOLİM	75	100.0	-	-
SEFTAZOLİM	12	16.0	-	-
SEFTAZOLİM	16	21.3	2	2.7
SEFTAZOLİM	15	20.0	1	1.3
SEFTAZOLİM	43	57.3	6	8.0
SEFTAZOLİM	16	21.3	2	2.7
SEFTAZOLİM	-	-	-	-
SEFTAZOLİM	69	92.0	3	4.0
SEFTAZOLİM	30	40.0	3	4.0
SEFTAZOLİM	7	9.3	2	2.7
SEFTAZOLİM	7	9.3	3	4.0
SEFTAZOLİM	16	21.3	9	12.0

TABLO-2: Klebsiella Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları (s = 25)

	DUYARLILIK					
	SOLİCİ		ORTA DUYARLILIK		DİRENCİLİK	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
SEFALOTİN	6	24.0	3	12.0	16	64.0
SEFAZİLİN	6	24.0	3	12.0	16	64.0
SEFOKSİLİN	16	64.0	7	28.0	2	8.0
SEFOROKSİM	5	20.0	14	56.0	6	24.0
SEFİKSİM	17	68.0	-	-	8	32.0
SEFOTAKSİM	11	44.0	11	44.0	3	12.0
SEFOPERAZON	7	28.0	8	32.0	10	40.0
SİLİBİSEFOPERAZON	12	48.0	9	36.0	4	16.0
SEFTRİAKSON	15	60.0	7	28.0	3	12.0
SEFTAZİDİN	15	60.0	5	20.0	5	20.0
SEFTİZOKSİM	18	72.0	5	20.0	2	8.0
SENTAMİSİM	12	48.0	-	-	13	52.0
TORRAMİSİN	12	48.0	-	-	13	52.0
AMİKASİN	21	84.0	-	-	4	16.0
NETİLİMİSİN	21	84.0	-	-	4	16.0
SİPROFLOKSASİN	23	92.0	-	-	2	8.0
OFLOKSASİN	25	100.0	-	-	-	-
ENOKSASİN	24	96.0	-	-	1	4.0
PENİSİLİN-C	-	-	-	-	25	100.0
PIPERASİLİN	-	-	7	28.0	23	92.0
AMPİSİLİN	-	-	-	-	25	100.0
SUGBAMPİSİLİN	6	24.0	7	28.0	18	72.0
MEZLOSİLİN	-	-	3	12.0	22	88.0
ERİTROMİSİN	-	-	-	-	25	100.0
AZTREONAM	17	68.0	3	12.0	5	20.0
TMF-SİK	14	56.0	-	-	11	44.0
KLDRAMFENİKOL	-	-	2	8.0	23	92.0
TETRASİKLİN	-	-	-	-	25	100.0
KLARİTROMİSİN	2	8.0	8	32.0	15	60.0

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yurdumuzda tüketilen ilaçların yaklaşık üçte birini oluşturan antibiyotikler, günümüzde sık ve uygunsuz kullanılan ilaçların başında yer almaktadır. Antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı, bakteriyel direnç gelişmesine yol açmakta ve aynı zamanda; yan etkilerin ortaya çıkmasına ve gereksiz ekonomik yüke neden olmak gibi sorunları da beraberinde getirmektedir (8).

Yapılan klinik-laboratuvar araştırmalar sonucunda, çeşitli bakteri suşları ile oluşan enfeksiyonlarda kullanılacak en etkin antibiyotik belirlenmekte ancak, zaman içerisinde dirençli suşların ortaya çıkması ve bunların

yaygınlaşması sonucunda, duyarlılık paternlerinde değişimler ortaya çıkmaktadır. Antibiyotik kullanımında hekimlerin karşısına çıkan en önemli sorun, bakterilerin direnç geliştirmesidir. Örneğin idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde, amoksisilin, ampisilin, oral sefalosporinler ve ku-trimetaksazole karşı bakteriyel direnç gelişiminde artış görülmektedir. Bir çevrede bakterilerin, antibiyotiklere dirençli hale gelmesinde en önemli faktörlerden biri uzun süre aynı antibiyotiklerin kullanımıdır. Ampirik kullanımı direnç gelişimini kolaylaştırmaktadır (3).

Geliştirilen yeni antibiyotiklerin, bakteriyel direnç mekanizmalarına karşı dayanıklı hale getirilmesine çalışılmakta ve bu antibiyotiklerin ayrıca bakterilere henüz savunma geliştirmelikleri bir noktadan etki etmeleri planlanmaktadır. Bu nedenle geliştirilen yeni antibiyotikler arasında yeni kinolonlar, sefalosporinler ve karbapenemlerin çok önemli bir yeri vardır.

Çalışmamızda E.coli suşlarının kinolon grubu antibiyotiklerden enoksasin'e % 100, ofloksasin'e % 98.7 ve siprofloksasin'e % 93.3 oranında; Klebsiella suşlarının da enoksasin'e % 96, ofloksasin'e % 100 ve siprofloksasin'e de % 92 oranında duyarlı oldukları saptanmıştır. Bu sonuçlar Akalın ve arkadaşlarının (9) E.coli suşlarında yaptıkları bir çalışmadaki siprofloksasin'e % 99 ve ofloksasin'e % 96.2'lik duyarlılık sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur. Kinolonlarla elde edilen sonuçlar diğer araştırmacıların yapmış oldukları sonuçlarla da uyumlu bulunmuştur (10).

Kocabeyoğlu ve arkadaşları, idrardan izole edilen E.coli suşlarının % 94'ünün Klebsiella suşlarının ise % 54.5'inin seftazidime duyarlı olduğunu ve enterobakteri suşlarına en etkin antibiyotiklerin seftazidim ve seftizoksim olduğunu belirtmişlerdir (11). Çetin ve arkadaşları (12), sefalosporin grubu antibiyotiklerden cef-tazidim ile yaptıkları bir çalışmada E.coli suşlarında % 74, Klebsiella suşlarında ise % 47 duyarlılık bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise E.coli suşları için % 88, Klebsiella suşları için ise % 60 oranında duyarlılık saptanmıştır.

Genel olarak bakterisit etki gösteren ve

hakteri hücreesindeki DNA-giraz enzimine bağlanma özelliğiyle olan kimlikleri, özellikle dirençli *E.coli* ve *Pseudomonas* suşlarının en sık görülen etken patojen olarak bulunulduğu akut, kronik ve tekrarlayıcı iltihap yolları enfeksiyonlarında ampirik olarak kullanılabilirler (3, 13, 14).

USE'larıyla bir zamanı kullanılan alan bulunmuş olan aminoglikozitlerle *E.coli* suşlarına karşı % 48-97.2 arasında, Klebsiella suşlarına karşı ise % 48-96 arasında duyarlılık saptanmıştır. Akalm ve arkadaşları (9) *E.coli*'lerle aynı grup için % 76.7-100 arasında; Kucabeyoğlu ve arkadaşları (2) % 57.2-11.2 arasında bir duyarlılık saptamışlardır.

Bakterilerle kronizmal mutasyonlar ya da antibiyotiklerin kovalent modifikasyonları yolu ile direnç oluşumuna neden olan aminoglikozitler, etki spektrumları ve yüksek ototoksik ve nefrotoksik etkileri nedeniyle bugüne kadar ampirik tedavide sık kullanılmamışlardır. Ancak son araştırmalar, özellikle amikasin ve netilmisin gibi aminoglikozitlerin ampirik tedaviye, diğer aminoglikozitlerden daha uygun olduğunu ortaya koymuştur (3, 15, 16).

Kucabeyoğlu ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir başka çalışmada *E.coli* suşlarının ampisilin'e % 33.6, sulbaktam - ampisilin'e ise % 63.2 oranında duyarlı oldukları saptanmış ve yazarlar bu iki antibiyotik arasındaki farkın beta laktamaz inhibisyonunun kaynaklanıp kaynaklanmadığı ve plazmide bağlı olarak bulunabilen beta laktamaz enzimlerini, tip I sulbaktam'a dirençli, tip III (TEM) ise sulbaktam'a duyarlıdır (14, 17). Biz de çalışmamızla *E.coli* suşlarında ampisilin'e % 20 oranında, sulbaktam + ampisilin'e de % 57.3 oranında duyarlılık saptadık. Aynı şekilde sefoperazon'la % 78.6 oranında bir duyarlılık saptanmışken, bu oran sulbaktam + sefoperazon'la % 89.3'e çıkmıştır. Klebsiella türleriyle de benzer şekilde ampisilin % 0 (sıfır), sulbaktam + ampisilin % 24, sefoperazon % 28 ve sulbaktam + sefoperazon % 48 oranında duyarlı bulunmuştur. Camlan ve Türkeri ile (18) yaptıkları bir çalışmada *E.coli*

suşlarının ampisilin'e % 20.9, Sulbaktam + ampisilin'e % 30.4; Klebsiella türlerinin ampisilin'e % 5, sulbaktam + ampisilin'e ise % 40 oranında duyarlı olduklarını saptamışlardır. Kucabeyoğlu ve arkadaşları (11) tarafından yapılan bir çalışmada da sulbaktam + sefoperazon kombinasyonunun *E.coli* ve Klebsiella suşlarına sefoperazon'dan daha etkili olduğu bildirilmiştir. Çalışmamız sonuçlarıyla da uyumlu olan bu duyarlılık sonuçları bize sulbaktam ile kombine edildiğinde ampisilin'in tekrar geniş spektrumlu bir antibiyotik özelliğini kazandığı göstermektedir. Aynı türden çalışmamız bulgularıyla da güncelliği gibi sulbaktam + sefoperazon ve sefoperazon için de geçerlidir.

Çalışmamızla *E.coli* suşlarına en etkili kimlikleri mukosasin (% 100), Klebsiella suşlarına ise en etkili kimlikleri mukosasin (% 300) olduğu anlaşılmıştır. Öztürkeri ve arkadaşları (19) eski ve yeni kimlikleri içeren altı antibiyotikle yaptıkları bir çalışmada *E.coli* ve Klebsiella suşlarına en etkili kimliklerini siprülüksasin, mukosasin ve mukosasin olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da kimlikleri için yüksek düzeyde duyarlılık saptanmış olup duyarlılık oranları suşlara ve antibiyotiklere göre değişmek üzere % 92-100 arasında değişmektedir.

Öztürkeri ve arkadaşları (20) aminoglikozit grubundaki beş antibiyotik *Gram* negatif bakteri suşlarına karşı test etmişler, *E.coli* suşlarına en etkin aminoglikozitleri gentamisin ve netilmisin, Klebsiella suşlarına en etkili aminoglikozitlerin ise gentamisin ve netilmisin olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda *E.coli* suşları aminoglikozitlere % 92-97.7 oranında duyarlı bulunmuştur. Klebsiella suşlarının aminoglikozitlere duyarlılığı *E.coli* suşlarından daha düşük olup % 43-84 arasında değişmektedir.

Entreksiyon hasarlıklarını telafisiyle pek çok antibiyotikten yararlanmaktadır. Önemli olan en etkili ve böylece en uygun ilaçları antibiyotiklerin seçilmesidir. Antibiyotikler ilk kullanıma alınıklarla etki spektrumunu içinde bulunan bakteri türlerinde doğal dirençli olanları dışında, büyük çoğunluğuna etkilerdir.

Başka bir deyişle bakterilerle dirençli suş oranları çok düşüktü. Fakat, iliere içinde farklı enzim mekanizmalarının gelişmesi, direnç plazmid kazanımları gibi faktörlere bağlı olarak kısa süre içinde dirençlilik oranı artar. İlaçların antibiyotiklere dirençli suşlarının dağılımı, ülkeler arasında farklı olabildiği gibi ülke içinde, bölgelere göre de farklı olabilir. Bu nedenle antibiyotiklerin kullanım alınmasından itibaren bakterilerin duyarlılık ileyleri yapılarak in-

denim gelen direnç, direnç kuantumasyonu ve dirençli suşların ülkedeki yayılımı belirlenebilir. Ancak bu şekilde antibiyotik duyarlılık ileyleri yapılmı olmağı bulunmayan bölgelerde uygun antibiyotik seçilme imkânına sahip olmalıdır (21, 22).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar iliere E. coli ve Klebsiella suşlarına ed etkin antibiyotiklerin yeni kinolonlar olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Baldassarre J.S., Kaye D.: Special problems of urinary tract infection in the elderly. *Medical Clinics of North America* 75 (2): 375-390 (1991).
- 2- Koçarbeyoğlu Ö., Kerse İ., Emekdaş G., Kerse M.: Üriner sistem enfeksiyonlarında idrardan izole edilen Escherichia coli suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *GAFA Bülteni* 32: 659-666 (1990).
- 3- Euzarbaş Tıp Danışmanlığı: İlk basamak tedavisiyle antibiyotiklerin rasyonel kullanımı. İstanbul 1992.
- 4- Pappas P.G.: Laboratory in the diagnosis and management of urinary tract infections. *The Medical Clinics of North America* 75 (2): 313-325 (1991).
- 5- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, Fourth edition, Approved Standard. NCCLS Document M2-A4. Villanova PA: NCCLS, 1990.
- 6- Beşe M.: Mikrobiyolojide kullanılan antibiyotik duyarlılık ve ileyeme yöntemleri. İstanbul. Kardeşler Hısmıyevi 1990.
- 7- Tilton R.C., Howard B.L.: Antimicrobial susceptibility testing. Clinical and pathogenic microbiology. Howard B.L. (Ed), Toronto. The C.V. Mosby Company p.124-166, 1977.
- 8- Akalın H.E.: Antibiyotikler. Türk Tıbbi Derliği Yayınları, Ankara. Özyun Matbaası 1989.
- 9- Akalın H.E., Köksal İ., Kardeş T., Baykal M.: Çeşitli antibiyotiklerin Gram negatif bakterilere in vitro aktivitelele. *ANKEM Dergisi* 1 (1): 79-81 (1987).
- 10- Tabak E., Dönankar A., Hontur N., Aktuğlu Y.: Üriner sistem enfeksiyonlarının elde edilen bakterilerin kinolonlara in vitro duyarlılıkları. *ANKEM Dergisi* 7 (1): 41-45 (1993).
- 11- Koçarbeyoğlu Ö., Özdemir H., Koşan E., Yılmaz O.B., Mete Z., Topal M.: Üçüncü Kuşak Sefalosporinlerin İdrardan İzole Edilen Enterobakterilere Etkinlelele. *ANKEM Dergisi* 7 (2): 71 (1993).
- 12- Çetin E.T., Fıratı K., Erdemiz H., Derbenli Ş.: Seflazidimin Pseudomonas aeruginosa ve diğer Gram negatif gramaklara in vitro etkisi. *ANKEM Dergisi* 3 (1): 1-6 (1989).
- 13- Erman M.: Quinolone'ların kimyasal yapısı, gelişimlelele ve yapı-etki ilişkilele. *ANKEM Dergisi* 2 (3): 175-182 (1988).
- 14- Tören K.: Antibiyotik direnç mekanizmaları. *ANKEM Dergisi* 3 (3): 145-153 (1989).
- 15- Güre D.: Gram negatif bakterilerde antibiyotik ileyeme ve hastane enfeksiyonlarındaki rolü. *ANKEM Dergisi* 3 (3): 161-171 (1989).

- 16- Kocabıyık S.: Aminoglikozit grubu antibiyotiklere direnç mekanizmaları. ANKEM Dergisi 2 (3): 203-206 (1988).
- 17- Neu H.C.: Antibiotic inactivating enzymes and bacterial resistance. Antibiotics in laboratory medicine. Second edition. (Ed) Lotian V. New York, P.757-789, Williams and Wilkins 1986.
- 18- Candan İ, Töreci K.: Muayene maddelerinden izole edilen suşların ampiciline ve ampicilin + sulbaktam kombinasyonuna duyarlılıkları. ANKEM Dergisi 2 (3): 251-257 (1988).
- 19- Öztürkeri H, Kocabeyoğlu Ö, Önol Y, Keskin K, Yılmaz A.: Kinolon Grubu Antibiyotiklerin idrardan İzole Edilen Entrobakterilere Etkinliği. ANKEM Dergisi 7 (2): 70 (1993).
- 20- Öztürkeri H, Kocabeyoğlu Ö, Erden D, Koşan E, Çavuşlu Ş, Altınay H, Aydın Y.: Aminoglikozidlerin İdrardan İzole Edilen Fermentatif ve Non-Fermentatif Gram Negatif Bakterilere Etkinliği ANKEM Dergisi 7 (2): 69. (1993).
- 21- Berkiten R.: Antibiyotik direncinin bölgelere göre farklılığı. ANKEM Dergisi 2 (3) 193-202 (1988).
- 22- Kılıçturgay K.: Antibiyotik suistimalinin önlenmesinde alınacak tedbirler ANKEM Dergisi 2 (3): 207-212 (1988).

COXSACKIE B VİRUS ANTİKORLARI SAPTANMASINDA ELISA YÖNTEMİNİN DEĞERİ

* Gırol EMEKDAŞ

Ömer KOCABEYOĞLU **

ÖZET

Coxsackie B virus (CBV) antikorlarının saptanmasında ELISA testinin değerini saptanmaya çalıştığımız bu çalışmada CBV nötralizan antikor sonuçları bilinen değişik gruplardaki CBV ELISA IgG ve IgM antikor düzeyleri tespit edilmiştir. Sağlıklı kişilerde CBV ELISA IgG ve IgM pozitiflik yüzde sonuçları her bir CBV serotipi için sırasıyla CBV-1 % 0, % 24.2; CBV-2 % 15.3, % 27.4; CBV-3 % 8.3, % 23.6; CBV-4 % 5.5, % 47.8; CBV-5 % 20.4, % 14.6 ve CBV-6 % 10.2, % 8.3 olarak bulunmuştur. Hastalık gruplarında ise; sırasıyla CBV IgG ve IgM değerleri olarak, miyokard enfarktüsliilerde % 0-43.3, % 0-10 arasında; tip 1 diabetlilerde % 2.7-8.1, % 8.1-40.5 arasında değişik pozitiflik oranları saptanmıştır. Bu çalışmamın sonuçları CBV ELISA IgM testinin grup spesifik antikorları saptadığından yeni bir CBV enfeksiyonunun belirlemede yetersiz olduğunu göstermektedir.

EVALUATION OF ELISA METHOD IN DETERMINATION OF COXSACKIE B VIRUS ANTIBODY LEVELS

SUMMARY

In this study Coxsackie B virus (CBV) antibody levels were investigated in various groups using ELISA test, and the results were compared with that those of obtained previously by neutralization test in the same group.

CBV ELISA IgG and IgM antibody positivity rates for each CBV serotype were found as 0 %, 24.2 % for CBV-1, 15.3 %, 27.4 % for CBV-2, 8.3 %, 23.6 % for CBV-3, 5.5 %, 47.8 % for CBV-4, 20.4 %, 14.6 % for CBV-5 and 10.2 %, 8.3 % for CBV-6, respectively. In patient groups however, CBV IgG and IgM antibody frequency were found in the range of 0-43.5 %, 0-10 % in patients with myocardial infarction, 2.7-8.1 %, 8.1-40.5 % in patients with type 1 diabetes, respectively.

Results of this study have been shown that CBV ELISA test for determining Coxsackie B virus IgM antibody has been group specific and for this reason CBV ELISA IgM tests have been found insufficient for detecting recent infections with CBV serotypes.

GİRİŞ

Coxsackie virus enfeksiyonlarının ilk serolojik tanımlanması 1950'de Mehnick ve Lednicko'nun nötralizasyon; Kraft ve Mehnick'in kompleman fiksasyon testleriyle yapılmıştır. 1962'de Schmidt ve Lemette tarafından tanımlanan

jel immüno-diffüzyon testini (1) takiben 1974'de William ve Cooper'ın uygulamaya soktuğu indirekt immüno-flüoresan test ile beraber serolojik test sayısı dörde yükselmiştir (2,3). 1971 yılından sonra E1-Hagrassy ve arkadaşları (4,5),

* Uzm.Dr., 600 Yıl Mevki As.Hast.Mikrobiyoloji Lab.Şefi, Ankara / TÜRKİYE

** Doç.Dr., GATA Haydarpaşa Eğt.Hast.Mikrobiyoloji Servis Şefi, İstanbul / TÜRKİYE

Durries ve Meulen (4-6) ile Banatvala ve arkadaşları (4) CBV antikorları saptanmasında ELISA yöntemini bildirmişlerdir.

Şüpheli materyalden CBV izolasyonu tek başına anlam ifade etmemekte ve CBV enfeksiyonları tanısında serolojik desteğin de bulunması gerekmektedir (7). Bu çalışmada nötralizan antikor düzeyleri daha önce saptanmış değişik yaş gruplarından sağlıklı kişilere ve miyokard enfarktüsü ve tip 1 diabetli hastalara ait serumlarında CBV antikorlarının araştırılmasında ELISA yönteminin uygulanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

1- SERUMLAR: Çalışmaya daha önceki çalışmalarımız sırasında kullanmış olduğumuz tip 1 diabetes mellituslu 37, akut miyokard enfarktüsü 30 ve kontrol grubu olarak da değişik yaş gruplarındaki 136 kişiye ait serum dahil edilmiştir. Serumlar usulüne uygun olarak inaktive edilmiş ve -40°C 'de saklanmıştır (9-11).

2- VİRUS: Değişik merkezlerden temin edilen altı standart CBV suşu vero hücre kültüründe üretilmiş, bunun için de % 10 dana serumlu Eagle MEM besiyeri kullanılmış olup, kontaminasyonların önlenmesi için gerekli antibiyotik ve antimikotik preparatlar ilave edilmiştir (8).

3- ANTİJENİN HAZIRLANMASI: Hücre kültürü şişelerinde % 75 monolayer oluşturan vero hücre kültürlerine her bir CBV suşundan ayrı ayrı olma üzere 1'er ml ilave edilmiş ve bunu takiben 37°C 'de 1 saatlik adsorbsiyona bırakılmıştır. Daha sonra her bir doku kültürü şişesine % 1 fetal dana serumlu ve antibiyotikli besiyeri ilave edilip inkübasyona bırakılmıştır. Virus inokülasyonu yapılan hücre kültürleri hergün kontrol edilmiş ve % 75-100 CPE oluşumları -40°C 'de 3 kez ardı ardına dondurulup çözülerek 5000 devirde santrifüje edildikten sonra süpernatantlar antijen olarak kullanılmacaya kadar yine -40°C 'de saklanmıştır.

4- ANTİJENİN ELISA TESTİ İÇİN OPTİMAL DİLÜSYONUNUN SAPTANMASI: Mikronötralizasyon testi ile (9-11) pozitif ve negatif olduğu saptanan serumlar kontrol olarak kullanılmıştır. Bu serumların 1/100-1/800 arasındaki ikişer katlı seri sulandırılmaları ile her bir Coxsackie B virus suşunun 1/10, 1/50, 1/100 ve 1/200 dilüsyonları blok olarak test edilmiştir (12-14).

5 ELISA STRİPLERİNE ANTİJEN KAPLANMASI: Vero hücre kültüründe hazırlanan CBV antijeni kaplama solüsyonu ile CBV-1 1/200, CBV-2 1/50, CBV-3 1/50, CBV-4 1/50, CBV-5 1/50 ve CBV-6 1/100 oranında sulandırılmış ve katı faz olarak yüksek düzeyde protein bağlama kapasitesi olan polystrene mikro ELISA stripleri (Greiner) kullanılmıştır. Sulandırımı yapılan antijenden her kuyucuğa 100 mikrolitre damlatılmış ve bir gece $4-8^{\circ}\text{C}$ de nemli ortamda bekletilmiştir. Bu inkübasyonu takiben kuyucuklardaki antijen dökülmüş ve yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandıktan sonra kurutulup naylon torbalarda buzdolabında saklanmıştır (12, 14-17).

6- ELISA STRİPLERİNE KONTROL ANTİJENLERİNİN KAPLANMASI: Virusla enfekte edilmiş vero hücre kültürü -80°C derin dondurucuda 3 kez dondurulup çözüldükten sonra 5000 devirde 15 dakika santrifüje edilmiş, süpernatant kaplama solüsyonu ile 1/10 oranında sulandırıldıktan sonra bir önceki maddede belirtildiği gibi polystrene mikro ELISA pleytlerine kaplanmıştır (12, 13, 15, 18).

7- KONJUGAT: Peroksidaz enzimi ile işaretli antihuman IgG ve IgM konjugatları (Sigma) tariflerine göre kullanılmışlardır.

8- SUBSTRAT: O,phenylenediamine dihidrochlorid ($\text{OPD}-\text{H}_2\text{O}_2$) (Sigma), phosphate citrate buffer ile % 0.04 OPD - % 0.012 H_2O_2 konsantrasyonunda taze olarak hazırlanıp kullanılmıştır (12).

9- ELISA TESTİNİN UYGULANIŞI: Çalışma grubuna ait serumların 1/100 dilüsyonları % 1 fetal dana serumu ve % 10 kontrol antijen ilave edilmiş PBS-Tween ile yapıldı. Daha önce antijen kaplama buzdolabında saklanan

96 çıkırlı mikro ELISA pleytının ilk dört çıkırlı negatif, daha sonraki dört çıkırlı da pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Diğer çıkırlar da çalışma grubu serumlarına ayrılmıştır. Test serumlarının 1/100 dilüsyonları ile çalışmıştır. Gerekli inkübasyon ve yıkama işlemlerinden sonra 1/1000 oranındaki sulandırılmış konjugat eklenmiş, yine bir seri inkübasyon ve yıkama işlemlerinden sonra taze hazırlanmış substrat ilave edilmiş ve reaksiyon 2M H₂ SO₄ ile durdurulduktan sonra 492 nm. filtire takılmış okuyucula mikropleytler okunup kayıtdilmiştir. Anlatılan tüm bu işlemler her bir CBV sışu için IgG ve IgM olarak tekrarlanmıştır (12). ELISA IgM testleriyle romatoid faktörün neden olabileceği yalancı pozitifliğin önlenmesi için IgM testi uygulanan bütün serum-

lara önceden RF absorbant (Behring) kullanılarak IgG absorpsiyonu yapılmıştır (12, 13, 15).

10- ELISA SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ: Her alışma için negatif kontrol serumı absorbanslarının ortalaması alınarak, bu değere 0.15 sabiti eklenip cut-off değeri hesaplanmıştır. Bulunan bu cut-off değerinin % 10 fazlasına kadar olan absorbanslar negatif, bunun üzerindeki absorbanslar da pozitif olarak değerlendirilmiştir (12).

BULGULAR

CBV ile enfekte edilmemiş vero hücre kùltürü şekil-1'de ve CBV ile enfekte edilen vero hücre kùltüründeki CPE de şekil-2'de görülmektedir.

TABLO-1: Çalışma Grubuna Dahil Serumlardaki CBV Serotiplerine Karşı ELISA IgG Antikorları Dağılımı

ÇALIşMA GRUBU	CBV-1	CBV-2	CBV-3	CBV-4	CBV-5	CBV-6
0-15 Yaş (s=20)	0(0)	4(20.0)	5(25.0)	2(10.0)	6(30.0)	1(5.0)
16-30 yaş (s=80)	0(0)	7(8.7)	7(8.7)	7(8.7)	14(17.5)	6(7.5)
31-45 yaş (s=20)	0(0)	1(5.0)	1(5.0)	0(0)	5(25.0)	5(25.0)
46+ yaş (s=16)	0(0)	2(12.5)	0(0)	0(0)	5(31.2)	4(25.0)
T1P 1 Diabet(s=37)	3(8.1)	3(8.1)	1(2.7)	1(2.7)	2(5.4)	2(5.4)
Miyokard						
Enfarktüs(s=30)	0(0)	0(0)	5(16.7)	0(0)	13(43.4)	0(0)

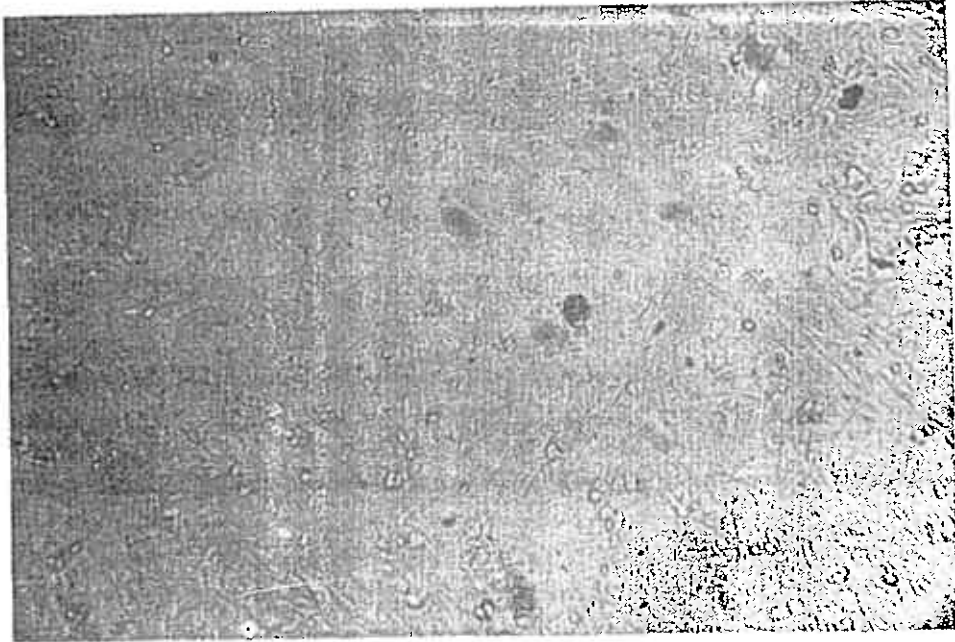
(): Yüzde oranlarını ifade eder.

TABLO-2: Çalışma Grubuna Dahil Serumlardaki CBV Serotiplerine Karşı ELISA IgM Antikorları Dağılımı

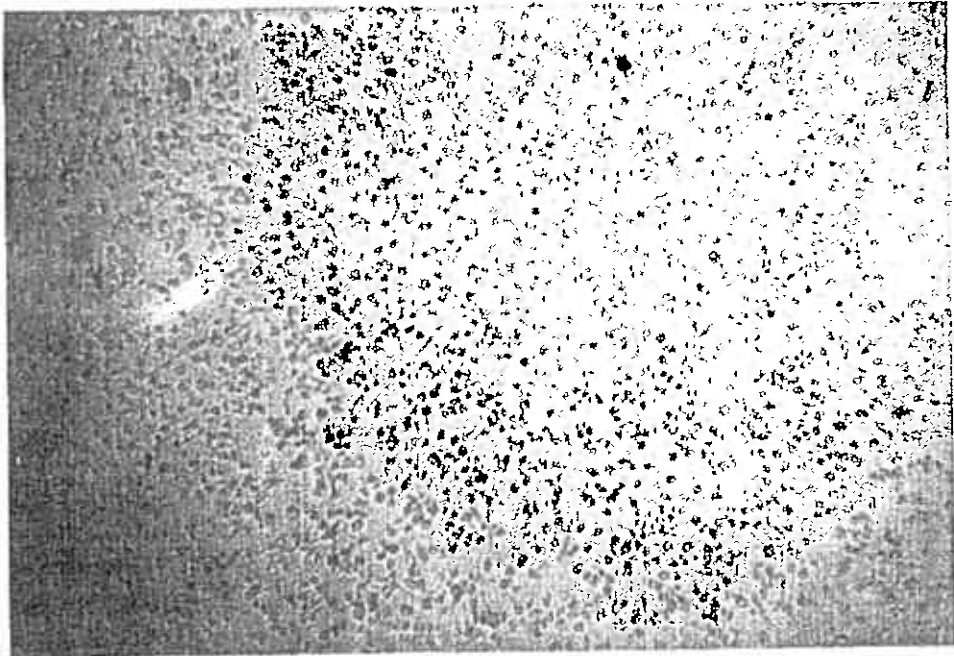
ÇALIşMA GRUBU	CBV-1	CBV-2	CBV-3	CBV-4	CBV-5	CBV-6
0-15 Yaş (s=20)	7(35.0)	8(40.0)	9(45.0)	14(70.0)	3(15.0)	2(10.0)
16-30 Yaş (s=80)	27(33.8)	29(36.2)	24(30.0)	47(58.7)	10(12.5)	9(11.2)
31-45 Yaş (s=20)	3(15.0)	6(30.0)	3(15.0)	9(45.0)	7(35.0)	2(10.0)
46 + Yaş (s=16)	1(6.2)	0(0)	1(6.2)	5(31.2)	3(18.7)	0(0)
T1P 1 Diabet(s=37)	12(32.4)	9(24.3)	15(40.5)	11(29.7)	3(8.1)	3(8.1)
Miyokard						
Enfarktüs(s=30)	0(0)	1(3.4)	3(10.0)	0(0)	0(0)	0(0)

(): Yüzde oranlarını ifade eder.

Çalışma grubuna dahil serumlardaki CBV serotiplerine karşı ELISA IgG ve IgM antikorları pozitiflik oranları tablo-1 ve 2'de gösterilmiştir.



ŞEKİL-1: CBV ile enfekte edilmemiş vero hücre kültürü



ŞEKİL-2: CBV'ün vero hücre kültüründeki CPE'si (3 üncü günde)

TARTIŞMA ve SONUÇ

CBV enfeksiyonlarının serolojik tanısında birçok testten yararlanılabiliirse de (18-20), bunların içerisinde en güvenilir ve spesifik olan testin nötralizasyon olduğu bildirilmektedir (18). Ancak son yıllarda ELISA yöntemiyle yeni yapılan çalışmalarda limit verici sonuçlar elde edilmiştir. Çünkü CBV'un şüpheli materyalden izolasyonu tek başına bir anlam ifade etmemektedir. Kesin bir tanıya gidilebilmesi için serolojik destek gerekmektedir. Ancak tek bir serum örneğinde saptanan nötralizan antikor pozitifliği de anlam ifade etmemekte ve antikor titresinin 4 kat artışı ya da IgM antikorlarının saptanması gerekmektedir (7). Bu nedenle kesin klinik tanıya gidilebilmesinde serolojik yöntemleri uygularken çift serum örneğiyle nötralizasyon veya ELISA IgG ve IgM testlerinin uygulanmasının yararlı olacağı kabul edilmektedir.

Özellikle kalp ve santral sinir sistemini tutulumları nedeniyle insan sağlığı açısından çok önemli bir yer tutan CBV enfeksiyonlarının tanısı genellikle antikorların saptanmasıyla konulmaktadır. Çünkü semptomlar ortaya çıktıktan kısa bir süre sonra virüs ekskresyonu kaybolmaktadır. En güvenilir serolojik test ise tipi spesifik antikor cevabına yönelik bir test olan nötralizasyon testidir (1, 18). Ancak bu testin zaman ve iş gücü açısından oldukça pahalı olması, tam için daha kolay yapılabilen ve çabuk bir testin aranmasına yol açmıştır. ELISA testi ilk kez 1971 yılında tanımlanmış ve uygulamalarına başlanmıştır (2, 4, 18).

Akut enfeksiyonlarda oluşan ve varlığı birçok enfeksiyonla ancak 2-3 ay devam eden ELISA IgM antikorlarını bazı enfeksiyonlarda sensivite ve spesifitesi düşüktür. Bunların bir örneği de CBV enfeksiyonlarıdır.

CBV enfeksiyonlarında heterotipik IgM cevabı oluşabilmekte ve bu nedenle CBV'ları ile oluşan enfeksiyonların IgM antikorları saptanması yoluyla ayrımı yapılamamaktadır (1, 23, 24). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da bu hususu doğrulamaktadır. ELISA IgM testi ile CBV serotiplerinin hepsine karşı elde edilen

pozitiflik oranları IgG pozitiflik oranlarından yüksektir.

CBV serotiplerine karşı oluşan IgM antikorlarının heterotipik özellik göstermesi CBV serotipleriyle oluşan enfeksiyonların ELISA IgM testiyle birbirinden ayrılanmayacağı göstermektedir.

ELISA IgM ve nötralizasyon testinin her ikisinin birlikte pozitif olması son zamanlarda geçirilen bir CBV enfeksiyonunu; pozitif ELISA IgM ve negatif nötralizasyon titreleri CBV'dan başka bir diğer enterovirusla son zamanlardaki bir enfeksiyonu düşündürüleceği bildirilmektedir (22). Bu iki alternatif dışında nötralizasyonun pozitif, ELISA IgM'nin negatif olduğu durumlarda vardır ki bu husus araştırmacılar tarafından uzun bir süre açıklanamamıştır (22). Bazı araştırmacılar, bunun yorumunun zor olduğunu ifade ederek yeni geçirilmiş bir Coxsackie (A veya B) enfeksiyonunu dışlamamışlardır. Bu konuyla ilgili olarak Chan ve Hammond (4) 1985 yılında yaptıkları çalışmada eşleşmeyen bu durumun multimerleri depolanma sırasında serumlardaki IgM'lerin bozulmasına bağlanmıştır. Katze ve Crowell (2) ise bu durumu sezyum kloridle gerekli saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılan antijene bağlanmışlar ve bu şekilde saflaştırılma yapılmadan kullanılan antiijenlerle yapılan ELISA testi sonunda bazı duyarız sonuçlar alınabileceğini bildirmişlerdir. Klare ve arkadaşları (21) da grup ve tipi spesifik polipeptidlere karşı yönelmiş monoklonal antikorlar kullanarak ELISA'da daha güvenilir sonuçlar alınabileceğini bildirmişlerdir.

Çalışmanın bulguları, genelde mikronötralizasyon test sonuçlarıyla (9-11) uyumluysa da, yukarıda belirtilen bazı nedenlerden dolayı eşleşmeyen pozitiflik olguları da bulunmaktadır. Sağlıklı kişilerde yapılmış olduğumuz CBV ELISA IgG ve IgM pozitiflik sonuçları her bir CBV suşu için sırasıyla CBV-1 % 0, % 24.2; CBV-2 % 15.3, % 27.4; CBV-3 % 8.3, % 23.6; CBV-4 % 5.5, % 47.8; CBV-5 % 20.4, % 14.6 ve CBV-6 % 10.2, % 8.3 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar hastalık gruplarıyla ise; yine sırasıyla IgG ve IgM değerleri olarak, miyokard

enfarktüsülerde % 0-43.3, 0-10 arasında; tip 1 diabetlilerde ise % 2.7-8.1, % 8.1-40.5 arasında değişen pozitiflik oranları saptanmıştır. Ancak nötralizasyon testi CBV enfeksiyonlarının tanısında kullanılan tek ve güvenilir bir test olmağa devam etmektedir. Fakat bu testin de bilinen uygulamaya zorlukları unutulmamalıdır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar CBV

enfeksiyonlarının tanımında CBV ELISA IgM testlerinin grup spesifik oluşu nedeniyle bir serotiple oluşan enfeksiyona bağlı olarak diğer serotiplerle de pozitif sonuç verdiği, bu nedenle serotiplerin saptanmasında kullanılacağı gibi yeni bir enfeksiyonu da gösteremeyeceğini ortaya koymaktadır. CBV serotiplerine ilişkin antikorların saptanmasında nötralizasyon testi en geçerli test olma özelliğini korumaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- PATTISON JR: Tests for Coxsackie B virus specific IgM, J.Hyg. Camb. 90:327-332, 1983.
- 2- KATZE MG, CROWELL RL: Indirect enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of Coxsackie virus group B antibodies J.Gen Virol. 48: 225-229, 1980.
- 3- KATZE MG, CROWELL RL: Immunological studies of the group B Coxsackie viruses by the sandwich enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoprecipitation. J.Gen Virol. 50: 357-367, 1980.
- 4- CHAN D, HAMMOND GW: Comparison of serodiagnosis of group B Coxsackie virus infections by an immunoglobulin M capture enzyme immunoassay versus microneutralization, J.Clin.Microbiol., 21 (5): 830-834, 1985.
- 5- FRISK G, TORFASON EG, DIDERHOLM H: Reverse radioimmunoassays of IgM and IgG antibodies to Coxsackie B viruses in patients with acute myopericarditis. J. Med. Virol., 14: 191-200, 1984.
- 6- DORRIES R, MEULEN VT: Specificity of IgM antibodies in acute human Coxsackievirus B infections. Analysed by indirect solid phase enzyme immunoassay and immunoblot technique, J.Gen.Virol., 64: 159-167, 1983.
- 7- BARRETT-CONNOR E: Is insulin-dependent diabetes mellitus caused by Coxsackievirus B infection? A review of the epidemiological evidence, Rev. Infect. Dis., 7 (2): 207-215, 1985.
- 8- BORING WD, LEVY RS: Studies on the production of B1 Coxsackie virus by HeLa cells, J.Immunol., 88: 394-400, 1962.
- 9- EMEKDAŞ G, ROTA S, KUŞTİMUR S, KOCABEYOĞLU Ü: Tip 1 diabetes mellituslu hastalarda Coxsackie B viruslara karşı antikor düzeylerinin araştırılması, Mikrobiyoloji Bülteni 26: 116-120, 1992.
- 10- EMEKDAŞ G, KUŞTİMUR S, ROTA S, KOCABEYOĞLU Ü: Akut miyokard enfarktüsü ve perikarditli hasta serumlarında Coxsackie B virus antikorları Klinik Dergisi 5 (2): 40-42, 1992.
- 11- EMEKDAŞ G, KUŞTİMUR S, KOCABEYOĞLU Ü, ROTA S: Değişik yaş gruplarında Coxsackie B virus serotip 1-6 antikor düzeylerinin mikronötralizasyon yöntemi ile araştırılması, Sağlık Dergisi (Yayında).
- 12- KOCABEYOĞLU Ü, YÜCEL N, EMEKDAŞ G: Herpes simplex virus tip 1 antikorları araştırılmasında GATA'da üretilen ELISA kiti ile alınan sonuçlar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 21 (3 - 4): 343-353, 1991.
- 13- KISA Ü, KOCABEYOĞLU Ü, EMEKDAŞ G: Respiratory syncytial virus antikorları araştırılmasında ELISA yönteminin uygulanması. Enfeksiyon Dergisi 4 (2): 177-188, 1990.
- 14- VOLLER A, BIDWELL D, BARTLETT A: Microplate enzyme immunoassays for the immunodiagnosis of virus infections, "Manual of Clinical Immunology" (ROSE NR, FRIEDMAN H, eds), American Society for Microbiology, Washington DC 506-512, 1976.

15. MOKHTAR MO, MANATVALA JE, COLTART DJ: Coxsackie B virus specific IgM responses in patients with cardiac and other diseases. *The Lancet* 2 (8205): 1160-1162, 1980.
16. VOLLER A, BARTLETT A, BIDWELL DE: Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *J.Clin. Pathol.* 31: 507-521, 1978.
17. VOLLER A, SAVIGNY D: Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), "Techniques in Clinical Immunology" (THOMPSON RA, ed.) Second Edition, London 157-169, 1981.
18. HANNIGTON G, BOOTH JC, WIBLIN CN, STERN II: Indirect enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of IgG antibodies against Coxsackie B viruses. *Med. Microbiol.*, 16: 459-465, 1983.
19. AKAN E: Genel ve Özel Viroloji, 2.Baskı, Türkiye Klinikleri Yayınevi, 282-291, 1989.
20. MORGANTE O, AMBROSIE EP, HARAPHONGSE M, LAM RP, FRASER RS: Conjugation of Coxsackievirus types B1-B6 immunoglobulins with fluorescein isothiocyanate by a "reversed" dialysis method. *J. Infect. Dis.*, 137 (6): 802-809, 1978.
21. KHARE S, RAI A, BASU RN: Serological evidence of Coxsackie B virus associated with cardiovascular diseases in major hospitals of Delhi. *Indian J Med. Res.* 87:5-8, 1988.
22. MCCARTNEY RA, BANATVALA JE, BELL EJ: Routine use of μ -antibody capture ELISA for the serological diagnosis of Coxsackie B virus infections. *J.Med. Virol.* 19: 205-212, 1986.
23. MINORTE, et all.: Counterimmunoelectrophoresis test for immunoglobulin M antibodies to group B Coxsackie virus. *J.Clin. Microbiol.* 8: 503, 1979.
24. RUBIN SJ, Picornaviruses: "Clinical and Pathogenic Microbiology" (HOWARD BJ, ed), The CV Mosby Company, Toronto, 795-798, 1987.

11/11/2023 10:11:11 AM

11/11/2023 10:11:11 AM

GASTROENTERİT OLGULARINDA CRYPTOSPORİDİUM spp. ve DİĞER ENTEROPATOJENLERİN PREVALANSI

Abbas YOUSEFI RAD *

Güler AYDIN **

Müge SEVİNÇ ***

ÖZET

Çalışmamızda Refik Saydam Infeksiyon Merkezi Başkanlığı ve Ankara Numune Hastanesi'nin Mikrobiyoloji Bölümüne başvuran toplam 100 ishali olgudan alınan dışkı örnekleri özellikle Cryptosporidium yönümlen incelemeye alındı. Buna paralel olarak koproparazitolojik ve kültür yöntemleriyle incelemeye tabi tutulmuştur.

Araştırmamız sonucunda 100 vakamızın, 53'ünde patojen etken bulunmuştur. Bu 53 etkenin 24'nün Cryptosporidium olduğu saptanmıştır. Diğer patojen etkenler sırasıyla Shigella spp. % 8, Entamoeba histolytica % 8, Non-Aglutinabl Vibrio (NAG) % 4, Salmonella spp. % 3, Giardia intestinalis % 2, Trichostrongylus spp., Enterobius vermicularis, Hymenolepis nana, Ascaris lumbricoides % 1 olarak tesbit edilmiştir.

Bu çalışmada Cryptosporidium enfeksiyonunun 0-13 yaş grubu arasında % 14 olduğu gözlemlenirken, 14-24 yaş grubu arasında en az % 3 ve 25'den yukarı yaş grubunda da % 7'lik bir prevalans gözlemlenmektedir.

CRYPTOSPORIDIUM spp. IN THE GASTROENTERIT FACTS AND OTHER PREVALANCE OF ENTEROPATOGENS

SUMMARY

In our studies, feces from the 100 person who have diarrhoea apply to the Refik Saydam Infeksiyon Merkezi and Ankara Numune Hospital and these people especially were investigated by means of Cryptosporidium. In addition to this process, they were examined by coproparasitologic and culture technique.

In our results show that 53 percent of the people were effected by the pathogenes. It is determined that 24 of 53 pathogenes are cryptosporidium spp. The percentages of other pathogenes are 8 for Shigella spp, 8 for Entamoeba histolytica, 4 for Non-Aglutinabl Vibrio, 3 for Salmonella spp, 2 for Giardia intestinalis and 1 for Trichostrongylus spp., Enterobius vermicularis, Hymenolepis nana, Ascaris lumbricoides.

In this study, we have observed 14 % of the prevalence of Cryptosporidium in age groups between 0-13, at least 3 % in age groups between 14-24 and 7 % in age groups above 25.

* Bayındır Tıp Merkezi, Ankara/TÜRKİYE

** Refik Saydam Infeksiyon Merkezi, Ankara/TÜRKİYE

*** Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Beştepe, Ankara/TÜRKİYE

GİRİŞ

Son zamanlarda enterokolit vakalarında yüksek bir insidans gösteren, Cryptosporidiosis hastalığının etkeni bir zoonozon olan *Cryptosporidium* spp.'dir. Yeni tanımlanmış olan bu coccidium, bir protozoon olup insanlarda şiddetli, uzun süren diyare enfeksiyonlarına neden olur (1-4). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde sıklıkla rastlanan bu protozoon, immün sistemi baskılı kişilerde, AIDS hastalarında ve çocuklarla fırsatçı bir patojen olarak karşımıza çıkarak ölümcül olabilmektedir (5, 6).

Cryptosporidium tanısı 3 şekilde gerçekleştirilmektedir. Bunlar direkt mikroskopik inceleme, serolojik inceleme, in vivo kültür metodlarıdır (2, 4, 5, 7-9). Direkt mikroskopik inceleme için, dışkı örneklerinden hazırlanan preparatlar değişik boyama metodları ile boyanırlar. Bu boyama metodları; iodine boyama, modifiye kinyon asid fast boyama, modifiye Ziehl-Neelsen boyama ve modifiye Köster boyama metodudur (10, 11).

GEREÇ ve YÖNTEM

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına ve Ankara Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına gelen ishallerin vakaların gaita örnekleri ağız kapalı, kaplarda toplandı ve örneklerin hepsi; A-*Cryptosporidium* spp. B-Nativ ve flotasyon yöntemi ile protozoa ve helmint ve C-Bakteriyolojik açıdan incelenmeye alındı.

A- *Cryptosporidium* yönünden inceleme için dışkı örnekleri koruyucu formaldehit çözeltisi içine kondu. Preparat hazırlandıktan sonra modifiye Ziehl-Neelsen boyamaya tabi tutuldu (7). Değerlendirme için, boyanan preparat 40 ve 100'lük objektif ile incelendi. Mavi zeminde kırmızı veya esmer kırmızı 4-5 um çapında tam yuvarlak yapılar *Cryptosporidium* spp. olarak değerlendirildi.

B- Kopro parazitolojik incelemede ağız ka-

palı kaplara alınan dışkı örnekleri nativ ve flotasyon yöntemi ile incelendi (12).

C- Gaita kültürü için yapılan incelemelerde steril ekivyona alınan gaita numuneleri, derhal kanlı jeloz, SS agar, Mc Conkey, EMB agar, Mansur ve Alkış besiyerlerine ekim yapıldı. 37 ° C'lik inkübasyondan sonra ertesi gün ekilen plaklar enteropatojen mikroorganizmalar açısından incelendi. Laktoz negatif koloniler Kligler agara alındı, etüvde 6 saat bekledikten sonra İ.M,V,C testine (İndol, Metil red, Vages Proskaver Citrate) tabii tutuldu. Genel durum değerlendirildi ve şüpheli suşlar anti-serumlarla aglütinasyon yapılarak identifiye edildi.

BULGULAR

Çalışmamız, ishal şikayeti ile Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Mikrobiyoloji Bölümüne gelen 60, Ankara Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümüne gelen 40 hasta olmak üzere toplam 100 hastanın gaita örnekleri üzerinde yürütülmüştür. Elde ettiğimiz bulgular, şema 1 ve tablo 1, 2, 3, ve 4'de gösterilmiştir.

TABLO-1: İzole edilen etkenlerin yaş grupları arasındaki dağılımı

ETKENLER	013 yaş	14-24 yaş	25'den yukarı
<i>Cryptosporidium</i> spp.	14	3	7
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0	0
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	0	0
<i>Trichostrongylus</i> spp.	0	0	1
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	0	0
<i>Giardia intestinalis</i>	2	0	0
Non-Aglutinabl <i>Vibria</i> (NAG)	1	0	3
<i>Shigella</i> spp.	7	0	1
<i>Salmonella</i> spp.	2	1	0
<i>Entamoeba histolytica</i>	4	2	2

TABLO-2: İzole edilen etkenlerin birlikte bulunma oranları

ETKENLER	%
Cryptosporidium spp.	17
Cryptosporidium spp.-Entamoeba histolytica	6
Cryptosporidium spp.-A.lumbricooides - E.histolytica	1
Giardia intestinalis	1
Shigella spp.	8
Non-Aglutinabl Vibrio (NAG)	4
Salmonella spp.	3
Giardia intestinalis - E.vermicularis	1
Entamoeba histolytica	1
Trichostrongylus spp.	1
Hymenolepis rana	1

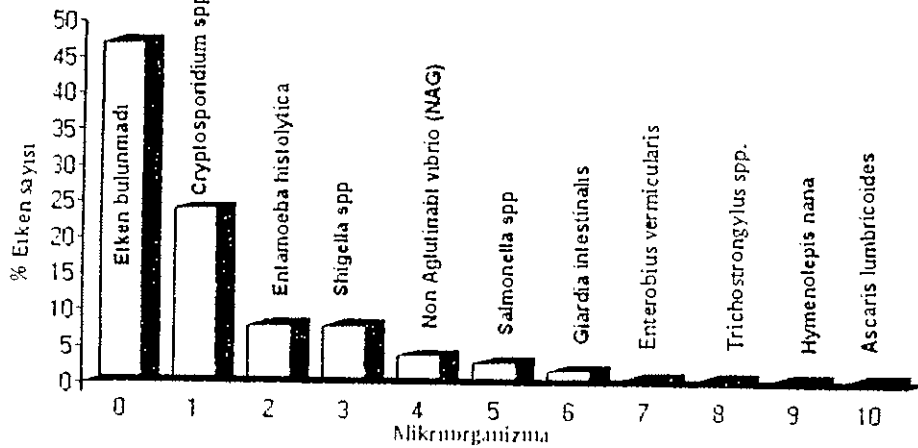
TABLO-3: Cryptosporidium spp. pozitif çıkan hastaların klinik belirtileri

Cryptosporidium pozitif olan 24 hastanın klinik belirtileri	(%)
İshal (24)	100
Ateş (21)	87.5
Kusma (18)	75

TABLO-4: İzole edilen etkenlerin apartman ve geceköylerdeki dağılımları

Konut çeşidi ve sayısı	Cryptosporidium Spp.	Giardia intestinalis	Entamoeba histolytica	Enterobius vermicularis	Hymenolepis nana	Ascaris lumbricooides	Trichostrongylus spp	Salmonella spp.	Shigella spp.	Non-Aglutinabl vibrio(NAG)	İzole edilen toplam etken sayısı	Esken izole edilmedi	Toplam konut sayısı
Geceköy	19	2	5	1	1	1	1	1	7	3	41	13	54
Apartment	5	-	3	-	-	-	-	2	1	1	12	34	46
Toplam	24	2	8	1	1	1	1	3	8	4	53	47	100

ŞEMA-1: 100 Vakadan izole edilen etken sayısı



TARTIŞMA ve SONUÇ

Cryptosporidium spp. 1900'lu yıllarda hayvanlarda, 1980'li yıllarda ise insanla çeşitli enfeksiyonlar yaptığı tanımlanan bir protozoonlardır.

Enfeksiyonu oral-fekal yol ile meydana geldiğinden, sular, kirli yiyecekler ve kirli eller bulaşımın en önemli kaynaklarıdır (10). *Cryptosporidium*se tanısı için dışkıda ookistlerin görülmesi gereklidir. Dışkıdan direk tanısında ookistler, yaklaşık 5 mikron çapında görülmektedir (3, 4). Dışkıda ookistlerin saptanması için çeşitli boyama metodları ve teknikleri geliştirilmiştir. Dışkı ve sularda *Cryptosporidium* ookistlerinin hızlı saptanması için yedi boyama tekniği denenmiştir. Bu metodlar, modifiye Ziehl-Neelsen, Avramine-fenol, Wright, Giemsa, Safraam methylene blue, ladin boyası ve FITC ile işaretli monoklonal antikorlardır. Bu teknikler içinde en iyi olanlar, Ziehl-Neelsen ve FITC işaretli monoklonal antikorlardır. Çünkü diğer boyama metodları benzer büyüklük ve şekildedeki organizmaların, değerlendirilmesinde karışıklığa yol açmaktadır (2, 3, 6). Bu metodlar birçok araştırmacı tarafından birbirleri ile karşılaştırılarak çalışmıştır. Garcia ve arkadaşları ookistlerin saptanmasında kullanılan 15 metodu karşılaştırmış, % 10 Formaldehit içeren koruyucu ortamda saklanan gaitaların modifiye Ziehl-Neelsen boyama metodunun diğer bütün metodlardan daha üstün olduğunu bildirmiştir (9, 11). *Cryptosporidium*'un gelişmekte olan ülkelerde, gelişmiş ülkelere nazaran daha yüksek oranda okluğ ve Avustralya'daki yerli çocuklarda % 9.6 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Uni ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada 104 çocuk incelemeye alınmış ve bunların % 9'unun *Cryptosporidium* spp. % 56'sının diğer etkenlerle enfekte olduğu bildirilmiştir (13). Liberia'da 278 diareli çocuğun dışkıının % 7.9'unda *Cryptosporidium* spp., Bangladeş'te 578 ishali dışkıının % 4.3'ünde Venezuela'da yeni doğmuş ishali bebeklerde (2 aydan küçük) % 10.8, Filipinlerde 735 ishali hastada (1 ay-75 yaş) % 2.6, Gana'da da 474 ishali çocukta (2 ay - 5 yaş) % 12.9, Hindistan'da ishali çocuk-

larda % 13.1 ishalsizlerde % 9.8, Brezilya'da 117 ishali hastadan % 8, Kostarika'da % 42, Tayland'da Bangkok'ta (1 aylık - 10 yaş) 410 çocuktan % 3.2, Kuzey Brezilya'da (1-2 yaş) sosyo-ekonomik durumun düşük çocuklarda % 3.2 *Cryptosporidium* spp. saptanmıştır. Şili'de (0-13 yaş) 750 çocuk dışkıının 48'inde *Cryptosporidium* spp. saptanmıştır. Kalküta'da bir çocuk hastanesinde 402 dışkı üzerinde ishal nedenleri araştırılmış olup, bunların % 4.47'sinde (18'de) ve bir barsak patojeni ile birlikte 6 olguda (% 1.49) *Cryptosporidium* spp. saptanmıştır (14, 15). Enfeksiyon yaz aylarında çok daha yaygındır. *Cryptosporidial* enfeksiyonlar çocuklarda yetişkinlere göre daha yaygın olarak belirlenmiştir. *Cryptosporidiasis*'in klinik belirtileri genel olarak ishal, kusma, karın ağrısı, ateş ve çok ender olarak görülen halsizlik, iştahsızlık, sayıklama, el veya ayak parmaklarının iltihabını kapsar. Buna rağmen bütün semptomlar keşfedilememiştir (5, 6). Yukarıda belirttiğimiz semptomlara bütün *Cryptosporidiasis* vakalarında rastlanmamaktadır. Bizim çalışmamızda 100 ishali vakadan tespit edilen 24 *Cryptosporidium* vakasının 3'ünde ateş ve 6'sında kusmaya rastlanmıştır. Shepherd ve arkadaşları yaklaşık iki sene içinde yaptıkları bir (1986-1987) çalışmada 83 hastada *Cryptosporidium* ookistleri saptanmıştır. Hastaların 44'ünün erkek ve 39'unun kadın olduğu, yaşlarının 15 ile 88 arasında dağılımı gösterdiklerini bildirmişlerdir. Bu hastalarda ateş, kusma, karın ağrısı gibi semptomlar aynı hastada birlikte bulunması bile ana klinik tabloyu oluştururken, diğer semptomlar örneğin halsizlik, iştahsızlık, sayıklama, el veya ayak parmaklarının iltihabı meydana gelmektedir. *Cryptosporidiasis*'ilerin dışkılarında müköz ve kana rastlanmamıştır (16).

Yapılan bir çalışmada diare periyodunda *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin çıkarılmasını düzenli olmadığı belirtilmiştir. Hastalığın akut safhasında hastalarımızın hemen hemen tüm fekal örnekleri uniform olarak ookist içeriyordu. Bu çalışmaya ek olarak *Cryptosporidium* spp. açısından pozitif olan hastaların %2'sinde

asemtomatik duruma geldikten sonra dahi iki hafta boyunca *Cryptosporidium* oökitlerine rastlanması ilginçtir. Oökitlerin asemptomatik olarak çıkarılması *Cryptosporidiosis*'in yayılmasında ve bulaşmasında önemlidir (5). *Cryptosporidiosis* AIDS'li hastalarda fırsatçı bir enfeksiyondur, hatta sürekli bir *Cryptosporidiosis*, AIDS'in bir işareti olarak gösterilir (4). Hastalar arasında bazıları diğerlerinden daha çok oökit yayınlamaktadır. Bu diarenin süresi veya şiddeti ile ilgili değildir. Ev halkının kontakları ile ilgili çalışmada, enfeksiyonun % 43 olduğu saptanmış, bu ile kişilerle kişiye iletişim, taşıyıcılık ve subklinik enfeksiyonların neden önemli olduğunu göstermektedir (16). Horih ve arkadaşları Washington şehrindeki dört nehirden ve California'daki iki nehirde su örnekleri toplamışlar ve *Cryptosporidium* oökitlerini varlığını saptamak üzere test etmişlerdir. Bu altı nehirde alınan örneklerin tümünde *Cryptosporidium* oökitlerine rastlanması dikkate alınmalıdır (17).

Bizim çalışmamızda 100 vakadan 47'de herhangi bir etken saptanamadı. Geriye kalan 53 vakanın 24'ü *Cryptosporidium* spp., 8'i *Entamoeba histolytica*, 8'i *Shigella* spp., 4'ü *Non-Aglutinabl vibrio* (NAG), 3'ü *Salmonella* spp., ve 2'si *Giardia intestinalis* olarak izole edildi. *Enterobius vermicularis*, *Trichostrongylus* spp., *Hymenolepis nana* ve *Ascaris lumbricoides* ise % 1 oranında izole edildi (Şema 1). Tablo 1'de görülülüşü gibi ilare vakalarıyla *Cryptosporidium* enfeksiyonunun tüm yaş gruplarıyla sıralarışı değişmektedir. 0-13 yaş grubunda ilk sırayı *Cryptosporidium* spp (% 11), sonraki sırayı *Shigella* spp. (% 7) ve *Entamoeba histolytica* (% 4) almaktadır. 14-24 yaş grubuyla *Cryptosporidium* spp. oranı (% 3) olup bununla *Entamoeba histolytica* (% 2) gelmektedir. 25 yaş ve üstünde *Non-Aglutinabl*

vibrio (NAG) *Cryptosporidium*dan (% 7) sonra ikinci sırayı almaktadır.

Tüm etkenler için pozitif sonuç oranı yaş grubuna göre değişmekte olup, 0-13 yaş grubunda en yüksek % 33, 14-24 yaş grubunda en düşük % 6 oranında olduğu saptanmıştır. Tablo 2'de görüldüğü gibi gastroenterite tek başına neden olan *Cryptosporidium* spp. (% 17) birinci sırada yer almakta, bunun ardından *Shigella* spp. (% 8) ve *Non-Aglutinabl vibrio* (NAG) (% 4) ve *Salmonella* spp. (% 3) yer almaktadır. Bu çalışmada en dikkat çekici noktada (% 6) bütün *Entamoeba histolytica* pozitif olan vakalarda (bir vaka hariç) *Cryptosporidium*'a rastlanmaktadır. *Cryptosporidium* açısından 100 vakada pozitif çıkan 24 vakanın klinik tablosuna baktığımızda (Tablo 3) bütün vakaları klinik tablo hemen hemen aynıdır. Ayrıca 100 hastanın yalnız 2 vaka immün defektli olup, bu iki vakada birisinde *Cryptosporidium* spp. pozitif bulundu. Gastroenterit vakaları sayısının sosyo-ekonomik düzeyle ilgili olduğu, az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerle daha sık rastlandığı bilinmektedir (17). Tablo 4'de görülülüşü gibi en sık ishal etkenlerine geçekondü bölgesinde oturan insanlarla rastlanmıştır. Bunun nedeni altyapı tesislerinin yetersiz olması ve hijyen şartlarına dikkat edilmemesinden kaynaklanıyor olabiliriz. Bu çalışmada *Cryptosporidium* % 24 gibi büyük bir insidansı sahip olması ve tam için uygulanan morfiye Ziehl-Neelsen boyama metodunun fazla bir mali yükü neden olmaması rutin çalışmalara alınmasını uygulatabilirliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca *Cryptosporidium* oökitlerinin telenfektanlara karşı direnç durumları ve içme sularının kalite kontrolü gibi konuların da göz önünde tutulması gerektiği inancımızdır (15).

KAYNAKLAR

1. Horen, W.P.: Detection of *Cryptosporidium* in Human Fecal Specimens, *J.Parasitol.* 69:3. 622-624, 1983.
2. Jokipii, I., Pihyola, S., Jokipii, M.M.A.: *Cryptosporidium*: a Frequent Finding in patient with Gastrointestinal. *Angust*, 3: 358-360, 1983.

- 3- Ma, P. and Soave, R.: Three-Step Stool Examination for Cryptosporidiosis in 10 Homosexual Men with Protracted watery Diarrhea., J.Inf.Dis, May. 147:5. p, 824-828, 1983.
- 4- Pohjola, S., Jookipii, L., Jookipii, M.M.A.: Dimethylsulphoxide Ziehl-Neelsen Staining Technique for Detection of Cryptosporidial Oocyst. Vet. Record, 115: 442-443, 1984.
- 5- Murray, R.P., Drew, L.W., Kobayashi, S.G., Thompson, H.J.: Medical Microbiology. International student edition, 349, 366-368, 1990.
- 6- Shepherd, R.C., Sinha, P.G., Reed, L.C., and Russel, E.F.: Cryptosporidiosis in the West of Scotland., Scot. Med. J. 39: 365-368. 1988.
- 7- Finegold, S.M., Baran, E.J.: Diagnostic Microbiology, 7 th. Edition, 833-835, 1986.
- 8- Garea; S.L., Brewer, C.T., and Bruher, A.D.: Fluorescence Detection of Cryptosporidium Oocysts in Human Fecal Specimens by using Monoclonal Antibodies J. Clin. Microbiol. Jan, 119-121, 1987.
- 9- Stibbs, H.H., and Ongerth, E.J.: Immunofluorescence Detection of Cryptosporidium Oocysts in Fecal smears., J.Clin. Microbiol. Oct. P. 517-521, 1986.
- 10- Bouree, H.: Une nouvelle parasitose intestinale la Cryptosporidiose. Med. Dig. 14(8), 669-670, 1985.
- 11- Paik, G., Suggs, M.T., Reagents, Stains, and miscellaneous test procedures. In E.H. Spaulding, and J.P. Tenant (ed). Manual of clinical microbiology. 2 nd ed. American Society for Microbiology, Washington. D.C., P. 930-950, 1974.
- 12- Yaşarol, Ş.: Medikal Parazitoloji İzmir., E.Ü. Tıp Fak. Yayın, 93: 32, 1978.
- 13- Umi, S., Iseki, M., Maekawa, T., Moriya, K., Takada. S.: Ultrastructure of Cryptosporidium muris (strain RN 66) Parasitizing the murine Stomach. Parasitol Res. 74 (2): P. 123-32, 1987.
- 14- Brea, M.L., Picazol, L.G., Rey, M.D., Jimenez, M.L.: Cryptosporidium in stool specimens in Madrid. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 79.3, 1985.
- 15- Weit, V., J., C., Tassava, O., R., Mercado, R.: Cryptosporidiosis in Chilean children. Tran. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 82: p. 335, 1988.
- 16- Perera, J., G.M. Lucas, Cryptosporidiosis Oocyst shedding and infection in household contacts. Ceylon. Med. J., Mar. 35 (2) P. 11-4, 1990.
- 17- Iordani, I., Leone, F., Technique for identifying Cryptosporidium spp. in feces: Synthetic review and Personal experience on anti-HIV seropositive, AIDS-related complex and AIDS subjects. Quad. Selavo, Diagn. Jan-Dec, 2:f: 1-4, 133-9 1988.

ANKARA YÖRESİNDE YAKALANAN KÖR FARELERDE (SPALAX LEUCODON)
İLK TRYPANOSOMA LEWISI (KENT, 1880) OLGUSU

Selami CANDAN *

Hasan EREN **

Cahit BABUR ***

ÖZET

Kan frotisi yapılarak kontrol edilen 15 kör farenin 3'ünde Trypanosoma lewisi'ye rastlanmıştır. Bu çalışma ile Ankara'da T.lewisi'nin varlığı ilk kez ortaya konmuştur.

THE FIRST REPORT OF TRYPANOSOMA LEWISI (KENT, 1880) IN SPALAX
LEUCODON (RODENTIA: SPALACIDAE) IN ANKARA

SUMMARY

Trypanosoma lewisi was detected in the blood films of the three of 15 spalax leucodon. This is the first report revealing the occurrence of T.lewisi in Ankara.

GİRİŞ

Trypanosoma (Herpetomonas) lewisi (Kent, 1880) varlığı ve laboratuvar ratlarının kosmopolit bir protozoonudur. Bu kamçılı protozoonu genelde apatojen olup rat pireleri olan Ceratophyllus fasciatus, Nasopsyllus fasciatus ve Xenopsylla cheopis ile nakledilmektedir (1-5).

Trypanosoma lewisi, 26-34 mikron uzunluğunda olup, vücudun ön yarısına yerleşmiş oval çekirdeği ve arka uca yakın orta büyüklükte bir kinetoplast (1.0 X 0.7)'a sahiptir. Kıvrımları az belirgin bir dalgalı zarı olup, sitoplazmasında granülasyonu yoktur. Serbest flagellum vücudun ön kısmından yaklaşık 7.5 µm uzunluğundadır (1-4,6,7).

Trypanosoma lewisi, vektörleri olan pirenin mide epitel hücreleri içinde çoğa bölünerek, epitel hücrelerini tahrip ederler. Daha sonra orta barsağa geçip epimastigote formlarını

oluştururlar. Bunu takiben metasiklik trypanastigote formuna dönmüşür ve dışkıya geçerler. Enfekte pireler ratlardan kan emerken bu formları da dışkıları ile rat'ın derisi üzerine bırakırlar. Vektörleri olan pireleri veya dışkılarını yiyerek metasiklik trypanastigote formlarını alan rat'ların visceral kan kapıllarlarında parazit çoğalmasını tanımladıktan sonra kanda trypanastigote formlarına dönüşür (1-5, 7).

Trypanosoma lewisi, genelde konakçıları için apatojen olup, nadiren anemi ve artritisi oluşturmaktadır (4, 9, 10). Enfekte ratlar akut sıfıhayı geçirince reenfeksiyonlara direnç kazanırlar (2, 7).

Trypanosoma lewisi'ye Ankara'daki kör farelerde ilk defa rastlandığı için yayımlama gereği duynmuştur.

* Ar.Gör.Gazi Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Ankara/TÜRKİYE

** Dr.A.Ü.Vet.Fak. Protozooloji ve Entomoloji Bilim Dalı, Ankara/TÜRKİYE

*** Mik.Uzm.Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara/TÜRKİYE

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada, Ankara S.S.K. Doğumevi çevresinden yakalanan 15 adet (8 erkek, 7 dişi) ergin (200 gr'dan büyük) kör fare kullanılmıştır. Bunların kuyruk uçlarından tır damla kan alınarak, sürme kan frotileri yapılmıştır. Bu kan frotileri, metil alkol ile 3-5 dakika tespit edildikten sonra Giemsa boyası ile 45 dakika boyanmışlardır. Daha sonra bu preparatlar, *Trypanosoma* bakımından mikroskopta (X100) kontrol edilmişlerdir. Aynı zamanda kör fareler'de ektoparazit inuayenesi yapılmıştır.

BULGULAR

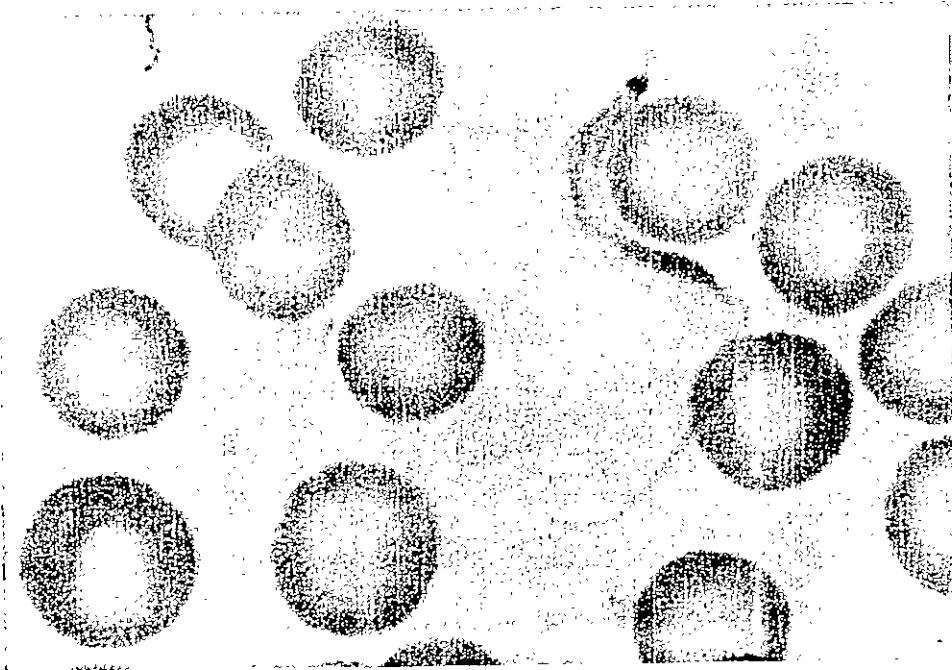
Kan frotileri mikroskopta bakılarak kontrol edilen 15 kör farenin 3'ünde *Trypanosoma* spp. tespit edilmiş, daha sonra bunların *T. lewisi* olduğu saptanmıştır. *Trypanosoma lewisi* bulunan kör farelerin 3'ü de erkek olup, ilkinin her mikroskopu sahasında, ikincisinin her iki mikroskopu sahasında ve üçüncüsünün ise 5-10 mikroskopu sahasında tır etkene rastlanmıştır.

Trypanosoma lewisi'nin kör farelerin kanında bulunan trypanastigote formu, yaklaşık 30 μ m uzunlukta olup, arka ucu tipik bir şekilde sivri, çekirdeği ön uca yakın ve arka uca yakın kinetoplastı vardır (Resim-1). Kör farelerin kontrollerinde herhangi bir ektoparazit bulunamamıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Trypanosoma lewisi genelde rat (*Rattus spp.*) türlerinin tır protozoonudur (2-5, 7,8). Fakat çeşitli araştırmacılar (1-3, 9) tarafından hamster, kobay, ev ve diğer tarla farelerinde bulumluğu bildirilmiştir. Bendyojadliyy (9) Hindistan'da ilk kez ev farelerinde *T. lewisi*'nin varlığını ortaya koymuştur.

Türkiye'de ise *T. lewisi* ilk kez İstanbul'da lağın farelerinde Merdivenci (10) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada ise Ankara'da ilk kez kör farelerde *T. lewisi* tespit edilmiştir. *Trypanosoma lewisi*'nin kör farelere muhtemelen geçici ektoparazit olan pirelerle taşıdığı kanaına varılmıştır.



RESİM-1: Kör farelerin kan frotilerinde *T. lewisi*'nin Trypanastigote formu (Giemsa).

KAYNAKLAR

- 1- Doflein, F., Reichenow, E.: Lehrbuch der protozoenkunde. Funfte Auflage, Verlag von Gustav Fiseher, 570-575 pp, 1929.
- 2- Flynn, R.J.: Parasitology of Laboratory Animals. The Iowa State University press, Ames. Firsth Edltion. 1973.
- 3- Julius, P.Kreier: Parasitic Protozoa. Volume I. Academic press, pp. 300-307, 1977.
- 4- Schmidt, G.D., Roberts, L.S.: Foundatlons of Parasitology. Fourth Edition, College puplishing, pp. 69-70, 1989.
- 5- Soulsby, E.J.L.: Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Seventh Edltion, Bailliere Tindall, 1986.
- 6- Kudo, R.R.: Protozoology. 3rd Edition, Second printing, pp. 274-279, 1947.
- 7- Mimioglu, M., Göksu, K., Sayın, F.: Veteriner ve Tıbbi Protozooloji I. Ankara Üniversitesi Basımevi, 1968.
- 8- Eyles, D.E.: Incidence of Trypanosoma lewisi and Hepatozoon muris in the norway rat. J.Parasit, 38, 222-225, 1952.
- 9- Bandyopadhyay, S., Ghosh, K.: Occurrence of Trypanosoma (Herpetosoma) lewisi (Kent 1880) in house mouse, Mus musculus linn., from India. Indian Journal of Parasitology., 6:2, 335-336, 1982.
- 10- Merdivenci, A.: Türkiye Parazitleri ve Parazitolojik Yayınları. Kutulmuş Matbaası, İstanbul, 1970.

KIRMIZI ET ÜZERİNDE RASTLANILAN PATOJEN VE SAPROFIT MANTARLAR

Hüdaverdi GENBEROV *

İbrahim ÇAKIR **

ÖZET

Ankara ili ve çeşitli İlçe merkezlerinden toplanan 550 çiğ et numunesi üzerinde çalışılmış 168 küf mantarı suşu ve 52 maya mantarı suşu izole edilmiştir. Bu mantarların etteki miktarları ve terkibi tesbit edilmiştir. 168 (%76) küf suşu 11 cinsten ve bu cinsle bağlı 31 türden ibarettir. 52 (%24) maya suşu ise 7 cinsden ve bu cinslere ait 13 türden oluşmaktadır. Etin yüzeyinde sümküsi görünüm meydana getiren, etin rengini değiştiren, ette yağları parçalayan ve tadını bozan, etin küflenmesini ve pis koku yaymasını sağlayan küf ve maya mantarları tesbit edilmiştir.

Et üzerinde rastlanan 44 tür mantarın 21 (%48) türü patojen veya fırsatçı patojen, 23 (%52) türü ise saprofitlerdir. 550 et numunesinin yalnız 118'inde patojen veya fırsatçı patojen mantarlar izole edilmiştir.

SAPROPHYTIC AND PATHOGENIC FUNGI ISOLATED FROM RAW MEAT

SUMMARY

168 strains of mould and 52 strains of yeast have been isolated from 550 raw meat samples. All strains of fungi were identified and has been shown that 168(76 %) mould strains belong to 31 species and 11 genus and 52 (24 %) yeast strains belong to 13 species and 7 genus.

The species of fungi which cause surface slime, changes in color of meat pigment, changes in fats, various surface colors due to pigmented as a result of spoilage have been shown.

It has been established that 21 (48 %) species of fungi are pathogen or conditionally pathogen and 23 (52 %) species are saprophyte. The pathogen or conditionally pathogen fungi were found in 118 meat samples.

GİRİŞ

Çiğ et mikroorganizmalar için çok iyi besi ortamıdır ve üzerinde hem bakteriler hem de mantarlar çok iyi şekilde üreyebilirler (1, 2, 3).

Çiğ eti çürüten ve onu harap eden patojen ve saprofit bakteriler bilinmektedirler (1, 4-6). Ankara'da kullanıma sunulan çiğ kırmızı etten saprofit ve patojen bakterilerin tür tayinleri ve miktarları bundan önceki çalışmalarda verilmiştir (7, 8). Çiğ etteki mantarların yaygınlığı nisbeten daha az bilinmektedir (2, 3, 9).

Bu çalışmanın amacı Ankara'da satılan çiğ kırmızı etlerde olan mantarların tür tayinlerini tesbit edilmesidir.

MATERYAL ve METOD

Mikrobiyolojik analiz için Ankaranın II ve çeşitli ilçelerinden toplanan numunelerden yararlanılmış ve 550 et numunesinden mantarlar araştırmaya alınmıştır.

* Bakü Devlet Üniversitesi Biyoloji Fakültesi, Bakü/AZERBAYCAN

** Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Sıhhiye, Ankara / TÜRKİYE

Mantarları izole etmek için Malt extreli agar, Chapek Dox agar, Patates Sakkaroz agar besiyerlerinden yararlanılmıştır (10, 14). Etten 1 cm³ ölçüde kesilmiş numuneler 10 ml steril distile suya alınmış boncuklu şişede parçalara ayrılmıştır. Sonra sıvıdan 0.1, 0.2 ml vs. miktarda alınarak agarlı besiyerlerinin yüzeylerine Drigalsky pipeti ile yayılmıştır. Ekimlerin herbirisi 2 adet yapılmış olup birisi 26-28° C'de oda ısısında diğeri ise 37° C'de 5-7 gün inkübasyona tabii tutulmuştur.

BULGULAR

Mikrobiyolojik araştırmalar neticesinde 550 et numunesinden 168 küf mantarı ve 52 maya mantarı izole edilmiştir. Numunelerde etin 1 cm³ 'ünde rastlanan küf mantarının miktarı (hücre ve sporların sayısı) 0-800, maya mantarının sayısı ise 0-350 arasında bulunmuştur (Tablo 1). Çok kirlenmiş etlerde küf mantarının miktarı 100 - 3500 arasında, maya mantarının miktarı ise 30-2.000 arasında değişmiştir. Etten ayrılmış 168 küf mantarı suşu identifikasyonu yapılmış ve 11 cins'e ait 31 küf türü tesbit edilmiştir (Tablo 2).

TABLO-1: Çiğ Kırmızı Ette Rastlanan Küf ve Maya Mantarlarının Miktarı

Mantarlar	1 cm 'de hücre ve sporların sayısı (bazı hallerde)
Küf mantarları	0 - 800 (100 - 3.500)
Maya mantarları	0 - 350 (30 - 2.000)

Etten ayrılmış 52 maya mantarının identifikasyonu neticesinde 7 cins'e ait 13 tür tesbit edilmiştir (Tablo 3). Bunlardan 5 türü *Candida* cinsine, 2 türü *Rhodotorula* cinsine, 2'si *Torulopsis* cinsine, kalan diğer cinslerin ise herbirine ait bir tür ayrılmıştır.

Et üzerinde sümüksü görünüm meydana getiren mantarlardan 5 (% 2) türü küf, 9 (% 4) türü maya mantarı olarak tesbit edilmiştir (Tablo 4).

TABLO-2: Çiğ Kırmızı Ette İzole Edilmiş Küf Mantarlarının Cins ve Türleri

Cinsler	Türler
1- <i>Aspergillus</i>	<i>A.awamori</i> , <i>A.botrytis</i> , <i>A.glaucus</i> , <i>A.nidulans</i> , <i>A.niger</i> , <i>A.versicolor</i> , <i>A.usami</i>
2- <i>Alternaria</i>	<i>A.fkkuclana</i>
3- <i>Cladusporium</i>	<i>C.herbarum</i> , <i>C.macrocarpum</i>
4- <i>Fusarium</i>	<i>F.fuseum</i> , <i>F.solani</i>
5- <i>Mucor</i>	<i>M.mlelel</i> , <i>M.mucedo</i> , <i>M.mucoides</i> , <i>M.racemosus</i>
6- <i>Penicillium</i>	<i>P.asperulum</i> , <i>P.chrysogenum</i> , <i>P.expansum</i> , <i>P.fumleolusum</i> , <i>P.naxalicum</i> , <i>P.variable</i> , <i>P.verrucosum</i>
7- <i>Rhizopus</i>	<i>R.nigrleans</i>
8- <i>Sporonichium</i>	<i>S.coruus</i> , <i>S.shenckii</i>
9- <i>Thamnidium</i>	<i>Th.chaetocladioides</i> , <i>Th.elegans</i>
10- <i>Trichoderma</i>	<i>Tr.harzanum</i> , <i>Tr.viride</i>
11- <i>Trichostema</i>	<i>T.roseum</i>

TABLO-3: Çiğ Kırmızı Ette Rastlanan Maya ve Maya Benzeri Mantarların Cins ve Türleri

Cinsler	Türler
1- <i>Candida</i>	<i>C.albicans</i> , <i>C.guilliermondii</i> , <i>C.lipolitica</i> , <i>C.tropicalis</i> , <i>C.utilis</i>
2- <i>Debaromyces</i>	<i>Debaromyces</i> sp.
3- <i>Geotricum</i>	<i>G.candidum</i>
4- <i>Rhodotorula</i>	<i>R.gluconinus</i> , <i>R.rubra</i>
5- <i>Torula</i>	<i>T.hisolytica</i>
6- <i>Torulopsis</i>	<i>Tor.canklla</i> , <i>Tor.sp.</i>
7- <i>Trichosporon</i>	<i>Tr.cuaneum</i>

Etin yüzeyinde pigment meydana getiren ve etin rengini değiştiren mantarlardan 11 (% 5) türü küf mantarı ve yalnız 1 (%04) türü mayaya benzer mantar olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Etin tadını değiştiren ve yağı parçalayan mantarlardan 14 (% 6) türü küf mantarı, 6 (% 3) türü ise maya mantarı olarak bulunmuştur (Tablo 6).

TABLO-4: Çiğ Kırmızı Et Üzerinde Sümküsü Görünüm Yapan Küf ve Maya Mantarları

Küf Mantarları	Maya Mantarları
<i>Mucor mucedo</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Mucor mucoides</i>	<i>Candida lipolytica</i>
<i>Mucor racemosus</i>	<i>Candida tropicales</i>
<i>Penicillium variable</i>	<i>Candida milis</i>
<i>Penicillium verrucosum</i>	<i>Debaromyces sp.</i>
	<i>Rhizotorula rufra</i>
	<i>Tortula histolytica</i>
	<i>Tortulopsis sp.</i>
	<i>Trichosporon cutaneum</i>

TABLO-5: Çiğ Kırmızı Etin Yüzeyinde Pigment Meydana Getiren ve Etin Rengini Değiştiren Mantarlar

Mantarların İsimleri	Meydana Getirdikleri Renkler
<i>Aspergillus niger</i>	Siyah
<i>Cladosporium herbarum</i>	Siyah
<i>Cladosporium macrocarpum</i>	Siyah
<i>Fusarium roseum</i>	Kırmızımsı
<i>Geotrichum candidum</i>	Beyaz
<i>Penicillium asperulum</i>	Yeşilimsi
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Yeşilimsi
<i>Penicillium expansum</i>	Yeşilimsi
<i>Penicillium oxalicum</i>	Yeşilimsi
<i>Trichoderma harzianum</i>	Yeşilimsi - buz
<i>Trichosporon cutaneum</i>	Turuncu
<i>Trichosporon roseum</i>	Turuncu

Etin küflenmesine ve pis kokuyu vermesine küf mantarları sebep olurlar ve bunlar 18 (% 8) türden ibarettirler (Tablo 7).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Et üzerinde miktarca en çok rastlanan küf mantarlarıdır. Onların miktarı maya mantarlarına oranla 1.8-3.0defa daha fazladır. Küf mantarlarından en çok rastlanılanlar *Aspergillus* (7 tür) ve *Penicillium* (7 tür) cinslerinin türleridir. *Mucor* cinsinden 4 tür, *Cladosporidium*, *Sporotrichum* ve *Trichoderma* cinslerinin her birinde 2 tür, diğer cinslerin her birinden ise 1 tür tespit edilmiştir.

TABLO-6: Kırmızı Çiğ Etin Tadını Değiştiren ve Yağını Parçalayan Mantarlar

Küf Mantarları	Maya Mantarları
<i>Aspergillus avantori</i>	<i>Candida guilliermondii</i>
<i>Aspergillus glaucus</i>	<i>Candida lipolytica</i>
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida tropicales</i>
<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Geotrichum candidum</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Tortula histolytica</i>
<i>Mucor miehei</i>	<i>Tortulopsis candida</i>
<i>Mucor racemosus</i>	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	
<i>Penicillium expansum</i>	
<i>Penicillium versicolor</i>	
<i>Rhizopus hegneculib</i>	
<i>Sporotrichum cornis</i>	
<i>Sporotrichum shenkii</i>	
<i>Trichoderma harzianum</i>	

TABLO-7: Çiğ Kırmızı Etin Küflenmesine ve Pis Koku Yaymasına Sebep Olan Mantarlar

<i>Alternaria kikuchiana</i>
<i>Aspergillus avantori</i>
<i>Aspergillus boydii</i>
<i>Aspergillus nidulans</i>
<i>Aspergillus niger</i>
<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Aspergillus versicolor</i>
<i>Aspergillus ustulatus</i>
<i>Mucor mucedo</i>
<i>Mucor racemosus</i>
<i>Mucor miehei</i>
<i>Penicillium asperulum</i>
<i>Penicillium chrysogenum</i>
<i>Penicillium expansum</i>
<i>Penicillium furcalosum</i>
<i>Penicillium oxalicum</i>
<i>Thamnidium chaetochloides</i>
<i>Thamnidium elegans</i>

Et üzerinde üreme karakterlerine göre mantarlar 4 gruba ayrılırlar:

1- Sümküsü görünüm meydana getirenler; bu özellik maya mantarlarına özgüdür.

2- Pigment meydana getirenler ve etin rengini değiştiren mantarlar.

3- Etin küflenmesini ve pis koku yaymasını sağlayan mantarlar; 2. ve 3. grubda esas olarak küf mantarları bulumır.

4- Etin tadını değiştiren ve yağları parçalayan mantarlar; bu özellik hem maya mantarlarında hem de küf mantarlarında izlenen bir özelliktir.

Et üzerinden ayırdığımız küf mantarlarından *Alternaria kikuchiana*, *Aspergillus niger*, *A. nidulans*, *A. versicolor*, *Cladosporium herbarum*, *C. macrocarpum*, *Fusarium roseum*, *F. soloni*, *Mucor racemosus*, *Penicillium crysogenum*, *P. expansum*, *Sporotrichum shenkii*, *Trichoderma viride* türlerinin insan için patojen oldukları bilin-

mektedir (10-15).

Maya mantarlarından ise *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. lipolytica*, *C. tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *Torula histolytica*, *Trichosporon cutaneum*, *Geotrichum candidum* türleri insanlar için patojendir (14, 16-19).

Netice olarak, et üzerinde rastlanan 44 tür mantarın 21 (% 48)'i patojen veya fırsatçı patojen, 23 (% 52)'i ise saprofit mikroorganizmalardır. Patojenlerden 13'ü küf mantarı, 8 türü ise maya mantarıdır. Çalışılan 550 et numunesinin yalnız 118 (% 21)'inden patojen veya fırsatçı patojen mantarlar izole edilmiştir.

KAYNAKLAR

- 1- Kazakov A.M.: *Microbiologiya Myasa*. Pispromizdat, Moscva, 1952. Rusca
- 2- Pitt J.I., Hocring A.D.: *Fungi and food spoilage* Academic Press. Sydney, Orlando, San Diego, New York, London, Toronto, Montreal, Tokyo 1985.
- 3- Samson R.A., Hoerstra S.E.: *Inradvetion to food-borne fungi*. Centraalbureau voor schimmelcultures, Bearn, 1981.
- 4- Alkış N.: *Gıda Mikrobiyolojisi*. Yeni İnci Matbaacılık Sanayi. Ankara 1982.
- 5- Brown M.H.: *Meat Mikrobiology*. Appl Scinen Publshers LTD london England 1987.
- 6- Frazier W.C., Wrethhoff D.C.: *Food Microbiology*. Mc Grow-hill book company. New York, Tokyo, Torondo and etc. 1988.
- 7- Akın A., Kaya B.: *Ankarada Satılan Etlerin Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü, Kıymaların Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü*. Doğa T.Ü.Tıp ve Ecz.Derg. 12(3). S.183-189. 1988.
- 8- Çakır İ., Genberov H.: *Çiğ Etlerde rastlanan saprofit ve patojen bakteriler* (In press).
- 9- Ayres J.C.: *The relationshp of organisms of the genus Pseudomonas to the spoilage of meat poultry and eggs*. J.Appl. Bacteriol v.23 P 471-486. 1960.
- 10- Austwick P.K.: *Fusarium infections in man and animals*. In M.Mass and Z.E.Smith (ed) *The applied mycolog of Fusarium*. Cambridge University Press. London P.129-140. 1984.
- 11- Fatter B.F.: *Human cutaneous sporotrichosis due to Sporotrichum schenckii: Techniqe for demonstration of organisms in tissues*. Arch. Pathol. V: 71 P-416-419. 1961.
- 12- Hall J.C., Brewer Y.H., Reed W.H. et al.: *Cutaneous mucormycosis in a heart transplant patient*. Cutis. V 42 P. 183-186.1988.
- 13- Hall W.J.: *Penicillium endocarditis following open heart surgery and prosthetic valve Insertion* Am. Heart. Jor v.87.p.501-506. 1974.
- 14- Hansler W.Y., Hermann K.L., Isenberg H.D., Jean Shadomy H., (editors): *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology. Washington D.S. 1991.
- 15- William Burrows: *Textbook of mlerobiology*. W.B. Saunders Company Philadelphia, London, Toronto. 1973.
- 16- Pien F.D., Thompson D., Roberts. G.: *Rhodotorula septicemia: Two cases and a review of the literature* Clin Pro. V.55P. 258-260. 1980.
- 17- Pore R.S., Chen J.: *Meningitis caused by Rhodotorula-Sabouraudio*, V-14. P.331-335. 1976.
- 18- Kazak P.P. et al.: *Currently available methods for home mold surveys I.Des' cription of techniques*. Am. allergy. v.45. p.85. 1980.
- 19- Paper K.B., Fenell D.I.: *The genus Aspergillus*. Robert E.Kruger publishing company. Washington, New York, 1977.

ILAÇ RUHSATLANDIRMA BAŞVURULARI İÇİN STABİLİTE REHBERİ TASLAĞI

Murat ŞUMNU *

Tezer BURAT **

Tamer BAYKARA ***

İlaç ruhsat başvurularında değerlendirilmesi gereken en önemli hususların birisi ilaç için yapılması gereken stabilite çalışmalarıdır. Bu çalışmaların bilimsel, düzenli, anlamlı ve amaca uygun yapılmasını sağlamak için, gelişmiş ülkelerde stabilite çalışmalarına ait detayları belirleyen rehberler çıkartılmıştır. Ülkeler arasındaki uygulamaların birbirine uyumlu hale getirilmesi için ise, son olarak ABD, AT ve Japonya'nın bu alanındaki uyumlaştırma çalışmaları sürmektedir.

Ülkemizle, stabilite konusunda bazı belirsizliklerin bulunması, değerlendirmelerde sorunlar getirmektedir. Bu nedenle 1992-1993 döneminde ilaç ruhsatlandırma önü (teknolojik) komisyonu çalışmalarının sırasında ABD, AT ve Japonya gibi ülkelerle aynı iklimi bölgesinde (Zon II) bulunan ülkemiz için, bu ülkeler tarafından benimsenen taslak esas alınmak suretiyle bir rehber hazırlanmasının yararlı olacağı düşünülmüş ve bu taslak hazırlanmıştır. Eylül 1993'te Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğüne sunulan bu çalışmanın ülkemizle ilaç üreticileri için yol gösterici olması açısından yararlı olacağı ve önemli bir boşluğu dolduracağı düşünülmektedir.

STABİLİTE REHBERİ TASLAĞI

1.- GİRİŞ

İlaçlar için kalite güvenliği sağlama sisteminde önemli konulardan birisi, ilaçların tıbbi raf ömrü süresince kalite, emülyet ve etkinliklerinin korunmaları yani stabil olmalarıdır. Bu da, ticari ambalajlarına uygun kapı/kapak sisteminde, uygun şartlar altında saklamak ve istenilen raf ömrü

süresince belirli aralıklarla gerekli kontrolleri yapılmak suretiyle yürütülen stabilite çalışmaları ile garantil edilebilir.

İlaç ruhsatlandırma başvurularında bütün bu çalışmaların yapılarak sunulması gereklidir.

2.- KAPSAM

Bu rehber biyoteknolojik ürünler, biyolojik ürünler ve klinik çalışmalarda kullanılacak ürünler dışında diğer ilaç etken maddeleri ve ilaçların ruhsatlandırma için yapılacak stabilite çalışmalarını kapsar. Kısaltılmış başvurular ve ürünle ilgili ilişkilikler (ürünimal yöntemi, formül değişikliği gibi) için bu rehberle hareket edilir.

3.- TANIMLAR

3.1-İlaç Etken Maddesi (Aktif Madde):

İlaç (Bitmiş ürün) formülasyonunda yer alan farmakolojik olarak etkili madde.

3.2-İlaç (Bitmiş ürün; doza formu):

İlaç etken maddesi veya maddeleri içeren, genellikle yardımcı maddeler ile formüle edilmiş, piyasaya çıkacağı ana ambalaj içindeki bitmiş doza formunu (örn.tablet, kapsül, pomad vb.)

3.3-Yardımcı Madde (ekspiyant):

Bitmiş üründe, ilaç etken madde veya maddelerini dışında yer alan diğer maddeler.

3.4-Seri:

Aynı imalat sürecinde aynı işlemlerden geçirilerek ve belirlenen limitler içinde aynı özellik ve kalitede üretilen ilaç.

* Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara/TÜRKİYE

** Refik Saydanı Hıfızissılla Merkez Başkanlığı, İlaç ve Kosmetikler Araştırma Müdürlüğü, Ankara/TÜRKİYE

*** Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara/TÜRKİYE

3.5-Stabilite:

İlaç etken maddesi ve bitmiş ürünün, tanımı, miktar tayini, kalite ve saflık açısından belirlenmiş spesifikasyonlarını muhafaza etme kapasitesi.

3.6-Örnek Alma:

Stabilite çalışmaları için, belirli bir örnek alma planına göre seriyi temsil edecek örnek alma işlemi. Bu işlemde her birimin örnek seçilme olasılığının aynı olması için tesadüfi sayılar tablosu kullanılmaktadır.

3.7-Stabilite Belirleyici Miktar Tayini Yöntemi:

İlacın içinde bulunan ilaç etken maddesinin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik veya biyolojik özellikleri göz önüne alınarak geliştirilen, ilaç etken maddesinin bozunma ürünlerinden ayırarak doğru olarak tayin edilmesini sağlayan, formülasyonda bulunan diğer yardımcı maddelerin, analiz sonuçlarını etkilemediği miktar tayini yöntemi (Stabilite belirleyici yöntem imalatçı tarafından valide edilmeli ve stabilite protokolunda validasyonla ilgili detaylı bilgi bulunmalıdır).

3.8-Stabilite Protokolü:

İlacın ve ilaç etken maddesinin stabilitesini tayin etmek ve son kullanma tarihini belirlemek için örnek alımı, yöntem ve verilerin analizi için uygulanacak istatistiksel verilerin yer aldığı detaylı plan (son kullanma tarihi uzatma başvurularında da bu protokole uyulması gereklidir).

3.9-Uzun Süreli Stabilite Testi :

Öngörülen raf ömrü süresini kapsayacak şekilde, ilaç etken maddesinin ve ilacın fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin değerlendirildiği stabilite çalışmaları.

3.10-Hızlandırılmış Stabilite Testi :

İlaç etken maddesi ve ilacın kimyasal ve fiziksel bozunmasını hızlandırmak amacıyla normal saklama koşullarına göre zorlanmış koşullarda yapılan stabilite çalışmalarıdır. Bu testin amacı kinetik parametrelerin belirlenmesi ve deneyel olarak son kullanma tarihinin tesbit edilmesidir.

3.11-Son Kullanma Tarihi :

İlaç etken maddesi ve ilacın, belirlenen kullanım süresini imal tarihi üzerine eklenmesi ile bulunan, iç ve dış ambalaj etiketleri üzerinde bildirilen tarihtir. Son kullanma tarihi ay ve yıl olarak bildirilmiş ise söz konusu ayın son gününe kadar ürünün spesifikasyonlarını koruduğu kabul edilir.

3.12-Kullanma Süresi (Raf Ömrü) :

Önerilen kap/kapak sistemi içinde, etiketinde bildirilen saklama koşullarında saklandığında ilacın kabul edilen spesifikasyonlar içinde kaldığı süredir.

3.13-Serbest Bırakılma Spesifikasyonları :

Üretim sonunda, ilacın, serbest bırakılması için istenilen fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik test kriterleri.

3.14-Raf Ömrü Spesifikasyonları :

İlacın raf ömrü süresince ıyımak zorunda olduğu fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik test kriterleri.

3.15-Ön Stabilite Verileri :

Belirtilen saklama koşullarında ve ilacın önerilen kap/kapak sistemi içinde yapılarak, öngörülen kullanım süresinin uygunluğunu destekleyen stabilite çalışmalarına ait ön veriler.

3.16-Destekleyici Stabilite Verileri :

Ön stabilite verilerini dışında, sentetik yolla üretilen ilk ilaç etken maddesi serileri, küçük miktarda araştırma amacıyla üretilen seriler, benzer formülasyonlar, pazarlama için düşünülen kap/kapak sistemi dışındaki diğer ambalaj malzemeleri içinekl ürünlerde yapılan stabilite çalışmaları destekleyici stabilite verileridir.

3.17-Kabul Edilebilir Saklama Koşulları Limitleri:

Sıcaklık için; 3 aylık süre içindeki ağırlıklı ortalamadan sapma değeri $\pm 2^{\circ}\text{C}$ olmalıdır.

Bağıl Nem için; 3 aylık süre içindeki ağırlıklı ortalamadan sapma değeri $\pm \% 5$ olmalıdır.

4.- İLAÇ ETKEN MADDESİ

4.1-Genel:

Stabilite değerlendirmesinde ilaç etken maddesinin stabilitesi ile ilgili bilgiler çok önemli yer tutar. Bunun için ilaç etken maddesi, sıcaklık, nem, ışık (örn. 190–780 nm. UV veya görünür saha) ve oksijen etkisi, düşük ve yüksek pH aralıklarında solüsyon veya süspanسیون şeklindeki durumu gibi değişik zorlanmış test parametreleri esas alınarak stabilite yönünden incelenmelidir.

İlaç etken maddesinin stabilitesi hakkında tüm istenilen bilgiler, literatürde yer alıyorsa, pratik çalışma sonuçları yerine literatür verileri sunulabilir.

4.2-Seri Seçimi:

Hızlandırılmış ve uzun süreli stabilite testleri en az üç seri üzerinde yapılmalıdır.

Ruhsat başvurusu sırasında uzun süreli testler için en az iki seriden 12 aylık süreyi kapsayacak şekilde stabilite verileri bildirilmelidir. Diğer seri için sonuçlar daha sonra bilirebilir.

Bu serilerin imalat yöntemi, seri içerisinde uygulanacak imalat yöntemi ile aynı olmalıdır. Stabilite testleri için hazırlanan serilerin spesifikasyonları, pazarlanacak ürün için belirlenen spesifikasyonlara uymalıdır.

4.3-Test Metotları ve Kriterleri :

Saklama sırasında değişme olasılığı bulunan ve ürünün kalite, emniyet ve etkinliğini değiştirebilen tüm özelliklerin incelenmesi gerekir. Bunun için valide edilmiş stabilite belirleyici yöntemler kullanılmalıdır. Deney sayıları validasyon çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre belirlenir.

4.4-Spesifikasyon:

Kabul limitleri, elde edilen bütün stabilite ile ilgili bilgilere dayanılarak oluşturulmalıdır. Pre-klinik çalışmalar dikkate alınarak degradasyon ürünlerine ait limitler belirlenmelidir.

4.5-Test İçin Depolama Koşulları:

Belirlenecek test koşulları ve süresi, ilaç etken maddesinin, depolama, taşıma ve kullanımı ile ilgili koşulları yansıtacak nitelikte olmalıdır. Uzun süreli stabilite testleri; $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta

ve % 60 RH ± 5 bağıl nemde 12 ay süre ile uygulanmalıdır. Ancak doğruluğu ve uygunluğu kanıtlandığı takdirde, diğer depolama koşullarında da çalışma yapılabilir. Özellikle sıcaklığa duyarlı maddeler, uzun süreli stabilite testlerinin esasını oluşturacak düşük sıcaklıklarda incelenebilir.

Hızlandırılmış stabilite testleri, normal depolama sıcaklığının en az 15°C üstünde ve bu sıcaklık için uygun bağıl nemde (altı aylık bir süre için) yapılmalıdır.

TABLO-1: İlaç Etken Maddesi İçin Depolama Test Koşulları

	Şartlar		Süre
	Sıcaklık/bağıl nem		
Uzun süreli testler	$25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}/\text{min.}$	% 60 RH ± 5	12 ay
Hızlandırılmış testler	$40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}/\text{min.}$	% 75 RH ± 5	6 ay

Hızlandırılmış stabilite testlerinin yapıldığı koşullarda ilaç etken maddesinde önemli bir değişme söz konusu ise, ara şartlarda (örn. $30^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık ve % 60 ± 5 RH dan az olmayan bağıl nem) altı aylık bir süre için testler yapılabilir.

Uzun süreli test çalışmalarına ait 12 aydan sonraki veriler daha sonra sunulabilir.

4.6-Test Sıklığı :

Uzun süreli stabilite testleri için, ilk yıl her üç ayda bir ve ikinci yıl için altı ayda bir, farklı eden yıllarda da yılda bir kez olmak üzere testler tekrar edilir.

Hızlandırılmış stabilite testlerinde test aralıkları, uzun süreli stabilite testlerini yansıtacak şekilde olmalıdır.

4.7-Ambalajlama ve Kaplar:

Stabilite testleri gerçek ambalajında veya bununı temsil edecek bir ambalaj içinde yapılmalıdır.

4.8-Değerlendirme:

Stabilite testlerinde elde edilen bilgiler sistemli bir şekilde değerlendirilmelidir. Bu değerlendirme gerekli fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik test kriterlerini kapsamalıdır. Etken

madde miktarı ve degradasyon ürünlerinin miktarları gibi kriterler açısından gerek duyulduğunda regresyon analizi gibi istatistiksel yöntemler uygulanmalıdır.

4.9- Etiketleme:

Etken maddenin stabilite özellikleri ile etiket bilgileri arasında doğrudan bir bağlantı olmalıdır. Etken maddenin özelliğine göre etikette yer alması gerekli saklama ile ilgili bilgiler aşağıda gösterilmiştir.

1. 30°C'yi geçmeyen sıcaklıkta saklayınız.
2. 25°C'yi geçmeyen sıcaklıkta saklayınız.
3. 2°C-8°C'de buzdolabında, donmadan saklayınız.
4. 8°C'nin altında buzdolabında saklayınız.
5. -5°C'de dondurarak saklayınız.
6. -18°C'nin altında derin dondurucuda saklayınız.

Bunlara ilave olarak preparatın özelliğine göre gerekli olan "Işıktan Koruyunuz", "Kuru Yerde Saklayınız" gibi ibareler etikette yer almaktadır.

5.- İLAÇ (BİTİMİŞ ÜRÜN):

5.1-GENEL:

Bitmiş ürün üzerinde yapılacak stabilite çalışmaları, esas olarak ilaç etken maddesinin özellikleri ve ilaç etken maddesi için uygulanan stabilite çalışmaları sonuçlarına dayanmalıdır.

5.2-SERİLERİN SEÇİMİ:

Hızlandırılmış ve uzun süreli stabilite çalışmaları, ruhsatlandırılması istenilen formülasyon ile yapılmış en az 3 seri üzerinde yürütülmelidir. Uzun süreli testler için başvuru sırasında en az 2 seri üzerinde yapılan çalışmalar 12 ayı tamamlamış olmalıdır. Diğer seri için sonuçlar bilgilere bakılabilir. Bu serilerin imalat yöntemi, seri üretime geçildiğinde kullanılacak imalat yöntemi ile uygunluk göstermelidir. Stabilite testi için hazırlanan serilerin kalitesi ve analitik saflığı pazarlanacak ürün için belirlenen spesifikasyonlara uymalıdır.

5.3-TEST METODLARI VE TEST KRİTERLERİ

Depolama sırasında değişme olasılığı bulunan ve ürünün kalitesi ve etkinliği ve etkinliğini değiştirebilen tüm özelliklerinin incelenmesi gerekir.

Analitik test metodları tümüyle valide edilmeli ve miktar tayinleri stabilite belirleyici olmalıdır. Deneysel sayıları validasyon sonuçlarına göre belirlenmelidir.

Yapılacak testler kimyasal stabilite testleri yanında prezervatif kaybı, fiziksel özellikler ve karakteristikler ile organoleptik özellikleri de kapsamalıdır.

5.4 SPESİFİKASYONLAR :

Kabul limitleri, mümkün olan bütün stabilite bilgileri doğrultusunda belirlenmeli ve aynı zamanda serbest bırakılış limitleri ile ilişkili olmalıdır.

Stabilite değerlendirilmesi sonucu ve depolama sırasında saptanan değişiklikler göz önünde bulundurulurken raf ömrü spesifikasyonlarının serbest bırakılış spesifikasyonlarından farklı olması kabul edilebilir.

5.5-TEST İÇİN DEPOLAMA KOŞULLARI:

Yeni ilaç başvurusu için en az 12 aylık uzun süreli stabilite test sonuçları ve mümkün ise destekleyici bilgi sunulmalıdır. Ayrıca ürün için düşünülen raf ömrü süresince stabilite testlerine devam edileceğinin garantisi verilmelidir. Aksiyle bir bilgi veya dökümanı yok ise, sorumluluk üretici firmaya ait olmak üzere daha evvel ruhsatlandırılması yapılmış bir ürün ile farmasötik eşdeğer ilaçlarda hızlandırılmış test sonuçlarına dayanarak en uzun 24 aya kadar geçici raf ömrü tanımlanabilir. Stabilite çalışmalarında ilaçlar için genel şartlar Tablo 2'de verilmiştir.

TABLO-2: İlaç İçin Depolama Test Koşulları

	Şartlar		Süre
	Sıcaklık/bağıl nem		
Uzun süreli testler	25°C ± 2°C/min. \pm 60 RH ± 5		12 ay
Hızlandırılmış testler	40°C ± 2°C/min. \pm 75 RH ± 5		6 ay

Tabloda verilen şartlar genel olup ürünün özelliklerine göre değiştirilebilir. 25°C'de saklanması problemi olan ısıya hassas ilaçlar uygun ilaha değişik sıcaklıklarda saklanır. Saklama sıcaklığı 25°C'den farklı olan ürünler için hızlandırılmış stabilite testlerinde çalışma sıcaklığı, + 15°C ve buna uygun bağıl nemdir. Yarı geçirgen ambalajlar içindeki katı dozaj şekilleri için tabloda verilen bağıl nem değerlerinin üzerinde çalışılması uygun olur.

Yarı geçirgen ambalajlar içinde bulunan çözelti tipli preparatlarda bağıl nem oranının % 60 altında olması uygundur. Ancak geçirgen olmayan ambalajlar içindeki çözelti tipli ilaçlarda bağıl nem şartı aranmaz.

Ürün, supposituar veya göz pomadı gibi 37°C'de erime özelliği gösteriyor ise veya hızlandırılmış stabilite testlerinde önemli bir değişiklik saptanmışsa, testler bir ara koşulda (örn: 30°C ± 2°C/min % 60 RH ± 5).

5.6-TEST SIKLIĞI:

Uzun süreli stabilite testleri için, ilk yıl her üç ayda bir ve ikinci yıl için altı ayda bir, takip eden yıllarda da yılda bir kez olmak üzere testler tekrar edilir.

Hızlandırılmış stabilite testlerinde test aralıkları, uzun süreli stabilite testlerini yansıtabacak şekilde olmalıdır.

5.7-AMBALAJ MALZEMESİ :

Stabilite testleri ilacın piyasaya verileceği son ambalajı içinde yapılır. Değişik ambalaj şekilleri, ambalaj malzemeleri ve ambalajlanmamış ürünler üzerinde yürütülen çalışmalar destekleyici stabilite bilgileri olarak kabul edilir. Eğer eşantiyon numuneleri, ilacın piyasaya verileceği ambalajlardan farklı bir ambalajda hazırlanacak ise bu ambalaj şekli ile de stabilite çalışmaları yapılmalıdır. Aynı ürünü farklı büyüklükte ambalajlar içinde piyasaya verilmesi durumunda stabilite testleri en büyük ve en küçük ambalajda yapılmalıdır.

5.8-DEĞERLENDİRME

Dozaj formu özelliklerine uygun testler (ÖRN: Oral katı formlar için çözüme hızı testi)

dahil olmak üzere gerekli fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik testleri kapsayacak şekilde yürütülen stabilite çalışmaları ile ilgili bilgiler bütün detayları ve yorumları ile birlikte verilmelidir. Kimyasal stabilite testleri dışındaki diğer stabilite testleri ilozaj formlarına özel olmak üzere Tablo 3 ve 4'te gösterilmiştir.

TABLO-3: Kimyasal Testler Yanında Katı Dozaj Şekilleri İçin İlacın Özelliğine Göre Uygulanması Gerekli Stabilite Testleri

TESTLER	TABLET	KAPSÜL	ORAL TOZ	SUPPOSITUAR
ÜRÜNÜLÜŞ	+	+	+	+
RENK	+	-	+	-
KOKU	+	-	+	-
NEF	+	+	+	-
BEYTLİK	+	-	-	-
AŞINABİLİRLİK	+	-	-	-
ÇİZİMME	+	+	(1a)	+
pH	-	(1b)	(1a)	-
ŞEKİL	-	+	-	-
KIRILGANLIK	-	+	-	-
ÇIKKALTI/BİLEŞİMLİK	-	(1b)	-	-
TUHOŞAMA ARALIĞI	-	-	-	+

1a) Çözüm ile karıştırılan ürünler

1b) Yumuşak jelatin kapsüller

Stabilite çalışmaları sonuçları, uygun İstatiksel yaklaşım (örn: regresyon analizleri) ile değerlendirilerek yorumlanmalıdır. Kullanma süresi ekte edilen regresyon doğrusunun 0.05 düzeyindeki tek yönlü alt güven limitine göre tayin edilmelidir. Stabilite değerlendirilmesinde sadece etken madde miktar tayini değil parçalanma ürünlerindeki düzeyi de göz önünde bulundurulmalıdır. Stabilite çalışmaları sırasında bazı seriler için stabilite yönünden önemli ölçüde farklı sonuçlar alınması durumunda bununla ilgili açıklamalar verilmelidir.

Çözücü ile karıştırılarak kullanılan preparatlarda, karışımın stabilitesini belirlemek üzere ayrıca stabilite çalışması yapılmalıdır.

5.9-ETİKET BİLDİRİMLERİ :

İlacın gösterilen stabilite özellikleri ile etiket bildirimleri arasında doğrudan bir bağlantı olmalıdır. İlacın özelliğine göre etlette yer alması gerekli saklama ile ilgili bilgiler aşağıda gösterilmiştir.

1. 25°C'yi geçmeyen sıcaklıkta saklayınız.

2. 2°C-8°C'de buzdolabında donmadan saklayınız.
3. 8°C'nin altında buzdolabında saklayınız.
4. -5°C'de dondurarak saklayınız.
5. -18°C'nin altında derin dondurucuda saklayınız.

Bunlara ilave olarak preparatın özelliğine göre gerekli olan "Işıktan Koruyunuz", Kuru Yerde Saklayınız" gibi ibareler etikette yer almamalıdır.

TABLO -4: Kimyasal Testler Yanında Sıvı ve Yarı Katı Dozaj Şekilleri İçin İlacın Özelliğine Göre Uygulanması Gerekli Stabilitè Testleri

TESTLER	EMULSİYON	ORAL SOLÜSYON-SÜSPANSİYON	AEROSOL	TOPIK VE OFTALMİK	KÜÇÜK HACİMLİ PARENTERALLER	BÜYÜK HACİMLİ PARENTERALLER
CÜRÜNÜŞ	+	+	+	+	+	+
RENK	+	+	+	+	+	+
KOKU	+	+	-	+	+	-
BERRAKLIK	-	+	+	+	+	+
NEM	-	-	-	-	+(a)	-
ÇÜZÜNME	-	+	-	-	-	-
pH	+	+	-	+	+	+
VİSKOZİTE	+	-	-	+	-	-
TEKRAR	-	+	-	+	+(a)	-
DAĞILABİLİRLİK						
FAZ AYRIMI	+	-	-	+	-	-
AĞIRLIK KAYBI	-	-	+	+	-	+(b)
HOMOJENİTE	-	-	-	+	-	-
PARTİKÜLER MADDE	-	-	+	+	+	+
PART.BÜYÜKLÜĞÜ						
EKSTRE OLABİLEN MAD.-	-	-	-	-	+(b)	+(b)
PIROJENİTE	-	-	-	-	+	+
STERİLİTE,	+	+	+	+	+	+
MİKROBİYAL LİMİT						
PREZERVATİF	+	+	-	+	+	+
KAP/KAPAK UYUMU	-	-	-	-	+	+
DİĞER ÜNERİLER	c,d	d	c	f	d	d

(a) Çözücü ile karıştırılan ilaçlar

(b) Plastik ambalaj içindeki ilaçlar

(c) Isıtma/soğutma siklusu 4°C - 45 °C

(d) Yan veya başaşağı saklama

(e) Ölçülü doz sayısı, her basıqtaki doz, itici gaz basıncı, valf aşınması, püskürtme modeli.

(f) 3.5 gramdan fazla olan ilaçlarda örnek kabın üst, orta ve alt kısmından alınır.

KAYNAKLAR

- 1- Harmonisation of Stability Testing Requirements, The Regulatory Affairs Journal, August, 1992.
- 2- Guideline for Submitting Documentation for the Stability of Human Drugs and Biologics (February 1987) Center for Drugs and Biologics, FDA
- 3- Von den Akker C.R., Comparison between Guidelines on Stability Tests for Active Substances and Finished Products Issued by the European Community and USA, Drugs made in Germany, 35, No. 2, 1992.
- 4- Grimm, W., Storage Condition for Stability Testing, Drugs made in German, 28/29, 1-12. 1985/1986.
- 5- Gamien, M.J., Stability Tests on Active Drugs and Formulated Products, Pharm. Ind., 53, Nr. 10, 1991.
- 6- Carstensen, T.J., Drug Stability, Marcel Dekker Inc., N.Y., 1990
- 7- Grimm, W., Stability Testing of Drug Products, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1987.

