

T.C.
SAÇLIK BAKANLIĞI
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi
Başkanlığı

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Cilt: 50–No:1
(1993)

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

TÜRK HİJ.DEN.BİYOL.DERG.

Vol: 50–No:1
(1993)

Aile Planlaması ve Ana Çocuk Sağlığı Genel Müdürlüğü
Matbaası–ANKARA

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

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

Yayın Yönetmeni (Editör): Dr.Erkan ÖZCENGİZ

YAYIN KURULU (Editorial Board)

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

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

**ISSUED BY
PUBLIE PAR
HERAUSGEGEBEN VOM**

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

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

YAZIM KURALLARI

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

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

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

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

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

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

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

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

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

6— Kısa bildirimler: Üç sayfayı aşmayan, önemli sonuçları zaman kaybetmeden yayınlayan orjinal yazılardır. Kısa bildirimlerde özet yazılmaz.

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

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

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

10— De. gide yayınlanan yazıların her türlü sorumluluğu yazarlarına aittir.

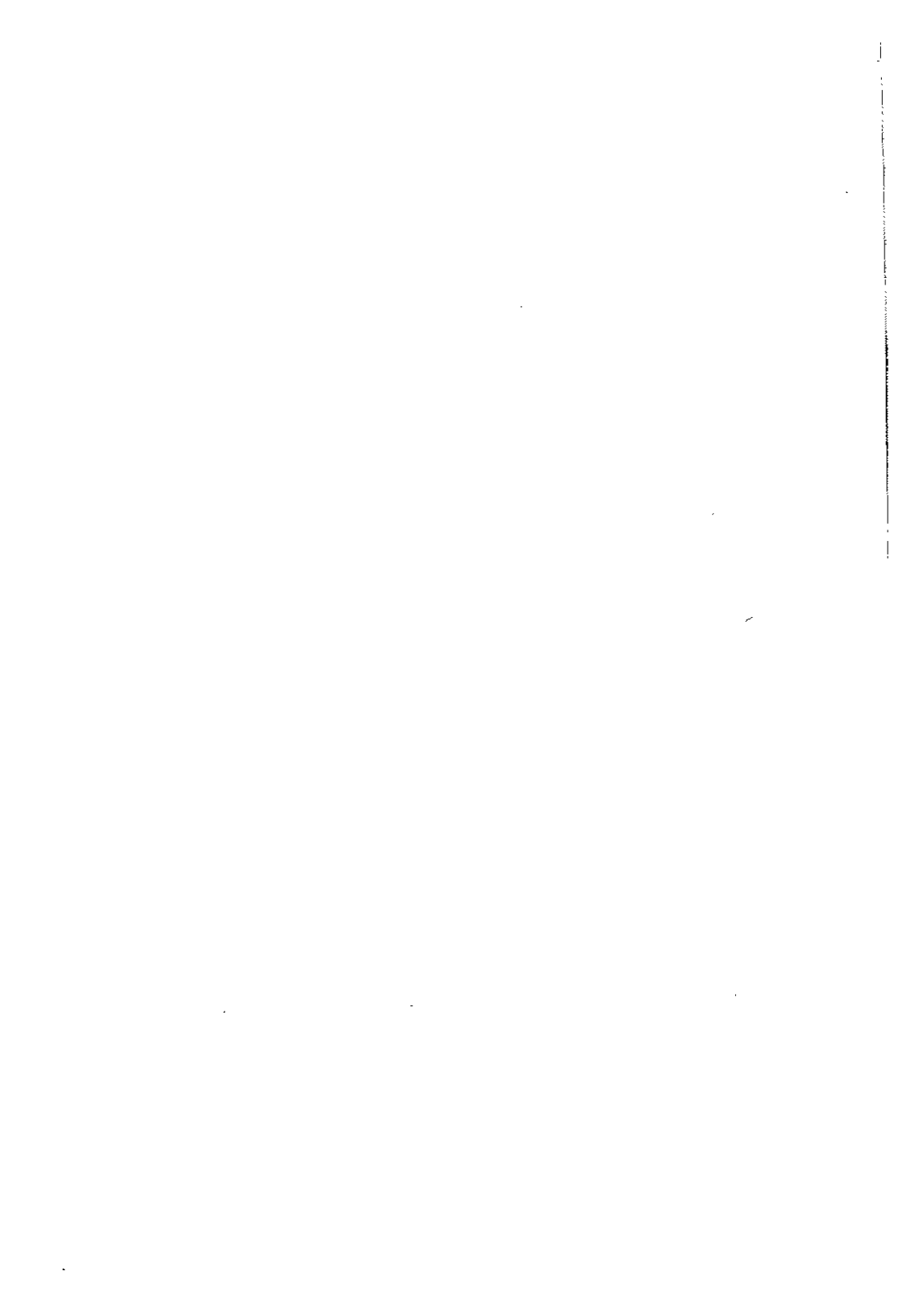
11— Yazılar yayın kurulunun uygun göreceği kişilerce denetlenir. Denetleyen ve denetlenen yazı sahiplerinin isimleri gizli tutulur.

12— Yayınlanmayan yazılar geri gönderilmez.

Yazılar aşağıdaki adrese gönderilmelidir.

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı
Türk Hijyen Deneysel Biyoloji Dergisi
Yayın Dokümantasyon Müdürlüğü
ANKARA

YAYIN KURULU



İÇİNDEKİLER

SAYFA

- 1- Zuhâl DEMİRÖRS, Ayten EGEMEN, Orhan KÖKSAL
Türkiye'de Üretilen Bazı Sıvı Yağların Bileşiminde Bulunan E Vitamini Miktarı
ve Bekleme Sonucu Oluşan Kayıpların Araştırılması 1
- 2- Sultan HALEPLİLER, Cahit BABUR
Gastroenteritli Çocuk ve Erişkin Yaş Gruplarında Escherichia Coli 0157:H7
Serotipi (EHEC) Araştırılması 9
- 3- Güler UNLU, Pınar BULUT
Sürekli Etkili Teofilin Preparatlarının İn Vitro Salın Kinetikleri 17
- 4- Levent AKIN, M.Ali BİLİKER, Ayten EGEMEN
Türkiye'de Neonatal Tetanoz Sorunu 25
- 5- Çiğdem ARTUK, Nural AYDINURAZ, Nezihâ YILMAZ
Sağlık Bakanlığı AIDS Araştırma ve Doğrulama Merkezinde 1987-1992 Döne-
minde Yapılan WB Çalışmaları ve Undeterminate WB Vakalarının Takipleri 33
- 6- M.Ali AKDENİZLİ, Mehmet KIYAN, A.Tevfik CENGİZ
Dekübitis Yaralarından Üretilen Mikroorganizmalar ve Antibiyotiklere
Duyarlılıkları 41
- 7- Muzaffer GÖZ, Mehmet KIYAN, A.Tevfik CENGİZ, Fatih AYTEKİN
Ameliyat Sonrası Kesi Bölgesinden Üretilen Bakteriler ve Bunların Antibiyotik-
lere Duyarlılığı 51
- 8- Ulvi Fehâ FİDANCI, Hatice AYHAN
Mikrodalga Fırınlar 61
- 9- Cem ÖZYURT, Rana KUNT
Parenteral Üretimde Kullanılan Paslanmaz Çelik Malzemede Ki Son İşlem
(FINISHING) Özellikleri 69
- 10- H.Serdar ÖZTÜRK, İsmail Hakkı GÖKHUN
Sığır Dalak Asit Fosfatının Kısmen Saflaştırılması, Fizikokimyasal ve Kinetik
Özelliklerinin Araştırılması 79

CONTENTS

- 1- Zehal DEMİRÖRS, Ayten EGEMEN, Orhan KÖKSAL
Determination Of Vitamin E Content Of Some Vegetable Oils Produced In
Turkey Assessing The Loss During Storage 1
- 2- Sultan HALEPLİLER, Cahit BABÜR
Research Of Escherichia Coli 0157:H7 Serotype On Children And Adult
Gastroenterisit Patients From Different Ages 9
- 3- Gülen UNLU, Pınar BULUT
In Vitro Drug Release Kinetics of Sustained Release Theophylline
Preparations 17
- 4- Levent AKIN, M.Ali Biliker, Ayten EGEMEN
Neonatal Tetanus In Turkey 25
- 5- Çiğdem ARTUK, Nural AYDINURAZ, Neziha YILMAZ
Western Blot (WB) Studies Of Undeterminate Cases And Consecutive Testings,
In The Period Of 1987–1992 At Ministry Of Health AIDS Research And
Confirmation Center 34
- 6- M.Ali AKDENİZLİ, Mehmet KIYAN, A.Tevfik CENGİZ
Microorganisms Growth On Decubitus Wounds And Antibiotic
Susceptibility 41
- 7- Muzaffer GÖZ, Mehmet KIYAN, A.Tevfik CENGİZ, Fatih AYTEKİN
"Bacteria Which Has Been Isolated From Postoperative Wound Area And
Their Susceptibility To Antibiotics" 52
- 8- Ulvi Reha FIDANCI, Hatice AYHAN
Microwave Ovens 61
- 9- Cem ÖZYURT, Rana KUNT
The Characteristics Of Finishing On Stainless Steel Used In
Parenteral Processes 69
- 10- H.Serdar ÖZTÜRK, İsmail Hakkı GÜKHUN
Partial Purification And Investigation Of Physicochemical And Kinetic
Properties Of Bovine Spleen Acid Phosphatase 79

TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN BAZI SIVI YAĞLARIN BİLEŞİMİNDE BULUNAN E VİTAMİNİ MİKTARI VE BEKLEME SONUCU OLUŞAN KAYIPLARIN ARAŞTIRILMASI

Zuhal DEMİRÖRS*

Ayten EGEMEN**

Orhan KÖKSAL*

ÖZET

Bu çalışmanın amacı bekletilmeden önce ve sonra zeytinyağı ve ayçiçek yağındaki E vitamini ve poliansatüre yağ asitleri oranını saptamaktır. Çalışmada piyasada satılan 1990 üretim tarihli sıvı yağlardan rastgele örnekleme ile seçilen 15 zeytinyağı ve 15 ayçiçek yağı numunesi alınarak bunların içeriğinde bulunan E vitamini miktarı iki ay bekletilmeden önce ve sonra ölçülmüştür. Zeytinyağı ve ayçiçek yağında analizler zaman bakımından birbirine paralel olarak yapılmıştır. Bekletilmeden önce zeytinyağında ortalama E vitamini miktarı 20.4 mg/kg ayçiçek yağında 47.1 mg/kg bulunmuştur. İki ay bekletmeden sonra ise bu miktarlar zeytinyağında 15.1 mg/kg ayçiçek yağında 33.5 mg/kg olup, aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Bekletilmeden önce ve sonra zeytinyağında poliansatüre yağ asidi oranı % 10, ayçiçek yağında % 63 olup E vitamininin poliansatüre yağ asitlerine oranı zeytinyağında 2.4, ayçiçek yağında 0.75 olarak saptanmıştır. Oksitlenme açısından önemli olan bu durum nedeniyle ayçiçek yağının zeytinyağına oranla fazla oksitlenmesini önlemek için zeytinyağının içerdiği E vitamini miktarından yaklaşık üç kat daha fazla E vitamini içermesi gerekmektedir.

DETERMINATION OF VITAMIN E CONTENT OF SOME VEGETABLE OILS PRODUCED IN TURKEY ASSESSING THE LOSS DURING STORAGE

SUMMARY

This study was carried out to determine the amount of vitamin E and polyunsaturated fatty acids of olive oil and sunflower seed oil before and after being store two months at room temperature.

* Bio.Uzm. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Gıda Güvenliği ve Beslenme Müdürlüğü ANKARA—TÜRKİYE

** Prof.Dr., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fak. Öğ. Üyesi ANKARA —TÜRKİYE

Samples of olive oil and sunflower seed oil were randomly chosen from market among the products produced in 1990, Analysis of both oils were performed at the same time. The amount of vitamin E was found to be 20.4 mg/kg. in olive oil and 47.1 mg/kg in sunflower seed oil. These amounts were 15.1 mg/kg and 33.5 mg/kg respectively after the two months of storage at room temperature. These differences were statistically significant. The percentage of polyunsaturated fatty acid of olive oil were 10 % before and after storage. These figure was 63 % for sunflower seed oil. The ratio of Vitamin E to polyunsaturated fatty acid was 2.4 for olive oil and 0.75 for sunflower seed oil. This is important for the oxidation of the oils. Sunflower seed oil has to contain three times more Vit. E than olive oil to protected from oxidation.

GİRİŞ

Sağlıklı bir beslenmede toplam enerjinin % 15–30'unun yağlardan gelmesi önerilmektedir. Yağlar sadece içerdikleri yüksek enerji değerleri ile önem taşıyan bileşikler olmayıp, aynı zamanda yağda çözünen vitaminleri (A, D, E, K) ve elzem yağ asitlerini içermeleri nedeniyle de diyetin önemli yapı taşlarıdır (1–3).

E vitamininin organizmadaki en önemli işlevi antioksidan özelliği ile ilgili olup kolay oksitlenebilen çeşitli bileşiklerin oksidasyonunu önler (3, 4). Özellikle mide, barsak ve karaciğer hücrelerinde vitamin A'nın oksidasyonunu önleyerek bu vitamenden organizmanın yararlanması sağlar ve karaciğerde depolanmasına yardım eder. Doymamış yağ asitlerinin (poliansatüre) dokulardaki oksidasyonunu da önler. Hüresel düzeyde güçlü bir antiperoksidaz ve serbest redikal temizleyicidir (5–7). Biyolojik zarları lipidlerin oksidatif yıkımına karşı korur (8–13).

Diyetlerde yer alan yağ çeşidi ve miktarı toplumun alışkanlıklarına, beslenme kültürüne, teknolojik ve ekonomik düzeyine bağlıdır. Ayrıca, diyetle önemli olan bu yağların hidroliz ve oksidasyon ile yapılarının değişerek bozulmamış olması gereklidir. Oksidasyon olayı yağların peroksit sayısını artırır ve kilogramında 10 miliequivalent oksijenden daha fazla peroksit değeri bulunan yağlar yenilemeyecek hale gelir. Isı, ışık, rutubet, bazı metaller ve bazı bakteriler oksijenli ortamda oksidasyon olayını hızlandırır. Antioksidan'lar özellikle alfa tokoferoller (E vitamini), yağlarda oksidasyonu önler. Antioksidanların eksikliği ise, çoklu doymamış yağ asitlerinden serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Niteliklerini ve lezzetlerini kaybeden ve acılaşan bu yağlar sindirim sisteminde bozucu ve toksik etki yaparlar (14).

Bu çalışma, Türkiye'de üretilen değişik marka sıvı yağlardan rastgele örneklem ile seçilen örneklerde, iki ay oda sıcaklığında bekletilmeden önce ve sonra E vitamini miktarını incelemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmaya piyasada satılan çeşitli markalardan 1990 üretim tarihli, sıvı, 15'i ayçiçek yağı, 15'i zeytinyağı olmak üzere 30 örnek alınmış, bu örneklerdeki E vitamini ve yağlardaki poliansatüre yağ asitleri oranı Emmerie-Engel yöntemi ile tayin edilmiştir (15). Verilerin istatistiksel analizi bilgisayarda yapılmıştır (16).

BULGULAR

Bu çalışmada araştırmaya alınan zeytinyağı ve ayçiçek yağı örneklerinin E vitamini miktarları Tablo 1'de verilmiştir. Zeytinyağının kilogramında saptanan en düşük E vitamini miktarı 11.2 mg. en yüksek 38.5 mg'dır. Ortalama E vitamini miktarı ise 20.4 mg'dır. Ayçiçek yağındaki en düşük miktar 28.5 en yüksek miktar 63.6 mg'dır. Ortalama E vitamininin miktarı 47.1 mg/kg olup, iki yağın ortalama E vitaminleri arasındaki fark anlamlıdır.

TABLO 1: Ayçiçek ve Zeytinyağı Örneklerinin E Vitamini Miktarları

Sıvı Yağ	N	Sınırlar	E Vit. (mg/kg)		Önemlilik
			\bar{X}	S \bar{X}	
Zeytinyağı	15	11.2-38.5	20.4	2.10	
Ayçiçek yağı	15	28.5-63.6	47.1	2.61	P < 0.05

Bu yağların iki ay oda sıcaklığında bekletilmesinden sonra zeytinyağında en düşük E vitamini miktarı 8.9 mg/kg, en yüksek E vitamini miktarı 30.1 mg/kg ortalama E vitamini miktarı 15.1 mg/kg olarak bulunmuştur. Ayçiçeği yağında en düşük E vitamini 19.6 mg/kg, en yüksek 48.5 mg/kg olup ortalama E vitamini miktarı 33.5 mg/kg'dır. İki yağın E vitaminleri miktarları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (Tablo 2).

TABLO 2- Oda Sıcaklığında Bekletilmiş Ayçiçek ve Zeytinyağı Örneklerinin E Vitamini Miktarı

Sıvı Yağ	N	Sınırlar	E Vitamini mg/kg		Önemlilik
			\bar{X}	S \bar{X}	
Zeytinyağı	15	8.9-30.1	15.1	1.02	
Ayçiçek yağı	15	19.6-48.5	33.5	2.25	P < 0.05

Zeytinyağı ve ayçiçek yağında bekletilmeden önce ve sonraki E vitamini miktarları karşılaştırıldığında (Tablo 3) zeytinyağında bu sürede 5.3 mg/kg ayçiçek yağında 13.5 mg/kg E vitamini kaybı olduğu, E vitamini kaybı açısından iki yağ arasındaki farkın önemli olduğu görülmüştür.

TABLO 3- Bekletilmeden Önce ve Sonra Zeytinyağı ve Ayçiçek Yağında Ortalama E Vitamini Değişimi

Sıvı Yağ	E Vitamini mg/kg			Önemlilik
	Önce	Sonra	Fark	
Zeytinyağı n= 15	20.4	15.1	5.3	P 0.05
Ayçiçek yağı n= 15	47.1	33.5	13.5	

Zeytinyağı ve ayçiçek yağlarındaki poliansatüre yağ asidi (PUFA) miktarları ve E vitamininin yağların içerisindeki PUFA'ya oranla Tablo 4'te görülmektedir.

TABLO 4- Bekletilmeden Önce ve Sonra Zeytinyağı ve Ayçiçek Yağlarındaki E Vitamini ve Poliansatüre Yağ Asidi (PUFA) Miktarları

Yağ Türü	PUFA miktarı Total Yağ asit. % si olarak	E Vit. X (mg)	E.Vit./PUFA	Kayıp (%)	
					Beklemeden
Zeytinyağı	Önce	10	20.4	2.40	-
	Sonra	10	15.1	1.51	29.0
Ayçiçek Yağı	Önce	63	47.1	0.75	-
	Sonra	63	33.5	0.53	29.9

Zeytinyağındaki PUFA miktarı total yağ asitlerinin % 10'u, ayçiçeği yağında ise % 63'ü olarak bulunmuştur. Zeytinyağında bulunan E vitamini miktarının PUFA'ya oranı 2.40 iken, bu oran ayçiçek yağında 0.75'dir. Bekletilmeden sonra ise, bu oranlar 1.51 ve 0.53'dür. Bir başka deyişle bekleme sonucunda Ayçiçeği yağındaki E vitamininin poliansatüre yağ asitlerine oranı Zeytinyağından üç kat azdır.

TARTIŞMA

Son yıllarda erişkin kişilerin sağlıklı beslenmesinde günlük yağ tüketiminin total enerjinin en az % 15'i, en çok da % 30'unu oluşturması önerilmektedir. Ancak, günlük toplam kalori içinde yağlardan sağlanan kalenin oranı yanında yağda bulunan yağ asitlerinin oranlarının da önemi büyüktür. Satüre yağ asitlerinden sağlanan enerji total enerji tüketiminin % 10'dan az olduğu durumlarda kardiovasküler hastalıklar sonucu ortaya çıkan ölümlerin azaldığı bildirilmektedir (17, 18).

Linoleik ve Linolenik asit gibi poliansatüre yağ asitleri, vücutta yağ metabolizmasının düzenli olarak yürütülmesi, prostoglandinlerin sentezlenmesi, kolesterol teşekkülünün sınırlandırılması ve daha birçok fonksiyonları olan bileşiklerdir.

İnsan organizmasında sentez edilemeyen poliansatüre yağ asitlerinden gelen enerjinin, tüketilen günlük enerjinin en az % 3'ü olduğu durumlarda organizmadaki fonksiyonlar normal olarak oluşmaktadır. Poliansatüre yağ asitlerinden elde edilen enerji tüketilen total enerjinin % 7'sinden fazla olduğu durumlarda bu yağ asitlerinden serbest radikallerin oluşması artmaktadır. Organizmaya yeterince antioksidan etki yapan besin elementleri (E vitamini C vitamini ve Selenyum) alınmadığında serbest radikaller artmakta hücre içi organeller başta olmak üzere dokular bunların hasarıyla karşı karşıya kalmaktadır (5-13). Poliansatüre yağ asitlerinden gelen enerji payı bir kat arttığı zaman antioksidan etkiye sahip besin elementleri gereksinimi 20 kat artmaktadır (17, 18).

Bu nedenle yağ tüketiminde miktar kadar yağın bileşimindeki yağ asitleri çeşidinin gözönüne alınması önemlidir. Ayrıca, poliansatüre yağ asitlerince zengin yağların çok tüketildiği durumlarda E vitamini gibi antioksidan etki yapan elementlerin tüketilen miktarı artırılmalıdır. Günlük yağ tüketimi sadece poliansatüre yağ asidi oranı fazla olan ayçiçeği, soya ve pamuk yağı gibi yağlardan oluştuğu durumlarda E vitaminine olan günlük gereksinim 10-20 kat artmaktadır. E vitamini ile poliansatüre yağ asitlerinin bu ilişkisi, sağlıklı ve dengeli bir diyet için önemlidir. Ayrıca diyetle tüketilen yağların niteliklerinin sağlığa uygun olması beslenmede ön koşuldur. Oysa, yağlar hidroliz ve oksidasyon yolu ile yapıları değişerek bozulabilirler. Ayrıca bozuk yağlar yiyeceklerin ve kendi bileşimlerinde bulunabilen A ve E vitaminlerinin de tahrip olmasına yol açabilirler (17, 18).

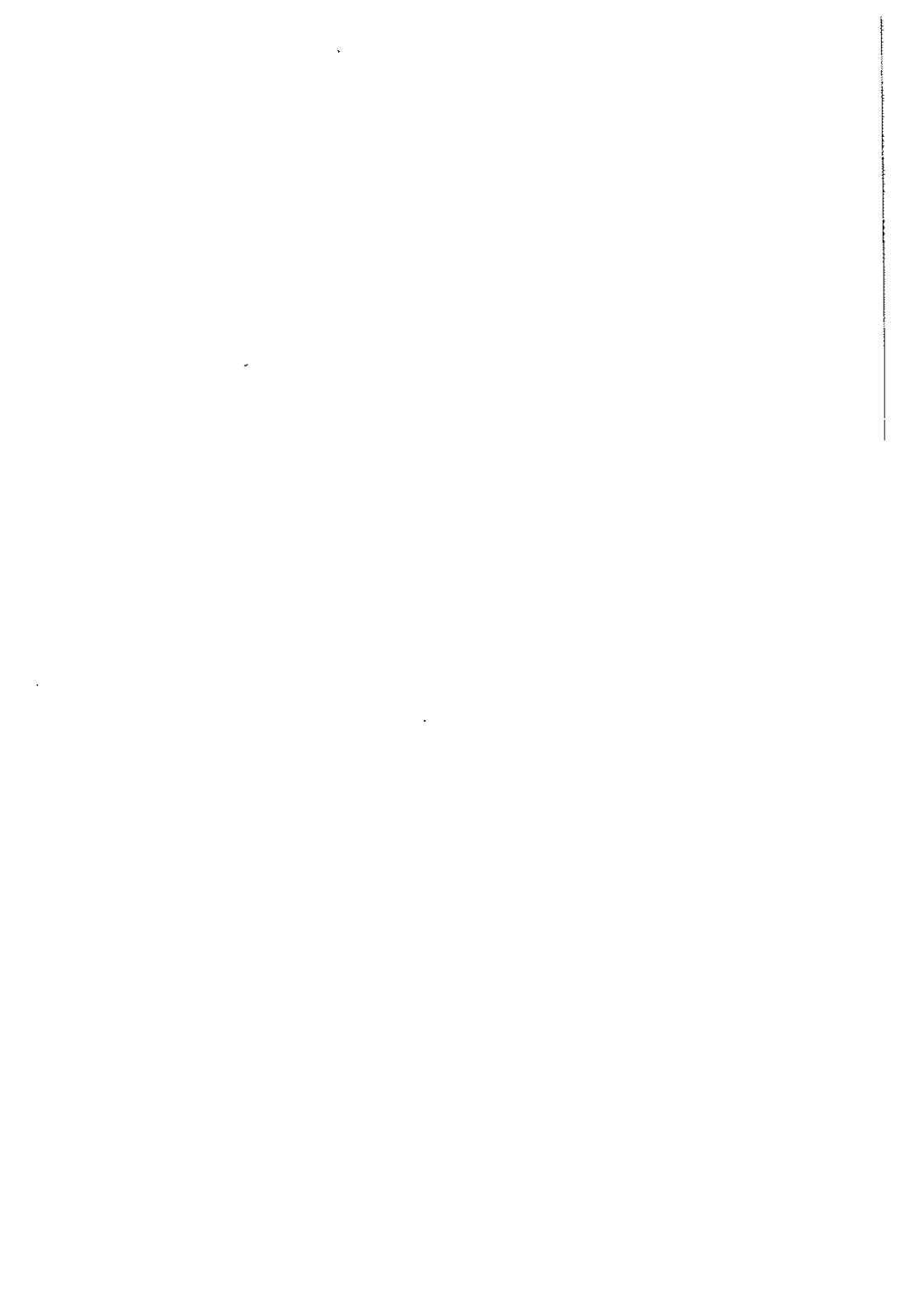
Bu çalışmada poliansatüre yağ asidi başına zeytinyağında mevcut olan E vitamini miktarı daha fazladır. Bekletilmemiş ayçiçek yağına kıyasla zeytinyağı 3.5 kat, bekletilmiş ayçiçek yağına kıyasla ise 3 kat daha fazla E vitamini içermektedir. Böylece vücutta ve dışarda ayçiçeği yağının oksitlenmesinin zeytinyağına kıyasla daha fazla olacağı ortaya çıkmaktadır. Ayçiçeği yağının oksitlenme durumunu zeytinyağı düzeyine getirmek için, zeytinyağının içerdiği E vitamini miktarının en az 3 katı kadar E vitamini içermesi gerekmektedir (18).

Poliansatüre yağ asidi içerikleri fazla olan yağlara oksitlenmeyi önlemek için E vitamini katılması ve bu yağları çok tüketen kişilerin E vitamininden zengin besinleri almaları ya da E vitamini eklemesi yapmaları önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Dupont. J., Lipids. In Murtle L.B. (ed) Present Knowledge in Nutrition International Life Sciences Institute. Nutrition Foundation Washington. D.C. 1990.
- 2- Williams S.R.: Nutrition & Diet therapy Times Mirror/Mosby. College Publishing St.Louis P. 51-73, 1990.
- 3- Baysal, A.Beslenme, Sağlık Teknolojisi Yüksek Okulu. Beslenme ve Diyetetik Bölümü Yayın No: 19 Ankara.
- 4- Tuschmid. P.E vitamininin Klinik Kullanımı içinde Editör. Egemen A. Vitaminlerin Sağlığımızdaki Önemi. 1986/5 İstanbul.
- 5- Doba T.Burton G.W. Ingold K.U. Antioxidant and co-antioxidant Activity of Vitamin C. The Effect of Vitamin C. eitken Alone or in the Presence of Vitamin E or a Water- Soluble Vitamin E analogue. Upon the Peroxidation of Aqueous Multilamellar Phospholipid Liposomes Biochim. Biophys. Acta, 835: 295-303, 1985.
- 6- Marubayasbi. S. Dohi. K.Ochi. K.et al: Role of Free Radicals in Ischemia Rat Liver Cell. Injury: Prevention of Damage by & tocopherol Administration, Surgery. 99: 184-191, 1986.
- 7- Mearson, F.Z. Kagon V.E. Kozlov. Y.P. Belkina L.M. Arkhipenko Y.V. The Role of Lipid Peroxidation in pathogenesis of Ischemic Damage and the Antioxidant Protection of the Heart. Basic. Res. Cardiol. 77: 465-485, 1982.
- 8- Slater T.F. Free Radicals and Tissue Injury: fact and fiction. Br. J. Cancer.
- 9- Parks. D.A., Granger D.N. Bulkley. G.B. Superoxide Radicals and Mucosal Lesions in the Ischemic Small Intestine. Fed. Proc. 41: 1742, 1982.
- 10- Kappus., H.Sies. H. Toxic rug Effects Associated with Oxygen Metabolism: Redox Cycling and Lipid Peroxidation. Experientia, 37: 1238 1241. 1981.
- 11- Hartz J.W. Morton, R.E Waite M.M. Morris H.P. Correlation of fatty Acid Composition of Mitochondrial and Microsomal phospholipid with Growth Rate of Rat Hepatomas. Lab. Invest. 46: 73-78, 1982.
- 12- Cohen. G.M. d'Arcy Doherty M.Free Radical Mediated Cell Toxicity by Redox Cycling Chemicals. Br. J.Cancer. 55: 46-52, 1987.
- 13- Wolters. H.Van Tilburg C.A.N. Konings A.W.T. Radiation-induced Lipid peroxidation: Influence of oxygen Concentration and Membrane Lipid Composition. J.Radial. Biol. 51: 619-628, 1987.

- 14- Köksal, O., Beslenmede Yağlar. (mimegrof) 1989.
- 15- Strohecker. R.Henning L.M. Vitamin Assay Tested Methods Verlag Chemie, GmbH. Weinheim. 1966.
- 16- Sümbüloğlu, K. Sümbüloğlu, V. Biyoistatistik Hacettepe Üniversitesi Yayını. Çağ Matbaası, Ankara, 1987.
- 17- WHO. Diet Nutrition and The Prevention of Chronic Diseases WHO Technical Report Series. 797. Geneva, 1990.
- 18- Davidson. S. et al. Human Nutrition and Dietetics. Churchill Pub. London, 1986.



GASTROENTERİTLİ ÇOCUK VE ERİŞKİN YAŞ GRUPLARINDA ESCHERICHIA COLI 0157:H7 SEROTİPİ (EHEC) ARAŞTIRILMASI

Sultan HALEPLİLER *

Cahit BABUR *

ÖZET

İshal şikayetli 708 hastanın gaita kültürleri ve 100 sağlam kişinin gaita kültürleri Enterohemorajik Escherichia coli 0157:H7 serotipi ve diğer enteropatojenler (2 yaş altında EPEC, Salmonella ve Shigella) açısından değerlendirilmiştir.

İncelenen kültürlerin hiç birinde EHEC etkeni olan 0157:H7 izole edilememiştir. Hastaların 42'inde Salmonella sp (% 5.9), 22'sinde (% 3.1) Shigella sp. ve 2 yaşın altındaki hastaların gaita kültürlerinde serotiplendirdiğimiz 6(% 0.8) EPEC izole edilmişti.

RESEARCH OF ESCHERICHIA COLI 0157:H7 SEROTYPE ON CHILDREN AND ADULT GASTROENTERITIS PATIENTS FROM DIFFERENT AGES

SUMMARY

Feces cultures of 708 diarrhea patients and 100 healthy persons have been examined for determination of enterohemorrhagic Escherichia coli 0157:H7 serotype and for the other enteric pathogens.

0157:H7 which causes EHEC has not been isolated in any examined cultures. In 42 cases Salmonella sp (5,9 %), in 22 cases (3,1 %) Shigella sp and in the cultures of the patients under 2 years old 6(0,8 %) EPEC which we serotyped have been isolated.

GİRİŞ

Escherichia coli 1920'lerde insan infantil diyarelerinin ilk etiyolojik ajanı olarak rapor edilmiştir (1). 1960'larda seyahat ile ilgili bakteriyel gastroenteritlerin major etkeni olarak Enterotoxinogen E.coli gösterilmiştir (2-4). 1982 yılında ise ilk kez tanımlanan Enterohemorrhagic E.coli önemli enterik patojen olarak

-
- * Refik Saydam Hıfz.Merkezi Başkanlığı Salgın Hast.Araşt.Müdürlüğü Uzmanı Dr.
 - * Refik Saydam Hıfz.Merkezi Başkanlığı Salgın Hast.Araşt.Müdürlüğü Uzmanı Bakt.

kabul edilmiştir (5). EHEC grubunda Verotoxin üreten 0157:H7 026:H11 ve 0111:HB olmak üzere üç serotip bulunmaktadır (6). EHEC adultların sporadik diyaresi, hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura ile ilişkilidir (7-14).

EHEC çok miktarda verotoxin yapar. Verotoxin 2 antijenik form gösterir; VT1, VT 2 (5,6,15, 26). VT1 biyolojik özellikleri, fiziksel karakterleri ve antijenik özellikleri açısından *Shigella dysantheria*'nın Shiga toksinine benzer (1,6,10). VT1 Shiga toksine karşı olan antikorlarla nötralize olur, fakat VT2 Shiga toksine karşı olan antikorlarla nötralize olmaz (26, 44). Verotoxinler protein yapısında olup iki alt birime sahiptir. Bu toksinler faj bağımlı olarak üretilirler. Her bir verotoxin A ve B subünitlerinden oluşmuştur. B subüniti, enterosit glikolipid reseptörü Gb3'e bağlanır. Toksinin aktif A bölümü hücreye girer ve 60S ribozomal komponentini değiştirerek protein sentezini engeller (6,8). HUS gelişmiş hastaların kanında var olan faktör VIII'in multimerik formları nedeniyle, verotoxin'in endotel hücrelerinde yapmış olduğu hasar sonucu bu hücrelerden faktör VIII'in salınımını kolaylaştırır.

E.coli intestinal florada yer almasına rağmen bazı suşları belli virulans faktörleriyle farklı klinik sendromlara yol açar. Bunlar başlıca 4 ana grub (ETEC, E1AC, EPEC, EHEC) altında toplanmakla birlikte, Enteroadheran *Escherichia coli* (EAEC) grubunda yeni bir grub olabileceği bildirilmektedir (1, 2).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Bakteriyoloji Laboratuvarına, Ankara Hastanesi, Numune Hastanesi Bakteriyoloji Laboratuvarına gaita kültürü yaptırmak üzere gelen diyareli 318 0-15 yaş grubu, 390 erişkin ve 100 gıda iş ve kollarında çalışan toplan 808 kişiye ait gaita numunesi Enterohemorajik *E.coli* 0157:H7 yönünden araştırılmıştır.

YÖNTEM

1- Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Bakteriyoloji Laboratuvarına gelen hasta örnekleri bekletilmeksizin, Ankara Hastanesi ve Numune Hastanesi Bakteriyoloji laboratuvarına gelen örnekler ise GN Broth içerisine alınarak 4-6 saat arasında bekletildikten sonra EMB, SS, Sorbitollu Mac Conkey agar ve Sorbitollu brom thymol blue besiyerlerine ekimleri yapıldı (16). 37 °C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra koloni morfolojileri incelendi. Sorbitollü Mac Conkey Agar ve sorbitollu brom thymol blue besiyerindeki sorbitol negatif koloniler değerlendirilmeye alındı.

Sorbitol (-) kolonilerin her biri normal yatık jeloza, kanlı agara inokule edildi. Bu besiyerlerinden IMVIC testlerine geçildi. Şüpheli olan suşlardan lam aglutinasyonu yapıldı.

Kılgı Iron Agar (KIA) ve üreli besiyerlerinde biyokimyasal durumları incelendi. Bütün E.coli suşlarında olduğu gibi E.coli 0157:H7 serotipinde laktozu ve glukozu süratle fermente ederek asit ve gaz oluşturan, citrat, voges proskauer, üreaz negatif olan, indol ve metil kırmızısı pozitif olan suşlardı.

2— E.coli 0157:H7 serotipinden aglutinasyon için antiserum hazırlandı. Suş Fransa'dan Pasteur Enstitüsü'nden temin edildi.

3— EPEC tiplendirmek için kültürasyondan sonra plakta üremiş olan E.coli kolonilerinden 10–15 koloni alınarak tipe özel aglutinan serumlarla kontrol edildi.

BULGULAR.

Escherichia coli 0157:H7 serotipini araştırmak amacıyla çalışmamızda iki grup altında toplanan 808 adet gaita örneği ile çalışıldı ve laboratuvarımızda E.coli 0157:H7 için hazırlanan spesifik besiyeri sorbitollü Mac Conkey, sorbitollü brom thymol blue agar ve aglutinan serum ile incelendi.

1.Grup : Her yaş grubundan, diyare veya diğer semptomlardan bir kaçını bulunduran hasta grubu,

2. Grup : 100 sağlam kişiden oluşuyordu ve gaita örnekleri kontrol amacıyla incelendi.

TABLO I. Hastaların Yaş Grubuna Göre Dağılımı

Yaş	Sayı	% Dağılımı
0- 15 Yaş	318	44.92
15 Yaş ve üstü	390	55.08
Toplam	708	100

0–15 yaş grubundaki 318 hastada % 1.9 EPEC , % 0.9 Salmonella paratyphi B, % 0.06 S.enteritidis, % 1.3 S.typhimurium, % 1.6 Shigella flexneri üretildi. Bu oranlara en fazla (% 2.83) Salmonella sp.etken enteropatojen olarak bulundu.

TABLO II: 0–15 Yaş Grubu Diyareli Hastalarda İzole Edilen Patojen Etkenler

Patojen Etken	Olgu Sayısı	% Oranı
Escherichia coli (EPEC)	6	1.9
Salmonella paratyphi B	3	0.9
Salmonella enteritidis	2	0.6
Salmonella typhimurium	4	1.3
Shigella flexneri	5	1.6

15 yaş ve üstü erişkin yaş grubunda ise yine en fazla *Salmonella* sp. (% 8.46) ve *Shigella* sp (% 4.35) bulundu.

TABLO III: 15 Yaş ve Üstü Diyareli Hastalarda İzole Edilen Patojen Etkenler

Patojen Etken	Olgu Sayısı	% Oranı
<i>Salmonella typhi</i>	3	0.76
<i>Salmonella paratyphi A</i>	2	0.51
<i>Salmonella paratyphi B</i>	3	0.76
<i>Salmonella enteritidis</i>	4	1.1
<i>Salmonella typhimurium</i>	21	5.38
<i>Shigella flexneri</i>	12	3.07
<i>Shigella boydii</i>	2	0.51
<i>Shigella dysantheria</i>	1	0.25
<i>Shigella sonnei</i>	2	0.51

100 sağlam kişide herhangi bir patojen etken izole edilemedi.

708 semptomlu vaka'da ise *E.coli* 0157:H7 serotipi izole edilemedi.

TABLO IV: 708 Hasta Örneğinden İzole Edilen Patojen Bakteriler

Patojen etken	Olgu Sayısı	% Oranı
<i>Salmonella</i> sp.	42	% 5.9
<i>Shigella</i> sp.	22	% 3.10
EPEC	6	% 0.8

TARTIŞMA

E.coli 0157:H7 serotipinin çeşitli bölgelerde farklı oranlarda bulunduğu ve bu serotipin klinik olarak geniş bir hastalık spektrumuna neden olduğu yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. Bunlar; hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura'dır. Enfeksiyon sporadik veya patlama şeklinde ortaya çıkmaktadır. Genellikle de kontamine yiyeceklerle ilgilidir.

E.coli 0157:H7 1975'de sporadik hemorajik kolitis vakalarında ilk defa izole edilmiştir. 1982 yılında Riley Lee, Robert S.ve arkadaşları tarafından Mart-Nisan ve Mayıs-Haziran dönemlerinde Oregon ve Michigan'da en az 47 hastayı etkileyen, sık görülmeyen bir hastalık tablosunu araştırmışlardır. Hastalık karın ağrısı,

başlangıçta sulu diyare, sonra bol miktarda kanlı diyare, hafif ateş (veya ateşsiz) ile karakterizedir. 9—12 gaitada hastalığın başlangıcından 4'üncü gününe kadar izole edilmiş ve aynı bakteri sığır köftesinden de izole edilmiştir. Bu çalışmada gaita kültürlerinden *Salmonella* sp. *Shigella* sp. *Campylobacter* sp., *Y. enterocolitica* ve enterotoxigenic — entero invaziv *E. coli* izole edilmiştir (9).

1983 yılı Haziran—Ekim döneminde Calgany'de Pai ve arkadaşları tarafından 3 hastanedeki rutin gaita kültürlerinde *E. coli* 0157:H7 selektif olarak aranmıştır. 125 hastaya ait 207 gaita kültürü ekimi yapılmış, 125 hastanın 19'unda (% 15) *E. coli* 0157:H7 izole edilmiştir. Bu çalışmada bir hastada *Salmonella*, iki hastada *Clostridium difficile* izole edilmiştir. *E. coli* 0157:H7 tesbit edilen 19 hastanın 18'inde kanlı diyare 1 tanesinde de kansız diyare varolup, klinik yönden de tipik hemorajik kolit tablosu gözlenmiştir. 0157:H7 enfeksiyonu olan 3 çocukta HUS gelişmiştir (17).

Karmali ve arkadaşları 1984 yılında Columbia çocuk hastanesinde 1 Ağustos 1984 tarihinden başlayarak 14 aylık bir çalışmalarında 1424 hastanın gaita kültürlerini incelemiştir. Hastaların % 78'inde kanlı diyare, % 68'inde kusma, % 78'inde 38 °C üzerinde ateş, % 56'sında ailede diyare hikayesi, % 56'sında karın ağrısı olup, bu kültürlerden 34 tanesinde (% 2.4) 0157:H7 *E. coli* serotipi izole edilmiştir. 34 hastanın 25'inde kanlı diare mevcut olup, bunlardan 9 hastada HUS (hemolitik üremik sendrom) gelişmiştir. HUS gelişmiş 2 hastanın gaita kültürlerinde *E. coli* 0157:H7 den başka *Campylobacter jejuni* ve diğerinde *Giardia intestinalis* kistleri izole edilmiştir (18).

En geniş çalışma Washington Puget Sound bölgesinde yapılmıştır. 1985—1986 yılları arasındaki bir yıllık sürede 6485 gaita numunesi incelenmiş, bakteriyel enterik patojenler numunelerin % 5.8'inden izole edilmiştir. *E. coli* 0157:H7 bunların 25 tanesinde (% 0.4) bulunmuştur. Bu oran *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella*'dan sonraki 4. önemli patojendir. 0157:H7 enfeksiyonlar en sık Haziran Ekim ayları arasında saptanmaktadır.

William Marshall ve arkadaşları tarafından Rochester ve Minnesota'da Mayo Kliniği Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen 2164 gaita numunesinin tümü kültüre edilmiş ve bu spesmenlerin 80 tanesinde (% 3.7) enterik patojen pozitif bulunmuştur. 8 hastadan aralıklarla alınan 10 spesmen 0157:H7 açısından pozitif bulunmuştur (% 0.5). *E. coli* 0157:H7 izole edilen bakteriler arasında dördüncü sırayı almıştır. Diğer etkenlerin ise, % 1.2 *Campylobacter* sp., % 1.0 *Salmonella* sp., % 0.8 *Aeromonas* sp., % 0.5 *E. coli* 0157:H7, % 0.1 *Shigella sonnei* olduğu gösterilmiştir (19).

Bilindiği gibi *E. coli*'nin bu serotipi sorbitolu ya yavaşça veya hiç fermante etmez. Sorbitollü Mac Conkey agardaki inkübasyondan 24 saat sonra sorbitol (—) koloniler olarak ürerler. Sorbitol fermentasyonu olmadığını gösteren araştırma CDC (Centers for Disease Control) laboratuvarında yapılmıştır. Bütün *E. coli* suşlarının tetkiklerinde 24 saat içinde % 95 sorbitol fermente edilmiştir. 0157 suşlarının

çoğu ise 24 saatten daha uzun bir sürede yavaş veya sorbitolu hiç fermente etmemiştir. E.coli 0157:H7 varsa genellikle çok yavaş bir üreme gösterir ve hemen daima saf kültür olarak ortaya çıkabilir (19).

Çalışmamızda 708 ishallerden alınan örneklerin incelenmesinde E.coli 0157:H7 serotipi izole edilememiştir. Gaita numunelerinden yapılan incelemede 2 yaşın altında 6 patojen E.coli (% 0,8), 42'sinde Salmonella sp. (% 5,9), 22'sinde (% 3,10) Shigella sp. izole edilmiştir (Tablo IV). Kısa zaman aralığında çalışmamız, kanlı diyare hasta sayımızın az olması ve verilerinin gösterdiğine göre E.coli 0157:H7 prevalansının değişik bölgelerde değişik görülmesi ile izah edebiliriz. Uygun koşullar sağlandığında E.coli 0157:H7 serotipinin ülkemizdeki insidansı önümüzdeki yıllarda daha belirginlik gösterecektir. Çalışmamıza; 026:H11 ve 0111:HB serotiplerini suş temin edemediğimizdir. Çalışmalara bu serotiplerinde dahil edilmesi gerekmektedir. Ülkemizde çocuk ve erişkin yaş grubunda akut gastroenteritlerin sık rastlanan patojeni Salmonella sp. ve Shigella sp. sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Mandell G.L., Douglas R.G., Bennett J.E.: Principles and Practice of Infectious Disease. Third edition, 1658.1666,1990.
- 2- Levine M.M.: Escherichia coli that Cause Diarrhea. Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohemorrhagic and Enteroadherent. J.Infect. Dis. 155 (3): 377-385, 1987.
- 3- Krupp M.A., Chatson M.J.: Current, Medical Diagnosis and Treatment, 16 th Edition, Page 819, 1977.
- 4- Steffen R., Vanderlinde F., Gayr K., et al.: Epidemiology of diarrhea in traveler's. JAMA 249: 1176-80, 1983.
- 5- Bartley, Cryan: Enterohemorrhagic Escherichia coli. Scand. J.Infect. Dis. 22:1-4, 1990.
- 6- Pollard D.R., Johnson W.M., et al.: Differentiation of Shiga Toxin and Vera Cytotoxin Type 1 Genes by Polymerase Chain Reaction. J.Infect. Dis. 162:1195-1198, 1990.
- 7- Lopez E.L., Diaz M., Devats S.: Hemolytic Uremic Syndrome and Diarrhea in Argentina Children: The role of Shiga-like toxin. J.Infect. Dis. 160 (3), 1989.
- 8- Ratnam S., March S.B., Ahmet R., Bezanson S.G., Kasatiya S.: Characterization of Escherichia coli serotype 0157:H7. J.Clin. Microbiol. 26 (10): 2006-2012, 1988.
- 9- Riley L.W., Remis R.S., Helgerson S.D., Mc Gree H.B., We-Is S.G., Davis B.R., et al.: Haemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. N.Engl. J.Med. 308:681-685, 1983.

- 10- Karmali M.A., Petric M., Lim C., Fleming P.C., Arbus G.S., Lior H.: The association between the idiopathic haemolytic uraemic syndrome and infection by verotoxin producing *Escherichia coli*. *J.Infect. Dis.* 151: 775-782, 1985.
- 11- Bilgehan H.: *Escherichia Klinik Mikrobiyoloji*, İzmir, 4-13.1990.
- 12- Bailey and Scott's: *Diagnostic Microbiology*. 7 th Edition, 1986.
- 13- Gülmezoğlu E., Akman M.: *Tıbbi Mikrobiyoloji*. Ankara, 1976.
- 14- Jacklık W.K., Willet H.P., Amas D.P., Wilfort C.: *Enterobacteriaceae, Escherichia*. Zinsser Microbiology. 19th Edition. 464-479, 1987.
- 15- Unat E.K.: *Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi*. I.Cilt, (163-164) (545-546). 1986.
- 16- Mareh S.B., Rathman S.: Sarbitol Mac Conkey Medium for the Detection of *Escherichia coli* Associated with Haemorrhagic colitis. *J.Clin. Microbiol* 23 (5): 869-873, 1986.
- 17- Pai C.H., Garden R., Sims H.V., Bryan L.E.: Sporadic cases of haemorrhagic colitis Associated with *Escherichia coli* 0157:H7, Clinical, Epidemiological and Bacteriological Features. *Ann. Intern. Med.* 101: 738-742, 1984.
- 18- Grandson W.R., Damm M.A.S., Anderson J.D., Carter J.E., Lior H.: Further evidence associating haemolytic uraemic syndrome with infection by verotoxin producing *Escherichia Coli* 0157:H7. *J.Infect. Dis.* 154:522-524, 1986.
- 19- Marshall W.F., Mc Limons C.A., Scay R.E., Anhatt J.P.: Results of a Month Survey of Stool Cultures for *Escherichia coli* 0157:H7 Mayo Clin. Proc. 65:787-792, 1990.



SÜREKLİ ETKİLİ TEOFİLİN PREPARATLARININ IN VITRO SALIM KİNETİKLERİ

Güler ÜNLÜ*

Pınar BULUT *

ÖZET

Bu çalışmada, piyasada bulunan üç sürekli etkili teofilin preparatının in vitro salımı; sıfır derece, birinci derece, Higuchi ve Hixson—Crowell kinetik modellerine göre incelenmiştir. Daha sonra, preparatın performans kriteri olarak; etiketinde belirtilen doz aralığının çeyrek, yarım ve tam katlarında salınan ilaç yüzdesi bulunan kinetik denklemlerden hesaplanmıştır. Preparatın salım açısından en fazla uyum gösterdiği kinetik model; hem kinetik denklemlerin rezidüelleri ve determinasyon katsayıları, hem de salım üs değeri ve salım yüzdeleri gözönüne alınarak bulunmuştur. Elde edilen bulgulardan, içinde şellak ile kaplanmış teofilin granülleri bulunan kapsüllerin salım kinetiğinin Hixson—Crowell modeline; içinde akrilik poline[†] ile kaplanmış granüller bulunan kapsüllerin salım kinetiğinin ise Higuchi modeline uyduğu görülmüştür. Kaplanmış granüllerin matris içine gömülmesi suretiyle imal edilmiş tablet ise sıfır derece kinetiğe uygun salım göstermiştir. Sonuç olarak, çalışılan sürekli etkili teofilin preparatlarının, formülasyonlarına göre farklı kinetiklerle salım gösterdikleri, buna rağmen performans kriteri açısından hepsinin yeterli olduğu anlaşılmıştır.

IN VITRO DRUG RELEASE KINETICS OF SUSTAINED RELEASE THEOPHYLLINE PREPARATIONS

SUMMARY

In this study, the in vitro dissolution of three sustained—release commercially available theophylline preparations were investigated according to four kinetic models, namely, zero, first, Higuchi square root and Hixson—Crowell cube root law. Then, drug release percentages as performance criteria of SR products were calculated from these kinetic equations at the times equal to 0.25, 0.50 and 1.00 of the labelled dosing interval. The goodness of fit was evaluated by the residuals, determination coefficients, release

* Refik Saydam Central Institute of Hygiene, Drug Control Department
06100 ANKARA—TÜRKİYE

exponent indicative "n" and drug release percentages. The findings obtained had shown that the kinetics of capsules containing beads coated shellac or acrylic polymer fitted to Hixson—Crowell law or Higuchi equation, respectively. The dissolution of tablet having coated beads embedded in a matrix could be best described by the zero order kinetic. As a result, the tested SR products have good performance criteria even their kinetic models are different due to their formulation.

Key Words: Theophylline, Sustained—release, Dissolution, Release profile, Release kinetic, Performance criteria.

INTRODUCTION:

Theophylline is widely used as a bronchodilator for the treatment of asthma or obstructive pulmonary disease in adults and children. Sustained release (SR) dosage forms of theophylline are most popular forms because of its narrow therapeutic index and short elimination half life in humans, especially in children. Also, improved patient compliance is another advantage of SR theophylline preparations.

Various dissolution studies have been applied to commercial or developed theophylline formulations (1,2) and the bioavailability parameters also have been determined together dissolution (3—5). Additionally, the in vitro release kinetics of SR theophylline products were evaluated by means conformity to zero order, first order, Higuchi and Hixson—Crowell equations (6,7). Also, the model of release mechanism has been established as zero order, Fickian transport (Higuchi model) or non—Fickian release according to the diffusional release exponent (8). Meanwhile the performance criteria defined in terms of labelled dosing interval "D" of some SR products containing theophylline (theo—dur tablet) and other active substances were investigated (9). This criteria are as follows.

At a time equal to 0.25 D, between 20 % and 50 % dissolved;

At a time equal to 0.50 D, between 45 % and 75 % dissolved;

At a time equal to 1.00 D, not less 75 % dissolved.

MATERIAL AND METHOD:

Material:

The chemical substances used in the study were of analytical grade.

Dissolution Method:

General: Simulated gastric fluid 'SGF, pH 1.2" and simulated intestinal fluid "SIF, pH 7.5" were used as the dissolution medium. Simulated fluids were not containing enzyme. Dissolution rate was measured using Apparatus II of USP

XXII. When working with capsule, it was opened and beads were poured in the dissolution vessel. Samples were removed at prescribed intervals, filtered, diluted and assayed spectrophotometrically. The same volume of medium was immediately added to complete the volume.

SR Theophylline preparations:

Theo-dur "TH" (Key Pharmaceuticals) is a tablet of coated beads embedded in a matrix. Only SIF was used as dissolution medium and paddle rate was 50 rpm. (D = 12 hours)

Neofilin capsule "NF" (Nobel) contains beads coated shellac. It contains 100, 200 and 300 mg of theophylline anhydrous. 500 ml SGF was used as dissolution medium at the beginning and 200 ml of medium was replaced with same volume of SIF at the end of first, second and fifth hours. Paddle rate was also 100 rpm. (D = 8 hours).

Talotren "TL" (Sandoz) is a capsule containing beads coated acrylic polymer. It contains 200 and 350 mg of theophylline anhydrous. SGF was used as dissolution medium for two hours, and then it was replaced by SIF. Paddle rotating rate was 100 rpm. (D = 8 hours).

Results and Discussion:

In this work at first; dissolution data of SR theophylline products were analysed according to zero, first, Higuchi square root and Hixson-Crowell cube root law and slope, intercept, residuals and determination coefficient " r^2 " of each of them were calculated (Table 1). Also diffusional release exponent value "n" was determined for each data. For different modes of drug transport, "n" means: $n=0.5$ for Fickian transport, i.e., belonged to Higuchi model, $n=1.0$ for zero-order transport, and $0.5 < n < 1.0$ for non-Fickian transport. Then drug release percentages were calculated from these kinetic equations at the time equal to 0.25, 0.50 and 1.00 of the labelled dosing interval (Table II) and the goodness of fit was evaluated considering of the residuals, determination coefficients, release exponent indicative "n" and drug release percentages. The findings of SR products are given below.

A-Theo-dur Tablets: The performance criteria values of Theodur tablets calculated at exact dosing interval "1.0 D" for first and Hixson-Crowell kinetics are too much than 100 percent (Table II). On the other hand, the performance criteria values calculated at same dosing interval for Higuchi model are much less than 100 percent. Whereas zero order kinetic could best described the dissolution profile according to the performance criteria (Table II, Figure 1).

Table 1. Kinetic Parameters of SR Theophylline Preparations (2 kinetics having minimum SDR were suggested most compatible)

Code	* n	Most compatible 2 kinetic	Slope	Intercept	** SDR	r	Data t (hour):% released		
TH 100	.459	1.First	.14	3.14	15.43	.980	1:26.8	2:32.0	4:39.6
		2.Hixson	.17	2.79	22.87	.965	6:50.2	8:77.5	
TH 200	.784	1.Hixson	.24	2.08	3.44	.996	1:12.1	2:17.2	4:27.2
		2.Zero	7.19	2.66	8.62	.984	6:45.9	8:61.9	
TH 300	.832	1.Zero	7.05	3.88	6.81	.988	1:11.6	2:15.0	4:35.0
		2.Higuchi	27.05	-18.93	10.90	.980	6:47.0	8:58.9	
NF 100	.671	1.Hixson	.28	2.43	15.36	.983	0.5:14.0	1:23.0	
		2.Zero	11.10	8.55	24.58	.989	4:47.3	8:99.8	
NF 200	.621	1.Zero	10.60	12.59	6.72	.997	0.5:16.3	1:25.9	
		2.Hixson	.26	2.58	35.14	.973	4:53.2	8:98.0	
NF 300	.539	1.Hixson	.24	2.70	15.66	.978	0.5:19.2	1:29.8	
		2.First	.20	3.03	23.19	.959	4:47.7	8:98.4	
TL 200	.498	1.Higuchi	35.99	2.86	12.87	.988	1:36.0	2:57.0	
		2.Zero	9.65	32.32	49.59	.955	5:85.0	7:96.0	
TL 350	.625	1.Higuchi	41.50	-11.85	14.05	.990	1:29.0	2:46.3	
		2.Zero	11.17	21.96	51.62	.965	5:85.2	7:94.9	

* Release Exponent

** $(\sum Res^2 / (n-2))$

B-Neofilin Capsules: The residuals for Hixson-Crowell model of NF 100 and NF 300 capsules were minimum and also residuals of NF 200 capsule are second sequence. Their determination coefficients were most closed to 1 for this model (Table 1). Additionally, the performance criteria values of NF capsules calculated at Hixson kinetic were most appropriate (Table II). Due to these reasons, Neofilin capsules were exhibited the release according to Hixson-Crowell model which described as decreasing in surface area and diameter by erosion (Figure 2). As it is known, the main release mechanism from shellac which utilized for retarding of Neofilin capsules is erosion.

Table II. Dissolution Profile of SR Theophylline Preparations

Code	Kinetic	0.25 D (20-50 %)	0.50 D (45-75 %)	1.0 D min 75 %	Result
TH 100	Zero	37.1	57.3	97.7	+++
	Higuchi	40.1	58.0	83.2	
	First	35.4	54.5	128.6 *	
	Hixson	36.0	55.4	113.2 *	
TH 200	Zero	24.2	45.8	88.9	+++
	Higuchi	27.3	46.7	74.1 *	
	First	20.9	42.1 *	171.0 *	
	Hixson	22.2	43.4 *	121.4 *	
TH 300	Zero	25.0	46.2	88.5	+++
	Hifuchi	27.9	47.3	74.8 *	
	First	20.9	43.0 *	182.8 *	
	Hixson	22.2	44.2	124.4 *	
NF 100	Zero	30.8	53.0	97.4	+++
	Higuchi	37.5	60.2	92.2	
	First	25.1	40.9 *	107.9	
	Hixson	26.8	44.8	102.3	
NF 200	Zero	33.8	55.0	97.4	+++
	Higuchi	40.2	62.0	92.8	
	First	28.4	44.3	107.7	
	Hixson	30.0	47.8	102.4	
NF 300	Zero	34.9	55.1	95.3	+++
	Higuchi	41.1	61.5	90.4	
	First	30.8	45.8	101.4	
	Hixson	32.0	48.8	98.2	
TL 200	Zero	32.0	57.1	107.1	+++
	Higuchi	35.1	62.0	100.0	
	First	28.0	47.6	137.2 *	
	Hixson	29.2	50.9	121.7 *	
TL 350	Zero	44.3	66.6	111.3 *	+++
	Higuchi	46.8	71.2	105.5	
	First	41.0	60.2	130.1 *	
	Hixson	42.0	62.5	121.3 *	

* Out of limit

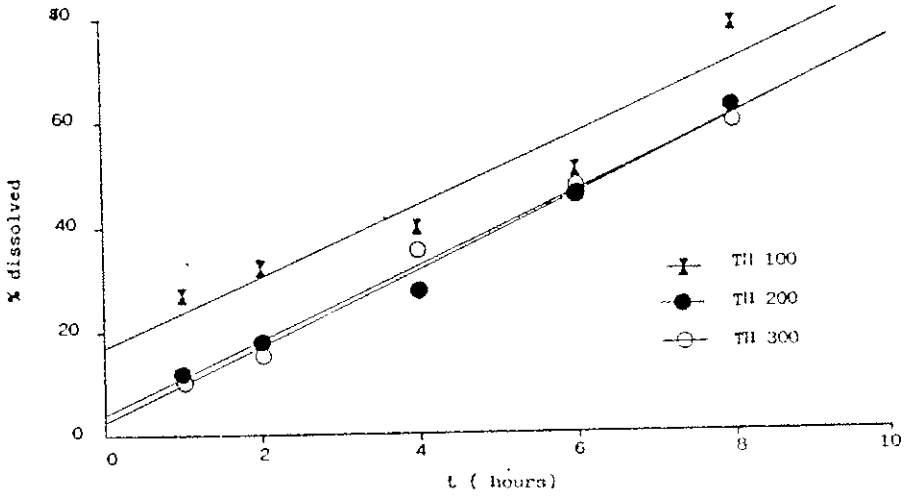


Fig.1 . Zero Order Kinetics of Theo-dur Tablets

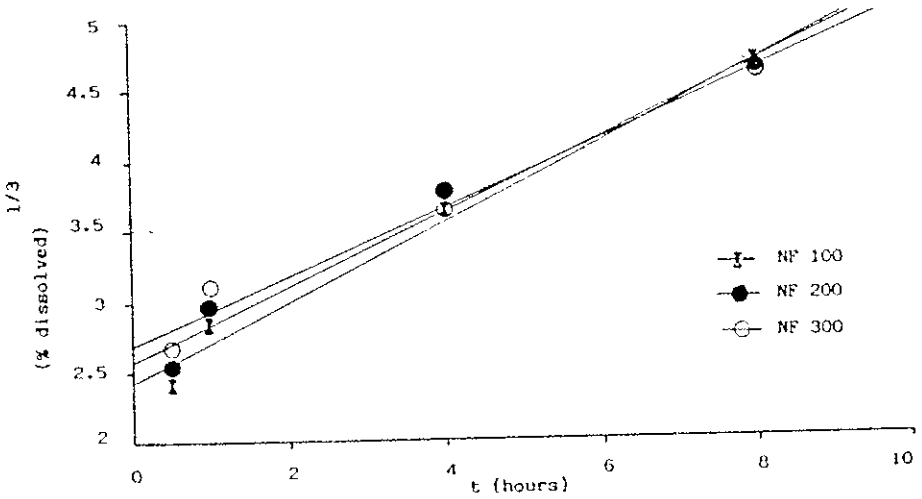


Fig. 2. Hixson Crowell Kinetics of Neofilin Capsules

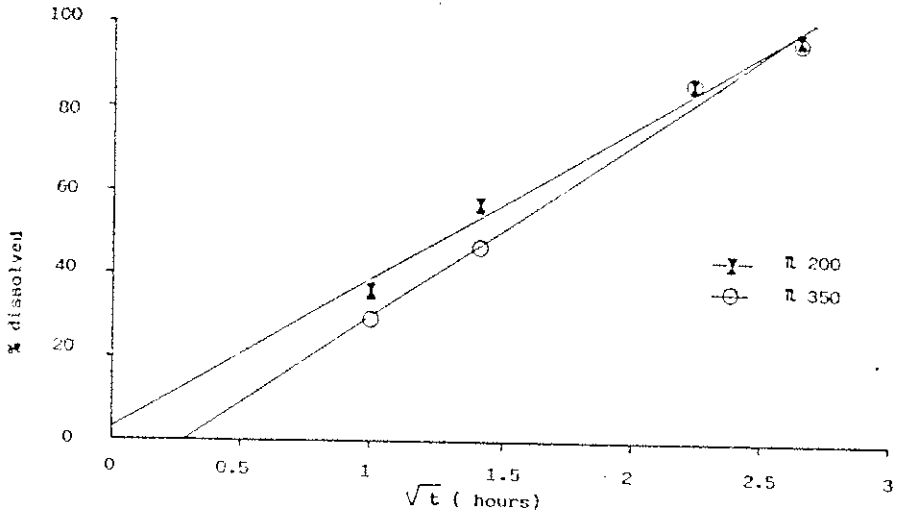


Fig. 3 . Higuchi Kinetics of Talotren Capsules

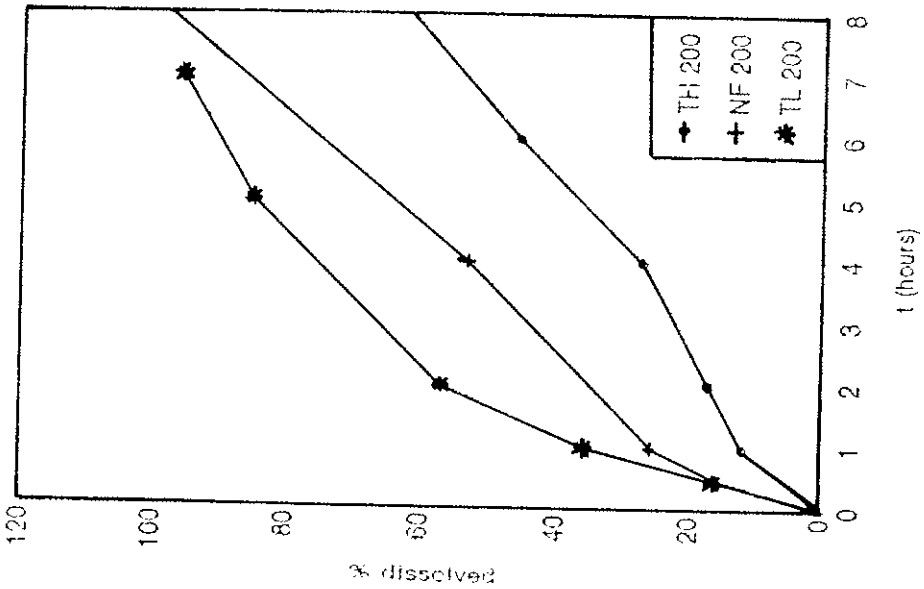


Fig. 4. Dissolution Profiles of 200 mg Theophylline Preparations

C-Talotren Capsules: TL 200 capsule was exhibited fitness to Higuchi model according to "n" value, 0.498. Additionally, TL 200 and TL 350 capsules had the minimum residuals for Higuchi kinetic and their determination coefficients for this model were most closed to 1 (Table I). Also performance criteria values calculated by Higuchi model have best met the release requirements. According to these findings, main release mechanism of Talotren capsules containing acrylic polymer was found as diffusion (Figure 3).

As a result, it was shown that the commercially available three SR theophylline preparations were released different mechanism due to their formulation. Although, the tested SR products have similar performance criteria even their kinetic models are different. But, this result does not show that those products are clinically interchangeable, it means that the products have appropriate SR performance.

REFERENCES

- 1- Simons, K.J., Simons, F.E.R., Plett, K.D., Scerbo, C. Dissolution Studies of Some Sustained-Release Theophylline Dosage Forms—*J.Pharm. Sci.*, 73,7, 939-42, 1984.
- 2- Buckton, G., Ganderton, D., Shah, R., Invitro Dissolution of Some Commercially Available Sustained-Release Theophylline Preparations. *Int. J.Pharm.*, 42, 35-9, 1988.
- 3- Hussein, Z., Friedman, M., Release and Absorption Characteristics of Novel Theophylline Sustained-Release Formulations: In Vitro-in Vivo Correlation—*Pharm. Res.* 7, 11, 1167, 1990.
- 4- Summers, R.S., Summers, B., Rawnsley, S.— The Bioavailability, Absorption Characteristics and Formulation of four Commercially Available Controlled-Release Theophylline Products— *Int. J.Pharm.*, 30, 83-8, 1986.
- 5- Al-Angary, A.A., Khidr, S.H., Mahrous, G.M., Gouda, M.W.— In-vitro Dissolution and In-vivo Absorption of Marketed Sustained Release Theophylline Preparations— *Int.J.Pharm.*, 65, R5-R8, 1990.
- 6- Jalal, I., Zmaily, E., Najib, N.— Dissolution Kinetics of Commercially Available Controlled-Release Theophylline Preparations—*Int. J.Pharm.*, 52, 63-70, 1989.
- 7- Li Wan Po, A., Wong, L.P., Gilligan, C.A.— Characterization of Commercially Available Theophylline Sustained-or Controlled-Release Systems: In-vitro Drug Release Profiles— *Int.J.Pharm.* 66, 111-30, 1990.
- 8- Lin, S.Y., Yang, J.C.— In-vitro Dissolution Behavior of Some Sustained Release Theophylline Dosage Forms—*Pharm. Acta Helv.* 64,8, 236-40, 1989.
- 9- Baveja, R.— Dissolution Profiling of Six Modified-Release Oral Solid Dosage Forms— *Drug Develop. Indust. Pharm.*, 12,14, 2431-42, 1986.

TÜRKİYE'DE NEONATAL TETANOZ SORUNU

Levent AKIN *

M.Ali BİLİKER *

Ayten EGEMEN **

ÖZET

Neonatal tetanoz korunabilir bir hastalık olmasına karşın sosyo—ekonomik ve kültürel düzeyi düşük, halk sağlığı çalışmalarında yeterli başarıya ulaşmamış ülkelerde önemli bir çocuk sağlığı sorunudur.

Bu çalışmada özel olarak toplanan hastane kayıtlarına dayalı olarak, Türkiye'de 1990 yılındaki neonatal tetanoz vakalarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bir yıl içinde 115 erkek (% 70.0) ve 49 kez % 30.0 olmak üzere toplam 164 vaka ilin hastahanelerine yatarak neonatal tetanoz tanısıyla tedavi görmüştür. Bunların 92'si (% 55.8)'i taburcu olmuş, 72'si (% 44.2) ölmüştür. Vakalarının % 58.6'sı evde sağlık personeli yardımı olmadan, % 6.1'i evde sağlık personeli yardımı ile, % 8.5'ü hastanede doğmuş olup, % 27.4'ünün doğum yeri bilinmemektedir. Annelerin % 73.2'sinin gebeliklerinde tetanoz toksidi ile aşı olup olmadığı bilinmemekte, % 25.0'nin aşısız, % 1.8'nin aşı olduğu bilinmektedir. Vakaların % 35.0'i kış, % 25.0'i sonbahar % 21.0'i ilkbahar, % 19.0'u yaz mevsiminde görülmüş olup % 19.4'ü doğumdan sonraki ilk dört günde % 19.5'i ise on günden sonra hastaneye başvurmuştur. Ölümle sonuçlanan vakaların % 56.9'u hastaneye yatışlarının ilk üç gününde yaşamlarını kaybetmişlerdir.

NEONATAL TETANUS IN TURKEY

SUMMARY

Neonatal tetanus being a preventible disease still comes out as an important child health problem especially in those countries having limited success in health service with on undeveloped socio economic structure.

This study has been carried out with the ayme of identification of neonatal tetanus cases in Turkey for the year 1990 based on the hospital recards gathered specifically for this purpose. Within a one—year period, 115 boys (70.0 %) and 49 girls (30.0 %) making up a total of 164 cases with neonatal

* Sağlık Bakanlığı ANKARA — TÜRKİYE

** H.Ü. Halk Sağlığı Anabilim Dalı ANKARA — TÜRKİYE

tetanus have been treated in hospital. 92 of this total (55.8 %) have been discharge where as 72 have been died (44.2 %) of the cases. 58.6 % was born at home without any help of health personnel where as only 6.1 % received such a care. 8.5 % of total was born in hospitals and the place of birth of the rest, which is 27.4 % of the total is unknown.

It is reported that 25.0 % of the mothers did not tetanus vaccin during their pregnancy and only 1.8 % had it. It is unknown whether the maining 73.2 % had it or not. 35.0 % of the cases occurred in winter, 25.0 % in autumm 21.0 % in spring and 19.0 % is summer. 19.4 % of the cases applied to the hospital within four days after the birth and 19.5 % of them after 10 days. 56.9 % of cases lost their lives in first three doys of their treatment.

GİRİŞ

Neonatal tetanoz aşı ile konulabilir bir hastalık olmasına karşın gelişmekte olan ülkelerde halen her yıl yaklaşık bir milyon bebeğin yaşamını kaybetmesine neden olmaktadır (1-3). Gözlemler ve retrospektif alan araştırmaları bu ülkelerdeki bebek ölümlerinin % 25'inin, neonatal dönem bebek ölümlerinin ise % 50'sinin nedeninin bu hastalıktan olduğunu göstermektedir (4). Oysa, neonatal tetanoz, fatalite hızının yüksekliğine karşın, antenatal dönemde tetanoz toksidi ile etkin aşılama programları, doğumların hijyenik koşullarda yapılması ve potnatal dönemde hijyenik koşulların sağlanması ile önlenebilecek bir hastalıktır. Ancak, hastalığın büyük epidemilere neden olmama özelliği, bildirim zorunlu olmaması aksine hemen her ülkede bildirim en az olması ve hastalığın yaşamın ilk günlerinde görülmesi nedeniyle, sorunun gerçek boyutları yeterince bilinmemektedir. Bu durum ise, gerek toplumda gerekse sağlık örgütü içerisinde hastalık kontrolüne yönelik çalışmaların başlatılıp sürdürülmesi için gereken duyarlılığın oluşmasını olumsuz yönde etkilemektedir.

Ülkemizde 1984 yılına kadar tüm tetanoz vakaları içinde bildirimleri yapılan hastalık bu tarihten sonra ayrı olarak bildirilmeye başlanılmıştır. 1985 yılında Sağlık Bakanlığına bildirim yapılan neonatal tetanoz vaka sayısı 41, 1986 yılında da 66, 1987'de 46, 1988'de 51, 1989 yılında 63'dür (2). Bildirilen vaka sayılarının bu kadar düşük olmasına karşılık, ülke genelinde doğumların yaklaşık % 58'inin sağlık kuruluşu dışında bir yerde ve uygun olmayan koşullarda yapılması, yine doğumların % 36'sının sağlık personeli olmadan yaptırılması, bebeklerin % 12.5'inin kundak toprağına sarılması, gebelerin sadece % 8.4'ünün bir kez, % 4'ünün ise iki kez tetanoz toksidi (TT) ile aşılması; yeni doğanların neonatal tetanoz yönünden risk altında olduklarını göstermektedir (4). Çocuk Sağlığında önemli bir sağlık sorunu olan neonatal tetanozun önlenmesi, gerekli kontrol programlarının yapılabilmesi için sorunun boyutlarını ve bunu etkileyen faktörlerinin neler olduğunu bilmesi gereklidir.

Bu çalışmada, hastane kayıtlarına dayalı olarak Türkiye'de 1990 yılındaki neonatal tetanoz vakalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, İl Sağlık Müdürlüklerine, ildeki resmi ve özel hastanelerde 1 Ocak ile 31 Aralık 1990 tarihleri arasında tespit edilen neonatal tetanoz vakalarını saptamayı amaçlayan bilgi formu gönderilmiştir. Tüm illerden elde edilen bu formlardaki bilgiler, Sağlık Bakanlığında Epi-info version 5, bilgisayar programı ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Türkiye'de 73 ilin 41'inde (% 56) vakanın olduğu, diğer illerde ise neonatal tetanoz vakasının saptanmadığı bildirilmiştir. Türkiye genelinde 1990 yılında 164 vaka olup, bunların 92'si (% 55.8) taburcu olurken, geri kalan 72'si (% 44.2'si) ölmüştür.

Tablo 1 : Neonatal Tetanoz Vakalarının Cinsiyete ve Hastalığın Sonuçlarına Göre Dağılımları

Cinsiyet	Sonuç					
	Taburcu		Ölüm		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
E	64	55.7	51	44.3	115	100.0
K	28	57.1	21	42.9	49	100.0
Toplam	92	56.1	72	43.9	164	100.0
		$\chi^2 = 0.08$	sd=1	P > 0.05		

Türkiye'de hastaneye yatan toplam 164 neonatal tetanoz vakalarının 115'i (% 70.0'ü) erkek 49'u (% 30.0) kızdır. Vakaların cinsiyetleri ile taburcu olma ya da ölme durumu açısından anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Neonatal tetanoz vakalarının, doğumun olduğu yer, annenin tetanoz toksidi ile aşılama durumu ve vakaların görüldüğü mevsim incelendiğinde, (Tablo 2) % 58.6'sının evde kendi kendine % 6.1'inin evde sağlık personeli yardımı ile, % 8.5'inin hastanede, % 27.4'ünün doğumunun ise nerede olduğu bilinmediği saptanmıştır.

Yine, vakaların sadece % 1.8'inin annelerinin tetanoz toksoidi ile aşıldığı vakaların % 25'inin sonbahar, % 35.0'nun kış, % 21.0'nun ilkbahar ve % 19'nun ise yaz mevsiminde görüldüğü bulunmuştur. Neonatal tetanoz vakalarının iyileşmesi ya da ölmesi ile, doğumun yapıldığı yer ve görülme mevsimi açısından anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Tablo 2: Taburcu Olan ve Ölen Vakaların Doğumun Olduğu Yer, Annenin Aşı Durumu ve Görülme Mevsimine Göre Yüde Dağılımı

	Bazı Özellikler	Sonuç		Toplam n=164	Önemlilik
		Taburcu n= 91	Ölüm n= 72		
Doğumun Yeri	Evde sağ.per. yardımı	53.3	63.9	58.6	P > 0.05
	Evde sağ.per. yardımı	8.7	2.8	6.1	
	Hastanede	8.7	8.3	8.5	
	Bilinmeyen	29.5	25.0	27.4	
Annenin Aşı Durumu	Aşısız	23.9	26.4	25.0	P > 0.05
	Aşılı	1.1	2.7	1.8	
	Bilmiyor	75.0	70.9	73.2	
Mevsimler	Kış	33.7	36.1	35.0	P > 0.05
	İlkbahar	22.8	19.4	21.0	
	Yaz	19.6	16.0	19.0	
	Sonbahar	23.9	26.5	25.0	

Türkiye genelinde hastanede yatan ve tedavi edilen vakaların 32'si (% 19.4) doğumdan sonraki ilk dört günde, 32'si (% 19.4) ise ongünden sonra hastaneye getirilmiştir (Tablo 3). Taburcu olan ve ölen vakaların doğumdan sonra hastaneye başvuru süresi incelendiğinde ölen vakaların taburcu olanlara göre daha büyük kısmının erken sürede hastaneye getirildikleri görülmektedir.

Taburcu olan ve ölen tetanoz vakalarının hastahanedeki kalış süreleri tablo 4'de görülmektedir. Ölümle sonuçlanan tetanoz vakalarının yarısından çoğu (% 56.9'u) hastaneye yatışlarının ilk üç gününde yaşamını kaybetmişlerdir. Taburcu olan vakaların ise sadece % 16.2'si üç gün, vakaların % 63.2'si ise on gün ve daha uzun süre hastanede kalmıştır. Ölen vakaların daha kısa süre kalması anlamlı olarak farklıdır.

Tablo 3 : Taburcu Olan ve Ölen Vakaların Doğumdan Sonra, Hastaneye Başvurduğu Süre (Gün)

Doğumdan Sonra Başvuru Süresi (Gün)	Sonuç					
	Taburcu		Ölüm		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	9	9.8	7	9.7	16	9.7
3-4	4	4.4	12	16.7	16	9.7
5-6	14	15.2	15	20.8	29	17.6
7-8	22	23.9	20	27.7	42	25.0
9-10	19	20.6	10	13.9	29	17.6
11 +	24	26.1	8	11.1	32	19.4
Toplam	92	100.0	72	100.0	164	100.0
	X= 13.06	Sd=5	P<0.05			

Tablo 4: Taburcu Olan ve Ölen Vakaların Hastanede Kalış Süreleri

Hastanede Kalış Süresi	Sonuç					
	Taburcu		Ölüm		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
≥ 3 Gün	15	16.2	41	56.9	56	34.2
4-6 gün	10	10.9	13	18.2	23	14.0
7-9 gün	9	9.8	6	8.3	15	9.2
10-12 gün	13	14.2	7	9.7	20	12.2
13 + gün	45	48.9	5	6.9	50	30.5
Toplam	92	100.0	72	100.0	164	100.0
	X ² = 45.09	Sd= 4	P<0.05			

TARTIŞMA

Bildirimi zorunlu hastalıklarda vaka bildirimini birçok faktör tarafından etkilenmektedir. Bunların bazıları hasta ve yakınına bazıları ise sağlık örgütlenmesiyle ilgilidir. İklimsel koşullar, coğrafik yapı, o bölgedeki sağlık hizmetlerinin nitelik ve niceliği, hizmete ulaşılabilirlik, toplum ve sağlık çalışanlarının hastalığa karşı gösterdikleri duyarlılık bu faktörler arasında en önemlileridir. Eideki mevcut verilere göre rutin surveyans sistemleri ile toplumdaki neonatal tetanoz vakalarının ancak % 2-5'inin saptanabildiği tahmin edilmektedir (5, 6). Mısır'daki neonatal tetanoz vakalarının ise yüzde onunun istatistiklere yansıdığı bildirilmiştir (). Ülkemizde, rutin bildirim sistemi ile saptanan 1990 yılı içerisindeki neonatal tetanoz sayısı 67 iken hastalığın özellikle araştırıldığı bu çalışmada, 164 vaka olarak saptanmıştır. Rutin bildirim sisteminde, vakalar sadece 24 vaka bildirilmiş iken, bu çalışmada 41 ilde vaka olduğu belirlenmiştir. Hastanelerdeki kayıt eksikliğinin olabileceği bir yara, hastaneye götürül-miyen ya da, birinci basamak sağlık hizmetleri aşamasında tanı ve tedavi yanlılığı ile de saptanamayan vakaların olduğu düşünülürse, ülkemizde neonatal tetanozun gerçek morbidite ve mortalite hızlarının daha farklı boyutlarda olduğu açıktır. Ayrıca, doğum öncesi ve doğumdaki neonatal tetanoza karşı yeterli önlemin alınamaması yanında neonatal dönem ölümlerinin kentsel alanda % 66.7'sinin kırsal alanda ise % 39.4'ünün ölüm öncesi hekim kontrolünden geçmesi yine bu dönem ölümlerin kentsel bölgede % 53.6'sının, kırsal bölgede ise % 10.4'ünün hastanede olması göz önüne alındığında, Türkiye'de neonatal tetanoz morbidite ve mortalitesinin hastane kayıtlarına dayalı bu çalışmada elde edilenden de daha yüksek olduğu söylenebilir (3,4).

Araştırmalar, neonatal tetanozun erkeklerde kadınlara oranla daha sık rastlanılan bir sağlık sorunu olduğu göstermesine karşın, bu durum yeterince açıklık kazanmamıştır. Bu çalışmada, 2,3 olarak bulunan erkek kadın oranı, hastane kayıtlarına dayalı diğer çalışmalarda 1.0 ile 3.7 arasındadır (2). Hastalığın erkeklerde daha sık görülmesi, toplumda erkek çocuklara toplumda verilen değer in daha fazla oluşu ile açıklanmak istenmişse de, ülkemizdeki alan araştırmalarında, neonatal dönemde ölüm öncesinde hekim muayenesinden geçme ve ölümlerin hastanede olup olmaması açısından cinsiyet farkı belirlenememiştir (3).

Neonatal tetanozda enfeksiyon başlangıcından, göbek kordonunun steril olmayan aletlerle kesimi veya steril olmayan maddelerle örtülmesini takiben, doğumdan hemen sonra olduğu kabul edilmektedir. Araştırmalar, vakaların % 90-90'ında ilk belirtilerin, hayatın 4-14'üncü günleri arasında ortaya çıktığını, hastaneye genelde 6.3 - 10.6'ncı günlerde yatırıldığını ilk belirtilerin çıkmasından sonra hastaneye yatmanın ortalama 1.4 - 3.2 gün sonra olduğunu göstermektedir. Bilinen en kısa enkübasyon periyodu iki gündür (7-9).

Bu çalışmada bebeğin hastaneye yatıştaki yaşının ortalama 8.1 gün olduğu bulunmuştur.

Ülkemizde ve Kolombiya, Sudan ve Endonezya'da yapılan neonatal tetanoz araştırmalarında neonatal dönem ölümleri incelendiğinde ölümlerin en çok doğumdan sonraki ilk üç gün içinde olduğu ve giderek azaldığı halde, neonatal tetanoz ölümlerinin doğumdan sonraki üç ve dördüncü günlerde başlıyarak yedi ve sekizinci günlerde en üst düzeye ulaştığı görülmektedir (8,9). Ancak, bu çalışmada taburcu olanların, ne durumda hastaneden çıkarıldığı ve daha sonraki prognozları bilinmemektedir.

Bu çalışmada hastaneye yatan vakaların kış mevsiminde daha çok olduğu saptanmıştır. Diğer ülkelerde yapılan araştırmalar da hastalığın mevsimsel dağılımının farklı olduğunu göstermektedir (8). Ancak, mevsimsel farklılığı, doğumların yıl içindeki dağılımı, tarımsal çalışmalar toplumun neonatal dönem hastalık ve ölümlerine karşı tutum ve davranışı vakaların hastaneye getirilişini etkileyebilecek diğer faktörler ve yaşamdaki mevsimsel hijyenik koşulların farklılığı meydana getirebileceği düşünülebilirse de bu konuda yeterli açıklık bulunmamaktadır.

Son yıllarda, pek çok ülke, neonatal tetanozun elimine edilmesi için, kendilerine uygun programlar geliştirmişlerdir.

Gelişmiş ve çocuk sağlığına gereken önemi vermiş ülkelerde rastlanmayan neonatal tetanoz ülkemizde hala önemli bir çocuk sağlığı sorunu olup gerçek boyutlarının ortaya çıkarılması ve etkin kontrol programlarının uygulanması gereklidir.

KAYNAKLAR

- 1- Neonatal Tetanoz Elimination, Issues and Future Directions, Meeting Proceeding, REACH, Alexandria--Virginia, USA, 1990.
- 2- Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Kayıtları.
- 3- Türkiye'de Bebek Ölümleri, Temel Etkenler, Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, Ankara, 1988.
- 4- 1988 Turkish Population and Health Survey, Hacettepe University Institute of Population Studies, Ankara, 1989.
- 5- Expanded Programme on Immunization, Global Advisory Group Meeting Report on Neonatal Tetanus Elimination, WHO Publication No:EPI/GAG/89/WP.9, Geneva, 1984.
- 6- Strassburg, M.A., "Guidelines for the Investigation and Control of Outbreaks of EPI target Diseases", WHO Publication No: EPI/GEN/84/7/Rev, 1, Geneva, 1984.
- 7- Prevention of Neonatal Tetanus, Report of a Meeting Lahore, WHO Technical Publication, EMRO Publication No: 7, 1982.

- 8- Galazka, A., Stroh, G., "Guidelines on the Community-Based Survey on Neonatal Tetanus Mortality", WHO Publication No: WHO/EPI/GEN/86/8, Geneva, 1986.
- 9- Stanfield, J.P., Galazka, A., "Neonatal Tetanus in the World Today," Bulletin of the WHO. 62 (4): 647-669, Geneva, 1984.

**SAGLIK BAKANLIGI AIDS ARASTIRMA VE DOGRULAMA
MERKEZİNDE 1987 – 1992 DÖNEMİNDE YAPILAN WB
ÇALIŞMALARI VE UNDETERMINATE WB VAKALARIN
TAKİPLERİ ***

Çiğdem ARTUK **

Nural AYDINURAZ **

Neziha YILMAZ ***

ÖZET

Şubat 1987 – Aralık 1992 arasında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, AIDS Araştırma ve Doğrulama Merkezine toplam 225 kan örneği gönderildi. Wellcome-Wellcozyme HIV Recombinant Micro Elisa kiti ile bu serumlarda HIV-I antikorları araştırıldı. 225 serumun 68 (% 30.22)'inde EIA ile HIV-I antikorları (+), 124 (% 55.11)'ünde (-), 33 (% 14.66) ünde de borderline olarak değerlendirildi. EIA ile HIV-I antikorları yönünden 68'i (+), 33'ü borderline toplam 101 kişinin serumu Western Blot (WB) ile doğrulamaya alındı. WB'ta EIA ile (+) 68 kişinin 58 (% 85,29)'ünde HIV-I IgG antikorlarına özgü bantlar görülürken, 7 (% 10.29) kişinin serumunda hiçbir bant görülmedi. Üç (% 4.41) kişiye ait serum da WB undeterminate (non spesifik bantlar) olarak değerlendirildi. EIA'nın undeterminate olduğu 33 serumun 21 (% 63, 63)'inde WB'da HIV-I'e özgü hiçbir antikor bantı gözlenmez iken, 12 (% 36, 37) hastada non spesifik bantlar (undeterminate WB) gözlemlendi. Doğrulama merkezine gelen WB ile undeterminate olarak değerlendirilen toplam 15 kişinin 7'si en az 8 haftalık ara ile 2-10 ay takip edildi. Undeterminate kişilerin hiçbirinde HIV-I IgG'ye özgü spesifik bant oluşumu görülmedi. Değişik çalışmalarda da gösterildiği gibi düşük risk gruplarında 15 günlük ara ile yapılacak olan 1-3 aylık takip süresinin yeterli olduğu düşünüldü.

* Birinci Türkiye AIDS Kongresi'nde (12-15 Ocak 1993) sunulmuştur.

** Mikrobiyoloji Uzm., Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Lab. ANKARA-TÜRKİYE

*** Inf.Hst.Klinik Mik.Uzm.Dr. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Lab. ANKARA-TÜRKİYE

WESTERN BLOT (WB) STUDIES OF UNDETERMINATE
CASES AND CONSECUTIVE TESTINGS, IN THE
PERIOD OF 1987 - 1992 AT MINISTRY OF
HEALTH AIDS RESEARCH AND
CONFIRMATION CENTER

SUMMARY

Hygiene Institute of Refik Saydam AIDS Research and Confirmation Center received 225 blood samples between February 1987 and December 1992. These samples were studied for HIV-I antibody using Wellcome Wellcozyme HIV Recombinant Micro Elisa Kit and 68 (30.22 %) out of 225 sera were found to be HIV-I antibody positive (+), 124 (55.11 %) were antibody negative (-) and 33 (14.66 %) were considered as borderline. These 68 (+) and 33 (borderline) sera were taken in to WB test for confirmation and in 58 (85.29 %) out of 68 samples the spesific bands of HIV-I IgG were observed and in 7 samples (10.29 %) no HIV-I IgG spesific bands were observed. 3 (4, 41 %) samples were considered as undeterminate (non spesific bands). In EIA borderline 21 (63.63 %) sera out of 33 no WB HIV-I IgG antibody bands were seen and in the remaining 12 (36.37 %) sera, non spesific band of WB were detected and these were considered as undeterminate WB cases. The bloods of those 7 patients out of 15, whose bloods were considered before as WB cases. The bloods of those 7 patients out of 15, whose bloods were considered before as WB undeterminate, were examined for 2 to 10 months through the period of at least 8 weeks and found that no spesific HIV-I IgG bands were developed at all. It has been thought that consecutive testing through 15 days period for 1 to 3 months would be sufficient as stated in some other studies.

GİRİŞ

Human Immunodeficiency Virus (HIV) infeksiyonlarının serodiagnozunda, WB, sıklıkla Enzim Immunoassay (EIA) ile pozitif yada borderline reaksiyon veren serumları doğrulamak için kullanılan en yaygın testlerden biridir (1).

HIV-1 antiijenleri, poliakrilamid jel elektroforezi ile nitroselüloz kağıda fraksiyone olarak transfer edilir. Serumda bulunan anti-HIV-1 antikorları ile reaksiyona girer. Enzimle konjuge anti-Human immunglobulin-G ile birlikte substratı parçalayarak renkli bir band oluşturur. WB ile, HIV infeksiyonunun karakteristik paternlerini belirleyen farklı HIV komponentlerine ait reaksiyonları aynı anda göstermek mümkündür (7).

WB, özgüllüğü ve duyarlılığı oldukça yüksek olan bir test olmasına karşın değerlendirilmesi kalitatiftir (1). Major struktürel HIV antijenlerine karşı oluşan pozitif antikor reaksiyonu ile hiçbir antikora özgü bantın gözlenmediği negatif reaksiyon arasında bazen belirsiz yada indeterminate reaksiyonlar görülebilir (1,7).

HIV serodiagnozunda karşımıza çıkan determinate WB sonuçları, önemli psikososyal sonuçları olan ciddi problemlere yol açar. Bu yüzden indeterminate WB bulgularının yorumu çok önemlidir.

İndeterminate WB sonucu, serokonversiyon başlangıcında olan gerçek bir HIV-1 enfeksiyonundan oluşabileceği gibi, çoğu zaman diğer enfeksiyon ajanlarıyla oluşan bir kross reaksiyondan veya serum proteinlerinin fizikokimyasal özelliklerinden kaynaklanan yalancı pozitiflikten olabilir (1).

HIV-1 enfeksiyonunun serodiagnozunda karşılaştığımız indeterminate WB sonuçlarında görülen anti-HIV-1 bant paternlerinin ortaya konulması, zaman içerisinde antikor paternlerinin stabl olup olmadığını araştırmak ve oluşabilecek bir serokonversiyonun değerlendirilmesi için, kişilerin serolojik olarak bir süre izlenmesini gerektirmektedir.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma 1987 Şubat-1992 Aralık ayları arasında Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı, AIDS Araştırma ve Doğrulama Merkezi'nde yapıldı. Çalışma kapsamına çeşitli Üniversite ve Sağlık Bakanlığı hastanelerinden gönderilen toplam 225 serum alındı. Tüm serumlarda Wellcome, Wellcozyme Recombinant, Mikro Elisa kiti ile anti-HIV-1 antikorları araştırıldı. Anti-HIV-1 antikorları EİA ile (+) ve borderline (pozitif yada negatif denilemeyen) serumlar WB (Diagnostic Biotech. ve Biotech Du pont kitleri) ile doğrulamaya alındı. Test sonuçları, kullanılan WB kitinin önerdiği kriterler doğrultusunda değerlendirildi. Doğrulamaya alınan 101 serumdan 15 serumda WB indeterminate olarak bulundu. İndeterminate WB sonucu olan 15 kişiden 7'si 8-40 hafta takibe alındı.

BULGULAR

AIDS Araştırma ve Doğrulama Merkezimize çeşitli Üniversite ve Sağlık Bakanlığı Hastanelerinden gönderilen 225 serumun Rekombinant Mikro ELİSA HIV-1 antigen kiti ile yapılan anti HIV-1 antikor taramasında 68 (% 30,22)'ü EİA (+), 33 (% 14,66)'ünde EİA Borderline, 124 (% 55,61)'ünde de EİA (-) olarak bulundu. EİA ile anti HIV-1 antikor yönünden 68'i (+), 33'ü borderline sonuçlu toplandı, 1 serum WB ile doğrulamaya alındı. WB ile yeniden test edilen 101 serumun 58 (% 57,42)'inde WB (+), 29 (% 27,72)'unda WB (-), 15 (% 14,86)'inde de WB indeterminate olarak bulundu (Tablo-1).

TABLO-1: 1987 Şubat-1992 Aralık, Ayları Arasında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, AIDS Araştırma ve Doğrulama Merkezinde EIA ve WB ile Alınan Anti-HIV-1 IgG Sonuçları.

TEST METODU	TEST EDİLEN SERUM SAYISI	SERUM SAYISI					
		POZİTİF		NEGATİF		İNDETER	
		n	%	n	%	n	%
Rekombinant Mikro ELİSA	225	68	30.22	124	55.61	33	14.66 (*)
Western-Blot	101	58	57.42	28	27.72	15	14.86 (**)

* Borderline (+-) EIA

** Kitiin önerdiği (+) veya (-) kriterlere uymayan reaksiyonlar

EİA ile HIV-1 antikorları (+) yada borderline olan serumlar WB ile doğrulamaya alındı. EİA ile (+) 68 serumun 58 (%85.29)'inde WB (+), 7 (% 10.29) unda WB (-), 3 (% 4.41)'inde de WB (-) olarak bulundu. EİA (±) olan 33 serumun 21 (% 63.63)'inde WB (-), 12 (% 36.37)'sinde WB indeterminate olarak bulundu (Tablo-2).

TABLO-II: WB ile Doğrulamaya Alınan Serumların EİA Sonuçlarına Göre Dağılımı.

METOD	DOĞRULAMAYA ALINAN SERUM SAYISI	WESTERN-BLOT SONUÇLARI					
		POZİTİF		NEGATİF		İNDETERM	
		n	%	n	%	n	%
EIA(+)	68	58	85.29	7	10.29	3	4.41
EIA (*) BORDER-LİNE	33	0	0	21	63.63	12	36.37
TOPLAM	101	58	57.42	28	27.72	15	14.86

(*) EİA (+-)

Tablo-2'dende görüldüğü gibi HIV-1 antikorları yönünden EIA borderline olan serumlarda indeterminate WB daha fazla sıklıkta bulundu.

Takibe alınan WB indeterminate bulunan 7 serumda tespit ettiğimiz HIV-1 antikorları Tablo-III'de gösterilmiştir. En sık rastladığımız antikor bandı p55 ve p24 idi.

TABLO-III: Indeterminate WB Sonucu Alınan 7 Seruma Ait Band Paterni.

HASTA SAYISI	COR ANTİKOR			POLİMERAZ ANTİKOR			ENVELOPE ANTİKOR	
	p17/ p18	p24	p55	p31	p51	p66	gp41	gp120/ gp160
1	+		+					
2		+						
1			+					
1								+
2		+	+					

(*) gp120/160 tek band olarak değerlendirildi.

TARTIŞMA VE SONUÇ:

HIV-1 antikorları için özgül ve duyarlı testlerin gelişmesi bu retrovirusunun AIDS etkeni olarak kabul edilmesinden sonra hızla ilerledi. HIV-1 antikorlarını tespit etmeye yönelik olan bu testler HIV infeksiyonlarının klinik tanısını desteklemek, semptomatik ve asemptomatik HIV infeksiyonlarında yapılacak diğer testlerin prognozlanması, seroepidemiolojik araştırmaların yapılması ve kan donörlerinin taranması için uygulanır.

HIV-1 antikorlarının serumda gösterilmesi, HIV infeksiyonlarının tanısı için en sık uygulanan tanı yöntemidir. Bugün HIV-1 antikorlarını test etmek için uygulanan en yaygın strateji yüksek duyarlı bir EIA ile alınan (+) sonucun WB ile doğrulanmasıdır (3).

Çeşitli HIV-1 viral proteinlerine karşı serumda oluşan antikorları saptamada WB testinin duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksek olmasına karşın, WB testinin değerlendirilmesinde tam bir fikir birliği yortur (7). Bugün dört değişik WB değerlendirme kriteri vardır (4, 7). Tablo-IV).

TABLO-IV: WB Testini Değerlendirme Kriterleri (7).

KURULUŞ YA DA KIT ADI	WB SONUCUNUN POZİTİF KABUL EDİLMESİ İÇİN GEREKEN MINIMUM BANDLAR
ASTPHL/CDC *	p24 ve gp41 veya gp120/160
Du-PONT **	p24 ve p31 ve gp41 veya gp120/160
CRSS *	p24 veya p31 ve gp41 veya gp120/160
ARC *	en az bir Gag + bir pol. + bir envelope gen ürününe karşı reaktivite

*Kuruluş Adı ** Kit adı

ASTPHL: The association of state and Territorial Public Health Labrotory
Directors.

CDC : Centers for Diseases Control Athlanta

ARC : American Red Cross Washington

CRSS : Consortium for Retrovirus Serology Standardization.

Tam tipik WB pozitifliğinde nitroselüloz strip üzerinde HIV-1 antijenlerinin bulunduğu tüm bölgelerde band oluşumu gözlenir. Ancak HIV infeksiyonu olan kişilerin serumlarında her zaman tüm virus antijenlerine karşı antikor oluşmaz. Bu yüzden WB şeridinde tüm bandlar gözlenmeyebilir. HIV-1'e özgü hiçbir bandın gözlenmemesi, tüm WB değerlendirme kriterlerine göre negatif olarak kabul edilir (5, 7, 9, 10).

Asemptomatik dönemde tüm seropozitiflikler (+) olarak değerlendirilecektir. Ancak infeksiyonun erken veya geç dönemlerinde farklı kriterler kullanıldığında farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Çünkü infeksiyonun başlangıcında tüm antikorlar birden oluşmamaktadır. Önce envelope ve kor antikorlar oluşmakta ve klinik bulgular ortaya çıktıkça, bazı antikorlar (anti4i-p244) kaybolabilmektedir (10, 11, 12). Bu nedenle WB sonuçlarının dikkatli yorumlanması gerekir. Pozitiflik ve negatiflik kriterlerine uymayanlar indeterminate (kesin olmayan) WB olarak adlandırılmaktadır. Önceleri her zaman kesin sonuç alınan bir doğrulama testi olarak düşünülen WB testinde, bugün zaman zaman indeterminate sonuçlar alınmaktadır (1, 2, 10).

Dört değişik WB değerlendirme kriteri karşılaştırıldığında CDC/ASTPHL'nin önerdiği kriterleri ile en az indeterminate WB sonucu alındı (7).

İndeterminate WB sonucu, serokonversiyon başlangıcındaki gerçek bir HIV-1 infeksiyonunu gösterebileceği gibi diğer infeksiyon ajanlarıyla olan kross reaksi-

yonlardan veya normal serum proteinlerinin fizikokimyasal özelliklerinden de kaynaklanabilir (1, 6). Serokonversiyondan sonra WB ile alınan ilk reaktivite p24 bantında oluşmaktadır. Yüksek riskli gruplarda buna pol veya gag gen ürünlerinden biri eşlik edebilir. Bu nedenle indeterminate WB sonuç alınan kişilerin serumları dikkatlice bir süre uygun test stratejileri ile takip edilmelidir.

CDC, indeterminate WB sonucu olan kişilerin serumlarının 6 ay sonra tekrar incelenmesini önermektedir. Altı ay sonra karakteristik band gelişmeyen ve düşük risk grubunda olan kişilerde HIV-1 enfeksiyonun olmadığı gösterilmiştir (7, 10). Ancak söz konusu kişiye kesin bir sonuç verilememesi ve 6 ay gibi uzun bir süre bekleme zorunluluğu, kişilerde ciddi sonuçları olan psikososyal rahatsızlıklara neden olmaktadır.

p18, p34, p55, p66, band örneği olan kişilerde HIV enfeksiyonunun söz konusu olmadığı ve takibe gerek olmadığı ileri sürülmekte ayrıca ikinci kan örneğinin 2-3 ay sonra alınmasının yeterli güvenilirlikte olduğu vurgulanmaktadır (10, 12). Pasteur Enstitüsü, indeterminate WB sonuç alan kişilerden ikinci kan örneğinin bir ay sonra alınmasını önerirken, Dünya Sağlık Örgütü en az iki haftalık intervalle alınan ikinci kan örneğinde, HIV-1'e özgü band örneği görülmeyen ya da pozitiflik kriterleri oluşmayan, düşük risk grubunda bulunan kişilerde HIV-1 enfeksiyonunun söz konusu olmadığını ileri sürmektedir (3, 6, 8, 10).

Diğer çalışmalarda da olduğu gibi, sekiz ile 40 hafta süre ile takibe aldığımız indeterminate sonuçlu 7 serum örneğinde, takip süresince HIV-1'e özgü yeni bir bandın görülmemesi, hepsinin düşük risk grubunda bulunması, 6 aylık takip süresinin uzun olduğunu gösterdi (6, 10). En az 2 hafta ara ile alınan kan örneklerinde HIV-1'e özgü yeni bir band oluşmadan benzer band paternleri görülmesi, indeterminate WB sonuçlu düşük risk grubunda bulunan kişileri 1-3 ay süre ile takip etmenin yeterli güvenilirlikte olacağı sonucuna götürdü.

KAYNAKLAR

- 1- Lantin J.P., Graf I, Frei P.C: Serological diagnosis of HIV infection: Incidence, outcome and significance of partial reactions found in Western blot analysis. Clin. exp. Immunol, 76: 332-336, 1989.
- 2- Pezzella M, Rosci A.M, Vonesch N: Persistence of HIV-1 Silent Infection in Seronegative Subjects at High Risk. Journal of Medical Virol. 35: 14-18, 1991.
- 3- WHO: Global Programme on AIDS. Weekly Epidemiological Record. 67: 145- 1992.
- 4- Notes and News: False Positive HIV Western Blots. The Lancet. July 22: 231, 1989.

- 5- WHO: Proposed WHO criteria for interpreting results from Western blot assays for HIV-I, HIV-II, and HTLV-I/HTLV-II. *Weekly Epidemiological Record*. 65: 281-288. 1990.
- 6- Settergren B, Lars A, Burman: Long-term Persistence of False Positive Antibody Reactivity in HIV WB Testing of Sera from a Healthy Blood Donor. *Scand J. Infect Dis*. 21: 233-235. 1989.
- 7- ASTPHLD/CDC: Interpretation and Use of the WB Assay for Serodiagnosis of HIV-I Infections. 38: 1-7. 1989.
- 8- Nusbacher J, Naiman R.: Longitudinal follow up of blood donors found to be reactive for antibody to human immunodeficiency virus by enzyme linked immunoassay (EIA +) but negative by WB (WB-). *Transfusion*. 29:4. 1989.
- 9- Valerie L, Chiang C.S, Debouck C.: Reliable Confirmation of Antibodies to HIV-I with Enzyme-Linked Immunoassay Using Recombinant Antigens Derived from the HIV-I gag, pol, and env Genes. *Journal of Clinical Microbiology*, 27: 977-982. 1989.
- 10- Yılmaz G, Badur S, Çetin E. T.: HIV Enfeksiyonlarının Tanısında Karşılaşılan Güçlükler. *Klinik Dergisi*. 3: 145-148. 1990.
- 11- Mandel, Gerald L, Douglas R.G, Bennet J. E.: Diagnosis of HIV Infections. *Infectious Diseases*, 1092-1101. 1990.
- 12- Kleinman S.: The Significance of HIV-I indeterminate WB results in blood Donor Population. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 114: 298-303. 1990.

DEKÜBITIS YARALARINDAN ÜRETİLEN MİKROORGANİZMALAR VE ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

M.Ali AKDENİZLİ *

Mehmet KIYAN **

A.Tevfik CENGİZ **

ÖZET

Bu çalışmada, Ankara Rehabilitasyon Merkezi'nde travmatik parapleji tanısı ile yatan, çeşitli yaş grubundan kadın-erkek 124 olgunun dekübitis yaralarından üretilen bakterilerin antibiyotik duyarlılığı gözden geçirilmiştir. Bu lezyonlardan Staphylococcus aureus (31), Staphylococcus epidermidis (9), E.coli (17), Klebsiella (10), Proteus (33) ve Pseudomonas aeruginosa (24) patojen etkenler olarak elde edilmiştir.

Bu mikroorganizmaların disk-diffüzyon yöntemi ile 14 antibiyotiğe duyarlılık-direnç durumları araştırılmış ve konu ile ilgili bulgular değerlendirilmiştir. Staphylococcus aureus'lar amoxicillin-clavulanic acid (28/31), cefotaxime (28/31) ofloxacin (29/31), ceftriaxone (29/31) ve amikacin'e (24/31) oranlarında duyarlı bulunmuştur. Bu antibiyotikler Staphylococcus epidermidis'ler içinde etkinlik göstermektedir. Amikacin ve ofloxacin, E.coli için (16/17) oranında etkin bulunmuş, bu iki antibiyotiğe Klebsiella'ların tamamı duyarlılık göstermiştir. Pseudomonas aeruginosa'ların tamamının amikacin'e duyarlı olduğu gözlenmiş ve 10/24 ofloxacin invitro etkinliği not edilmiştir. Proteus'ların antibiyotik duyarlılık oranları ise amikacin (28/33) ofloxacin (26/33), ceftriaxone (12/33), cefotaxime (8/33) ve amoxicillin-clavulanic acid (6/33) şeklinde belirlenmiştir.

MICROORGANISMS GROWTH ON DECUBITUS WOUNDS AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY

SUMMARY

In this study, antibiotic susceptibility of bacteria which was isolated from decubitus lesions of 124 patients (man and woman) who has paraplegic symptom at Ankara Rehabilitation Center, was scrutinized. In these

* Bayındır Tıp Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara—TÜRKİYE

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Ankara—TÜRKİYE

lesions we have observed pathogenic growth of *Staphylococcus aureus* (31), *Staphylococcus epidermidis* (9), *E.coli* (17), *Klebsiella* (10), *Proteus* (33) and *Pseudomonas aeruginosa* (24).

Susceptibility and resistance state of 14 antibiotics was investigated of these microorganisms by disc-diffusion methods. Susceptibility values of *Staphylococcus aureus* was found against amoxicillin-clavulanic acid (28/31), cefotaxime (28/31), ofloxacin (29/31), ceftriaxone (29/31) and amikacin (24/31). These antibiotics effected for *Staphylococcus epidermidis*. Amikacin and ofloxacin were found active for *E.coli* (16/17). All *Klebsiella* strains were susceptible to these 2 antibiotics. All *Pseudomonas aeruginosa* strains were found susceptible to amikacin and 10/24 invitro activity of ofloxacin was recorded. Antibiotics susceptibility ratio of *Proteus* strains was determined against amikacin (28/33), ofloxacin (26/33), ceftriaxone (12/33), cefotaxime (8/33) and amoxicillin-clavulanic acid (6/33).

GİRİŞ

Klinikte yatan, kısa veya uzun süreli takibi yapılan hastalarda ortaya çıkan komplikasyonlardan birisinin de, yatak yaraları olduğu bildirilmektedir. Bu yaraların, kısa süreli hasta izleme merkezlerinde % 3 ve uzun süreli izleme yapılan birimlerde % 45 oranlarına yükselebileceğine işaret edilmektedir (1). Bu komplikasyonlar, medulla spinalis yaralanmalarında en sık olarak sakral ve iskiüm bölgelerinde ortaya çıkmaktadır (2). Yarkony, Kirk ve ark. (3), yatak yaralarını 6 dereceye ayırmakta, kızarıklığı 1. derece olarak değerlendirmektedir. Bu skalada 30 dakikadan fazla—24 saatten az süren kızarıklıklar la olarak isimlendirilirken, 24 saatten fazla süreler 1b şeklinde değerlendirilmektedir. Epidermisi ve dermisi tutmuş olanlar ise, 2. derece kapsamında incelenmektedir. Shea (4) ise epidermisle sınırlı olanlar 1. derece, dermisi tamamını kapsayanlar 2. derece, yağ tabakası tutulumu da gösterenler 3. derece sınıflandırımını yapmaktadır. Bu skalada yaranın tabanında kemik görülmesi ve kas tutulumu halinde 4. derece yatak yarısından söz edilmektedir. Eklem boşluğu ve sinüzal yollar da tutulum içinde ise 5. derece yatak yarası ortaya çıkmaktadır.

Dekübitis ülserlerinde aerob—anaerob çeşitli bakterilerin varlığı bildirilmektedir (5, 6). Ehrenkranz ve ark. (5), dekübitis ülserlerden (11. derece: 9, 111. derece: 16 ve IV. derece: 7) sistemik antimikrobial tedavi gören 16 olgudan 15'inde (%93.8) aerob ve 9'unda (% 56.3) anaerob bakteri izolamanını açıklarken, antibiyotik verilmeyen 16 olgudan 15'inde (% 93.8) aerob ve 8'inde (% 50) anaerob bakteri varlığını bildirmektedir. Bu arada *Enterococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis* ve *Peptostreptococcus spp* etkinliği de vurgulanmıştır. Bryan ve ark (6) ise dekübitis ülserli 102 hastada 104 bakteriyemi atağını ve bunlardan % 49'unda kaynağın dekübitis yaraları olabileceğini açıklamışlardır.

Bu çalışmada Ankara Rehabilitasyon merkezi'nde travmatik parapleji tanısı ile yatan, çeşitli yaş grubundan 124 olgunun dekübitis yaralarından üretilen bakterilerin dağılımı ve bunların antibiyotik duyarlılığı gözden geçirilmiştir. Böylece dekübitis ülserlerinin tedavisinde kullanılabilecek antibiyotikler not edilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ankara Rehabilitasyon Merkezi'nde travmatik parapleji tanısı ile yatan çeşitli yaş grubundan kadın-erkek 124 olgunun dekübitis ülserlerinden bakteriyolojik kültür yapılmış ve antibiyotik duyarlılığı gözden geçirilmiştir.

Yara sürüntü örnekleri kanlı ağız, Mac Conkey agar ve Sabouraud agar besiyerlerine aktarılmış ve kültür plakları 37° C'de 48 saat ve Sabouraud ekimleri 7 gün bekletilmiştir. Bakterilerin morfolojik, biyokimyasal ve diğer özelliklerine bakılarak, klasik identifikasyon ve değerlendirim yapılmıştır (7,8).

Bu mikroorganizmaların, disk diffüzyon yöntemi ile anti-bakteriyellere duyarlılıkları araştırılmış ve bakteri üreme önlenim alanının çapına göre dirençlilik duyarlılık durumları gösterilmiştir (9-11).

BULGULAR

Travmatik parapleji nedeniyle yatalak olan ve dekübitis ülseri gelişen 124 olgunun yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

TABLO-1: Çalışma grubunun yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş Grubu	Cinsiyet		Toplam
	Kadın	Erkek	
18 - 20	6	18	24
21 - 30	9	33	42
31 - 40	7	16	23
41 - 50	5	13	18
51 - 60	1	14	15
61 ve üstü	-	2	2
Toplam	28	96	124

Bu olguların kadın: 28 ve erkek: 96 dağılım içinde olduğu ve 21-30 yaş grubunda 42 olgunun bulunduğu gözlenmiştir.

Seröz, kanlı veya pürülan akıntılı yara bölgelerinden üretilen mikroorganizmaların dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

TABLO-2: Dekübitis ülser sürüntü örneklerinden üretilen bakterilerin dağılımı

Mikroorganizma	Olgu Sayısı
Staphylococcus epidermidis	9
Staphylococcus aureus	31
E.coli	17
Klebsiella	10
Proteus	33
Pseudomonas aeruginosa	24
TOPLAM	124

Bu tabloda görüldüğü üzere lezyonlardan Staphylococcus aureus (31), Proteus (33) ve Pseudomonas aeruginosa (24) ilk sıraları alırken, E.coli (17), Klebsiella (10) ve Staphylococcus epidermidis (7)'in daha düşük oranlarda olduğu anlaşılmıştır.

Bu bakterilerin antibakteriyellere duyarlılığı araştırılmış ve antibiyogram sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Bu tablodaki rakamlar olgu ve toplam suş sayısını göstermekte olup, antibakteriyellerin duyarlılık-dirençlilik durumları, toplu bir şekilde özetlenmiştir.

Staphylococcus aureus'lar amoxicillin-clavulanic acid (28/31), ofloxacin (29/31), ceftriaxone (29/31), cefotaxime (28/31), amikacin (24/31) oranlarında duyarlı bulunmuştur. Bu antibiyotikler Staphylococcus epidermidis'ler içinde etkinlik göstermektedir. E.coli için ofloxacacin ve amikacin en etkili antibiyotikler olarak belirlenmiştir (16/17). Bu iki antibiyotiğe Klebsiella'ların tamamı duyarlı bulunmuştur. Pseudomonas aeruginosa'ların tamamının amikacin'e duyarlı olduğu gözlenmiş ve 10/24 ofloxacacin invitro etkinliği not edilmiştir. Proteus'ların antibiyotik duyarlılık oranları ise amikacin (28/33), ofloxacacin (26/33), ceftriaxone (12/33), cefotaxime (8/33) ve amoxicillin-clavulanic acid (6/33) şeklinde belirlenmiştir.

TABLO-3: Dekübitis üselerinden üretilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığı:

Antibiyotik	Duyarlılık ve Dirençlilik	Sayısı						
		Staphi- 9	S.aure- 31	E.coli 17	Klib- ciella 10	P.Aure. 24	Pro- teus 33	
Amoksisicillin	Duyarlı	7	23	8	5	5	3	
	Dirençli	2	8	9	5	19	30	
Ampisillin	Duyarlı	7	17	8	4	4	7	
	Dirençli	2	14	9	6	20	26	
Amoksisillin+ Klavulanik asid	Duyarlı	9	28	10	6	6	6	
	Dirençli	-	3	7	4	18	27	
Penisillin	Duyarlı	6	9	-	-	-	-	
	Dirençli	3	22	-	-	-	-	
Eritromisin	Duyarlı	7	12	-	-	-	-	
	Dirençli	2	19	-	-	-	-	
Tetracycline	Duyarlı	6	11	-	-	-	-	
	Dirençli	3	20	-	-	-	-	
Sefalotin	Duyarlı	7	15	7	3	3	4	
	Dirençli	2	16	10	7	21	29	
Seftriakson	Duyarlı	9	29	9	5	9	12	
	Dirençli	-	2	8	5	15	21	
TMP/STX	Duyarlı	7	14	10	6	4	6	
	Dirençli	2	17	7	4	20	27	
Gentamisin	Duyarlı	8	13	13	7	10	8	
	Dirençli	1	18	4	3	14	25	
Tobramisin	Duyarlı	8	15	13	8	13	10	
	Dirençli	1	16	4	2	11	23	
Amikasin	Duyarlı	8	24	16	10	24	28	
	Dirençli	1	7	1	-	-	5	
Ofloksasin	Duyarlı	9	29	16	10	10	26	
	Dirençli	-	2	1	-	14	7	
Cefotaxime	Duyarlı	9	28	9	5	8	8	
	Dirençli	-	3	8	5	16	25	

TARTIŞMA

Derinin normal florası, az virulan nitelikli suşları kapsamaktadır. Bu florada koagülaz negatif *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* spp, anaerob bakterilerden *Propionibacterium* spp ve *Peptococcus* bulunmaktadır (12, 13). Bu arada *Staphylococcus aureus*, potansiyel patojen olarak önem taşımaktadır. Gram negatif enterik bakterilerden *Escherichia coli* ve *Proteus* spp, *Acinetobacter* spp ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın kasık ve perinede kolonizasyonu ile deri lezyonları gelişebilmektedir (14).

Deri ülserasyonları basınç, arteriyel ve venöz dolaşım bozuklukları, pH değişiklikleri ve nöropati etkinliği ile gelişmekte, mikroorganizmaların yumuşak doku penetrasyonu ortaya çıkabilmektedir. Sellülit ve pürülan akıntıda yüksek konsantrasyonda, saf kültür halinde *Staphylococcus aureus*, *Hemolytic Streptococcus* ve anaerobik bakteri (*Bacteroides* spp, *usobacteria*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*) çoğalabilmektedir (15). Basınç ülserleri için, bakımevindeki yatalak hastalarda, % 3–11 oranları verilmektedir (16, 17). Nitekim 3 haftalık hareketsiz hastaların % 7.7'sinde basınç ülserlerinin geliştiği bildirilmiştir (16). Bu arada basınç ülserli hastaların % 50'sinin 70 yaş dolayında olduğu da belirtilmiştir (18). Basınç ülserleri aynı zamanda ölüm riski de göstermektedir. Basınç ülserli bu hastalardan, hastanede ölüm oranı % 23–37 olarak açıklanmıştır (16, 19, 20).

Basınç ülserlerinin gelişiminde hareketsizlik, en önemli risk faktörü durumundadır. Hipoalbuminemi, dışkı inkontinansı, kırık gibi faktörler yanında vitamin C ve diğer nütrisyonel noksanlıklar, yaş, derinin kanlanma ve permeabilite durumu da önemii predispozan etkinliklerdendir (21, 22). Bu ülserlerde çeşitli bakteriler arasında, anaerobların da önemli bir yeri olduğuna işaret edilmektedir (16, 23, 25). Kültürlerde % 23–45 oranında gram negatiflerden *Escherichia coli*, *Klebsiella* ve *Pseudomonas aeruginosa*, % 19–39 oranında gram pozitif koklardan *Staphylococcus aureus*, grup A *Streptococcus*, *Enterococcus* ve diğer *Streptokoklar*, % 16–50 oranında anaerobik bakterilerden *Bacteroides fragilis* elde edilebilmektedir (6, 26).

Dekübitis ülser infeksiyonunun kültürle tanımlanabilmesi için genellikle aspirasyon biyopsisi önerilmektedir (24, 27, 28). Ancak aktif infeksiyon varlığında, dekübitis ülserinden kültür yapımında cerrahi biyopsi ve travma ile, bakteriyemiye yol açılmaması gerekmektedir. Zira bu, oldukça önemli bir komplikasyondur (6, 26, 29, 30). Bryan ve ark. (6), dekübitis ülserli 102 hastada 104 bakteriyemi epizodunu ve bunlardan % 49'unda kaynağın, bu ülserler olduğunu açıklamışlardır. Bu arada *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* ve *Bacteroides* izolmanını bildirmişlerdir. Bu potansiyel tehlike karşısında, non–travmatik yöntemler önerilmektedir.

Bizim çalışmamızda de kübitis yarasından sürüntü örnekleri alınmış ve bakteriyolojik inceleme yapılmıştır. Bu örneklerden saf kültür halinde *Staphylococcus*

aureus (31), Staphylococcus epidermidis (9), E.coli (17), Klebsiella (10), Proteus (33) ve Pseudomonas aeruginosa (24) elde edilmiştir. Burada görüldüğü üzere Proteus ve Staphylococcus aureus'lar ilk sıralarda elde edilmiştir. Yatalaklarda % 7.3 ve % 12 oranlarında Staphylococcus aureus elde edildiği ve bu bakterinin önemli patojenlerden olduğu vurgulanmıştır (31-33). Murphy ve ark. (34) da bu konudaki bulgularını açıklamışlardır. Pseudomonas aeruginosa'da fırsatçı bir mikroorganizmadır, özellikle organizma direncinin kırıldığı durumlarda değişik infeksiyonlar yapabilmektedir (35, 36). Bizim araştırmamızda da Pseudomonas izolman oranı % 19.3 düzeyine ulaşmıştır.

Sellülitis, sepsis ve osteomyelitiste sistemik antibiyotik kullanımı önerilmektedir (37). Gram negatif basil, anaerob bakteri ve gram pozitif kok infeksiyonlarında geniş spektrumlu antibiyotiklerin, bu arada sefalosporinler, clindamycin ve gentamicin'in uygunluğuna işaret edilmiştir (37-39). Bu ülker infeksiyonlarında gentamicin ve sulfadiazin, lokal olarak da kullanılabilir (40-42). Deri ve yumuşak doku infeksiyonlarında antistaphylococcal penicillin, flucloxacillin'in, anaerobik bakteri varlığında metronidazole ile birlikte verilebileceğine işaret edilmektedir. Gram negatif enterik organizmalar ve Pseudomonas aeruginosa infeksiyonlarında paranteral aminoglycoside örneğin gentamicin ile başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Ceftazidime ve ciprofloxacin alternatif antibiyotikler durumundadır (43-44).

Çalışmamızda, bakterilerin antibiyotiklere direncinin arttığı gerçeği de dikkate alınarak, hastaların tedavisini de yönlendirmek üzere, dekübitis yaralarından elde edilen bakterilerin dirençlilik-duyarlılık durumları irdelenmiştir. Bizim çalışmamızda farklı duyarlılık-direnç oranları elde edilmiş ve dekübitis üsterlerinde bakteriyolojik kültür yanında, antibiyogram sonuçlarına göre tedaviye geçilmesinin gerektiği anlaşılmıştır. Bu arada dekübitis yaralarının tedavisinde florokinolonların, sefalosporinlerin ve amikacin'in öncelikli antibakteriyeller olduğu kanaatine varılmıştır. Amoxicillin-clavulanic acid'in de tedavi şemasında yeri bulunduğu gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- 1- Yarkony GM, Kramer E, King R et al: Pressure sore management efficacy of moisture reactive acclusive dressing. Arch. Phys.Med.Rehabil., 65: 597-600, 1984.
- 2- Stover SL, Fine PR: Spinal cord injury the facts and figures. Birmingham, Ala: The University of Alabama at Birmingham, 1986, pp:41-43.
- 3- Yarkony GM, Kirk PM, Carlson C, Roth EJ, Lovell L, Heinemann A, King R, Lee MY, Betts HB: Classification of Pressure Ulcers., Arch. Dermatol., 126: 1218-1219, 1990.

- 4- Shea JD: Pressure sores: Classification and management. *Clin. Orthoped.*, 112: 89—100, 1975.
- 5- Ehrenkranz NJ, Alfonso B, Nerenberg D: Irrigation—aspiration for culturing draining decubitus ulcers: Correlation of bacteriological findings with a clinical inflammatory scoring index. *J. Clin. Microbiol.*, 28: 2389—2393, 1990.
- 6- Bryan CS, Dew CE, Reynolds KL: Bacteremia associated with decubitus ulcers. *Arch. Intern. Med.*, 143: 2093—2095, 1983.
- 7- Lennette EH, Balows A, Hausler Jr WJ, Shadomy HJ (eds): *Manual of clinical microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1985.
- 8- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: *Review of Medical Microbiology*, 17th ed. Appleton/Lange Med. Publ. Los Altos. 1987. pp: 136—137, 217—251.
- 9- Sanford JP: *Guide to antimicrobial therapy*. Antimicrobial therapy. Inc. Dallas, 1992.
- 10- Thornsberry C: Antimicrobial susceptibility testing: General consideration in: *Manual of Clinical Microbiology*. eds: Balows A et al. American society for microbiology. Washington DC, 1991. pp: 1059—1064.
- 11- National committee for clinical laboratory standards: Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests, 3rd ed. Approved standards: m2—A3 NCCLS, Villanova, PA, 1984.
- 12- Noble WC: *Microbiology of human skin*. 2nd ed. London. Lloyd—Luke, 1981, pp: 14—17.
- 13- Noble WC, presbury D, Connor BL et al: Prevalance of Streptococci and Staphylococci in lesions of impetigo. *Br. J. Dermatol.*, 91: 115—116, 1974.
- 14- Finch R: Skin and soft—tissue infections. *Lancet* 1: 164—167, 1988.
- 15- Jones EW, Edwards R, Finch R, Jeffcoate WJ: A microbiological study of diabetic foot lesions. *Diabetic Med.*, 2: 213—215, 1985.
- 16- Allman RM, Laprade CA, Noel LB et al: Pressure sores among hospitalized patients. *Ann. Intern. Med.*, 105: 337—342, 1986.
- 17- Scheckler WE, Peterson PJ: Infections and infections control among residents of eight rural wisconsin nursing homes. *Arch. Intern. Med.*, 146: 1981—1984, 1986.
- 18- Peterson NC, Bittman S: The epidemiology of pressure sores. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, 5: 62—66, 1971.
- 19- Michocki RJ, Lamy PP: The problem of pressure sores in a nursing home population statistical data. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 24: 323—328, 1976.
- 20- Allman RM, Walker JM, Hart MK, Laprade CA, Noel LB, Smith CR: Airfluidized beds or conventional therapy for pressure sores: a randomized trial. *Ann. Intern. Med.*, 107: 641—648, 1987.

21. Husain T: An experimental study of some pressure effects on tissues, with reference to the bed-sore problem. *J. Pathol Bacteriol.*, 66: 347—358, 1953.
22. Carter DM, Balin AK: Dermatological aspects of aging. *Med. Clin. North Am.*, 67: 531—543, 1983.
23. Caribaldi RA, Brodine S, Matsumiya S: Infections among patients in nursing homes policies, prevalence and problems. *N Engl. J. Med.*, 305—731—735, 1981.
24. Sapico FL, Ginunas VI, Thornhill—Joynes MT et al: Quantitative microbiology of pressure sores indifferent stages of healing. *Diagn. Microbiol. Infect Dis.*, 5: 31—38, 1986.
25. Haley RW, Hightover AW, Khabbnz RF et al: The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the united states hospitals: possible role of the housestaff-patient transfer circuit. *Ann. Intern. Med.*, 97: 297—308, 1982.
26. Galpin JE, Chow AW, Bayer AS, Guze LB: Sepsis associated with decubitus ulcers. *Am. J. Med.*, 61: 346—350, 1976.
27. Lee PC, Turnidge J, Mc Donald PJ: Fine-needle aspiration biopsy in diagnosis of soft tissue infections. *J. Clin. Microbiol.*, 22: 80—83, 1985.
28. Garner JS, Jarvis WR, Emori JG, Horan TC, Hughes JM: CDC definitions for nosocomial infections. *Am. J. Infect. Control.*, 16: 128—140, 1988.
29. Chow AW, Galpin JE, Guze LB. Clindamycin for treatment of sepsis caused by decubitus ulcers. *J Infect. Dis.*, 735: 565—568, 1977.
30. Meyers BR, Sherman E, Mendelsen MH, Velasquez G, Srulévitch—Chin E, Hubleard M, Hirschman SZ: Blood stream infections in the elderly. *Am. J. Med.*, 86: 379—384, 1989.
31. Thompson RL, Cabozudo L, Wenzel RP: Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Intern. Med.*, 97: 309—317, 1982.
32. Thomas JC, Bridge J, Waterman S et al: Transmission and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a skilled nursing facility. *Infect Control Hosp. Epidemiol.*, 10: 106—110, 1989.
33. Storch GA, Radcliff JL, Meyen PL, Hinriches J: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a nursing home. *Infect Control.*, 8: 24—29 1987.
34. Murphy S, Denman S, Bennett RG, Greenough WB, Lindsay J, Zelesnick LB: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a long-term-care facility. *JAGS.*, 40: 213—217, 1992.
35. Bergan T: Pathogenetic factor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Scand. J. Infect Dis. Suppl* 29: 7—12, 1981.
36. Bray DA, Calcaterra TC: *Pseudomonas meningitis* complicating head and neck surgery. *Laryngoscope* 86: 1386—1390, 1976.

- 37- Allman RM: Pressure ulcers among the elderly. N.Engl. J.Med., 320: 850—853, 1989.
- 38- Berger SA, Barza M, Kaher J et al: Penetration of antibiotics, in decubitis ulcers. J.Antimicrobial Chemother., 7: 193—195, 19—1.
- 39- Berger SA, Barza M, Baher J, McFarland JJ, Houie S, Kane o: Penetration of clindamycin into decubitis ulcers., Antimicrob. Agents Chemother, 14: 498—499, 1978.
- 40- Bendy RH jr, Nuccio PA, Wolfe E et al: Relationship of quantitative wound bacterial counts to healing of decubiti effect of topical gentamicin. Antimicrob. Agents Chemother., 4: 147—155, 1964.
- 41- Kucan JO, Robson MC, Heggors JP, KO F: Comparison of silver sulfadiazine providone—iodine and physiologic saline in the treatment of chronic pressure ulcers. J.Am. Geriatr. Soc., 29: 232—235, 1981.
- 42- Lineaweaver W, Howard R, Souchy D et al: Topical antimicrobial toxicity. Arch.Surg., 120: 267—270, 1985.
- 43- Scully BE, Neu HC: Clinical efficacy of ceftazidime treatment of serious infection du to multiresistant pseudomonas and other gram negative bacteria. Arch. Intern. Med., 144: 57—62, 1984.
- 44- Scully BE, Parry MF, Neu HC, Mandell W: Oral ciprofloxacin therapy of infections due to pseudomonas aeruginosa. Lancet i: 819, 1986.

AMELİYAT SONRASI KESİ BÖLGESİNDEN ÜRETİLEN BAKTERİLER VE BUNLARIN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIĞI

Muzaffer GÖZ *

Mehmet KIYAN *
Fatih AYTEKİN **

A.Tevfik CENGİZ *

ÖZET

Bu çalışmada, kolesistektomi, mide rezeksiyonu, splenektomi, inguinal herni operasyonu, kolon rezeksiyonu, histerektomi ve yara eksizyonu gibi çeşitli cerrahi girişimli 46 olgunun, postoperatif olarak kesi bölgesinden elde edilen materyalden bakteriyolojik etkenler araştırılmış ve yara bölgesinden üretilen mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılığı incelenmiştir. Bu çalışma grubu, klinik bulgular dikkate alınarak, operasyon tipi ve cinsiyet dağılımına göre değerlendirilmiştir. Bu olguların kadın (23) ve erkek (23) cinsiyet dağılımı içinde bulunduğu, kolesistektomi (9), inguinal herni (11), hidroselektomi (1), mide rezeksiyonu (5), pyleroplasti (3), kolon rezeksiyonu (2) splenektomi (1) histerektomi (7), kistektomi (2), ekstremitte ve parmak amputasyonu (2) ve yara eksizyonu (3) şeklinde incelemeye alındığı anlaşılmıştır.

Bu olgulardan 6'sında Staph. aureus, 7'sinde Staph. epidermidis, 6'sında E.coli, 1'inde α .hem. streptokok, 1'inde Pseudomonas, 1'inde Enterebacter, 2'sinde Klebsiella üremiş ve 22 olguda bakteri izolasyonu yapılamamıştır. İdentifiye edilen bakterilerin disk difüzyon yöntemi ile çeşitli antibiyotiklere duyarlılığı araştırılmış ve Staph. aureus'ların Florokinolon, gentamisin, TMP/STX, sulbaktam + sefoperazon, E.coli'lerin Florokinolon, amoksisillin + Klavulonik asid, sulbaktam + sefoperazon, gentamisin, sulbaktam + ampisillin, Klebsiella'ların Florokinolon, gentamisin, sulbaktam + sefoperazon'a daha duyarlı oldukları gözlenmiştir.

Bakteri suş sayısının azlığı nedeniyle antibiyogram sonuçlarının ileri yorumlarına gidilmemiş, ancak bu verilerden, hastaların tedavisi sırasında yararlanılmıştır.

Arâhtar Kelimeler: Ameliyat, Bakteri, Antibiyotik, Duyarlılık

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ANKARA TÜRKİYE

** Sağlık Bakanlığı Numune Hastanesi, Kadın-Doğum Kliniği ANKARA TÜRKİYE

"BACTERIA WHICH HAS BEEN ISOLATED FROM POSTOPERATIVE WOUND AREA AND THEIR SUSCEPTIBILITY TO ANTIBIOTICS"

SUMMARY

In this study, 46 cases who had various surgical operations like cholecystectomy, stomach resection, splenectomy, inguinal herni operation, colon resection, hysterectomy and wound excision, bacteriological agents were investigated in means of postoperative wound area and antibiotic susceptibility was determined. In this study group, evaluation was made according to type of operation and sex of patients. From these cases 23 were male and 23 were female; 9 have had cholecystectomy, 11 inguinal herni, 1 hydroselectomy, 5 stomach resection, 3 pyloroplasty, 2 colon resection, 7 hysterectomy, 1 splenectomy, 2 cystectomy, 2 extremities amputation and 3 have had wound excision.

In this cases, 6 Staph. aureus, 7 Staph. epidermidis, 1 α -haemolytic Streptococcus, 6 E.coli, 1 Pseudomonas, 1 Enterobacter, 2 Klebsiella were isolated and from 22 cases no bacteria was isolated. Antibiotic susceptibility was made by disc diffusion method. It has been found that Staph. aureus strains are more susceptible to fluoroquinolones, gentamycin TMP/STX, sulbactam + cefoperazone, while Ecoli strains are more susceptible against fluoroquinolones, amoxycilline + clavulonic acid, sulbactam + cefoperasone, sulbactam + ampicilline, gentamycin and Klebsiella strains are more susceptible to fluoroquinolones, gentamycin, sulbactam + cefoperasone.

Further comment wasn't done according to the results of antibiogram because of less number of bacterial strains but this data was used in the treatment of patients.

Key Word: Operation, Bacteria, Antibiotics, Susceptibility.

GİRİŞ

Bugünkü aseptis—antisepsi uygulamalarındaki ileri teknikler, cerrahi girişimlerin başarısını olumlu yönde etkilemektedir. Bu nokta da ameliyathane ile yoğun bakım ve hasta odalarının, ameliyat fırçaları ile tıbbi—cerrahi aletlerin sterilizasyonuna özen gösterilmesi gerekmektedir. Hastane ortamında oluşan ameliyat sonrası yara enfeksiyonları, ciddi sağlık sorunlarından birini oluşturmaktadır (1, 2).

Bu enfeksiyonların kaynağı, hastadan—hastaya ve hatta etken mikroorganizmaya göre değişmektedir. Bazı hastane enfeksiyonlarının kaynağının hastanın

kendi florası olabilmesine karşılık "endojen", bazende hastane çevresinden bulaşlar meydana gelebilmektedir "eksojen" (3).

Konu ile ilgili mikrobiyolojik çalışmalarda; postoperatif infeksiyon etkeni olan mikroorganizmaların % 61'inin aerobik gram (+) bakteriler olduğu ve bunların arasında en sık *S.aureus* ve *S.epidermidis*'in izole edildiği açıklanmıştır. Bu arada *E.coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter* gibi aerobik gram (-) bakteriler için % 32 oranı açıklanmış ve % 4 oranında anaerob bakteriler (*Bacterioides*) etken olabildiğine işaret edilmiştir. Mantarlar için % 3 oranı bildirilmiştir (4). Bu nedenlerle bu tür infeksiyonlarda antibiyotik seçiminin, etken olan mikroorganizmaya göre, yapılması gerekmektedir.

Bu çalışma bir grup postoperatif yara infeksiyonlarında etken olan bakterilerin dağılımını ve antibiyotiklere karşı direnç durumlarının gösterilmesi, etkili antibiyotiklerin seçimi amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Sağlık Bakanlığı Numune Hastanesi, Kadın Hastalıkları—Doğum ve Cerrahi Kliniklerinde ameliyat olan, kadın—erkek, 46 olgunun kesi bölgesinden, pansumanı yapılmadan, steril eküvyonla sürüntü örnekleri ve iltihabi materyal alındı. Bu örneklerden, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda bekletilmeksizin rutin bakteriyolojik kültürler yapıldı.

Bu örnekler aerop ve anaerop olarak kanlı agar, Mac Conkey agar, ve sabouroud agar besiyerlerine aktarıldı. Kültür plakları 37⁰ C'de 48 saat ve sabouroud ekimleri 7 gün bekletildi. Bu süreler sonunda besiyerinde üreyen mikroorganizmaların koloni, boyanma, hareket, biyokimyasal ve diğer özelliklerine bakılarak, bakteriyolojik değerlendirme ve identifikasyon yapıldı. Sabouroud besiyerinde mantar üremesi olup olmadığı araştırıldı (5—7).

Hastalığın tedavisini yönlendirmek amacıyla, disk diffüzyon yöntemi ile mikroorganizmaların antibakteriyellere duyarlılıkları araştırılarak, bakteri üreme önlenim alanının çapına göre dirençlilik—duyarlılık durumları gösterildi (8—11).

BULGULAR

Bu çalışmada postoperatif olarak incelenen 46 olgunun cinsiyet dağılımı ve ameliyat tipini içeren bilgiler Tablo 1'de verilmiştir. Bu olguların 23 bireyi kadın ve 23 bireyi erkek olarak tespit edilmiştir.

Tablo 1: Çalışma grubunun cinsiyet ve ameliyat tipine göre dağılımı

Ameliyat tipi	Olgu Sayısı		Toplam
	Kadın	Erkek	
Kolesistektomi	7	2	9
Inguinal Herniektomi	3	8	11
Hidrosetektomi	-	1	1
Mide rezeksiyonu	1	4	5
Pyloroplasti	1	2	3
Kolon rezeksiyonu	1	1	2
Splenektomi	-	1	1
Histerektomi	7	-	7
Kistektomi	1	1	2
Organ Amputasyonu	1	1	2
Yara eksizyonu	1	2	3
TOPLAM	23	23	46

Çalışma grubunda, inguinal herniektomi (11), Kolesistektomi (9) ve histerektomi (7) operasyonları ilk sıraları almıştır.

Yara bölgesinden üretilen mikroorganizmaların dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Postoperatif olarak kesi bölgesinden üretilen bakterilerin dağılımı.

Mikroorganizma	Olgu Sayısı
Staphylococcus epidermidis	7
Staphylococcus aureus	6
E.coli	6
Klebsiella	2
Pseudomonas	1
Enterobacter	1
α .hem-Streptococcus	1
Üreme Yok	22
Toplam	46

Tablo 2'de görüldüğü üzere herniektomi (2), yara eksizyonu (2), histerektomi (1), Hidroselektomi (1) ve Pyloroplasti (1) olmak üzere 7 olguda Staph. epidermidis üretilmiştir. Kolesistektomi'li olgulardan 1'inde α -hem. Streptococcus bulunmuştur. Bu arada bacak amputasyonu (1), herniektomi (4) ve mide rezeksiyonu (1) olmak üzere 6 olguda Staph. aureus; Kolesistektomi (3), herniektomi (1), kistektomi (1) ve kolon rezeksiyonu (1) olmak üzere 6 olguda E.coli izolmanı yapılmıştır.

Tablo 3: Postoperatif olarak kesi bölgesinden üretilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığı

Antibiyotik	Duyarlılık ve Dirençlilik	Olgu Sayısı →	S. aureus	E. coli	Klebsiella	Pseudo-	Enterobacter
						monas	
			6	6	2	1	1
Amoksisillin	Duyarlı		-	-	-	-	-
	Dirençli		6	6	2	1	1
Antipisillin	Duyarlı		-	-	-	-	-
	Dirençli		6	6	2	1	1
Amoksisillin+	Duyarlı		-	6	1	-	-
Klavulanik asid	Dirençli		6	-	1	1	1
Sulbaktam +	Duyarlı		2	4	-	-	-
Ampisillin	Dirençli		4	2	2	1	1
Karbenisillin	Duyarlı		2	-	-	-	-
	Dirençli		4	6	2	1	1
Eritromisin	Duyarlı		3	3	-	-	-
	Dirençli		3	3	2	1	1
Sefalekssin	Duyarlı		2	-	-	-	-
	Dirençli		4	6	3	1	1
Sefuroksim	Duyarlı		4	2	-	-	-
	Dirençli		2	4	2	1	1
Sefoperazon	Duyarlı		4	4	-	1	-
	Dirençli		2	2	2	-	1
Sefitriksin	Duyarlı		4	3	-	-	-
	Dirençli		2	3	2	1	1
Gentamisin	Duyarlı		6	6	2	1	1
	Dirençli		-	-	-	-	-
Tobramisin	Duyarlı		2	4	-	1	-
	Dirençli		4	2	2	-	1
Kloramfenikol	Duyarlı		3	-	-	-	-
	Dirençli		3	6	2	1	1
TMP/STX	Duyarlı		4	4	1	1	-
	Dirençli		2	2	1	-	1
Aztreonam	Duyarlı		-	3	2	-	-
	Dirençli		6	3	-	1	1
Enoksasin	Duyarlı		5	6	2	1	1
	Dirençli		1	-	-	-	-
Norfloksasin	Duyarlı		5	6	2	1	1
	Dirençli		1	-	-	-	-
Siprofloksasin	Duyarlı		5	6	2	1	1
	Dirençli		1	-	-	-	-
Oflaksasin	Duyarlı		6	6	2	1	1
	Dirençli		-	-	-	-	-
Sulbaktam +	Duyarlı		5	6	2	1	-
Sefoperazon	Dirençli		1	-	-	-	1

Herniektomili 1 olgudan *Pseudomonas*, splenektomili 1 olgudan *Enterobacter*, mide ve kolon rezeksiyonu geçiren 2 olgudan *Klebsiella* üretilmiştir. Bunların dışında kalan kolüstektomi (5), parmak amputasyonu (1), Hesterektomi (6), herniektomi (3), yara eksizyonu (1), mide rezeksiyonu (3), Pyleoplasti (2) ve kistektomi (1) olmak üzere 22 olguda aerous ve anaerob bakteriyolojik kültür sonuçları negatif olarak değerlendirilmiştir.

Bu bakterilerin antibakteriyellere duyarlılığı araştırılmış ve antibiyogram sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Bu tablodaki rakamlar olgu ve toplam suş sayısını göstermekte olup, antibakteriyellerin duyarlılık-dirençlilik durumları toplu bir şekilde özetlenmiş bulunmaktadır (Tablo 3).

Staph. aureus'ların florokinolon, gentamisin, TMP/STX, sulbaktam + sefoperazon, *E.coli*'lerin florokinolon, amoksisillin + klavulonik asid, sulbaktam + sefoperazon, gentamisin, sulbaktam + ampisillin, *Klebsiella*'ların florokinolon, gentamisin, sulbaktam + sefoperazon'a daha duyarlı oldukları gözlenmiştir. Bakteri suş sayısının azlığı nedeniyle antibiyogram sonuçlarının ileri yorumlarına gidilmemiş, ancak bu verilerden hastaların tedavisi sırasında yararlanılmıştır.

TARTIŞMA

Ameliyat bölgesinden, çeşitli olumsuzluklarında etkinliği ile, bireyin kendi florasına veya çevre flora'ya bağlı tek veya mikst bakteriyel etkenler üretilebilmektedir. Bakteriler insan vücudunun çeşitli yerlerinde özellikle flora içinde bulunabilmektedir. Ameliyathane havası, kullanılan cerrahi aletler ve hasta odası florası ile hasta çevresine (ziyaretçiler, hastane personeli v.s.) bağımlı olarak kesi yerinden değişik bakteri izolmanı yapılabilmektedir. Babacan ve ark. (12) ortopedik ameliyata alınan 70 hastanın cilt ve derin doku bistürilerini bakteriyel kontaminasyon yönünden incelemişler ve hastaların % 10'unda her iki tip bistürinin, % 8,5'inde sadece cilt bistürilerinin ve % 5,7'sinde derin doku bistürilerinin kontamine olduğunu göstermişlerdir. Bistüriler de *Staph. epidermidis*, *Staph. aureus* ve difteroid basillerin bulunduğu ancak ameliyat sonrası erken yara enfeksiyonu gelişmediği açıklanmıştır.

Pseudomonas aeruginosa fırsatçı bir mikroorganizmadır, özellikle organizma direncinin kırıldığı durumlarda değişik enfeksiyonlar yapabilmektedir (13, 14). *Pseudomonas aeruginosa* hastane enfeksiyonlarında en sık rastlanılan etkenlerden birisidir (15, 16). Şener ve ark. (15) yaptıkları çalışmada çeşitli klinik materyallerden 100 adet *Pseudomonas* izolmanı yapmışlar, pü'nden 33, yara'dan 10, kan'dan 5 *Pseudomonas* izole ettiklerini ve *Pseudomonas*'ların siprofloksasin'e % 98 oranında duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Tunçkanat ve ark. (16) çeşitli klinik örneklerden özole ettikleri 88 *Pseudomonas* suşunun ofloksasine karşı duyarlılıkları araştırmışlar ve 76 suş'un (% 86.4) ofloksasine duyarlı olduklarını gözlemişlerdir. Dirençli olan 12 *Pseudomonas* suşunun 5'inin yara, 3'ünün idrar

yolu infeksiyonları, 3'ünün osteomyelit ve 1'inin yanık olgularından izole edildiğini bildirmişlerdir. Fazlı ve ark. (17), netilmisin'e Staph. aureus'ların % 90, Enterobacter'lerin % 78, E. coli'lerin % 68, Proteus'ların % 70 oranında duyarlı olduklarını, Pseudomonas'ların % 66 ve Klebsiella'ların % 69 oranında amikasin'e duyarlı olduklarını belirtmişlerdir. Çakır ve Bilgiç (18), hasta dışı ortamları

a) Eşyalar ve odalar (yatak, çarşaf, ameliyat masası, sedye, ameliyathane, yoğun bakım ve doğum odaları gibi).

b) Tıbbi gereçler (sondalar, enjektör, küvet, fırça, kep ve maskeler).

c) Ortam havası, şeklinde gruplandırmışlar, 278 örnekten 41'inde Pseudomonas aeruginosa elde etmişlerdir. Bu bakteriler ameliyathane ve yoğun bakım ünitelerinde bol miktarda bulunabilmekte, hava yolu ve diğer faktörlerle yayılım gösterebilmektedir. Tümöz ve ark. (19), 586 temiz cerrahi yaranın 16'sında postoperatif yara infeksiyonu saptamışlar, bu olguların 9'unda koagülaz (+) staphylococcus 1'inde koagülaz (-) Staphylococcus, 1'inde E.coli, 1'inde Pseudomonas, 1'inde Proteus, 1'inde Klebsiella ve 2'sinde mikst bakteriler izole etmişlerdir. Çelebi ve ark. (20), hastane içi ve dışı ortamlarda oluşmuş 400 infekte yaranın bakteriyolojik kültürlerini yapmışlar ve 218'inde patojen bakteri üretmişlerdir. En sık üretilen mikroorganizmaların Staph. aureus (% 41.3), E.coli (% 22.9) ve Pseudomonas (% 14.7)'ların olduğunu belirtmişlerdir. Hastane ortamından izole edilmiş bakterilerin, hastane dışı ortamlardan izole edilmiş bakterilere oranla, antibiyotiklere daha dirençli olduklarını belirtmişlerdir (20). Özkuyumcu ve ark. (21), yara infeksiyonlarından izole ettikleri gram (+) bakterileri tiplendirdikleri ve antibiyotik duyarlılık testlerini yaptıkları araştırmalarında, yara infeksiyonlarında % 71.53 oranında stafilokok türlerini izole ettiklerini belirtmiş ve yara kültürlerinden izole edilen gram (+) bakterilerin aminoglikozitlere % 88, TMP/STX'e % 67 oranında duyarlı olduklarını bildirilmiştir. Gedikoğlu (22) ise 6850 yara kültürünü değerlendirmiş, bunların 3433 (% 50.12)'ünden çeşitli patojen bakterileri izole etmiştir. Bu bakteriler arasında Staph. aureus'un % 38.92 ile ilk sırayı aldığı, daha sonra % 22.11 ile Enterobacter, % 11.77 ile Proteus, % 11.74 ile E.coli, % 10.93 ile Pseudomonas, % 2.59 ile B.hem.Streptococcus ve % 1.42 ile Klebsiella'ların geldiğini belirtmiştir (22). Karabiber ve ark. (23), 400 adet postoperatif yara infeksiyonu materyalini test etmişler ve yara infeksiyonlarında en sık rastlanılan etkenin S.aureus olduğunu belirtmişler, Staph. aureus'u sırasıyla E.coli, koagülaz (-) Stafilococcus, Pseudomonas. Enterobacter, Klebsiella, Proteus, diğer Gram (-) basiller, β . hem. streptococcus ve enterokok'ların izlediğini bildirmişlerdir. Cengiz ve ark. (24), çeşitli hastalık materyallerinden yaptıkları araştırmada diğer materyallerin yanında 69 yara akıntısını incelemişler ve bu kültürlerde 15 Staph. aureus, 14 E.coli, 10 β . hem streptococcus, 6 Staph. epidermidis, 6 α -hem. Streptococcus, 4 Klebsiella, 4 Pseudomonas, 4 Proteus 4 Enterobacter ve 2 hem. E.coli izole edilmiştir.

Bu çalışmada, kolesistektomi, inguinal herniektomi, hidroselektomi, mide ve kolon rezeksiyonu, pyloroplasti, histerektomi, splenektomi, kistektomi, ekstremitte ve parmak amputasyonu ile yara eksizyonu dağılımı içindeki olgularda postoperatif olarak kesi bölgesinden bakteriyolojik kültür yapılmıştır. Bu 46 olgudan 22'sinde kesi bölgesinden bakteri üremesi olmamıştır. Ancak 24 olguda saf kültür halinde tek bakteri üremesi gözlenmiş olup, Staph. aureus, E.coli, Pseudomonas, Enterobacter ve Klebsiella'nın antibiyogram sonuçları not edilmiştir.

Staph. aureus'ların amoksisilin, ampisillin, aztreonam ve amoksisillin + Klavulonik asid için direnç gelişiminde olduğu anlaşılmış, buna karşın gentamisin ve ofloksasin için tam duyarlılık gösterdiği tespit edilmiştir. E.coli'lerin ofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin, enoksasin, gentamisin, sulbaktam + sefoperazon ve amoksisillin + klavulonik asid için tam duyarlılık gösterdiği anlaşılmıştır. Amoksisillin, ampisillin, karbenisillin, kloramfenikol ve sefalekssin için ise tam direnç oluşumu belirlenmiştir. Klebsiella, Pseudomonas ve Enterobacter'in antibiyotik duyarlılık sonuçları da Tablo 3'de gösterilmiştir.

Bulgularımız, postoperatif bakımın önemini, Staph. aureus ve E.coli öncelikli olmak üzere kesi bölgesinde değişik etkenlerin varlığını, bakterilerin antibiyotiklere direncinin arttığını ve duyarlılık testlerinin gereğini işaret etmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Conti S: Infections following surgical operations, Infectious Diseases vol: 2, 3rd Ed. (Ed: Hoeprieh PH) Philadelphia, Harper and Row Publ. 1983 pp: 1348—1351.
- 2- Sökücü N: Cerrahi kliniklerinde hastane infeksiyonları, Kükem Derg., 8: 12, 1985.
- 3- Ritter M.A.: Surgical wound infections., Clin. Orthop., 190: 11, 1984.
- 4- Kurtoğlu M: Ameliyat sonrası enfeksiyonlardan korunma., Ankem Derg., 1: 376— 80, 1987.
- 5- Jawetz E, Melnick J.L, Adelberg EA: Review of medical microbiology, 17th ed, Appleton/Lange med. publ: Los altos, 1987, pp 136—137, 217—251.
- 6- Lawrence RM, et al: Ouantitative microbiology of traumatic orthopedic wounds. J. Clin. Microbiol., 8: 673—675, 1978.
- 7- Akgün Y, Akşit F: Klinik olgulardan izole edilen kandida'ların antibiyotiklere duyarlılıkları, Mikrobiyol Bül. 15: 112, 1981.
- 8- Sanford J.P.: Guide to antimicrobial therapy., Antimicrobial therapy Inc. Dallas, 1992.
- 9- Thornsberry C: Antimicrobial susceptibility testing: General consideration., In: Manual of clinical microbiology, Eds: Balows A et al., American Society for Microbiology Washington D.C., 1991, pp: 1059—64.

10. National Committee for Clinical Laboratory Standarts: Performance standarts for antimicrobial disc susceptibility tests, 3rd ed. approved standarts: M2-A3 NCCLS, Villanova, PA, 1984.
11. Quintiliani R, Nightingale C: Principles of antibiotic useage., Clin. Orthop 190: 31-35, 1984.
12. Babacan F, Babacan M, Erginer R: Bistürinin yara enfeksiyonuna etkisi., Türk mikrobiyol Cem.Derg., 16: 120-124, 1986.
13. Bergan T: Pathogenetic factor of Pseudomonas aeruginosa., Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 29: 7-12, 1981.
14. Bray DA, Calcaterra TC: Pseudomonas meningitis complicating head and neck sugery., Laryngoscope, 86: 1386-1390, 1976.
15. Şener B, Hayran M, Kocagöz T, Ustaçelebi Ş: Ciprofloksasin'in çeşitli klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarına karşı in vitro antibakteriyel etkisi ve bu etkinin diğer bazı antibiyotiklerle kıyaslanması, Mikrobiyol. Bült., 24: 120-125, 1990.
16. Tunçkanat F, Özalp M: Klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas türlerinin saptanması ve ofloksasin'e karşı duyarlılık durumlarının araştırılması., Mikrobiyol. Bült., 23: 145-149, 1989.
17. Fazlı Ş.A., Aksebzeci T: Çeşitli hastalık materyallerinden izole edilen bakterilerin geniş spektrumlu antibiyotiklere duyarlılıkları., Mikrobiyol Bült., 23: 356- 60, 1989.
18. Çakır N, Bilgiç A: Hastanelerde, hasta dışı ortamdan soyutulan Pseudomonas aeruginosa'ların serotipleri., Mikrobiyol Bült. 14: 13-20, 1980.
19. Tümöz M.A, Tezeren G, ve ark.: Postoperatif ortopedik ve travmatolojik enfeksiyonların incelenmesi., Mikrobiyol Bült., 23: 318-322, 1989.
20. Çelebi S, Ayyıldız A, ve ark: Hastane ve hastane dışı ortamlarda oluşmuş infekte yaraların bakteriyolojik yönden incelenmesi., İnfeksiyon Derg. 5: 31-34, 1991.
21. Özkuyumcu C, Durupınar B, Girişken E: Yara enfeksiyonlarından izole edilen gram pozitif bakteriler ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları., Mikrobiyol. Bült., 23: 150- 56, 1989.
22. Gedikoğlu S: yara enfeksiyonlarının bakteriyolojik olarak değerlendirilmesi., Mikrobiyol. Bült., 20: 59-66, 1986.
23. Karabiber N, Aktaş F, Kılıç H: Postoperatif yara enfeksiyonları., Mikrobiyol. Bült., 23: 58-63, 1989.
24. Cengiz A.T., Cengiz L, ve ark: Çeşitli hastalık materyallerinden üretilen mikroorganizmaların ceftriaxone'a duyarlılığı., Türk. Mikrobiyol. Cem. Derg., 19: 116-127, 1989.

MİKRODALGA FIRINLAR

Ulvi Reha FİDANCI *

Hatice AYHAN **

ÖZET

Diğer ülkelerde olduğu gibi Türkiye'de de, evlerde ve beslenmeye yönelik işyerlerinde, mikrodalga fırınların sayısı son yıllarda giderek artmaktadır. Yeni bir teknoloji ile birlikte bu aletlerin güvenilirlikleri ve olabilecek yan etkileri konusunda bazı sorular akla gelmektedir.

Bu makalede mikrodalgalanın avantaj ve dezavantajları ele alınmaktadır. Bugünkü bilgilerimize göre mikrodalga fırınlar, bilinen ısıtma-pişirme yöntemleri ile karşılaştırıldığında, zararlı etkiye sahip spesifik maddelerin oluşumuna neden olmazlar. Kullanılan mikrodalga fırınlardan yayılan mikrodalga radyasyonun dozu, oldukça düşük olup sağlık açısından bir tehlike yaratmamaktadır. Kombine olmayan mikrodalga fırınların mikroorganizmaları öldürmedeki belirgin yetersizliği, ısıtılma işlemi sırasında yeterli süre ve optimal sıcaklık sağlanması durumunda önlenebilmektedir. Yine kombine-mikrodalga fırınlar ile bu problem ortadan kalkmaktadır.

MICROWAVE OVENS

SUMMARY

As in other countries, in Turkey a number of microwave ovens in houses and food plants has been increasing recently. With new technology, the safety of these devices and possible side effects come into consideration.

In this article, the advantages and disadvantages of microwave ovens are evaluated. According to our present knowledge, microwave ovens do not cause the formation of specific substances with deleterious effects when compared with known heating-cooking method. The dose of microwave radiation emitted from microwave ovens does not pose health hazard. The

* A.Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı 06110-ANKARA
TÜRKİYE

** T.A.E.K. Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü Lalahan/ANKARA
TÜRKİYE

ineffectiveness of combined microwave ovens in destroying microorganisms can be avoided by the provision of sufficient heat and optimal temperature during the heating process. This problem is solved by the use of combined microwave ovens as well.

GİRİŞ

Mikrodalga fırınları, diğer ülkelerde olduğu gibi, ülkemizde de gün geçtikçe büyüyen alıcı bir kitle tarafından keşfedilmekte ve modern ev aletleri arasındaki yerini almaktadır. Bugün Türkiye piyasalarında birçok firmanın ürettiği, değişik model ve güçte mikrodalga fırınları bulmak mümkün olmaktadır.

İlk mikrodalga fırın 1947 yılında 1.6 kW gücünde yapılmıştır. Bunu 50'li yılların sonlarından itibaren evlerde ve işyerlerinde kullanılabilecek nitelikte fırınların yapımı izlemiştir (1,2).

Mikrodalga fırınlarının diğer ev aletleri içerisinde kendisini kabul ettirmesi, özellikle ABD'de oldukça hızlı bir şekilde gerçekleşmiştir. 1987 yılı sonu verilerine göre, bu ülkede evlerin % 55'inde mikrodalga fırın bulunmaktadır. Avrupa'da ise, 1988 yılı sayılarına bakıldığında, İngiltere'nin % 42'lik bir oranla başı çektiği, bunu Almanya (% 20), Fransa (% 16) ve İspanya'nın (% 13) izlediği görülmektedir (3).

Evlerde ve beslenmeye yönelik iş yerlerinde yaygınlaşan çabuk servis anlayışı ile, dondurulmuş yiyecek maddeleri kısa bir sürede çözülebilmekte, hazır spesiyaliteler tekrar ısıtılabilen ve mikrodalga yada kombine—mikrodalga fırınları ile oldukça kolay ve ucuz bir şekilde pişirilebilmektedir. Yine besin endüstrisinde hızla artan ölçülerde çözmede, eritmede, kurutmada, kızartmada, pişirmede, pastörizasyon ve sterilizasyonda mikrodalgalardan faydalanılmaktadır. Mikrodalga fırınları ile pişirmede % 50 ye varan tasarruflar sağlandığı bildirilmektedir (4—6).

MİKRODALGALAR NEDİR ?

Mikrodalgalar 10^8 ile 10^{10} Hz. arasındaki alanda yer alan noniyonizan elektromanyetik dalgalardır. Diğer elektromanyetik dalgalar gibi ışık hızı ile yol alırlar ve ışık ışınları gibi yansır, kırılır ve absorbe edilirler. Kuantum olarak ifade edilen enerji seviyelerinin daha düşük olması ve atomlardan veya moleküllerden elektronları ayırmamaları gibi özellikleri nedeniyle X ve gama ışınları gibi iyonizan radyasyonlardan ayrılırlar. Değişik materyallerle olan karşılıklı etkileşimleri farklıdır. Bir maddeden geçerken enerjileri ısı enerjisine dönüşür ve ilgili madde ısınır (1,7,8).

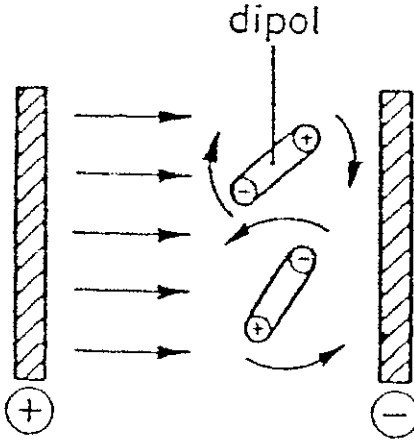
ISISAL ETKİNİN OLUŞUMU

Bir dielektrik (yalıtkan) madde, elektriksel bir alana sokulduğu zaman yük hareketleri olmamasına rağmen, dielektrik içerisindeki atomların elektron düzenlerinde küçük de olsa bir değişiklik şekillenir ve her atom kendi başına elektrik

dipolüne benzer. Bu duruma dielektrik polarize olmuştur denir. Bir elektriksel dipol aralarında bir uzaklığı bulunan pozitif ve negatif noktasal yüklerden oluşur (Şekil 1). Dielektrik içerisinde alanın zamanla değişmesi ile maddenin içerisindeki elektriksel alan da değişir ve oluşan dipollerde salınım yaparlar. Enerjinin korunumu prensibine göre bu salınımların devamı edebilmesi için elektronlar elektromanyetik dalgadan enerji alırlar. Ortamda ısıya dönüşen bu enerjiye mikrodalga enerjisi denir. Isıya dönüşen enerji maddenin dielektriksel özelliklerine (dielektrik sabiti, kayıp açısı), frekansa ve elektrik alanının büyüklüğüne bağlıdır (2-4, 7, 8).

Mikrodalgaların besin teknolojisi yönünden sözkonusu olan etkileşimi polarize olabilen su, yağ veya proteinlerin dipolleri ile olan reaksiyonlarıdır. Herşeyden önemlisi mikrodalgalar yiyecek maddelerinin sadece belli bir derinliğine kadar ulaşabilirler ve bundan sonra ısının yayılması sözkonusudur (2).

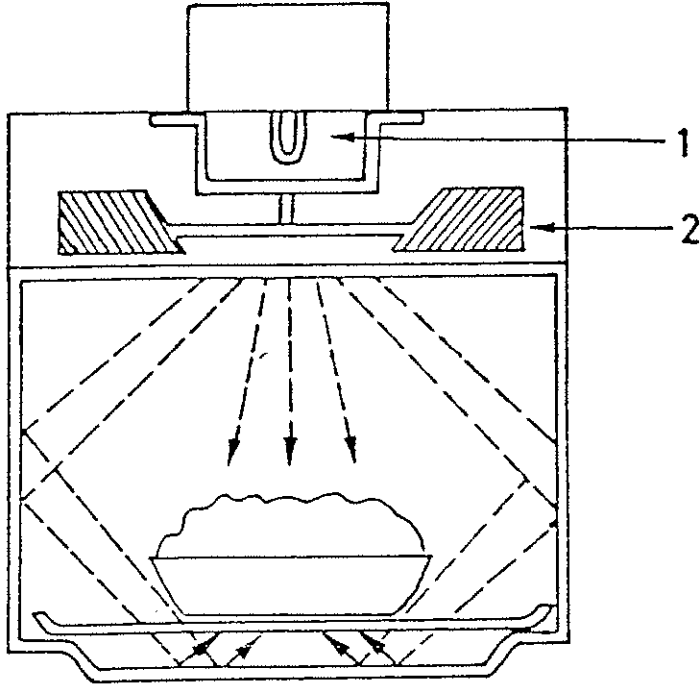
Şekil-1: Elektriksel alanda dipoller



MİKRODALGA FIRINLARIN YAPISI

Mutfaklarda yiyecek maddelerinin pişirilmesi amacıyla kullanılan mikrodalga fırınlarında, magnetronlu bir mikrodalga jeneratöründen çıkan elektromanyetik gücün, bir mod karıştırıcı ile yönlendirilerek yoğunlaştırma bölümüne gelmesi sağlanır ve burada belirli bir frekansa ulaştırılır. Belirli bir yoğunluğa ulaşan dalgalar fırın içerisindeki besin maddeleri ile etkileşime girerler (1,2,4,5). Şekil-2'de bir mikrodalga fırının yapısı gösterilmiştir (3).

Şekil-2: Mikrodalga fırın yapısı



(1-Mikrodalga fırın jeneratörü 2-Yoğunlaştırıcı)

Mikrodalgalar ile ışınlamada sıcaklık oluşumunun çok dengesiz bir şekilde olduğu görülmektedir. Bu durumda besinlerin bazı bölgeleri normalin üzerinde enerji absorbe ederek, yüksek bir ısı derecesine ulaşmakta ve hatta bazı yerleri de yanmaktadır. Bu durum "hot spots" olarak isimlendirilmektedir. Bunu önlemek için mikrodalga fırınlarda, jeneratörden çıkan ışınların fırın içerisinde dengeli bir şekilde dağıtılmasını sağlayan dalga karıştırıcısı veya dağıtıcısı bulunmaktadır. Ayrıca pişirilecek maddenin özellikleri de ısınmayı etkilemektedir. Yiyecek maddesinin homojen olmayan kimyasal yada fiziksel yapısından dolayı değişik kısımları farklı zamanlarda ısınabilir. Örneğin yağlı bölgeler sulu bölgelere göre daha yavaş ısınırlar. Mikrodalgalarda hot spots nedenlerinden bir diğeri de fırının şekli ve ölçüleridir (3).

MİKRODALGA FIRINLARIN GÜVENİLİRLİKLERİ

Yeni bir teknoloji ile birlikte bu aletlerin güvenilirlikleri ve aynı zamanda söz konusu olabilecek yan etkileri konusunda da bazı sorular akla gelmektedir. Hangi

mikrodalga dozu zararsızdır ? Evlerde ve işyerlerinde kullanılan mikrodalga fırınlardan yayılan mikrodalgaların biyolojik sistemler üzerindeki etkileri nelerdir ? Yada mikrodalgalar besin maddelerinde spesifik maddelerin oluşumuna neden olarak tüketici sağlığını olumsuz yönde etkileyebilirler mi ?

Mikrodalgaların hücresele ve biyokimyasal seviyelerdeki değişiklikleri oluşturabilecek etkileri 1 mW/cm^2 veya daha az düzeylerdeki dozlarda başlamaktadır. Nontermal etkiler olarak adlandırılan bu etkiler yaklaşık elli yıldır bilinmektedir. Başlangıçta yüksek dozlarda ve sürekli mikrodalga uygulanan deney hayvanları ile yapılan çalışmalar, mikrodalgaların mutajenik, teratojenik ve kanserojenik etkilerinin bulunduğunu, davranış bozukluklarına, hormonal dengesizliklere, hemopoetik sistemde değişikliklere, kromozomal anomalilere yol açtığını göstermiştir. Ancak sürdürülen çalışmalarla, evlerde ve besin işyerlerinde kullanılan mikrodalga fırınlardan yayılan mikrodalga radyasyonu dozunun tüketici sağlığı yönünden hiçbir zararlı etkisinin bulunmadığını ve bu tip rahatsızlıklara yol açmadığını kesin bir şekilde gösterilmiştir (7-9).

MİKRODALGALARIN KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ETKİLERİ

Bugünkü bilgilerimize göre mikrodalgalar, hayvansal veya bitkisel kökenli yiyecek maddeleri üzerinde, bu besinleri tüketenlerde herhangi bir şekilde zararlı etki oluşturabilecek spesifik bir değişikliğe yol açmamaktadır. Değişik araştırma gruplarınca yürütülen çalışmalar bilinen ısıtma cihazları ve mikrodalga fırınlar ile işleme tabi tutulan yiyeceklerin besin değerleri ve şekillenen kimyasal değişiklikler arasında önemli bir fark tesbit edememişlerdir. Vitamin kayıpları ile ilgili olarak yapılan çalışmalar da aynı doğrultudadır (10, 11).

Mikrodalga enerjisi pastörizasyonda (süt endüstrisi) ve sterilizasyonda (tıbbi cihaz ve aletler) başarı ile kullanılmakta olup evdeki cihazlarda da önemli derecede mikrop öldürücü etkisi bilinmektedir. Bu tip cihazlarla dış hekimliğindeki enstrümanların ile başarılı bir şekilde sterilizasyonunun mümkün olduğu bildirilmektedir (3, 6).

Mikrodalgaların besin maddelerinin taşıdıkları mikroorganizmaların öldürülmesi yönündeki etkinlikleri, konvansiyonel cihazlarda olduğu gibi öncelikle ulaşılan sıcaklığa ve zamana bağlıdır (6, 11). Ancak yapılan çalışmalar, besin maddelerindeki mikroorganizmaların öldürülmesinde mikrodalga fırınların, bilinen ısıtma yöntemleri kadar başarılı olmadığını göstermektedir. Bunun nedeni, yukarıda da belirtildiği gibi, mikrodalga ile besin maddelerinin sadece bir bölümünde direkt termik etkinin oluşturulabilmesi ve daha sonra yayılan ısıya bağlı olarak diğer bölgelerde de ısınmanın gerçekleştirilmesidir. Yani oluşan ısı zaman ve teknik olarak homojen olmayıp, besinlerin her yanında eşit şekilde mikroorganizmaların öldürülmesini sağlayamamaktadır. Ancak ön ısıtmanın yapılması, pişirilecek maddelerin ara sıra karıştırılması veya mikrodalga fırının zaman zaman kapatılarak oluşan ısının daha

iyi yayılmasının sağlanması gibi basit tedbirler bu dezavantajı ortadan kaldırmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda hem sensorik ve hem de hijyenik kalite artırımını için, sıcak hava sirkülasyonu veya gril fonksiyonu olan kombine—mikrodalga fırınları geliştirilmiştir. Bu tür kombine—mikrodalga fırınlar ile ısıtma—pişirme, istenilen maddelerde homojen bir ısı dağılımı gerçekleştirilebilmekte ve yeterli düzeyde mikrop eliminasyonu sağlanabilmektedir. Diğer yandan evlerde mikrodalga fırınlar pratik olarak özellikle daha önce pişirilmiş yemeklerin tekrar ısıtılmasında kullanılmaktadır. Ön pişirmeler ile yeterince mikrop öldürüldüğü kabul edildiğine göre mikrodalga fırınların, konvensiyonel cihazlara göre belirgin ölçüde mikroorganizmaları öldürmedeki yetersizliği önemli bir problem teşkil etmemektedir (4, 6, 10—12).

SONUÇ

Mikrodalga fırınların ürettikleri mikrodalga radyasyonu insan sağlığı üzerinde zararlı bir etkiye sahip değildir. Mikrodalgalar besin maddeleri üzerindeki etkileri ile herhangi spesifik kimyasal bir değişiklik oluşturmazlar ve bu fırınlarda ısıtma pişirme gibi işlemlere bağlı olarak tüketici sağlığı olumsuz yönde etkilenmez. Diğer bilinen yöntemlerde olduğu gibi, yiyeceklerin ısı ile işlenmesinde optimal sıcaklık ve zaman seçildiğinde beslenme fizyolojisi ve hijyenik kalite yönünden yeterli derecede başarılı olarak kabul edebileceğimiz mikrodalga fırınlar, zaman ve enerji tasarrufu gibi avantajları ile konvensiyonel cihazlara tercih edilebilir.

KAYNAKLAR

- 1- Durak, M.: Mikrodalga Fırınları. Bilim ve Teknik Derg., 19 (220), s.15, 1986.
- 2- Pichert, H.: Das Mikrowellengerat im Haushalt. Theorie und Anwendung. Hauswirtschaft und Wissenschaft, 25 (2), 83—89, 1977.
- 3- Bögl, K.W. ve U. Rosenberg: Was passiert bei der Mikrowellenerhitzung von Nahrungsmitteln. Bundesgesundheitsblatt, 10, s. 446—450, 1989.
- 4- Aehling, B.: Mikrowellen—Geräte zum Auftauen, Erwärmen und Garen. AID—Verbraucherdienst, 32 (2), s. 25—33, 1987.
- 5- Decareau, R.V: Microwaves in the food processing industry. Academic Press, Orlando, 1985.
- 6- Rosenberg, U. ve K.W. Bögl: Mikrowellen in der Lebensmittelindustrie. Bericht des Instituts für Strahlenhygiene des Bundesgesundheitsamtes, ISH—Heft 44, Neuherberg bei München, 1984.
- 7- Fröhlich, H.: The biological effects of microwaves and related questions. Advances in Electronics and Electron Physics, 53, s. 85—152, 1980.

- 8- Kaiser, F.: Theory of resonant effects of RF and MW energy. In: Michaelson, S. (Ed.): Biological Effects and Dosimetry of Nonionizing Radiation. Plenum pub., New York, s. 251—282, 1983.
- 9- Kayhan, Ö.: Mikrodalgalar ve Sağlığımız. Bilim ve Teknik Derg., 19 (220), s. 14—16, 1986.
- 10- Dehne, L. ve K.W. Bögl : Der Einfluß von Mikrowellen auf Veränderungen in Lebensmitteln im Vergleich zur konventionellen Hitzebehandlung. Eine Literaturstudie. Teil VI : Zusammenfassende Betrachtung lebensmittelchemischer un sensorischer Veränderungen. STH Bericht 5, Dietrich Heimer Verlag, Berlin, 1982.
- 11- Rosenberg U. ve K.W. Bögl: Der Einfluß von Mikrowellen auf Veränderungen in Lebensmitteln im Vergleich zur konventionellen Hitzebehandlung. Eine Literaturstudie. Teil V: Bericht des Instituts für Strahlenhygiene des Bundesgesundheitsamtes. STH Bericht 11, Dietrich Reimer Verlag, Berlin, 1981.
- 12- Rosenberg U.: Einfluß der Hochfrequenzbehandlung auf einige lebensmittelhygienisch bedeutsame Mikroorganismen. Doktora Tezi, Berlin Teknik Uni., No: 255, Berlin, 1989.

PARENTERAL ÜRETİMDE KULLANILAN PASLANMAZ ÇELİK MALZEMEDEKİ SON İŞLEM (FINISHING) ÖZELLİKLERİ

Cem ÖZYURT *

Rana KUNT *

ÖZET

Bu makalemizde parenteral üretimlerde kullanılan paslanmaz çelik ekipmanın yüzey özellikleri tanımlanmıştır. Metalin alaşım yapısı, mekanik davranışı ve işleniş özelliklerine doğrudan bağlı olan bu yüzey özellikleri uluslararası standartlarla tespit edilmiş olup, "Finishing" başlığı altında tanımlanmıştır.

Sağlıklı, temiz bir yüzey ve iyi bir korozyon direnci sağlamak amacıyla yönelik bu işlemler, mekanik ve mekanik olmayan uygulamalar olarak sınıflandırılarak incelenmiştir.

THE CHARACTERISTICS OF FINISHING ON STAINLESS STEEL USED IN PARENTERAL PROCESSES

SUMMARY

The facial characteristics of stainless steel equipment used in parenteral production are defined in this article. These facial characteristics, which are directly related to the alloy structure, mechanical behavior and physical properties of the metal, are determined by international standards and the required procedures are defined as "Finishing".

These procedures, which aim to produce clean, smooth and healthy surfaces and good corrosion resistance, were examined by classifying them as mechanical and non-mechanical application.

Key Words: Stainless steel, Finishing, Electropolishing, Corrosion resistance.

* A.Ü.Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Tandoğan
ANKARA - TÜRKİYE

GİRİŞ

Paslanmaz çelik günümüzde ilaç endüstrisinin temel gereçlerinde ve özellikle ürünle direk temas halindeki yüzeylerde, son işlemde geçirilerek yüzey özellikleri optimize edilmiş şekilde kullanılmaktadır.

II.Dünya Savaşından bu yana kimya endüstrisi ile kullanımı ve yaygınlığı artan paslanmaz çelik, endüstriyel üretimlerde, üretilen ürünün saflığı, devamlılığı ve maliyeti açısından da uzun vadede güvenilir ve ekonomik bir materyal oluşu nedeniyle tercih edilmektedir (1,2).

Avrupa Topluluğu, G.M.P. standartlarına göre steril ürünlerde parenteral üretimde kullanılan cihaz ve malzemenin ürünle doğrudan temas halindeki yüzey özelliklerinin ürün saflığına etki etmeyecek biçimde olmasını istemektedir (1). Türk Standartlar Enstitüsünün tıbbi alet ve malzemenin imalinde kullanılan paslanmaz çelikler için düzenlediği standartlarda, canlı organizmalar veya ürüne direk temas yüzeylerinde, kimyevi etkilere dayanıklı, inert, ortama metalik iyon ve parçacık vermeyen, bileşiminde % 12'den çok Cr bulunan paslanmaz çeliklerin kullanılması öngörülmüştür (3).

Yine S.S.Y.B. İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından yayınlanan, Steril Ürünlerin Üretilmesi ve Kontrolünde İyi İmalat Uygulamaları Rehberinde, üretimde kullanılacak cihaz ve malzeme tanımlanırken; bu gerekli görülen biçimde temizlenmeye, dezenfeksiyona ve sterilizasyona imkan verecek materyalle üretilmesi ve dizayn edilmesi gerekliliği bildirilmektedir (4).

Paslanmaz çeliğin yapısı metalin yüzey özelliklerini doğrudan etkilemektedir. Bu anlamda İlaç Endüstrisinde de ideal bir paslanmaz çelik gereçler tasarlanırken kullanılacak metalin "Korozyon Rezistansı" ve kullanılacağı aletin fabrikasyonuna bağlı olarak "Mekanik Davranışı" göz önünde bulundurulmaktadır (5-7, 12).

Paslanmaz çeliğin ilaç ve kimya endüstrisinde güvenle kullanılabilmesinin nedenleri üç ana başlık altında toplanmaktadır (5, 12).

Bunlar:

- 1- Korozyon rezistansı
- 2- Dayanıklılık
- 3- Fabrikasyon üretim için tasarım kolaylığıdır.

Paslanmaz Çelik Alaşımları ve Özellikleri

Çeliğin paslanmaz özellikleri ve artan korozyon rezistansı yapısındaki Cr'un varlığına bağlanmıştır (3). Genel tanımı ile paslanmaz çelik, kimyasal etkilere karşı dayanıklı olan ve bileşiminde ağırlık olarak % 11,5'den çok krom bulunan çeliktir (3). Paslanmaz çeliğin günümüzde kullanılan üç yaygın tipi mevcuttur.

1. Ostenitik Paslanmaz Çelik (γ Demir): Bileşiminde korozyona karşı Cr ve ostenitik bir yapı sağlamak amacı ile de Ni bulunan, oda sıcaklığında manyetik

olmayan, ısı işlemi ile sertleştirilemeyen, soğuk biçimlendirmeye elverişli paslanmaz çeliktir.

2. Ferritik Paslanmaz Çelik (∞ Demir): Bileşiminde % 11,5 – 16 Cr en çok % 0,2 C bulunan, nikelsiz genellikle ferritik tip kristal yapıli paslanmaz çeliktir.

3. Martensitik Paslanmaz Çelik : Bileşiminde % 11,5 – 18 Cr bulunan, ısı işlemi ile sertleştirilebilen martensitik yapıli paslanmaz çeliktir.

Çeliğın Ostenitik, Ferritik veya Martensitik özellikte olması alaşım yapısında mevcut, karbon nikel, nitrojen ve mangandan oluşan ferrit ve ostenit stabilizörlerinin miktarına ve dengelerine, ayrıca çeliğın maruz kaldığı ısıtma–soğutma devirlerine bağlanmaktadır.

Endüstride paslanmaz çelik, yapısındaki alaşım elementelerin farklı birleşme oranlarına göre belli numaralarla tanımlanmaktadır. İlaç ve Kimya Endüstrisinde yaygın olarak kullanılan iki temel paslanmaz çelik tip 304 ve 304L ile Tip 316 ve 316 L numaraları ile tanımlanmaktadır (6,8).

Tip 304 Paslanmaz Çelik Yapısı ve Özellikleri

Ostenitik paslanmaz çelik, sınıfının en yaygın kullanılan alaşımıdır. Bu alaşım % 18 Cr, % 14 Ni içeriğı ile karakterize edilmektedir. Manyetik olmayan ve sertleştirilemeyen özellikteki bu alaşım nitrik asit etkilerine dayanıklı hidroklorik asit ve sülfirik asit etkilerine karşı dayanıksızdır. Farmasötik uygulamalarda genel amaçlı kullanım için tercih edilmektedir (8).

Tip 316 Paslanmaz Çelik Yapısı ve Özellikleri

Bu grup yaklaşık % 17 Cr, % 13 Ni ve % 2,5 Mo içeren ostenitik paslanmaz çelik sınıfındandır. Molibden bu alaşıma, çukurlaştırıcı korozyona karşı geliştirilmiş bir direnç sağlamaktadır. 316 Serisi özellikle ürünle direk temas eden yüzeylerde, üründe etkinliğın, kalitenin ve rengin eser miktardaki metal iyonları ile etkilenebileceğı ve sıcak ürün akımının uygulandığı üretimlerde farmasötik gereçlerde güvenle kullanılmaktadır (8). Paslanmaz çelik materyalin farmasötik ekipmanda kullanımında önemli bir problem, çeşitli etkenlerle metalin tanecik sınırlarının seçici olarak aşındırılması sonucu ürün saflığının bozulmasıdır. Tanecikler arası bu atak, korozyon olarak tanımlanmaktadır.

Korozyon atak yapılan metalin tanecik sınırı ile tanecik merkezi arasındaki bileşim farkından kaynaklanmaktadır (6). Düzensiz olarak kaynaklama ve ısıtma işlemlerine tabii tutulan Cr–Ni tipi paslanmaz çelik alaşımlarında da korozyon görülebilmektedir.

Metallerin korozyonu bir elektrokimyasal olay olarak tanımlanmakta ve aynı zamanda tanecikler arası çatlakların büyümesi oksijen konsantrasyonlu hücrelerin veya küçük anod alanlarının meydana gelmesi ile korozyonun artacağı düşünülmektedir (9).

Sonuç olarak korozyon, metale çevresinde bulunan bütün şeyler tarafından kademeli olarak yapılan kimyasal, yada elektrokimyasal atak olup, bu atak, metali oksit, tuz ve diğer bileşimlere dönüştürebilecek özellikte olabilmektedir. Böylelikle metalin direncini, kolay şekil alma yeteneğini ve diğer istenilen özelliklerini kaybederek, kullanım boyunca olumsuz özelliklere neden olabileceği bildirilmektedir (6, 8, 9).

Ostenitik paslanmaz çelikler 425 – 870°C arasındaki sıcaklıklarda ısıtılıp soğumaya bırakıldığında alaşım yapısı içindeki karbon, krom ile birleşerek krom-karbid yapıları oluşturmaktadır. Bu yapılar belli büyüklükte partiküller oluşturduğunda alaşım içinde çökelmektedir. Metalik yapı içinde atomik değil, tanecik boyutlarında dağılarak bu bölgelerde metalin azalmış krom içeriğine ve metalin korozyon direncinde azalmaya neden olmaktadır. Sonuçta hafif bir korrozif etki dahi çeliğin tanecik sınırlarında ciddi bir hücumu uğramasına neden olabilecektir. Bu etkinin özelliklerle paslanmaz çeliğin ağır bölümlerinin birleştirilmesi ve kaynak işlemlerinde önemli bir problem olarak ortaya çıktığı belirtilmektedir (7).

Tip 304 paslanmaz çelikteki %0.08 içeriği ve Tip 316 paslanmaz çelikteki % 0,1 C içeriği, % 0.03'e düşürülerek elde edilen Tip 304 L ve Tip 316 L paslanmaz çelikler bu problemlerden kurtulmak amacıyla geliştirilmiştir (7). Bu yeni alaşımlar boru sistemlerinin birleştirilmesi gereği doğduğunda ve birleştirmeden sonraki sertleştirme elverişsiz olduğunda tercih edilmektedirler.

Son İşlem ve Özellikleri

Farmasötik cihaz ve malzemede kullanılan paslanmaz çelik materyalin yüzey özelliklerinin optimize edilmesi son işlem başlığı altında tanımlanmaktadır (5). Doğada hatasız, pürüzsüz, düz bir yüzey yoktur ve bunun suni olarak elde edilmesi de oldukça zor olmaktadır. Çıplak gözle bakıldığında düz gibi görünen bir yüzey, mikroskobik olarak incelendiğinde, aynı dünya yüzeyindeki kaya oluşumlarının yapısına benzer bir yapı gibi, binlerce çukur ve kabarcıktan meydana geldiği görülmektedir. En fazla pürüzsüzlük, çukurların katı maddenin sınır molekülleri arasındaki boşluklardan oluştuğu durumda görülecektir (5). Finishing, bu tür yüzeylerde mekanik, yada kimyasal yollarla yüzeyin terbiye edilerek kullanıma uygun hale getirilmesi amacıyla yönelik işlemler bütünü olarak tanımlanmaktadır (5–7).

Son işlemler, metal yüzeyindeki pürüzlerin, mekanizasyona bağlı olarak oluşmuş çıkıntıların, yüzey çizgilerinin ve lekelerinin uzaklaştırılmasını, yanısıra yüzeyin kaplanmasını, boyanmasını, cilalanmak üzere hazırlanmasını, sivri köşelerin yuvarlaklaştırılmasını ve komşu yüzeylerin birleştirilmesini içermektedir.

Son işlemler için spesifik bir alet tanımlamak mümkün değildir. Kullanılan materyale, üretilen ürünün özelliklerine, uygulama biçimine göre bir dizi işlem ve alet arasından bir seçim yapmak ve konunun uzmanına danışmak gerekmektedir.

Çeşitli mekanizasyon metodları ile terbiye edilen yüzeylerde tepeciklerin yüksekliği genellikle 30–500 um olarak, öğütülmüş yüzeylerde ortalama 5–50 µm.

olarak, çark ile cilalanmış yüzeylerde 2–12 µm. olarak, superfinishlerde 0,5 – 10 µm. olarak tespit edilmiştir (5).

Son işlemler, mekanik uygulamalar ve mekanik olmayan uygulamalar olarak sınıflandırılmaktadır.

Mekanik Son İşlem Uygulamaları

Mekanik son işlem, materyal üzerindeki yüzey hatalarının, pürüzlerin, damga izlerinin, makina izlerinin fiziksel bir kesme işlemi ile yok edilerek yüzeyin terbiye edilmesidir. Bu amaçla daha çok yüksek süratle fırlatılan veya sürtülen aşındırıcılar kullanılmaktadır. Bundan başka uygulama alanlarına göre yakarak temizleme, ince tabakalar halinde üst yüzeyi tahrip etme, pürüzlerden arındırma, aşındırıcı bantlarla öğütme, parlatma ve ultrasonik uygulamalarda kullanılabilir (5).

Yüzey üzerinde sert bir cisim yuvarlamak suretiyle veya yüzeye aşındırıcı parçacıkların çarpması suretiyle de yüzey düzensizlikleri sıkıştırıp düzleştirilebilmektedir (5,6).

Sert yüzeylerin aşındırıcı olarak kullanıldığı kesici araçlarla düzensizliklerin deforme edilmesi sırasında ortaya çıkan enerji ısıya dönüşmektedir. Bu olay yakma işlemi olarak da tanımlanmaktadır. Kesme derinliği düşürüldüğünde, bir başka deyişle yüzeyin pürüzsüzlüğü arttırıldığında, yüzeyden çıkan ısı daha az olmaktadır (5, 6). Yüzeyler fazla pürüzlü iken tepeliklerde lokal ısınmanın şiddeti arttığında, bu ısı tepeliklerin yumuşamasına ve yoğrulabilir biçimde bitişik çukurlara akmasına neden olmaktadır (6,7).

Mekanik son işlemlerde yüzeyi en ufak pürüzlerden arındırma son işlemin son safhasında kullanılmakta ve bu işlem cilalama aşaması olarak tanımlanmaktadır (7). Saf aşındırıcı parçacıklarla kaplanmış çok yumuşak keçe veya pamuklu bezler, yüzeyin yoğrulabilen akışını iletirmek ve yüzeyin parlaklığını arttırmak için kullanılmaktadır.

Mekanik Son İşlemlerde Kullanılan Aşındırıcılar ve Özellikleri

Aşındırıcı parçacık büyüklüğü farklı ve eşit ağırlıkta aşındırıcı materyalle kaplı iki benzer yüzey varken, her iki yüzey üzerine de aynı basınç uygulanmasına karşın aşındırıcı tanecikler ve yüzeyler arasındaki bağlantı kuvvetlerinin aşındırıcı taneciklerin büyüklüğüne bağlı olduğu gösterilmiştir (5). Bağlantı kuvvetleri aşındırıcı materyalin yüzeye kenetlenme derecesini ve öğütme derinliğini kontrol ettiğinden, aşındırıcı tanecik büyüklüğü küçüldükçe yüzey düzgünlüğünün arttığı görülecektir. Bu olay aşındırıcı tanecik büyüklüğünün ve uygulanan basıncın değişken olarak kullanıldığı bütün mekanik sonişlem yöntemlerinde geçerli olmaktadır (5–7).

İşlemlerde cilalama bantları ve zımpara kayışları kullanılırken, kalın büyük tanecikler yüzeyi pürüzlerden arındırmak, küçük tanecikler yüzeyin düzgünlüğünü

geliştirmek ve yüzeyi parlatmak amacıyla kullanılmaktadır (6,7).

Mekanik son işlem uygulamalarında kullanılan aşındırıcılar, elmadan sonra bilinen en sert aşındırıcı olan silikon karbit ve aliminyum oksitin boyutları 1/32 inç (0,08 cm) altındaki partiküllerin 1 çizelgesel inçteki (2,54 cm) tanecik sayısına göre numaralandırılmaktadır. Bu numaralar metalürjik terminolojide öğütücü özellikteki taş numarası "grit" veya çark numarası "mesh" olarak tanımlanmaktadır (5)

İlaç endüstrisinde kullanılan paslanmaz çelik materyalin yüzey özellikleri, bir çark ile mekanik öğütme uygulamasını tanımlayan 2 D ve 2 B Standart Değirmenler ile kullanıma en uygun hale getirilmektedir (10).

Değirmen son işlemi en genel anlamı ile, dönen çok dişli bir çark ile metal yüzeyindeki parçacıkların uzaklaştırıldığı bir yüzey işleme (düzeltme) tekniği olarak tanımlanmıştır (10).

2 D veya No2 olarak adlandırılan değirmen işlemin uygulanması sırasında çelik yüzeyinde bir demir oksit tabakasının oluşabileceği ve bu tabakanın daha sonraki sülfirik asit ve nitrik asit uygulaması gerektiren bir temizleme işlemi ile uzaklaştırılabileceği bildirilmiştir. Bu yolla elde edilen paslanmaz çelik ürünün yüzeyi mat ve nisbeten poröz olup, bu işlem ürün görünüşünün önemli olmadığı uygulamalar için önerilmiştir (8, 10).

Diğer bir standart değirmen, 2 B yada parlak cila olarak tanımlanmaktadır. Bu uygulamada, standart 2 D değirmen ürünü alınarak parlak cilalanmış silindirelerle çeliğe tav geçişi verilmek suretiyle yüzey porozitesi azaltılabilmektedir (10). Sonuç ürün, yüzey yapısının kritik olabileceği uygulama alanlarında kullanılabilir.

2 B Standart değirmen ürünü de nispi olarak porözlü ancak daha parlak görünümlü yüzey özelliklerine sahiptir ve mekanik işlemlerle daha ileri yüzey özelliklerine zemin hazırlayabilmektedir (10).

Standart 2 B işleminden sonra, artan derecede aşındırıcı taneciklerle kaplı taşlama bantları veya zımpara kayışları ile yüzeyin cilalanması yüzey düzgünlüğünü mükemmelleştirebilmektedir. Ayrıca NO3, NO4 finish işlemleri de yüzey özelliklerini optimize etmek amacıyla çeşitli uygulamalarda kullanılabilir. Daha iyi yüzey özelliklerinde daha üst bir aşama NO7 finish'i ile sağlanmaktadır. Bu uygulamada standart 2 B ürünü, en son 200 – 300 grit büyüklüğe kadar aşındırıcılar içeren taşlama bantları ile muamele edilmektedir. Sonuçta mamül daha pürüzsüz bir yüzeye ve yansıtıcı görünüme sahip olacaktır. Ancak tekdüze yüzey özelliklerine ulaşmadaki güçlük nedeniyle besin, kozmetik ve ilaç endüstrisinde sık kullanılmamaktadır (10).

Mekanik son işlemlerde, sonuç ürünün kullanım amacına bağlı olarak mükemmel bir cila gerekmiyorken, yüzey pürüzlerinin sabitleştirilmesini sağlamak için paslanmaz çelik bilyalar yada temiz kum ile yüzeyi terbiye etme yöntemleri de uygulanabilmektedir.

Aşındırma ve parlatmanın gerekli olduğu durumlarda ise sadece demir içermeyen aşındırıcılar kullanılması önerilmektedir.

Demir içeren malzemelerin kullanımında serbest demir, pası neden olabilecek önemli bir korozyon merkezi oluşturabilmektedir. 300 serisi çelikler 15–30 dak., 50–60°C de uygun nitrik asit çözeltisine maruz bırakılarak demir ve arkasından suyla yıkanarak nitrik asit uzaklaştırılmak suretiyle bu sorunun üstesinden gelmek mümkün olabilmektedir (10, 12).

Mekanik Olmayan Son İşlem Uygulamaları

Elektro cilalama ve elektromekanizasyon yöntemleri mekanik olmayan yüzey terbiye işlemleri olarak tanımlanmaktadır.

Elektrocilalama:

Elektrocilalama işlemleri, uygun bir elektrolit çözeltisi içinde ve yüklü akım potansiyeli altında anodik eritme metodu ile yüzey metalinin temizlenmesi, en genel anlamı ile elektrolitik aktivite kullanılarak yüzeyden bir metal uzaklaştırılması olarak tanımlanmaktadır. İşlem sırasında yüzeydeki çıkıntı veya pürüzler yani alçak basınç alanları olarak tanımlanan yüzey hataları en aza indirgenebilmektedir (11, 12).

Ayrıca yapıya gömülü olabilecek diğer bulaşıklar da bu yolla düzeltilen, temizlenen yüzeylerde barınmamaktadır. Bu uygulamada, kullanım sırasında fabrikasyon materyalinden gelebilecek kirli kirliliklerin yapıya yerleşmesi olanağı olmayacaktır. Elektrocilalama işlemi, minimum yüzey alanı ile çok pürüzsüz bir yüzey sağlayacağından metalin korozyon rezistansı da en yüksek değerdedir (10, 12).

İşleminde 1 mikrometreden büyük pürüzlerin düzeltilmesi makrocilalama ve 1/200 mikrometreden küçük yüzey hatalarının düzeltilmesi mikrocilalama olarak tanımlanmaktadır (11).

Metalin parlaklığı ve yansıtıcı parlaklığı, mikrocilalamanın derecesine göre belirlenmektedir. Görüntü yansımaları ise yüzeyin düzgünlüğüne bağlı olup, makrocilalamanın derecesine bağlı olarak düşünülmektedir (11).

Mekanik son işlem sırasında metalik olan yada olmayan maddeler, kullanılan aletlerden, yağlayıcı maddelerden ve aşındırıcılardan metalin yüzeyine dahil olabilmekte ve bu girişlerde korozyon atakları için bir mevzi oluşturulabilmektedir (5–7).

Elektrocilamanın bu gibi homojen olmayan alanları temizlemek için kullanılabilir iyi bir yöntem olabileceği bildirilmiştir. Elektrocilalama ile yüzeyin mikrogeometrik özellikleri geliştirilirken, bozuk tabakalarda kalınlıkları her ne olursa olsun ayrıştırılabilmektedir (10, 11).

İlaç endüstrisinde kullanılan paslanmaz çelik depolama tankları ile yapılan

bir çalışmada, elektrocilalamadan önceki mekanik son işlem yüzeyindeki çok büyük hataları ortadan kaldırmak, elektrocilalamanın ise yüzey özelliklerini mükemmelleştirmek amacıyla uygulandığı belirtilmiştir (7).

Paslanmaz Çelik Kullanım Avantajları

Bu işlemlerden sonra istenilen yüzey özelliklerine sahip paslanmaz çelik malzemenin parenteral üretimde, borularda, valflerde, depolama tanklarında güvenle kullanılabilirdiği ve uygun bakım ve kullanımda metalden gelebilecek bir problem görülmediği ve ayrıca temizleme sorunu olmadığı belirtilmiştir (7, 8, 11).

Yeni cihaz ve malzemelerin kullanılması sırasında, bu ekipmanın kirlenmelere maruz kaldığı uygulamalarda, işlem ünitesinin bir operasyondan diğerine değiştiği durumlarda ve aynı cihaz ve malzeme ile farklı bir ürün üretimine geçildiğinde, bazı standart temizlik işlemleri uygulanmaktadır. Bu işlemlerde amaç, varsa yüzeydeki serbest demiri tespit etmek ve uzaklaştırmaktır (8, 10, 12). Buhar temizlemesi ve basit çalkalama, özellikle depolarda karbon artıklarından kurtulmak için etkin metodlardır. Temizleme solüsyonlarının ürün akımının yaklaşık 1,5 kat yüksek hızdaki ters akım dolaşımı, sıkça kullanılan temizleme yöntemlerindedir (7).

Katı maddelerin birikmesini engelleyen, lekeleri ve tortuları yok eden periyodik temizleme, aletin kullanım süresini uzatmakta ve ürün kalitesini garanti etmektedir.

SONUÇ

Parenteral üretimlerde kullanılan paslanmaz çelik materyalin yüzey özellikleri mekanik son işlem uygulamaları ile düzeltildiğinde, artan mükemmellikte aşındırıcıların kullanıldığı bir seri işlemin son aşamalarını meydana getirir (5, 7). Bu durumu metalin yüzey yapısında deformasyona neden olabilmektedir (5). Ancak optimal sonuçlar için yüzeyin mekanik olarak işleniş biçimi önem taşımaktadır. Derin yaraların, çukurların ve pürüzlerin bulunduğu bir yüzeyin sadece elektrocilama ile düzeltilmesi pratik olmayacaktır (11). Bu anlamda düzenli mekanik son işlem standartları elektrocilama son işleminden önce saptanmalıdır (10, 11).

Elektrocilama ile yüzeyi terbiye edilmiş bir paslanmaz çelik materyalin, ürünle direkt temas edecek tümünde ve özellikle de steril üretimlerde güvenle kullanılacağı belirtilmiştir. Paslanmaz çelik cihaz ve malzemenin fabrikasyonu ve kullanımı süresince kalite kontrol denetimi ve standart temizlik işlemleri ürün kalitesini garanti edecektir. Literatürde belli üretim şartları altında verilen bir temizleme prosedürü uygulandığında, elektrocilalanmış yumuşak yüzeylerin, diğer mekanik yöntemlerle işlenmiş yüzeylerin kaba profiline oranla daha kolay temizlenebileceği de kaydedilmiştir (7, 8, 10).

KAYNAKLAR

- 1- International Standarts ISO 7153/1-1983.
- 2- Pharm. Ind., 1988, "EEC Guide für GMP" 50, 2.
- 3- "Biçimlenebilen Paslanmaz Çelikler" TS-2535 Şubat 1976.
- 4- SSYB, IEGMd, 1986, "Steril Ürünlerin Üretilmesi ve Kontrolünde İyi İmalat Uygulamaları Rehberi" Tenel Matbaası, Ankara.
- 5- Blundell, B.F., 1965, An Introduction to Industrial Finishing Equipment, 3-8 Pergamon Press Ltd, London.
- 6- Beadle, J.D., 1972, Product Treatment and Finishing, 61-71, The Macmillan Press Ltd, Hampshire.
- 7- Committee of Stainless Steel Producers Americal Iron and Steel Institue, 1966, Stainless Steel and The Chemical Industry, 44-68, U.S.A by Stoessel Graphics Inc., New York.
- 8- Avis, K.E., Lachman, L., Liebermann, H.A., 1984, Pharmaccutial Dosage Forms: Parenteral Medications Volume 1, 381- 383, Marcel Dekker Inc., New York.
- 9- Tver, F.D., Bolz, W.R., 1984, Encyclopedic Dictionary of Industrial Technology, 46-281 New Fetter Lane, London.
- 10- Valley, J.N., Rathburn, L.R., 1977, 'Finishing Requirements for Stainless Steel in Parenteral Applications', Bull. of Parenteral Drug Assoc., 31,2, 94-102.
- 11- Grimes, T.L., Fonner, D.E., Griffen, J.C., Rathburn, L.R., 1975, 'Electropolish Finishing of Stainless Steel In Pharmaceutical Processing Equipment', Bull. of Parenteral Drug Assoc., 29, 2, 64-73.
- 12- Mangan, D., 1991, 'Metallurgical Manufacturing and Surface Finish Requirements for High Purity Stainless Steel System Components, Journal of Parent. Sci. Tech., 45., (4), 170-176.

SİĞİR DALAK ASİT FOSFATAZININ KISMEN SAFLAŞTIRILMASI, FİZİKOKİMYASAL VE KİNETİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI *

H.Serdar ÖZTÜRK **

İsmail Hakkı GÖKHUN **

ÖZET

Bu çalışmada, siğir dalağından asit fosfataz enzimi kısmen saflaştırılarak, fizikokimyasal ve kinetik özellikleri incelenmiştir.

Saflaştırılan enzimin önce p--nitrofenil fosfat substratı için Michaelis--Menten ve Lineweaver--Burk grafikleri çizilerek K_m değeri 0,14 mM olarak hesaplanmıştır. Daha sonra amonyum molibdat, arsenik asit, sodyum pirofosfat, prolin, lityum sülfat, sıcaklık ve pH'nın enzim aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Amonyum molibdat ve arsenik asit'in enzim üzerinde kompetitif inhibisyon meydana getirdiği, sodyumpirofosfatın, allosterik inhibisyona yol açtığı, prolinin enzim aktivitesi üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı, lityum sülfatın enzim aktivitesini artırdığı, sıcaklığın etkisinin 37 °C ile 60 °C arasında ani bir aktivite artışı şeklinde ortaya çıktığı ve bu enzim için optimal pH'nın 4--5 arasında bulunduğu tespit edilmiştir.

PARTIAL PURIFICATION AND INVESTIGATION OF PHYSICOCHEMICAL AND KINETIC PROPERTIES OF BOVINE SPLEEN ACID PHOSPHATASE

SUMMARY

In this study, acid phosphatase enzyme was partially purified from bovine spleen and its physicochemical and kinetic properties were investigated.

First, we calculated K_m value of the enzyme as 0,14 mM for substrate p--nitrophenylphosphate by plotting the Michaelis--Menten and Lineweaver--Burk graphics. Then, effects of some chemicals, such as ammonium molybdate, arsenic acid, sodium pyrophosphate, prolin, lithium sulphate, and, some factors such as temperature and pH on the enzyme activity were established.

* Bu makale aynı isimli tezin kısaltılarak yazılmış şeklindedir.

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ANKARA--TÜRKİYE

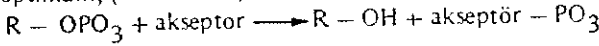
At the end, we found following results: 1—Ammonium molybdate and arsenic acid were competitive inhibitors of the enzyme 2—Sodium-pyrophosphate had an allosteric effect on the behaviour of the enzyme. 3—Prolin had no significant effect on the enzyme 4—Lithium sulphate activated the enzyme 5—When we increased the experimental incubation temperature, enzyme activity exhibited a sharp rise between 37 °C and 60 °C. 6—The optimal pH range for this enzyme was 4–5.

GİRİŞ

Fosfatazlar fosforik asit esterlerinin hidrolitik parçalanmasını katalizleyen enzimlerdir. Optimal aktivite gösterdikleri pH bölgesine göre asit fosfatazlar ve alkali fosfatazlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (1,2).

Asit fosfataz ismi optimal aktiviteleri pH 7'nin altında olan bütün fosfatazları ihtiva eder. Dolayısıyla bu isim, belirli bir enzim çeşidinden ziyade birbirine benzer veya ilişkili enzimleri ihtiva eden bir gruba aittir (3).

Asit fosfataz enziminin sistematik adı; ortofosforik monoester fosfohidrolaz, asit optimum, (EC 3.1.3.2)'dir. Genel reaksiyonu:



şeklinde yazılabilir (4). Buradaki R enzimin substratlarından herhangi biri olabilir. Bugüne kadar, enzimin açıkça ifade edilen spesifik fizyolojik bir substratı kesin olarak belirlenmemiştir (4).

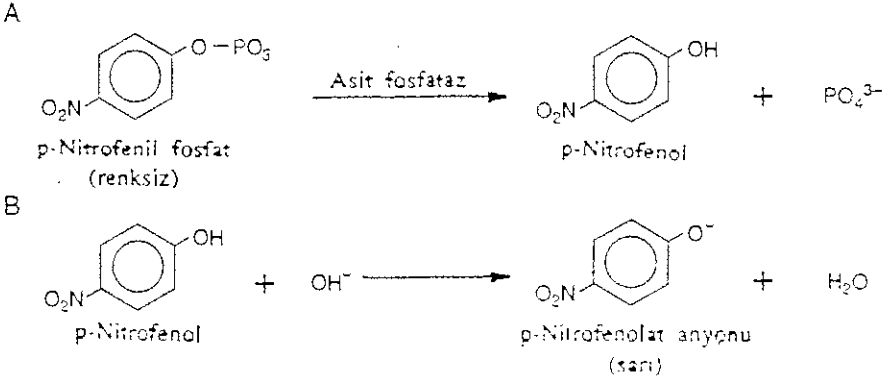
Asit fosfataz eritrositler dışında bütün hücrelerde mevcut bir organel olan lizozomlarda bulunur (5, 1, 3). Elektron mikroskopik immünotokimyasal çalışmalar sıçan karaciğerindeki asit fosfatazın lizozomal membranın iç yüzüne ve lizozomal matriksteki materyal kümelerine asosiyе olduğunu ortaya koymuştur (3). Enzim eritrositler ve trombositlerde de önemli miktarda bulunur (4, 3). En çok bulunduğu yer ise prostattır. Sağlıklı bir erkekten alınan kandan elde edilen serumdaki asit fosfataz enziminin 1/3 ilâ 1/2'si prostat kaynaklıdır (6).

Asit fosfataz'ın tabii formu, mol ağırlığı yaklaşık 100.000 – 125.000 olan bir dimerdir. Enzimi, yapı olarak birbirinin aynı 2 alt birimden meydana gelmiştir. Enzime kompleks bir karbonhidrat olan sialik asit moleküllerinden birkaç tanesi bağlanmıştır. Proteine bağlı olan sialik asit moleküllerinin sayısının izoenzim fraksiyonunun belirlenmesini sağladığı sanılmaktadır (4).

Asit fosfatazın fizyolojik rolü bilinmediğinden, enzimin plazma veya diğer materyallerdeki tayini güçleşmektedir. Bu sebeple de enzimin biyokimyasal fonksiyonlarını en iyi şekilde ortaya koyacak spesifik bir substrat bulunamamıştır. Eskiden beri kullanılan substratlar ölçüm kolaylığı gibi sebeplerden dolayı tercih edilmektedir (4).

Asit fosfataz ölçümlerinde en çok kullanılan substrat p-nitrofenil fosfattır. Ürün (p-nitrofenol), alkali çözeltide, parlak sarı bir renk verdiği için hidroliz

miktarının ölçümü oldukça doğrudur. İnkübasyon periyodunun sonunda baz ilâvesi reaksiyonu durdurur ve pH'yı alkali tarafa kaydırır. Oluşan p-nitrofenolat anyonu 410 nm'de kuvvetli bir absorpsiyon verir (4). Bu reaksiyon Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1: Asit fosfatazın katalizlediği reaksiyon

Asit fosfataz enziminin ölçümünün değer taşıdığı en önemli klinik durum prostat kansinomudur (1, 3, 4, 7). Bu hastalıkta serum asit fosfataz seviyesi yüksektir ve hastalık ilerledikçe artmaya devam eder (3, 4).

Osteoporoz, multipl myelom, Paget hastalığı, iskelet tutulumu olan hiperparatiroidi gibi kemik hastalığı bulunanlarda ve diğer ilgili klinik durumlarda asit fosfataz enzimi seviyesinde artış olduğu bildirilmiştir (3, 4). Belli bazı sfingolipid bileşiklerinin birikmesi ile karakterize bir metabolik bozukluk olan Gaucher ve Nieman-Pick hastalıklarında asit fosfataz seviyesinde ekseriya artış gözlenir (3, 4, 8). Enzim aynı zamanda bazı karaciğer rahatsızlıkları ve safra yolları tıkanmalarında da artar (4).

Akut ve kronik myeloid lösemi, myeloid metaplazi myeloma, kronik lenfositik lösemi, polisitemia vera, megaloblastik anemi gibi bazı kan hastalıklarında da enzim aktivitesinde hafif bir yükselme tespit edilmiştir (9).

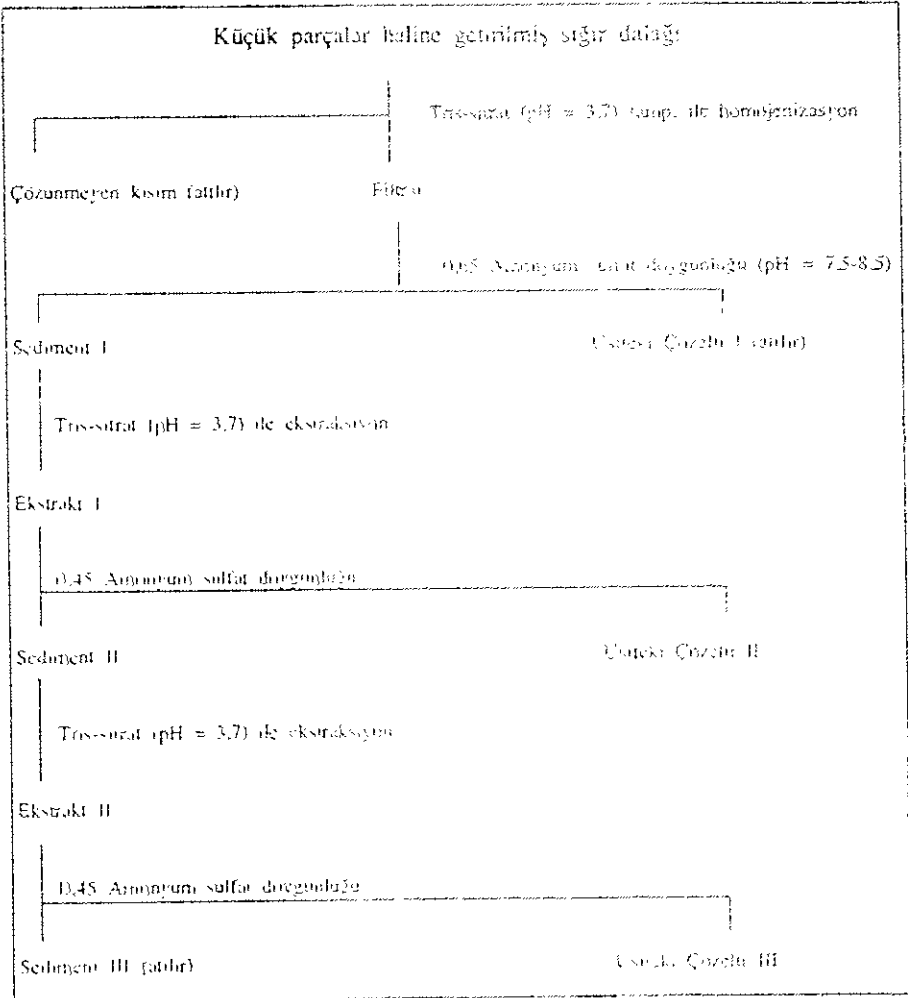
MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda önce asit fosfataz enzimi siğir dalağında kısmen saflaştırıldı. Saflaştırma işleminin her basamağında enzimin aktivitesi ve total proein miktarları ölçüldü. Kısmen saflaştırma işleminin sonunda ise enzimin p-nitrofenil fosfat substratına karşı Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m değeri hesaplandı. Bundan sonra saflaştırılan siğir dalak asit fosfatazının kinetik

özelliklerini tespit için deneyler yapıldı. Bu deneylerde, amonyum molibdat, Na pirofosfat,prolin,lityum sülfat, arsenik asit gibi değişik efektörlerin pH'nin ve sıcaklığın enzim aktivitesi üzerine etkileri incelendi.

Siğir dalağından asit fosfatazın kısmen saflaştırılması: Saflaştırma işleminde Davidson ve Fishman tarafından insan prestatından asit fosfataz'ın saflaştırılması sırasında kullanılan metod uygulandı (10). Saflaştırma şeması Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Saflaştırma Şeması



Tablodaki saflaştırma işlemi bitirildikten sonra, 1,5 X 90 cm boyutlarındaki kolona evvelce hazırlanmış, sephadex G100–120 süspansiyonu dolduruldu. Bu kolondan önce pH 4,8 sitrat tamponu geçirildi. Bundan sonra saflaştırma esnasında elde edilen Çözelti III bu kolona uygulandı.

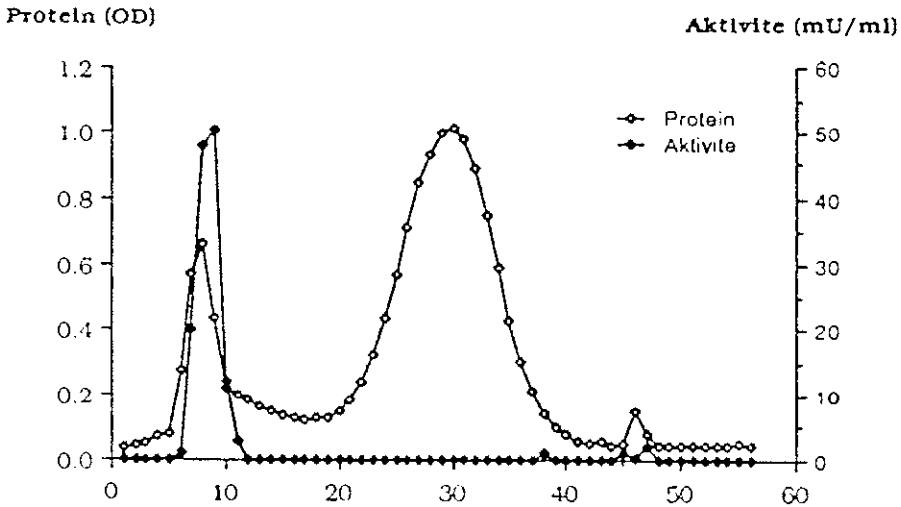
Kolondan geçen çözelti III her tüpe 50 damla gelecek şekilde ayarlanarak fraksiyon kollektöründe tüplere toplandı. Tüplerin herbirinde spektrofotometre ile 280 nm’de protein miktarı ölçüldü. Proteinin pik yaptığı yerlerde aktivite tayin edildi.

Saflaştırma işlemi esnasında her basamakta ve daha sonra yapılan kinetik deneylerde enzim aktivitesi Bessey–Lowry–Scott’un asit fosfataz tayin metodu kullanılarak ölçüldü (11). Asit fosfataz asit ortamda p–nitrofenilfosfatın p–nitrofenol ve fosfata hidrolitik olarak parçalanmasını katalizler. Bu reaksiyon NaOH ilavesiyle durdurulur ve oluşan p–nitrofenolat anyonunun alkali ortamdaki sarı rengi 405 nm de spektrofotometre ile ölçülür (11).

Saflaştırma işleminin her kademesinde protein miktarları Lowry Metoduna göre tayin edildi (12).

SONUÇLAR

Şekil 2’de saflaştırmanın son kademesinde üstteki çözelti III’ün Sephadex G–100–120 kolonuna uygulanmasından sonra, fraksiyon kollektöründeki tüplerde toplanan kolon filtratının 280 nm de okunan protein değerleri ile enzim aktivitesi ölçümü sonucunda bulunan asit fosfataz aktiviteleri görülmektedir.



Şekil 2: Kolon filtratından elde edilen enzim aktivitesi ve protein değerleri.

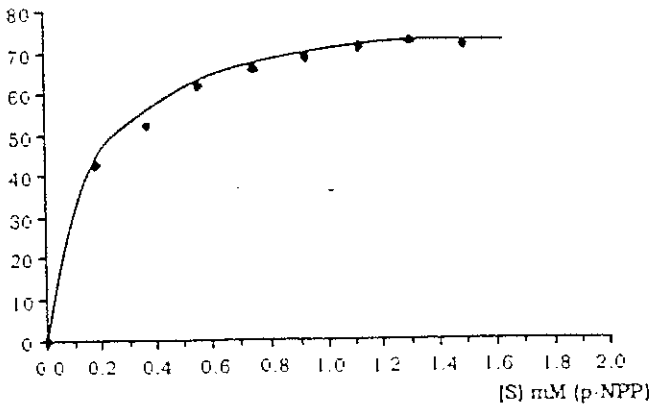
Aşağıdaki Tablo 2'de saflaştırma işleminin kademeleri ve her kademedeki sonradan elde edilen değerler gösterilmiştir. Buna göre saflaştırma işleminin son basamağındaki Sephadex G-100-120 kolonundan sonra total aktivite 18 mU, spesifik aktivite 300 mU/mg protein, saflaştırma oranı 66.1 ve verim % 0.05 olarak bulunmuştur.

Tablo-2: Siğir Dalagından Asit Fosfataz Enziminin Saflaştırma Basamaklarında Elde Edilen Sonuçlar

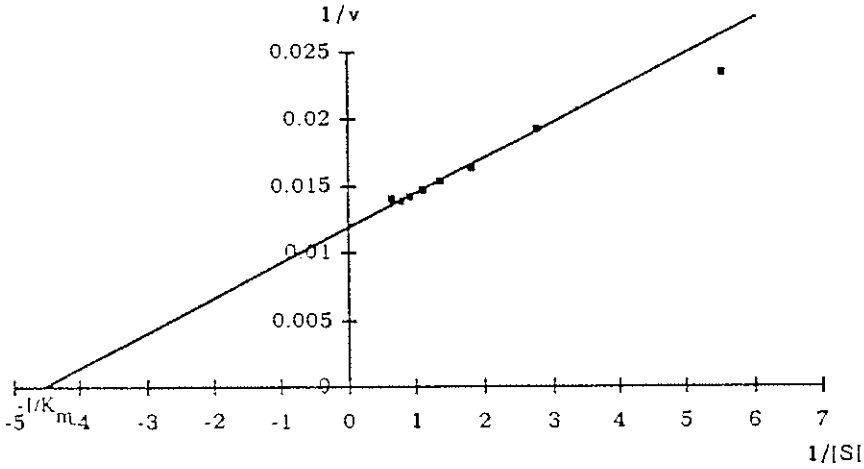
Saflaştırma Basamakları	Hacini (ml)	Protein (mg/ml)	Aktivite (mU/ml)	T. Prot. (mg)	Total Akt. (mU)	Spesifik akt. mU/mg.pr.	Saflaştırma oranı	Verim (%)
Homojenat	380.0	21.6	98	8208.0	37240	4.54	1.0	100
Ekstrakt-I	85.0	9.6	90	816	7650	9.58	2.1	20.5
Ekstrakt-II	13.0	7.8	82	101.4	1066	10.5	2.3	2.86
Üst. Çöz. III	15.0	0.15	24	2.25	360	160	35.3	0.97
Sep-G-100-120	10.0	0.06	1.8	0.06	18	300	66.1	0.05

Bu çalışmada p-nitrofenilfosfat substratı için 37 °C de pH,4,8 ve 0,1,M sitrat tamponunda bulunan K_m değeri 0,14 mM olarak bulunmuştur. İlgili Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri Şekil 3 ve 4'de gösterilmiştir.

Aktivite (mU/ml)

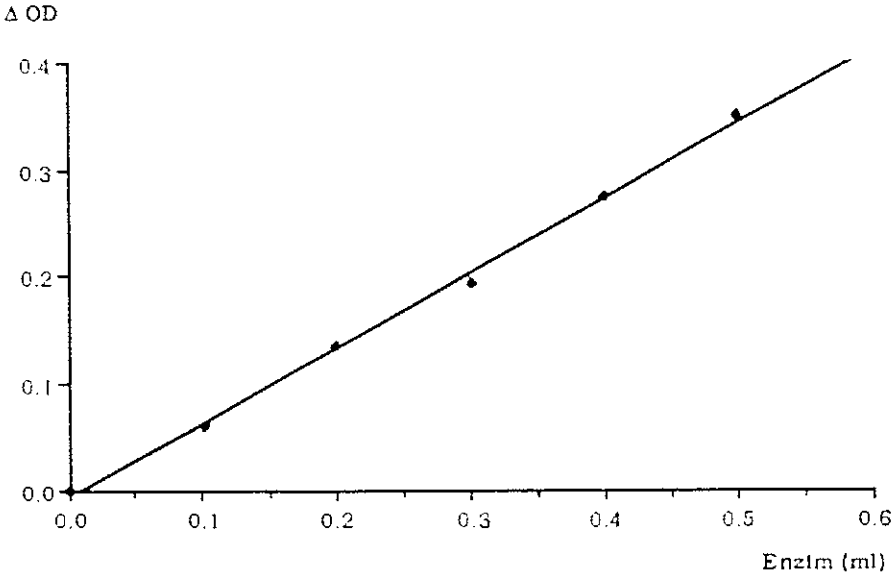


Şekil 3: Artan p-nitrofenilfosfat Konsantrasyonunun Enzim Aktivitesine Etkisi (Michaelis-Menten Grafiği).



Şekil 4: Artan p-Nitrofenil Fosfat Konsantrasyonunun Enzim Aktivitesine Etkisi (Lineweaver-Burk Grafiği).

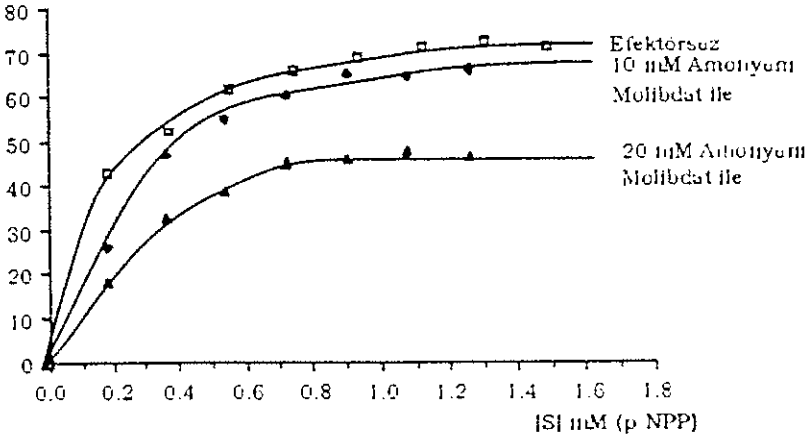
Artan enzim miktarının aktiviteye etkisi incelendiğinde Şekil 5'de gösterilen grafik elde edilmiştir.



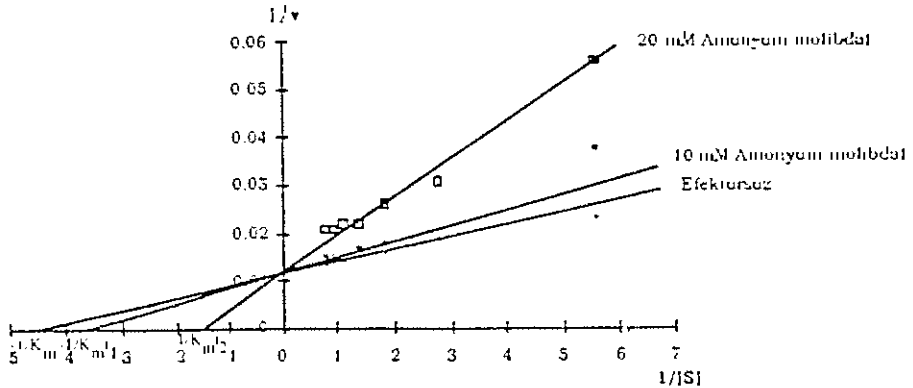
Şekil 5: Artan Enzim Miktarının Enzim Aktivitesine Etkisi.

Sabit efektör konsantrasyonunun artan substrat konsantrasyonlarında enzim aktivitesine etkisinin incelenmesi maksadıyla iki değişik konsantrasyonda Amonyum Molibdat (10 mM, 20 mM) ve Arsenik asidi (10 mM, 20 mM), Sodyum pirofosfat (10 mM), efektör olarak kullanıldı. Bu çalışmalardan elde edilen verilerle çizilen Michaelis–Menten ve Lineweaver–Burk grafikleri, sırasıyla Şekil 6 a, b, 7. a, b ve 8'de gösterilmiştir.

Aktivite (mU/ml)

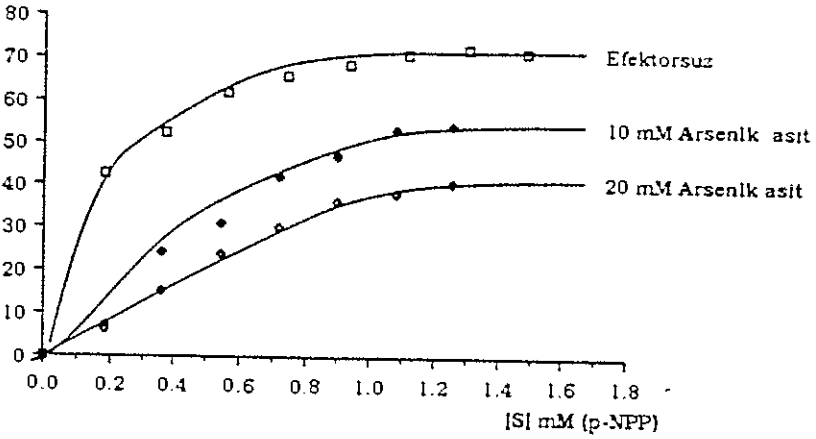


Şekil 6.a— Amonyum Molibdatın Artan p–Nitrofenil Fosfat Konsantrasyonlarında Enzim Aktivitesine Etkisi (Michaelis–Menten Grafiği).

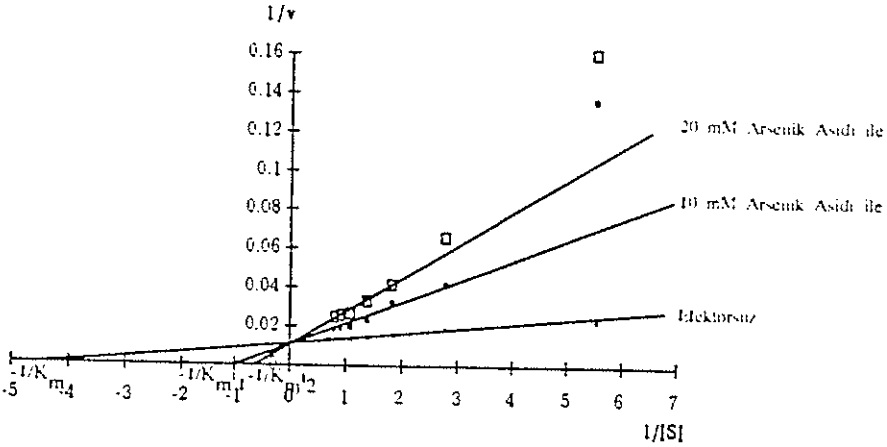


Şekil 6.b— Amonyum Molibdatın Artan p–Nitrofenil Fosfat konsantrasyonlarında Enzim Aktivitesine Etkisi (Lineweaver–Burk Grafiği).

Aktivite (mU/ml)

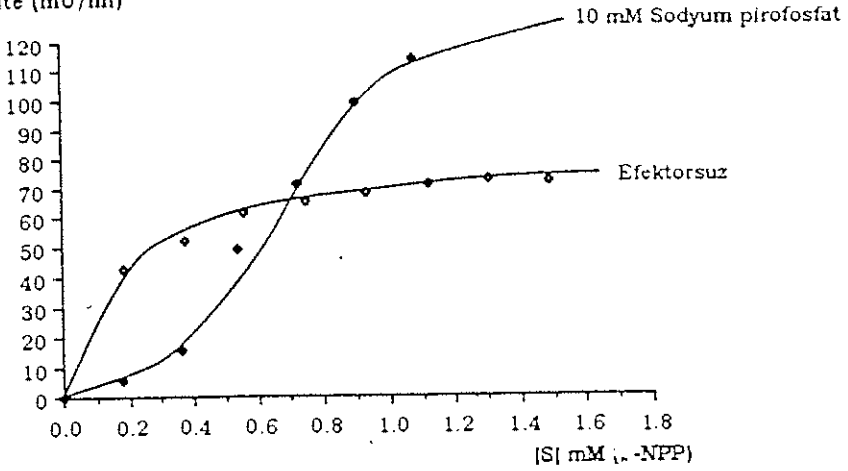


Şekil 7.a— Arsenik Asidinin Artan p-Nitrofenil Fosfat Konsantrasyonlarında Enzim Aktivitesine Etkisi (Michaelis-Menten Grafiği).



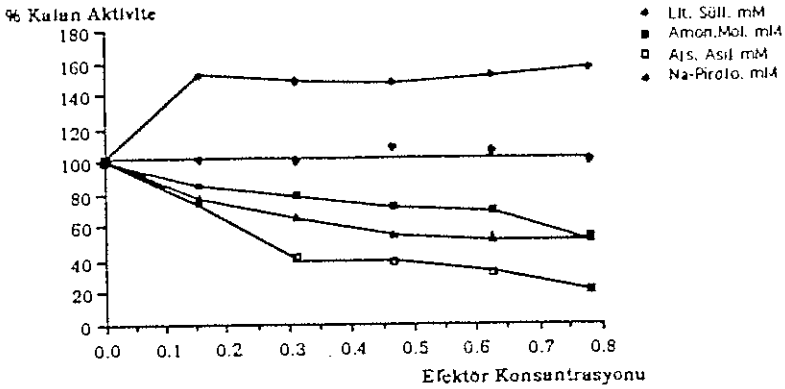
Şekil 7.b— Arsenik Asidinin Artan p-Nitrofenil Fosfat Konsantrasyonlarında Enzim Aktivitesine Etkisi (Lineweaver-Burk Grafiği).

Aktivite (mU/ml)



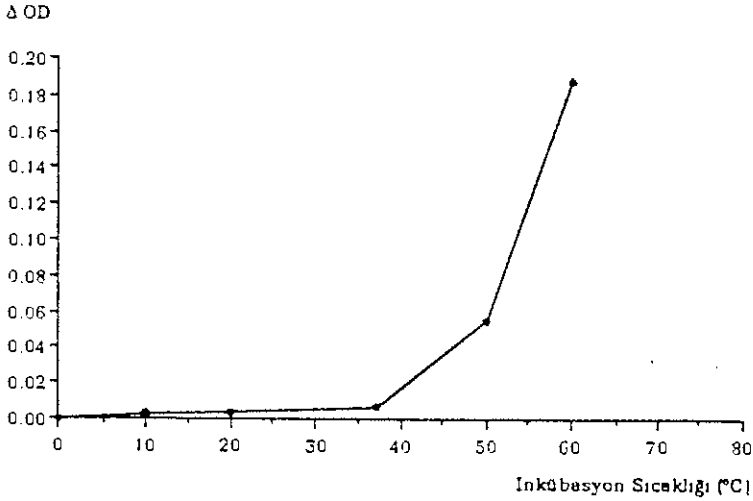
Şekil 8— Sodyum Pirofosfatın Artan p-Nitrofenil Fosfat Konsantrasyonlarında Enzim Aktivitesine Etkisi

Sabit substrat konsantrasyonunda artan efektör konsantrasyonunun enzim aktivitesine etkisinin incelenmesi maksadıyla prolin (% 10 mg), lityum sülfat (10 mM) Amonyum Molibdat (10 mM), Arsenik asit (10 mM) ve Sodyum Pirofosfat (10 mM) efektör olarak kullanıldı. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara ait -% kalan aktivite- grafiği Şekil 9'da gösterilmiştir.

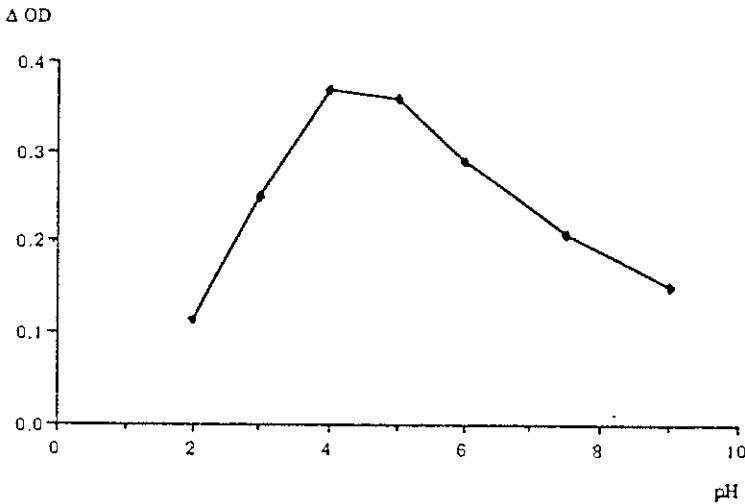


Şekil 9— Sabit Substrat Konsantrasyonunda Artan Efektör Konsantrasyonunun Enzim Aktivitesine Etkisine Ait Sonuçlar (Prolin % 10 gr, Lityum Sülfat 10 mM, Amonyum Molibdat 10 mM, Arsenik Asit 10 mM, Sodyum Pirofosfat 10 mM).

Çalışmamızda sıcaklığın ve pH'nın enzim aktivitesi üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar Şekil 10 ve 11'deki grafiklerde gösterilmiştir.



Şekil 10— Sıcaklığın Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.



Şekil 11— pH'nın Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.

TARTIŞMA

Asit fosfataz enzimi, bugüne kadar pek çok araştırmacı tarafından çeşitli bitkilerden, mikroorganizmalardan, çeşitli hayvanların ve insanın değişik organ ve dokularından saflaştırılarak fizikokimyasal ve kinetik özellikleri incelenmiştir (5, 13-31).

Bizim bu çalışmamızda asit fosfataz enzimi sığır dalağından kısmen saflaştırılarak fizikokimyasal ve kinetik özellikleri incelenmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar arasında, diğer hayvan organ ve dokularıyla yapılan çalışmalar olduğu gibi, sığır dalağıyla yapılan çalışmalarda, sınırlı sayıda da olsa vardır (29).

Literatürde, asit fosfataz'ın saflaştırılması için değişik metodların kullanıldığı görüldü (15, 20, 25, 31, 32). Bizim bu çalışmamızdaki saflaştırma işleminde Davidson ve Fishman tarafından insan prostatından asit fosfatazın saflaştırılması için kullanılan metod uygulanmıştır (10). Bilindiği gibi bu metotta kullanılan Amonyum sülfat çöktürmesi, enzim saflaştırmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

Saflaştırma işleminin her basamağında ve daha sonra yapılan kinetik deneylerde enzim aktivitesini ölçmek için Bessey-Lowry Scott'un asit fosfataz tayin metodu kullanıldı (11). Bu metotta enzim substratı olarak p-nitrofenil fosfat kullanılmaktadır (11). Bugüne kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde asit fosfataz'ın bilinen substratları arasında en yüksek affiniteyi p-nitrofenil fosfata karşı gösterdiği görülmektedir (6, 14, 20, 24, 27, 33, 34).

Diğer fosfat esterlerini de substrat olarak kullanmakla birlikte, bunlara karşı gösterdiği affinite, p-nitrofenil fosfattan daha azdır (14, 22, 26, 27, 34).

Avila ve arkadaşları, Amerikan Leishmania promastigotlarından saflaştırdıkları asit fosfataz enziminin spesifik aktivitesini saflaştırmanın son basamağında 124 kat saflaştırarak 450.13 ünite/mg bulmuşlardır (5). Stepan ve arkadaşları, insan hairy-cell lösemili dalağından saflaştırdıkları asit fosfataz'ın spesifik aktivitesini saflaştırmanın son basamağında 354 kat saflaştırarak 481 ünite/mg bulmuşlardır (28). Waymack ve arkadaşları, buğday tohumundan saflaştırdıktan asit fosfatazın spesifik aktivitesini saflaştırmanın son basamağında 7030 kat saflaştırarak 605 ünite/mg bulmuşlardır (31). Duff ve arkadaşları, siyah hardal hücre süspanسیون kültüründen yaptıkları saflaştırma asit fosfatazın spesifik aktivitesini saflaştırmanın son basamağında 1633 kat saflaştırarak 1225 ünite/mg olarak bulmuşlardır (14). Bizim çalışmamızda ise spesifik aktivite saflaştırmanın son basamağında 66,1 kat saflaştırılarak 300 ünite/mg olarak bulunmuştur (Tablo 2).

Saflaştırma işlemi tamamlandıktan sonra enzimin kinetik özelliklerinin incelenmesine geçildi. İlk olarak artan substrat konsantrasyonunun enzim aktivitesi üzerine ekisi araştırıldı. p-nitro fenilfosfat substratı ile yapılan bu çalışmanın neticesinde saflaştırdığımız enzimin Michaelis-Menten kinetiğine uygunluk gösterdiği görüldü (Şekil 3). p-nitrofenil fosfat substratı ile 37°C'de, pH: 4,8 ve 0,1 M sitrat tamponuyla yapılan bu çalışmanın sonucuna göre çizilen Micheaelis-Menten

grafliğinden K_m 0,14 mM olarak hesaplandı. Bu konudaki yapılan çalışmaları incelediğimizde, Avila ve arkadaşlarının Amerikan *Leishmania promastigot*larından saflaştırdıkları asit fosfataz enzimi için p--nitrofenilfosfat substratı ile pH:5,2 de, K_m değerini 1,0 mM olarak buldukları (5). Duff ve arkadaşlarının siyah hardal hücre süspansiyonu kültüründen saflaştırdıkları enzim için, p--nitrofenilfosfat substratı ile pH: 5,6'da K_m değerini 0,29 mM (14) Panara ve arkadaşlarının *Rana esculenta* karaciğerinden saflaştırdıkları asit fosfataz'ın 4 izoenzimi ile yaptıkları çalışmada, 37°C'de ve pH: 5'de p--nitrofenil fosfat substratı için, K_m değerini 0,16-0,2 mM (34), Panara ve arkadaşlarının bir başka çalışmada arpa kökünden saflaştırdıkları asit fosfataz enzimi için, p--nitrofenil fosfat substratı ile pH: 4,8'de K_m değerini 0,12 mM (27), ve yine Panara'nın yaptığı diğer bir çalışmada tavuk karaciğerinden saflaştırdığı 2 asit fosfataz izoenzimi için; p--nitrofenil fosfat substratı ile, sırasıyla pH: 4,5 - 4,8'de K_m - 0,16 mM ve pH : 5,2 - 5,5'da K_m - 0,10 mM'lik sonuçlarını elde ettikleri bildirilmektedir (26).

Artan enzim miktarının aktiviteye etkisinin incelenmesi maksadıyla yaptığımız deneyde, enzim miktarının artışıyla doğru orantılı olarak aktivitede de lineer bir artış olduğu görüldü (Şekil 5).

Amonyum molibdat, arsenik asiti ve sodyum pirofosfatın artan substrat konsantrasyonlarında enzim aktivitesine etkilerini incelemek maksadıyla yaptığımız deneylerde bu maddelerden amonyum molibdat ve arsenik asidinin enzim üzerinde kompetitif inhibisyona yol açtığı gözlenmiştir (Şekil 6.a, b ve 7.a, b). Literatürdeki evvelce yapılmış çalışmalarda; amonyum molibdat ve arsenik asidi ile ilgili olarak benzer sonuçların alındığı görüldü (14, 26, 27, 29, 31).

Sodyum pirofosfatla yaptığımız çalışmada ise düşük substrat konsantrasyonlarında inhibisyon yaptığı, belli bir kritik seviyeden sonra ise enzimi aktive ettiği görüldü. Şekil 8'de çizilen grafikte görüldüğü gibi sigmoid bir eğri elde edildi. Bu durum allosterik inhibisyon tipine uymaktadır. Bu son çalışmamızla ilgili olarak literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Prolin, lityum sülfat, amonyum molibdat, arsenik asidi ve sodyum pirofosfatın artan konsantrasyonlarının sabit substrat konsantrasyonunda enzim aktivitesine etkisinin incelenmesi için yaptığımız deneylerde, prolin'in enzim aktivitesi üzerine hiçbir etkisinin olmadığı, lityum sülfatın enzim aktivitesini artırdığı amonyum molibdat, arsenik asidi ve sodyum pirofosfatın ise enzim aktivitesinde azalmaya yol açtığı gözlemlendi (Şekil 9).

Sıcaklığın enzim aktivitesi üzerine etkisini incelemek maksadıyla yapılan deneyde, 37 °C'nin üzerindeki deney sıcaklıklarında, 60 °C'ye kadar enzim aktivitesinde ani bir yükselme gözlenmiştir (Şekil 10).

Literatürde sıcaklığın enzim aktivitesi üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalarda farklı sonuçların alındığı, hatta aynı dokudan elde edilen farklı izoenzimlerin bile farklı davranış gösterdikleri tespit edilmişti. Mesela Panara ve arkadaşlarının *Rana esculenta* karaciğerinden saflaştırdıkları asit fosfatazın 4 izoenzimi ile yaptıkları

çalışmada II.nin 50 °C'ye dayanıklı olduğu, IV.'nün 50 °C'de 10 dakikada inakti ve olduğu, I.nin II. ile IV. arasında bir davranış gösterdiği, III. ün ise 50°C'de belirgin aktivasyon gösterdiği, bu aktivasyonun 60 °C'ye kadar devam ettiği, 70 °C'de ise 10 dakikada inaktive olduğu belirtilmektedir. Gene bu çalışmada 4 izoenzimin optimal aktivitelerini 37 – 42 °C'ler arasında gösterdiği bildirilmektedir (34). Panara ve arkadaşlarının arpa kökü ile yaptığı bir başka çalışmada ise saflaştırılan enzimin yarı ömrünün 40 °C'de 40 dakika 50 °C'de 5 dakika olduğu, 60 °C'de hızla inaktif hale geçtiği ve optimal sıcaklığının 30 – 35 °C civarında bulunduğu bildirilmektedir (27).

pH'nın asit fosfataz enzimi üzerine etkisini incelemek için yaptığımız deneyde, saflaştırdığımız enzimin pH 4–5 arasında en yüksek aktiviteyi gösterdiği gözlemlendi. Waymack ve arkadaşları, buğday tohumundan saflaştırdıkları asit fosfataz için maksimal stabilite elde edilen pH'aralığının 4–7, (31). Janska ve arkadaşları, yayın balığı karaciğerinden elde ettikleri asit fosfataz için optimum pH : 4,8 (19), Panara tavuk karaciğerinden elde ettiği asit fosfataz izoenzimlerinden I. için pH aralığını 4,5 – 4,8 ve II. için 5,2 – 5,5 (26), Duff ve arkadaşları, siyah hardal hücre süspansiyon kültüründen saflaştırdıkları asit fosfatazın optimum pH'ını 5,6(14).Avila ve arkadaşları American Leishmania promastigotlarından elde ettikleri asit fosfatazın optimum pH'ını 5,2 (5) ve Himeno ve arkadaşları, siçan karaciğerinden izole ettikleri asit fosfatazın optimum pH'ını 5,0 (16) olarak bildirmişlerdir.

KAYNAKLAR

- 1- Bergmeyer H.U. Methoden Der Enzymatischen Analyse. Band 1. Verlag Chemie. Weinheim/Bergstr. 1974.
- 2- Gökhun I.H. Siçan böbrek ve karaciğer alkali fosfatazları üzerine metil ve etil parationun tesirleri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 30 (1): 23–24, 1977.
- 3- Tietz N.W. Textbook of Clinical Chemistry. WB Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, Hong Kong. 1986.
- 4- Calbreath, D.F. Clinical Chemistry. A Fundamental Textbook. W.B. Saunders Company. 1992.
- 5- Avila J.L., Hernandez–Morales Dr. Polegre M.A., Convit J.On the acid phosphatase isoenzymes existing in American Leishmania promastigotes. Comparative Biochemistry and Physiology. 94 B (2): 335–342, 1989.
- 6- Hara A., Sawada H., Kato T., Nakayama T., Yamamoto H., Matsumoto H. Purification and characterization of a purple acid phosphatase from rat spleen. Journal of Biochemistry. 95 (1): 67–74, 1984.

- 7- Andriole G.L., Coplen D.E., Mikkelsen D.J., Catalona W.J. Sonographic and pathological staging of patients with clinically localized prostate cancer. *The Journal of Urology*. 142: 1259–1261, 1989.
- 8- Richterich R., Colombo J.P. *Klinische Chemie. Theorie, Praxis, Interpretation*. S. Karger. Basel, München, Paris. London, New York, Sydney. 1978.
- 9- Barboni E., Kemeny D.M., Campos S., Vernon C.A. The purification of acid phosphatase from honey bee venom (*Apis mellifica*). *Toxicon*. 25 (10): 1097–1103, 1987.
- 10- Thierfelder/Hoppe—Seyler. *Hadbuch der Physiologisch—und pathologisch—chemischen Analyse*. Springer Verlag. Berlin. 1966.
- 11- Weber H., Wegmann T. *Atlas der Klinischen Enzymologie. Methoden und Arbeitsvorschriften*. Georg Thieme Verlag. Stuttgart. 1968.
- 12- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Fan, A.L., and Randall R.J. *J. Biol. Chem.* 193. 265–275, 1951.
- 13- Dissing J., Svensmark O. Human red cell acid phosphatase: Purification and properties of the A, B and C isozymes. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1041, 232–242, 1990.
- 14- Duff S.M.G., Lefebvre D.D., Plaxton W.C. Purification, characterization, and Subcellular localization of an acid phosphatase from black mustard cell—suspension cultures. Comparison with phosphoenolpyruvate phosphatase. *Arc. Biochem. Biophys.* Vol. 286, No. 1, 226–232 (1991).
- 15- Himeno M., Koutoku H., Tsuji H., Kato K. Purification and characterization of acid phosphatase in rat liver lysosomal contents. *Journal of Biochemistry*. 104 (5): 773–776, 1988.
- 16- Himeno M., Koutoku H., Ishikawa T., Kato K. Acid phosphatase in rat liver lysosomal membranes: Purification and characterization. *Journal of Biochemistry*. 105 (3): 449–456, 1989.
- 17- Himeno M., Fujita H., Noguchi Y., Kono A., Kato K. Isolation and sequencing of a cDNA clone encoding acid phosphatase in rat liver lysosomes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 162(3): 1044–1053, 1989.
- 18- Janska H., Kubicz A. Studies on the heterogeneity of carp liver acid phosphatases: Acid phosphatase—I. Subunit structure and carbohydrate composition. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 82 B (3): 563–567, 1985.
- 19- Janska H., Kubicz A., Bem M. Catfish liver acid phosphatases: Differently glycosylated enzyme molecules with altered kinetic properties. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 85 B (4): 753–758, 1986.
- 20- Janska H., Kubicz A., Szalewicz A., Harazna J. The high molecular weight and the low molecular weight acid phosphatases of the frog liver and their phosphotyrosine activity. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 90 B (1): 173–178, 1988.

- 21- Janska H., Kubicz A., Szalewicz A. The lower molecular weight acid phosphatase from the frog liver: Isolation of homogeneous AcPase III and IV representing glycoforms with different bioactivity. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 92 B (2): 341-346, 1989.
- 22- Kato T., Hara A., Nakayama T., Sawada H., Hamatake M., Matsumoto Y. Purification and characterization of purple acid phosphatase from rat bone. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 83 B (4): 813-817, 1986.
- 23- Ketheam C.M., Roberts R.M., Simmen R.C.M., Nick H.S. Molecular cloning of the type 5, iron-containing, tartrate-resistant acid phosphatase from human placenta. *The Journal of Biological Chemistry*. 264 (1): 557-563, 1989.
- 24- Lau K.H.W., Freeman T.K., Baylink D.J. Purification and characterization of an acid phosphatase that displays phosphotyrosyl-protein phosphatase activity from bovine cortical bone matrix. *The Journal of Biological Chemistry*. 262 (3): 1389-1397, 1987.
- 25- Mc Dougal D.B., Mc Dougal S.H., Johnson E.M. Effect of Capsaicin upon fluoride sensitive acid phosphatases in selected ganglia and spinal cord and upon neuronal size and number in dorsal root ganglion. *Brain Research*. 331: 63-70, 1985.
- 26- Panara F. Isolation and partial characterization of high and low molecular weight acid phosphatases from chicken liver. *International Journal of Biochemistry*. 17 (11): 1213-1217, 1985.
- 27- Panara F., Pasqualini S., Antonielli M. Multiple form of barley root acid phosphatase: Purification and some characteristics of the major cytoplasmic isoenzyme. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1037: 73-80, 1990.
- 28- Stepan J.J., Lau K.H.W., Mohan S., Kraenzlin M., Baylink D.J. Purification and N-terminal sequence of two tartarate-resistant acid phosphatases type-5 from the hairy-cell leukemia spleen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 165 (3): 1027-1034, 1989.
- 29- Vincent J.B., Crowder M.W., Averill B.A. Spectroscopic and kinetics studies of a high-salt-stabilized form of the purple acid phosphatase from bovine spleen. *Biochemistry* 30, 3025-3034, 1991.
- 30- Waheed A., Laidler P.M., Wo Y.Y.P., Van Etten R.L. Purification and physicochemical characterization of a human placental acid phosphatase possessing phosphotyrosyl protein phosphatase activity. *Biochemistry*. 27: 4265-4273, 1988.
- 31- Waymack P.P., Van Etten R.L. Isolation and characterization of a homogeneous isoenzyme of wheat germ acid phosphatase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 288 (2): 621-633, 1991.

- 32- Fuöimota S., Urata Y., Nakagawa T., Ohara A. Characterization of intermediate—molecular—weight acid phosphatase from bovine kidney cortex. *Journal of Biochemistry*. 96: 1079—1088, 1984.
- 33- Anderson T.R., Toverud S.U. Purification and characterization of purple acid phosphatase from developing rat bone. *Archives of Blochemistry and biophysics*. 247 (1): 131—139, 1986.
- 34- Panara F., Angiolillo A., Pascolini R. Acid phosphatases from liver of *Rana esculenta*. Subcellular localization and partial characterization of multipl forms. *Comp. Biochem. Physiol.* 93 B (4): 877—882, 1989.

