T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
REFİK SAYDAM HIFZISSIHHA MERKEZİ
BAŞKANLIĞI

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

Cilt : 56 No : 2
(1999)

ISSN 0377 - 9777

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

TÜRK HİJ DEN BİYOL DERG
VOL : 56 No : 2
(1999)

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

Sahibi : Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı adına
Başkan **Kadir BAŞAR**

ISSUED BY

REFİK SAYDAM HIFZISSIHHA MERKEZİ BAŞKANLIGI
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü
Ankara -TÜRKIYE

Senede üç defa çıkar
The bulletin is issued three times a year

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

1. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı yayın organıdır
2. Dergide mikrobiyoloji, immünoloji, farmakoloji, toksikoloji, parazitoloji, entomoloji, biyokimya ve kan ürünleri, gıda güvenliği, çevre sağlığı, patoloji ve hizyopatoloji, halk sağlığı ve epidemiyoloji ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, derleme, olgu sunumu, bilim haberleri, bilimsel kitap ve dergilerin tanıtma yazıları, uluslararası dergilerden makale özetleri ve okuyucu mektupları yayımlanır
3. Dergi dört ayda bir çıkar ve üç sayıda bir cilt tamamlanır
4. Dergide daha önce başka yerde yayınlanmamış ve "Dergi Yayın Kurulu ve Yazı İnceleme Kurulu"nca uygun görülen yazılar yayımlanır. Gönderilen yazılar konu ile ilgili üç Yazı İnceleme Kurulu üyesinden ikisinin olumlu görüşünü aldığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu Kurulların yazının niteliğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
5. Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir
6. Dergide yayımlanan yazıların yayın hakkı Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmez
7. Derginin dili Türkçe ve İngilizce'dir. Türkçe yazıların "Türk Dil Kurumu, Türkçe Sözlük ve Yeni Yazım Kılavuzu"na uygun olması gereklidir
8. Gönderilen yazıların Dergide yayımlanabilmesi için Uluslararası Tıbbi Dergi Editörleri Kurulu'nun "Biyomedikal Dergilere Teslim Edilecek Metinlerde Aranan Ortak Özellikler" (*British Medical Journal* 1988; 296: 401-404 veya *Annals of Internal Medicine* 1988; 108: 258-65 veya Türkçe olarak Literatür 1989; 9 (58): 165-70) başlıklı bildirisinde tanımlanan kurallara uygun olması gereklidir
9. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez. Buna göre metinler, A4 kağıtlara yalnız bir yüzü kullanılarak, tanıtıcı etiketler dahil) iki satır aralıkla, kenarlardan en az 3'er cm boşluk bırakılarak bilgisayarda yazılmalıdır.

   Deneme yazılarda özet ve anahtar kelimelere gerek yoktur. Kaynak sayısı mümkünse 40'ı aşmamalıdır

   Olgu sunumlarında kaynak sayısı sınırlı tutulmalı, giriş ve tartışma kısımları kısa ve öz olmalıdır

   Araştırma ve olgu sunumu şeklindeki yazılar mutlaka aşağıda belirtilen düzene uygun olmalıdır:

   Başlık Sayfası: Başlık (Türkçe), Yazarlar, Kurum, Yazışma Adresi şeklinde düzenlenmelidir. Başlık: metne uygun ve anlaşılır olmalıdır. Yazar ad ve soyadları açık olarak yazılmalı, kurumlar) belirtilmeli, yazışmalardan sorumlu yazarın adı ve adresi ayrıca belirtilmelidir. Yazı bir bilimsel toplantıda tebliğ edilmişse bu sayfada belirtilmelidir

   Özet sayfası: Türkçe ve İngilizce özetler, Türkçe ve İngilizce başlık taşımalı, 150 kelimeyi aşmayan, çalışmanın amacını ve varılan sonuçları kısaca açıklar nitelikte olmalıdır. Türkçe ve İngilizce anahtar sözcükler özetlerin altında, 3-10 sözcük arasında olmalı ve *Index Medicus*'un *Medical Subject Headings*'de (MeSH) yer alan terimler kullanılmalıdır.

   Ana Metin: Özgün araştırmalarda Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma kısımlarını içermelidir.

   Metin içinde geçen Latince mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımlarında örnekteki gibi kısaltılarak yazılmalıdır. Mikroorganizmaların orijinal Latince isimlerinin altı, italik basılmalarını sağlamak amacıyla çizilmelidir. Pseudomonas aeruginosa. . . P. aeruginosa gibi.

   Yazıda sadece cins adı geçen cümlelerde stafilococok, streptokok gibi dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir.

   Yanında birim gösterilmeyen ondan küçük sayılar yazı ile yazılmalı, rakam ile yazılan sayılara takılar kesme işareti ile eklenmelidir: beş olgu. .., olguların 36'sı gibi.

   Boyama yöntemi olan Gram büyük harfle yazılmalı, 'Gram (-)' yerine 'Gram negatif', basil yerine "bakteri" veya "çomak" sözcükleri kullanılmalıdır. Yazılar bir zorunluluk olmadıkça "maşi geçmiş" zaman ekiyle yazılmalıdır. Antibiyotik isimleri dil bütünlüğü açısından okunduğu gibi yazılmalıdır.

   Kaynaklar: Kaynak numaraları parantez içinde cümle sonlarında verilmeli ve geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Metinde yazar adı kullanılıyorsa kaynak numarası yazar adının yanına yazılmalıdır.

   Özetlerin kaynak olarak kullanılmaları kaçınılmalıdır. Kaynakların yazılımı mutlaka aşağıdaki örneklere uygun olmalıdır:

   Kaynak bir dergi ise;

   Yazarlar; tüm Soyadı Adının baş harfleri) tam veya daha az yazım varsa hepsi yazılmalıdır, yazar sayısı yedi veya daha çoksa yalnız ilk üçünü kazıp et al. [ve ark.] eklenmelidir. Makalenin başlığı, Derginin Index *Medicus*'a uygun kısaltılmış ismi, Yıl; Cilt: ilk ve son sayfa numarası

   I-Standart Dergi Makalesi için örnek

   Yeu CH, Lee KY, Chen RY, Mekjay R. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. Gastroenterology 1981; 79: 211-4

   II-Yazarı verilmemiş makale için örnek

   Anonymous. Coffee drinkers risk cancer of the pancreas [Editorial]. Br Med J 1981; 283: 628

   III-Dergi eki için örnek

   Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan [Abstract]. Blood 1979; 54 (Suppl 1): 26a

   Kaynak bir kitap ise;

   Yazarların Soyadı Adının baş harfleri). Kitabın Adı. Kaçıncı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi. Basım yılı.

   Eisen HN. Immunology: an introduction to Molecular and Cellular Principles of the Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974; 300.

   Kaynak kitabın bir bölümü ise;

   Bölüm yazarlarının Soyadı Adının baş harfleri). Bölüm başlığı. In: Editörlerin Soyadı Adının baş harfleri) ed.eds. Kitabın Adı. Kaçıncı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi. Basım yılı: Bölümün ilk ve son sayfa numarası

   Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic Physiology: Mechanism of Disease. Philadelphia: WB Saunders, 1974: 457-72

   Tablo, şekil ve grafikler: Her tablo, şekil, grafik, fotoğraf) ayrı bir sayfaya basılmalı, alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara sütun çizgileri içermelidir. Tablolar, Tablo 1 . . şeklinde numaralanmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır. Açıklayıcı bilgiye başlıkta değil dipnotta yer verilmeli, uygun simgeler (*,†,‡,. gibi) kullanılmalıdır. Şekil, grafik ve kimyasal formüller çini mürekkebi ile ayrılmış kağıdına ya da beyaz kuşe kağıda çizilmeli. Şekil 1 . . , Grafik 1 . . şeklinde alt kısımlara numaralandırılmalıdır. Fotoğraflar maksimum 127x173 mm boyutlarında, kaliteli parlak kağıda basılmış olmalıdır.

   Fotoğrafların arkasına yumuşak bir kurşun kalemle makale başlığı ve şekil numarası yazılıp ayrı bir zarf içinde yazıya eklenmeliyiz.

   Kısaltmalar ve Simgeler: Kabul standart kısaltmalar kullanılmalıdır (MIC, MBC, DNA, RNA, CDC, WHO, cm, mm, lv, im, gibi.) Başlık ve özette kısaltma yapılmamalıdır.

10. Editöre iletilen bütün Dergide daha önce yayımlanmış yazılara ilişkin gelirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin ilanlanması amacıyla ortaya konulmuş olup kısa ve öz olmalı, kaynakları sınırlı olmalıdır
11. Metinlerin tamamı 3,5" bir diskette kopyalanmış olarak ve basılmış üç nüsha ile bir zarf içinde gönderilmelidir. Diskteki üst yazıda metnin hangi yazılımca ürünü olduğu ve bilgisayarlığı, yazıların yayına kabul edilmesi halinde telif hakkının Dergiye devredileceği belirtilmelidir
12. Yayımlanmış gereçleri yeniden basmak veya deney konusu olan insanların fotoğraflarını kullanmak için alınan izinler, insanlar üzerinde ilaç kullanarak yapılan klinik araştırmalarda ilgili etik Kurullarının onayları ve gönüllülerden yazılı bilgilendirme ile izin alındığına dair belgeler birlikte gönderilmelidir
13. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır
14. Yazılar aşağıdaki adrese gönderilmeli veya elden teslim edilmelidir

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü
06100 Sıhhiye - ANKARA
Tel: (0 312) 433 70 01 Fax: (0 312) 433 70 00
E-posta: hibz@ilsag.gov.tr

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY WRITING RULES

1. Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology is a publication of Refik Saydam Hygiene Center.
2. The aim of the Bulletin is to publish original articles, reviews, case reports, scientific news, introductory papers concerning a new scientific book or journal and summary articles from international journals on microbiology, immunology, pharmacology, toxicology, parasitology, entomology, biochemistry, blood products, food safety, environmental health, pathology, physiopathology, public health and epidemiology and readers' letters.
3. The Bulletin is issued once every four month and one volume consists of three numbers of the Bulletin.
4. All manuscripts submitted to the Bulletin must be submitted solely to this Bulletin, may not have been published elsewhere and they must have approval of the Editorial Board and the Review Board for publication. Manuscripts have right to be published when they have approval of two out of three members of the concerned Review Board and these Boards have right to make any modification in manuscripts.
5. All statements in, or omissions from published manuscripts are the responsibility of the authors.
6. Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology reserves copyright for published manuscripts in the Bulletin and no payment for copyright is made to authors.
7. Languages of the Bulletin are both Turkish and English, and Turkish manuscripts should be in accordance with the rules of Turkish Dictionary and New Writing Rules issued by Turkish Language Institute (Türk Dil Kurumu).
8. Manuscripts should be in accordance with the guidance given in the " Uniform requirements for the submission of manuscripts to biomedical journals by the " International Committee of Medical Journals Editors " (British Medical Journal 1988; 296: 401-404 or Annals of Internal Medicine 1988; 108: 258-65 or in Turkish, Literatür 1989;9(58) : 165 - 70); otherwise manuscripts will not be approved for publishing. Accordingly:
9. Type the manuscripts on white paper A4, use double spacing throughout, including tables with 3 cm margin in the left and right hand. Use computer. Summary and key words in reviews are not required. References if possible, should not exceed 40 in number . There should be a limit to reference numbers in case reports and sections with headings. Introduction and Discussion should have explicit explanations in brief. Research and case reports should be in accordance with below format:

   Title page: It should carry the title of the article (in Turkish), authors, institutions and correspondance address, respectively. Title should be concise and informative. First and last names of each author and their institutions should be clearly mentioned and name and address of author responsible for correspondance about manuscripts should be specified as well. When the manuscript was presented before at a scientific meeting this should have been mentioned in this page.

   Abstract: Turkish and English abstracts should carry Turkish and English headings, respectively. Abstacts should be of no more than 150 words, and state the purpose of the study, main findings and the principal conclusions. Three to ten key words (English and Turkish) should be provided below the abstract and terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of index Medicus should be used.

   Text: The text of original articles should have sections with headings Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. Latin names of microorganisms should be given in complete written form when using them for the first time and abbreviation should be used when repeating them. Latin names of microorganisms should be underlined in order to italicize them, e.g. Pseudomonas aeruginosa ... P.aeruginosa. Genus names, such as staphylococcus, streptococcus that are commonly used in Turkish may be written in Turkish. Numerical expressions less than 10 should be given in written. When using term Gram Staining it should be written "Gram negative" instead of "Gram (-)", and "bacteria" or "rod" should be used instead of " bacillus".

   References: Reference numbers should be given within parenthesis at the end of the sentence and references should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. When giving reference with author's name reference number should be written next to author's name. Try to avoid using abstracts as references.

   Examples of correct forms of references are given below.

   Journals

   I- Standart Journal Article (List all authors when six or less; when seven or more, list only first three and add et al.)

   You CH, Lee KY, Chey RY Menguy R. Electrogastrographic study of patients with unexpleined nausea, bloating and vomiting. Gastroenterology 1980; 79 : 311-4.

   II- No Author Given

   Anonymous Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). Br Med J 1981; 283 : 628.

   III- Journal Supplement

   Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). Blood 1979; 54 (Suppl I): 26a.

   Books

   IV- Eisen HN. Immonology: an Introduction to Molecular and Cellular Principles of the Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974: 406.

   Chapter in a Book

   V- Weinstein L,Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. in: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic Physiology : Mechanism of Disease. Philadelphia: WB Saunders. 1974: 457-72.

   Tables, Illustrations and Graphics: Type each table (Illustrations, graphics, photographs) on a separate sheet. There should be lines above and below the table. Title of table should be written over the line above the table . Place explanatory matter in footnotes, not in the headings and use appropriate abbreviations and symbols. Drawings and chemical formulas should be made with Indie ink on tracing paper, glossy paper. Legends should be numbered such as Figure 1 : ..... below the table. Photographs should be glossy prints with maximum 127 x 173 mm. Each figure should have a label posted on its back indicating the number of the figure and the little of the article.

   Abbreviations and Symbols: Use only standard abbreviations, e.g. MIC, MBC, DNA, RNA, CDC, WHO, cfu, mm, iv, ml. Avoid abbreviations in the title and abstract.
10. Letters to Editor aims to receive readers' contributions and critics about articles in the Bulletin or to receive scientific news.
11. Manuscripts should be submitted in heavy-paper envelope with a covering letter including a statement that the manuscript has been read and approved by all authors and the Bulletin reserves copyright when the manuscript is accepted to publish in the Bulletin. Manuscripts should be submitted together with three printed copies and recorded in 3.5 " diacette.
12. Manuscripts should be sent together with licence giving permission to reproduce previously published materials or to use photographs of human subjects in addition to approvals of ethical authorities and volunteers indicating respectively that the procedures in experiments on human subjects were in accordance with ethical rules and volunteers have been informed about the experiment.
13. Authors should keep one copy of the manuscripts.
14. Manuscripts should be sent to the below adress or delivered by hand:

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü
06100 Sıhhiye - ANKARA
Tel: (0 312) 433 70 01 Fax: (0 312) 433 70 00
E-mail: thbd @ saglik.gov.tr

Yayın Kurulundan...

Dergimizin 1999 [illegible] kabul sürecine girdiği [illegible] Uluslararası dergiler arasına girme hedefimiz [illegible] çalışmalarımızı sürdürmekteyiz. Dergimize [illegible] makaleler gönderen değerli bilim adamlarına, [illegible] geçmiş çalışanlara ve Yazı İnceleme Kurulunda [illegible] teşekkürü borç biliriz.

İÇİNDEKİLER

ARAŞTIRMALAR

1. Emel KURUOĞLU, Neslihan ÖZÇİLE, Sibel GÖÇER
İncir ve üzümde okratoksin A'nın yüksek performanslı sıvı krotomografi metodu ile saptanması 55-59

2. Eyyüp GÜLBANDILAR, Aysel GÜLBANDILAR
Elektromanyetik alanın *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerininin üremesi üzerine etkisinin spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi 61-66

3. Ender YARSAN, Mehmet TANYÜKSEL, Cahit BABÜR, İsmail KUTLU
Albendazol'un hümoral ve hücresel immun yanıt üzerine etkilerinin değerlendirilmesi 67-74

4. Gül Bahar ÜLKAR, Mustafa ÇAĞATAY, Oğuz GÜRBÜZ, Ali MERT
Pseudomonas aeruginosa suşlarında indüklenebilir beta laktamazların saptanması 75-77

5. Gül Bahar ÜLKAR, Ali MERT
Çoklu dirençli *Pseudomonas aeruginosa* izolatları ve çeşitleri antibiyotiklere duyarlılıkları 79-82

6. Serpil NALBANTOĞLU, Cahit BABÜR, Ayşe ÇAKMAK, Zafer KARAER, Ersan KORUDAĞ
Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde Sabin Feldman dye testi ile koyun ve keçilerde *Toxoplasma gondii*'nin seroprevelansı 83-86

7. Nilay ÇÖPLÜ
Afyon çay seluloz fabrikasında havanın mikrobiyolojik analizi 87-90

8. Yusuf KALENDER, Suna KALENDER, Hakkı TAŞTAN
Farelerdeki spermatogenez üzerine x ışınlarının ultrastrüktürel etkisi 91-95

DÜNYA LİTERATÜRLERİNDEN ÖZETLER 97-101

KONGRE VE SEMPOZYUM DUYURULARI

CONTENTS

RESEARCH ARTICLES

1. Emel KURUOĞLU, Neslihan ÖZÇİLE, Sibel GÖÇER
The determination of ochratoxin A in raisin and fig by high performance liquid chromatography 55-59

2. Eyyüp GÜLBANDILAR, Aysel GÜLBANDILAR
Spectrophotometric evaluation of thegrowth of *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells under the electro magnetic field 61-66

3. Ender YARSAN, Mehmet TANYÜKSEL, Cahit BABÜR, İsmail KUTLU
Evaluation of albendazole on humoral and cellular immune response 67-74

4. Gül Bahar ÜLKAR, Mustafa ÇAĞATAY, Oğuz GÜRBÜZ, Ali MERT
Detection of inducible beta lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* strains 75-77

5. Gül Bahar ÜLKAR, Ali MERT
Multidrug resist ant *Pseudomonas aeruginosa* isolates and their susceptibilities against various antibiotics 79-82

6. Serpil NALBANTOĞLU, Cahit BABÜR, Ayşe ÇAKMAK, Zafer KARAER, Ersan KORUDAĞ
Sero-prevalence of *Toxoplasma gondii* by the sabin-feldman dye test in goats and sheep in Turkish Republic of Northern Cyprus 83-86

7. Nilay ÇÖPLÜ
The microbiological analysis of the working atmosphere in Afyon Çay paper factory 87-90

8. Yusuf KALENDER, Suna KALENDER, Hakkı TAŞTAN
Ultrastructural effects of x-irradiation on spermatogenesis in rats 91-95

FOREIGN ABSTRACTS 97-101

ANNOUNCEMENT OF CONGRESS AND SYMPOSIUM

ARAŞTIRMA

Cilt 56, No 2, S. 55 - 59
Turk Hij Den Biol Derg 1999

İNCİR ve ÜZÜMDE OKRATOKSİN A'nın YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİ METODU ile SAPTANMASI

Emel KURUOĞLU[1] Nesllhan ÖZÇİLE[1] Sibel GÖÇER[1]

ÖZET

Üzüm ve incirde okratoksin A'nın saptanması için hızlı, ekonomik, güvenilir bir metot uygulanmıştır. Okratoksin A, üzüm ve incirden 0.1 M H_3PO_4 ve kloroform ile ekstre edilmiş ve ekstrakt tek kullanımlık Sep-Pak silika kartuş ile temizlenmiştir. Girişim yapan maddelerin fazla olduğu incirde ise temizleme basamağına ilaveler yapılmıştır. Okratoksin A, HPLC ile saptanmış ve TLC'de doğrulanmıştır HPLC ile ölçümlerde minimum saptama limiti 0.03 ppb ve geri kazanım % 93.5-100'dür.

Anahtar Kelimeler: Okratoksin A, üzüm, incir, HPLC

THE DETERMINATION OF OCHRATOXIN A IN RAISIN AND FIG BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

SUMMARY

A rapid, economic and reliable method is applied to determine ochratoxin A in raisin and figs. Ochratoxin A is extracted by 0.1 M H_3PO_4 and chloroform from raisin and figs. The extract is cleaned up using a Sep-Pak silica cartridge. For the figs which has more interferences, extra steps are added to cleaning procedure. Ochratoxin A is detected by HPLC and confirmed by TLC. The detection limit is 0.03 ppb,the recovery is 93.5-100 % in HPLC.

Key Words: Ochratoxin A, raisin, fig, HPLC

GİRİŞ

Okratoksin'ler, *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi her yerde bulunabilen küflerin çeşitli türleri tarafından oluşturulurlar. Bu küfler, gıda ve hayvan yemlerinin kontaminasyonu için bir potansiyeldir. *Aspergillus* türleri tarafından oluşturulan okratoksin A yüksek rutubet ve sıcaklık şartlarında sınırlı olarak ortaya çıkar, halbuki bazı *Penicillium* türleri ise en az 5°C kadar düşük sıcaklıklarda bile okratoksin üretebilir(1).

Okratoksin A'nın en yüksek kontaminasyonu hububatlarda bulunmuş ve bazı çekirdeklerde (kahve, soya, kakao) ise daha az ölçüde bulunmuştur. Okratoksin B ise nadirdir. Çeşitli Avrupa ülkelerinde, çiftlik hayvanlarında başlıca belirtisi kronik nefropati olan okratoksin sorunu ile karşılaşılmıştır (2).

Okratoksin A kalıntıları domuz, tavuk ve piliçlerin kan, böbrek, karaciğer ve kaslarında saptanmış fakat geviş getiren hayvanlarda bulunmamıştır. Deneysel çalışmalarda, domuzların böbreklerinde okratoksin A'nın oldukça yüksek seviyelerde olduğu ve maruz kalmanın bitişinden bir ay sonra bile böbreklerde teşhis edilebildiği görülmüştür(1).

Avrupa'nın çeşitli ülkelerinde, gıdada, kanda ve insan sütünde okratoksin A'nın meydana çıkması ile insanların maruz kaldığı kanıtlanmıştır. Epidemiolojik bilgiler, bu toksinle kontamine olan gıdaların tüketimi ile Balkan

[1] Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü, Mikotoksin ve Biotoksin Laboratuvarı, İzmir - TÜRKİYE
Geliş tarihi : 23.02.1998 Kabul ediliş tarihi : 14.10.1999
Yazışma Adresi : Kimyager Emel KURUOĞLU Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü, Mikotoksin ve Biotoksin Laboratuvarı İzmir - TÜRKİYE

nefropati'nin çağrışım yaptığını göstermiştir(1). Bununla beraber, bazı tümörlerin etiolojisinde okratoksin A'nın direkt nedensel bir rolünün kanıtlandığı hiç bir veri yayınlanmamıştır. Bu nedenlerden dolayı, okratoksin A' nın insan sağlığına etkileri tekrar değerlendirilmelidir.

İnsan sağlığı açısından önem taşıyan okratoksin A'nın üzüm ve incirde tespiti için bugüne kadar yayınlanan resmi bir yöntem bulunmaması laboratuvar olarak bizi bu konu üzerinde çalışmaya yöneltmiştir. Kahve, hububat ve yemlerde okratoksin A'nın saptanması için kullanılan TLC metodlarını modifiye ederek üzüm ve incirde okratoksin A'yı saptamak için uygun bir HPLC metodu bulunmuştur.

GEREÇ ve YÖNTEM

A) Cihazlar

a) Yüksek devirli çalkalayıcı - Ika Labortechnik

b) Parçalayıcı - Waring Lab

c) Rotatif evaporatör - Buchi rotavapor R 110

d) Sep-Pak Silika kartuş - J T Baker(7086-07)

e) UV aydınlatma donanımı - 365 and 254 nm

f) İnce tabaka plakları - Merck 1.05721 (Silica gel 60) 20x20 cm

g) Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi üniteleri:

1- Shimadzu LC-10 AD Sıvı kromatografi pompası

2- Shimadzu RF-535 Fluoresans dedektör

3- Shimadzu CTO-10A Kolon fırını

4- Shimadzu Shim-pack CLC-ODS kolon (150x6mm),5mm, 100 A^{o}

5- Shimadzu CBM-10A Bağlantı kutusu

6- Hewlett Packard Vectra 486/33 VL Bilgisayar

7- Super VGA Ekran

8- Hewlette Packard Desk Jet 550C Yazıcı

9- CLASS-LC10 Yazılım versiyon 1.2

B) Solventler

a) Kloroform - Baker. 9175-03

b) Benzen- Baker. 9149-03

c) Hekzan- Baker. 9304-03

d) Dietileter- Merck. 926

e) Asetik asit -Merck.56

f) Asetonitril-Merck.1.00030

g) Toluen- Baker. 9351-03

h) Etilasetat - Merck. 864

ı) Formik asit- Merck. 563

j) Metanol-Merck. 1.06007

k) Ortofosforik asit - H_3PO_4- Merck. 563

l) Mobil faz - % 0.1 Ortofosforik asit: Asetonitril (45:55) (v:v)

m) Çalışma standardı-HPCL için 40 ng/ml ve TLC için 1µg/ml Okratoksin A. Benzen: asetonitril (98:2) (v:v) ile çözüldü.

C) Ekstraksiyon:

Analiz için getirilen incir veya üzüm örneği, kıyma makinesinden geçirilmiş ve yoğurularak homojen hale getirilmiştir. Homojen hale getirilmiş bu örnekten, 500 ml'lik bir balon içine 50 gram tartılmış ve üzerine 25 ml 0.1 M H_3PO_4 ve 250 ml kloroform ilave edilmiştir. Yüksek devirli çalkalayıcıda 1/2 saat çalkalanmış ve süzgeç kağıdından (Whatman 1) süzülmüştür. Süzüntüden 50 ml alınmış ve döner uçurucuda kuruluğa getirilmiştir (3-7). Geri kazanım çalışması için, homojen hale getirilmiş örnekten 50 gram alınarak içine 40 ppb okratoksin A standardından 25 µl ilave edilmiş ve işleme yukarıda anlatıldığı gibi devam edilmiştir.

D) Sep-Pak Temizleme:

Sep-Pak kartuş 6 ml benzen geçirilerek şartlanmış ve 3 ml benzen ile çözülen örnek kalıntısı silika kartuşa verilmiştir. Balon tekrar 3 ml benzen ile yıkanarak kartuşa ilave edilmiştir. Solvent silika jel üzerine gelince sıra ile 10 ml dietileter:hekzan (3:1) (v:v) ve 10 ml benzen:hekzan (1:9) (v:v) ile yıkanmıştır. Yıkama solventleri atılmış ve okratoksin A, 15 ml benzen: asetik asit (9:1) (v:v) ile elüe edilmiştir. Elüat su banyosunda, azot gazı altında kuruluğa getirilmiştir. Kalıntı 500 µl benzen:asetonitril (98:2) (v:v)'de çözülmüş ve 250 µl'si diğer bir viale alınarak kuruluğa kadar uçurulmuştur. Kuruluğa getirilen bu kalıntı HPLC'de çalışmak

üzere 250 µl mobil fazda çözülmüştür. Kalan 250 µl örnek ekstraktı ile doğrulama için TLC çalışılmıştır.

E) İnce Tabaka Kromatografi (TLC):

Aktive edilmiş TLC plaklarına, benzen: asetonitril (98:2) (v:v) ile çözülmüş örnek ekstraktından 1, 3, 5 ve iki kez 10 µl spotlanmıştır.10 µl örnek spotundan birinin üzerine 10 µl 1 ppm'lik okratoksin A çalışma standardı spotlanmıştır. Sonra sıra ile 1, 3, 5, 10 µl gibi farklı konsantrasyonlarda 1 ppm'lik okratoksin A standardı spotlanmıştır. Plak benzen:metanol:asetik asit (95:5:5) (v:v:v) içeren yürütme tankında geliştirilmiştir. Plak kurutulmuş ve 365 nm dalga boyu UV'de numune, internal standart ve standart spotları ile mukayese edilerek incelenmiştir. Okratoksin A olduğu düşünülen örnek spotunun standart spotu ile aynı Rf değerinde ve yeşilimsi mavi okratoksin A renginde olması gerekir. Spotun fluoresans yoğunluğunun hangi standart konsantrasyonuna uyduğu incelenmiştir. Bu bize bir ön bilgiyi verir. Daha ileri bir inceleme için iki yönlü TLC çalışması yapılmıştır. kinci yürütmede, toluen: etil asetat: formik asit (5:4:1) (v:v:v) solventi kullanılmıştır. İki yönlü kromatografide numune tüm girişim yapan maddelerden temizlenmiştir. Hesaplama ise aşağıda verilen formül uygulanarak yapımıştır.

$$\text{Okratoksin (ng/ml)} = \frac{S \times Y \times V}{W \times Z}$$

S = Plak üzerinde, örnekte bulunan okratoksin fluoresansı ile uyan standart miktarı (µl).

Y = Okratoksin derişimi (µg/ml)

W= Özütün içerdiği örnek ağırlığı (g)

Z = Fluoresansı S'ye uyan örnek miktarı (µl)

V= Özütün son seyreltme hacmi (ml)

F) Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC):

Mobil faz ile HPLC kolonu şartlanmıştır. Fluoresans dedektör, Eksitasyon 333 nm, Emisyon 470 nm'e akış oranı 1 ml/dak. ve fırın sıcaklığı 30 °C'de ayarlanmıştır. HPLC' de, 10, 20 ve 40 ppb gibi değişik konsantrasyonlarda hazırlanan okratoksin A standardından 20'şer µl enjekte edilmiş ve standart pik alanları (Y) ve standart konsantrasyonları (X) arasında 3 noktalı kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Mobil faz ile 250 µl'e (T_V) dilue edilen örnek ekstratından 20 µl (I_V) enjekte edilmiştir. Enjekte edilen örnekteki okratoksin A konsantrasyonu (A) kalibrasyon grafiğinden tespit edilmiştir. Hesaplama, aşağıda verilen formül ile yapılmıştır.

$$W = 50 \times \frac{50}{25 + 250} = 9.09 \text{ g.}$$

$$\text{Okratoksin A (ng/g (ppb)} = \frac{A \times T_V \times I_V}{I_V \times W}$$

A: Enjekte edileri örnekteki okratoksin A miktarı (ng)

T_V: Örnek solüsyonunun son hacmi (µl)

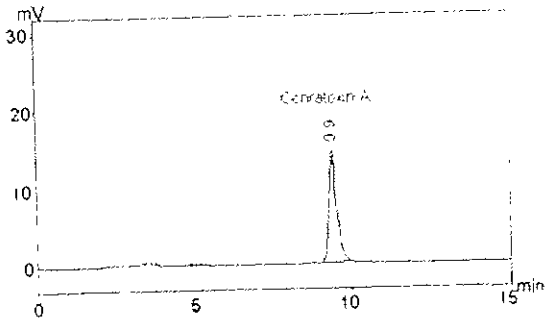
W: Eluatın temsil ettiği örnek miktarı (g)

I_V : Enjekte edilen eluat (µl)

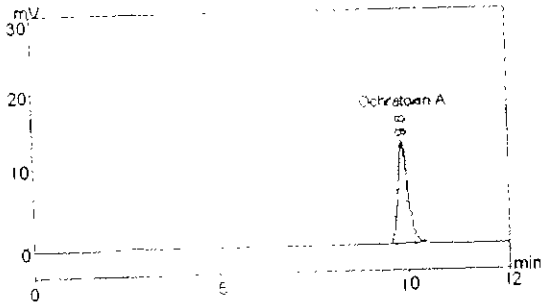
BULGULAR ve TARTIŞMA

Kontamine olmuş incir ve üzümde bulunan okratoksin A'nın sıvı kromatografideki kromatogramı şekil 2 ve 4'de gösterilmiştir. 40 ppb okratoksin A çalışma standart kromatogramları ise Şekil 1 ve 3'degörülmektedir. Çalışmada iki paralel örnek ve iki geri kazanım olmak üzere dört analiz yapılmıştır. Geri kazanım çalışması için homojen hale getirilmiş örnekten 50 gram tartılarak içine 25 µl 40 ppb okratoksin A standardı ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır. Analiz yukarıda anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

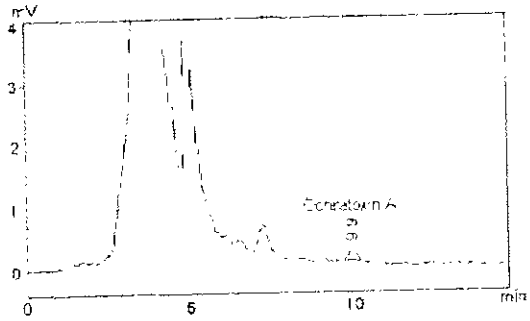
İncir ve üzümde ilk önce Romer metodu (3) uygulanmıştır. Bu metotta son ekstraktın HPLC çalışması için uygun temizlikte olmadığı görülmüştür. Birçok madde karışım yaptığı için Romer metoduna kolon temizleme basamağı



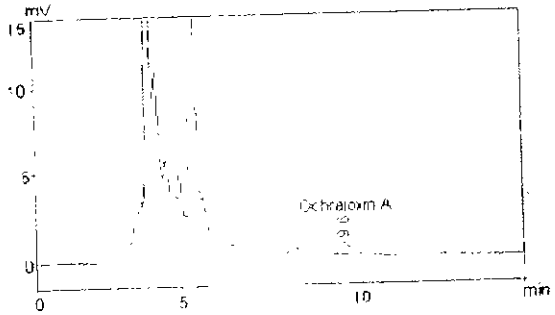
Şekil 1. 0.04 ppm Ochratoxin A'nın kromatogramı



Şekil 3. 0.04 ppm Ochratoxin A'nın kromatogramı



Şekil 2. Üzüm numune kromatogramı



Şekil 4. İncir numune kromatogram

eklenmiştir. Bu şekilde örnek karışım yapan maddelerden kısmen temizlenmesine rağmen geri kazanımın düştüğü görülmüştür. Geri kazanımın düşük olması,örneğin iyi homojen olmadığını veya okratoksin A'nın ekstraksiyonun herhangi bir basamağında alınamayıp kaldığını akla getirmiştir.

Daha sonra gıda maddelerinde okratoksin A'nın TLC ile saptanma metodu (4) incire uygulanmış fakat girişim yapan maddelerin çok fazla olduğu ve işlemin uzun sürdüğü görümüştür.Temizleme basamağında benzen ile şartlanan SPE kartuş kullanılmış, ayrıca hekzan ve eter:hekzan (3:1) (v:v) ile yıkama işlemi ilave edilerek okratoksin A benzen:asetik asit (9:1) (v:v) ile elüe edilmiştir. HPLC'e enjekte edildiğinde girişim yapan maddelerden arındığı ve özellikle okratoksin A pikinin etrafında herhangi bir girişim yapan maddenin olmadığı görülmüştür. Bu metot üzüm örneklerine uygulandığında incir örneklerinden daha iyi sonuç alınmıştır. Saptama limitinin minimum 0.03 ppb ve geri kazanımın % 93.5-100 arasında olduğu tespit edilmiştir.

Bu metod yüksek geri kazanım ve saptama limitinin düşük olması ile birlikte, 4-6 saat arasında sonuç vermesi ile hızlı, ekonomik ve güvenilirdir.

KAYNAKLAR

1-Natural Poisons. AOAC Official Methods of Analysis. 1207-1209, 1990.
2-Krogh P, Nesheim S. Ochratoxin A, Environmental Carcinogens Selected Methods of Analysis. Switzerland. 247-282, 1982.
3-Romer Minicolumn Method. AOAC Official of Analysis 1187, 1990.
4- Howell M V , Taylor P W. Determination of Aflatoxins, Ochratoxin A and Zearalenone in Mixed Feeds with Detection by Thin Layer Chromatography or High Performance LiquidChromatography. J Assoc Off Anal Chem 64, No.6, 1356-1363, 1981.
5- Roberts et al. Rapid, Economical Method for Determination of Aflatoxin and Ochratoxin in Animal Feedstuffs, J Assoc Off Anal Chem 64, No. 4, 961-963, 1981.
6- IPCS, Enviromental Health Criteria 105, Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Trichothe-cenes, Ergot. World Health Organization, Geneva. 29-69;1990.
7- Yoshio Ueno. Mycotoxins. Department of Toxicology and Microbial Chemistry. Science-University of Tokyo, Japan.

ARAŞTIRMA

Cill 56, No 2, S : 61 - 66
Türk Hij Den Biol Derg 1999

ELEKTROMANYETİK ALANIN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* MAYA HÜCRELERİNİN ÜREMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN SPEKTROFOTOMETRİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

EYYÜP GÜLBANDILAR[1] AYSEL GÜLBANDILAR[2]

ÖZET

Bu çalışmada 15 Hz'lik pulslu elektromanyetik alanın (PEMF) *S accharomyces cerevisiae* mayasının üremesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Sabouraud sıvı ortamına ekilen *S. cerevisiae* maya hücreleri, 1.1 mT'lık PEMF etkisinde 30°C'de etüvde inkübe edilmiştir. Kontrol grubundaki maya hücreleri ise manyetik alanın etkisine bırakılmamıştır. Ekimden sonraki 6-29. saatler arasında her saatte, deney ve kontrol gruplarından örnek alınarak spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır.

Yapılan istatistiksel inceleme sonunda uyum dönemi (ilk altı saat) ile statik dönemde (26. saatten sonra) deney ve kontrol gruplarının absorbans değerleri arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Ekimden sonraki altıncı ve 26. saatler arasında manyetik alan etkisinde üreyen hücrelerin absorbans değerlerinin kontrol grubundan daha az olduğu tespit edilmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Deney ve kontrol gruplarındaki maya hücrelerinin jenerasyon süreleri arasında önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Sonuçlar, manyetik alanın maya hücre üremesinin uyum döneminde uzamaya neden olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kellmefer: Pulslu elektromanyetik alan (PEMF), üreme, *Saccharomyces cerevisiae*, spektrofotometre

SPECTROPHOTOMETRIC EVALUATION OF THE GROWTH OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* YEAST CELLS UNDER THE ELECTROMAGNETIC FIELD

SUMMARY

In this study, the effects of 15 Hz-PEMF on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells have been investigated. *S. cerevisiae* yeast cells inoculated in Sabouraud's liquid medium, were incubated in the incubator at 30°C under 1.1 mT PEMF effect . Yeast cells in control group was not under the magnetic field. Samples from the experimental group and control group were taken at one hour intervals between six to 29 hours after the inoculation and were measured by spectrophotometer.

There were no statistical difference between control and experimental group on the base of adaptation (first 6 hours) and static phase (after 26 hours). The absorbances of the cells which were grown under magnetic field between six and 26 hours were lower than that of the control groups and the results were statistically significant. There were no significant difference between the generation periods in experimental and control groups. Results showed that magnetic field led time extension in the adaptation phase of the yeast cells.

Key Words: Pulsed electromagnetic field (PEMF), growth, *Saccharomyces cerevisiae*, spectrophotometer

GİRİŞ

Manyetik alanın mikroorganizmalar üzerine etkisini amaçlayan çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda değişik mikroorganizmalar ve manyetik alan parametreleri kullanılmıştır. Parametrelere bağımlı olarak, manyetik alanın mikroorganizmaların üremelerini azaltıcı, arttırıcı ve hiç bir etkisinin olmadığını gösteren farklı

[1]Gazi Üni. Teknik Eğitim Fakültesi, Elektronik - Bilgisayar Eğitim Bölümü, Ankara - TÜRKİYE
[2]Anadolu Üni. Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir - TÜRKİYE
Geliş tarihi : 19.11.1998 Kabul ediliş tarihi : 24.09.1999
Yazışma Adresi : Aysel GÜLBANDILAR, Halk Sağlığı Laboratuvarı, Eskişehir - TÜRKİYE

çalışma sonuçları bulunmaktadır. 460 mT'lık manyetik alanın *Saccharomyces cerevisiae* mayasının, 1500 mT'lık alanın *Serratia marcescens* ve *Staphylococcus aureus* bakterlerinin ve 2 mT'lık alanın ise *Escherichia coli*'nin üremesini azaltıcı etkisinin olduğu bulunmuştur (1,2,3). Bununla birlikte *Bacillus subtilis*'in 0.8 ve 2.5 mT'lık manyetik alan uygulanmasıyla hücre sayısında artış gözlenmesine karşılık *Saccharomyces cerevisiae* mayasına uygulanan 1.5 T'lık manyetik alanın ve Burgundy şarap mayalarına uygulanan homojen 1100 mT'lık manyetik alanın hücre sayılarında bir artışa neden olmadığı gözlenmiştir (4,5,6). Ayrıca Kimball 0.4 mT'lık heterojen manyetik alanın uygulama süresine bağımlı olarak, Burgundy şarap mayalarının tomurcuklanmasının etkilenmediği ve bunların tomurcuklanmalarında azalma olduğunu rapor etmiştir (6). Moore ise değişik mikroorganizmalar üzerinde 0.5-90 mT'lık manyetik alanın üremeyi azaltıcı ve arttırıcı etkisinin bulunduğunu açıklamıştır (7). Bu çalışmada ELF (Extremely Low Frequency) pulslu elektromanyetik alanın *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda, *Saccharomyces cerevisiae* (Baker's) maya hücrelerinin üremesini sağlamak üzere Sabouroud's dextrose (SD) agar (Oxoid CM41) ile Sabouroud's sıvı ortam (Oxoid CM147) besiyerlerinden yararlanılmıştır.

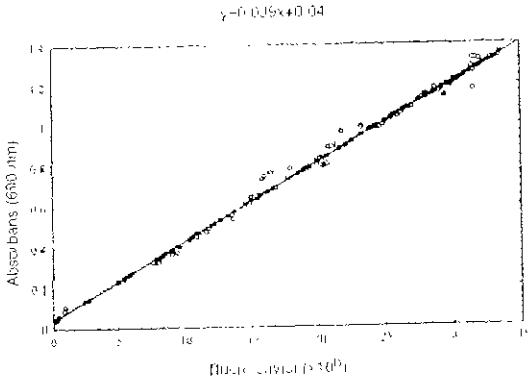
Başlangıçta katı besiyerine ekilen kuru maya hücreleri 30°C sıcaklıkta 24 saat süre ile inkübe edilerek burada üretilmiş, daha sonra bu hücreler stok kültür olarak adlandırdığımız sıvı Sabouroud besiyerine aktarılmıştır. Elde edilen bu stok hücre kültüründen eşit sayıda (5.4 ± 0.09)x10^5 hücreler alınarak içinde sıvı besiyeri (6 ml) bulunan tüplere pasajlama yapılmıştır.

Çalışmamızda 15 Hz frekanslı 1.1 mT'lık pulslu elektromanyetik alan kullanılmıştır. Manyetik alanın hücreler üzerine uygulanmasında, karşılıklı yerleştirilen bir çift bobinden yararlanılmıştır. Deney tüpleri manyetik alana dik konumda konularak 30°C'de inkübe edilmiştir.

Eşit sayıda hücre içeren tüplerin bir kontrol grubuna manyetik alan uygulanmazken, diğer grup ise inkübasyon süresince manyetik alan etkisinde bırakılmıştır. İnkübasyona başladıktan sonraki her saatte kontrol ile deney gruplarının absorbans değerleri saptanmıştır. Absorbans değerlerinin zamanla değişimini belirlemek üzere, deney süresi, altıncı saatten itibaren birer saatlik aralar ile 29. saate kadar arttırılmıştır. Deneyler dokuz defa tekrar edilmiştir.

Hücrelerin üremeleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Her saatte alınan örnekler önce +4°C'de 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj (Hermle ZK 510) edilerek çökeltilmiştir. % 0.9'luk serum fizyolojik ile iki defa yıkanmıştır. Serum fizyolojik kör olarak seçilerek, 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Shimatzu UV-120-01) absorbans değerleri okunmuştur (8).

Standart eğrinin hazırlanması amacıyla, belirli zaman aralıklarında absorbansları ölçülmüş, aynı anda kültürel sayımları yapılmış, böylece çeşitli absorbans değerlerine karşılık gelen hücre sayıları belirlenmiş, tüm değerler grafikte yerleştirilerek standart eğri elde edilmiştir (Şekil 1). Standart eğrinin çiziminde istatistik hesaplamalar ile elde edilen regresyon eğrisi kullanılmıştır (8).



Şekil 1. Standart eğri ve regresyon denklemi

Standart eğri yardımıyla ise absorbans değerlerine karşılık gelen hücre sayıları belirlenmiştir.

Matematiksel İncelemeler

Hücrelerin üreme eğrisindeki logaritmik üreme dönemi dikkate alınarak jenerasyon süresi hesaplanmıştır. Öncelikle jenerasyon sayısı;

$$n = \frac{\log N_S - \log N_O}{\log 2} \qquad (1)$$

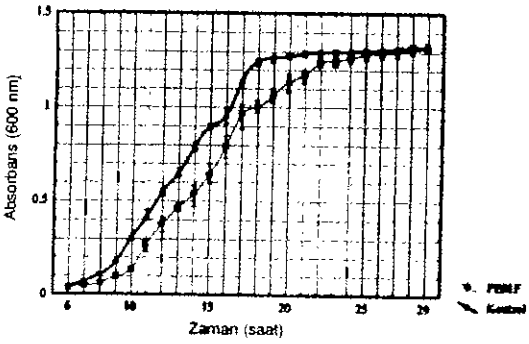
denkleminden hesaplanmıştır. Burada N_S herhangi bir andaki hücre sayısını, N_O başlangıçtaki hücre sayısını ve n ise jenerasyon sayısını göstermektedir. Denklem 1'den yararlanarak bir jenerasyon için geçen süreyi, yani jenerasyon süresi;

$$T = \frac{t}{n} \qquad (2)$$

denkleminden hesaplanmıştır. Burada T jenerasyon süresini ve t ise N_O sayıdaki hücrenin N_S sayıdaki hücreye ulaşıncaya kadar geçen süreyi göstermektedir (9).

BULGULAR

Farklı üreme süreleri için elde edilen hücre sayıları Şekil 2'de görülmektedir.

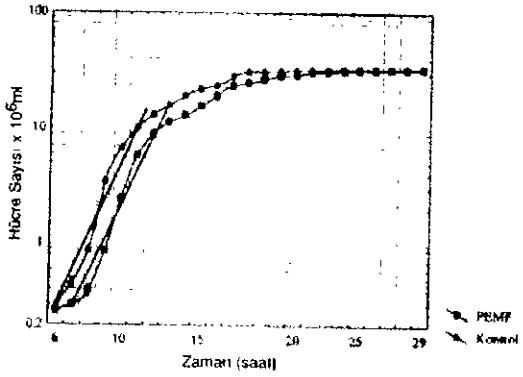


Şekil 2. Absorbans değerinin zamanla değişimi

Şekil 2'deki sonuçlar, her üreme süresi için, dokuz ayrı deneyin verilerini göstermektedir.

Hücrelerin üreme ortamına yerleştirilmesini izleyen yaklaşık ilk altı saate kadar olan süre, uyum dönemine karşılıktır ve bu sürede absorbans değerleri önemli ölçüde değişmemektedir ($p>0.05$). Benzer bir durumla, ortamdaki besin kaynağının tükenmeye başladığı ve hücre sayısının bir doygunluk değerine ulaştığı 27. saatten itibaren karşılaşılmaktadır. Uyum ve doygunluk dönemi dışındaki altı ile 26. saatler arasında, manyetik alan içinde üreyen örneklerin absorbans değerleri kontrol grubununkinden küçük ve bulunan sonuç istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0.001$).

Standart eğri yardımıyla absorbans değerlerine karşılık gelen hücre sayılarının logaritmalarının zamana göre değişimi Şekil 3'de çizilmiştir.



Şekil 3. Hücre sayısındaki artışın zamanla değişiminin yarı logaritmik skaladaki görünümü

Bu şekilde grafiklerin başlangıç bölümlerinin doğrusal olduğu görülmektedir. Logaritmik üreme dönemi olarak adlandırılan bu bölge kullanılarak jenerasyon süreleri de hesaplanabilir (Denklem 2). Böyle bir hesaplama sonucu bulunan jenerasyon süreleri Çizelge 1'de görülmektedir.

Jenerasyon süreleri arasında yapılan karşılaştırma sonucunda kontrol grubu ile deney (PEMF) grubu verileri arasında istatistiksel açıdan

anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Bu sonuca göre, manyetik alan varlığında hücre çoğalması, zaman skalasında ötelenme dışında, kontrol grubu ile aynı değişime sahiptir. Kontrol ve PEMF gruplarına ait eğrilerin birbirine paralel olması (Şekil 3) nedeniyle yukarıdaki sonuçların elde edilmesi gerektiği çok açıktır.

Çizelge 1. Jenerasyon süresinin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu	PEMF	Karşılaştırma
T/saat (Denk.(2))	0.89±0.05	0.94±0.05	$p>0.05$

TARTIŞMA

Çalışmamızda 15 Hz'lik 1.1 mT'lık pulslu elektromanyetik alanda üreyen *S. cerevisiae* maya hücrelerinin logaritmik üreme dönemindeki absorbans değerlerinin kontrol grubundan daha az olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte deney ve kontrol gruplarının jenerasyon süreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Bu da deney ve kontrol gruplarının aynı hızla üredikleri göstermektedir. Bu düşüncemizi, Şekil 3'deki üreme eğrilerinin gösterdiği paralellik de doğrulamaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin uyum döneminin uzamasına neden olduğu ve buna bağlı olarak da logaritmik üreme döneminde zaman skalasında bir kaymaya neden olduğunu göstermektedir.

Deneysel çalışmamız sonucunda, 1.1mT'lık pulslu elektromanyetik alan etkisinde üreyen maya hücrelerinin logaritmik üreme döneminde absorbans değerinin daha az olduğu bulunmuştur. Yine *S. Cerevisiae* mayası üzerine yapılan bir çalışmada 460 mT'lık manyetik alanın inhibitör etkisi ve 27.12 MHz frekanslı pulslu elektromanyetik alanın *E. coli* hücrelerinin üremesine etkisizliğinin logaritmik üreme döneminde meydana geldiği belirtilmiştir (1,10). Bununla birlikte beş bakteri ve bir maya hücresi üzerinde yapılan diğer bir çalışmada çeşitli manyetik alan değerlerinin inhibitör ve uyarıcı etkileri logaritmik üreme döneminde gözlenmiştir (7). Fakat 0.4 mT'lık heterojen manyetik alanın maya hücrelerinin tomurcuklanmasında oluşturduğu azalmayı sadece uyum dönemının sonunda görüldüğünü belirten çalışmalar da bulunmaktadır (6).

Yaptığımız değerlendirmeler sonucunda deney ve kontrol gruplarındaki maya hücrelerinin jenerasyon süreleri arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Gos ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada düşük şiddetli ve yüksek frekanslı elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin logaritmik dönemde hücre bölünmesi üzerine etkisini araştırmışlardır(11). Çalışmalarında çok yüksek frekanslı, 0.5 $\mu W/cm^2$-50 $\mu W/cm^2$ aralığındaki düşük şiddetli elektromanyetik alan kullanmışlardır. Elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin bölünmelerinin G_1 ve S fazlarında her hangi bir etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Bu bulgularda bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Fakat 50 Hz ve 16,66 Hz frekanslı 480 µT, 800 µT ve 1,5 T'lık manyetik alanların *E. coli* hücrelerinin ortalama jenerasyon sürelerini azalttığı tespit edilmiştir (3).

S. cerevisiae maya hücresi üzerine uygulanan 460 mT'lık manyetik alanın, *S. aureus* ve *S. marcescens* bakterilerine uygulanan 1500 mT'lık manyetik alanın, Burgundy şarap mayasına belirli sürelerde uygulanan 0.4 mT'lık heterojen manyetik alanın, *Micrococcus denitrificans*'a uygulanan 500 - 800 mT'lık alanın, *Trichomonas vaginalis*'e uygulanan 220, 320, 420 mT'lık manyetik alanın, çeşitli bakteri ve mayalara uygulanan 30-60 mT'lık manyetik alanların bizim bulgularımıza benzer olarak hücre sayılarının daha az olduğunu ortaya koymuşlardır (1,2,6,9). Fakat hücre sayısının az oluşunun nedenini manyetik alanın üremeyi yavaşlatıcı bir etkisi olarak yorumlamışlardır.

Bununla birlikte manyetik alanın bazı dozlarda çeşitli bakteri ve maya hücreleri üzerinde uyarıcı etkisinin de olduğu gösterilmiştir. *T. vaginalis* ile yapılan bir çalışmada 46 mT ve

120 mT'lık manyetik alanın, bazı bakteri ve maya hücrelerinde 15 mT'lık manyetik alanın üremeyi uyarıcı etkisinin olduğu bulunmuştur (7). Bununla birlikte *Bacillus subtilis* hücreleri üzerine uygulanan 0.8 ve 2.5 mT'lık manyetik alanın üremeyi arttırıcı etkisinin olduğu ifade edilmiştir (4). Ayrıca 27 MHz frekanslı manyetik alanın *Salmonella typhimurium* hücrelerinin yüksek konsantrasyonlarda arttırdığı tespit edilmiştir (12).

Burgundy şarap mayası ile yapılan 1100 mT'lık homojen manyetik alanın ve bazı etkileşim sürelerinde 0.4 mT'lık heterojen manyetik alanın maya hücrelerinin üremesi üzerine etkisinin olmadığını bulmuşlardır (6). Benzer olarak 27.12 MHz frekanslı pulslu elektromanyetik alanın *Escherichia coli* hücrelerinin, 1.5 T'lık manyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin üreme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (5,10). Ayrıca *Escherichia coli* ve 25 değişik bakteri üzerinde uygulanan 300 mT'lık manyetik alanın üreme üzerine etkisinin bulunmadığı saptanmıştır (7).

Çalışmamızda *S. cerevisiae* mayasının logaritmik üreme döneminde jenerasyon süresi 0.89±0.05 saat olarak bulunmuştur. Başka bir kaynakta ise bu mayanın logaritmik üreme döneminde jenerasyon süresinin 1.73 ile 2.42 saat arasında değiştiği ifade edilmiştir (13). Bilindiği gibi maya hücreleri bir çok noktadan tomurcuk vererek çoğalmaktadır. Biz ise hesaplamalarımızda hücrelerin ikiye katlanarak çoğaldıklarını kabul ettik. Bu sebeple bizim bulduğumuz jenerasyon süresinin daha düşük olması beklenen bir sonuçtur.

SONUÇ

Çalışmamızda 15 Hz'lik 1.1 mT'lık pulslu elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücresinin uyum ve doygunluk dönemlerinde bir etkisinin olmadığını, logaritmik üreme dönemindeki absorbans değerlerinin daha düşük olduğunu tespit ettik. Fakat aynı hücrelerin jenerasyon sürelerini incelediğimizde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirleyemedik. Bu bulgularımızda bize logaritmik dönemdeki hücre artış oranının aynı olduğunu göstermektedir. Logaritmik dönemdeki absorbans değerinin düşük olması ise elektromanyetik alanın etkisi ile hücrelerin uyum döneminde uzamaya neden olduğu sonucunu ortaya koymaktadır. Uyum dönemindeki uzama da logaritmik üreme döneminde zaman skalasında kaymaya neden olmaktadır.

KAYNAKLAR

1-Nostran FEV, Reynolds RJ, Hedrick HG. Effects of a high magnetic field at different osmotic pressure and temperatures on multiplication of *Saccharomyces cerevisiae*. Applied Microbiology 1967; 15: 561-563.

2-Gerencser VF, Barnothy F, Barnothy JM. Inhibition of bacterial growth by magnetic fields. Nature 1962; 196: 539-541.

3-Aarholt E, Flinn EA, Smith CW. Effects of low-frequency magnetic field on bacterial growth rate. Phys Med Biol 1981; 26: 613-621.

4-Ramon C, Martin JT, Powell MR. Low-level, magnetic-field-induced growth modification of *Bacillus subtilis*. Bioelectromagnetics 1987; 8: 275-282.

5-Malko JA, Constantinidis D. Search for influence of 1.5 Tesla magnetic field on growth of yeast cell. Bioelectromagnetics 1994; 15: 495-501.

6-Kimball GC. The growth of yeast in magnetic field. J Bacteriol 1938; 35: 109-122.

7-Moore RL. Biological effects of magnetic fields: Studies with microorganisms. Canadian Journal of Microbiology 1979; 25: 1145-1151.

8-Gürgün V, Halkman AK. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. İkinci baskı, Ankara: Gıda Teknolojisi Yayınları, 1990: 46-49.

9-Öner M. Genel Mikrobiyoloji, üçüncü baskı, İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1996: 56-60.
10-Badea MA, Vasilco R, Sandru D, Paslaru L, Jieanu V, Comorsan S. The effect of pulsed electromagnetic field (Diapulse) on cellular systems. Rom J Physiol 1993; 30: 65-71.
11-Gos P, Eicher B, Kohli J, et al. Extremely high frequency electromagnetic fields at low power density do not affect the division of exponential phase *Saccharomyces cerevisiae* cells. Bioelectromagnetics 1997; 18: 142-155.
12-Hamnerius Y, Rasmuson Å, Rasmuson B. Biological effects of high-frequency electromagnetic field on *Salmonella typhimurium* and *Drosophila melanogaster*. Bioelectromagnetics 1985; 6: 405-414.
13-Deacon JW. Introduction to modern mycology. In: Wilkinson JF, ed : Basic Microbiology. Edinburgh: Blackwell Scientific Publication, 1980: 47-48.

ARAŞTIRMA

Cilt 56 No 2, S. 67-74
Türk Hij Den Biol Derg 1999

ALBENDAZOL'UN HÜMORAL VE HÜCRESEL İMMUN YANIT ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ender YARSAN[1] Mehmet TANYÜKSEL[2] Cahit BABÜR[3] İsmail KUTLU[3]

ÖZET

Bu çalışmada benzimidazol grubu bir maddu olan albendazol'un hümoral ve hücresel immun yanıt üzerine olan etkileri değerlendirildi. Hümoral immun yanıt farelerde (Swiss albino) çalışıldı, bu amaçla her grupta sekiz fare bulunan dört grup (kontrol, 10 mg/kg, 20 mg/kg ve 40 mg/kg albendazol verilen) oluşturuldu. Hümoral immun yanıt, primer ve sekonder yanıt şeklinde değerlendirildi. Ayrıca son dönemde kan tablosundaki değişiklikler de (lokosit, polimorf nükleer lökositler (PMNL), lenfosit ve monositler) saptandı. Elde edilen sonuçlar, albendazol'un hümoral immun yanıtı, doz artışına bağlı olarak uyardığını gösterdi.

Hücresel immun yanıt, kobaylarda çalışıldı. Kobaylar da, hümoral yanıtta olduğu gibi dört gruba ayrıldı. Yirmi bir günlük bir uygulama sonunda, PPD (purified protein derivative) testi ile yapılan değerlendirmede, albendazol'un artan dozlarının hücresel immun yanıtı baskıladığı ortaya çıktı. Bu dönemde de yine, lokosit, PMNL, lenfosit ve monosit oranları da belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Albendazol, immun yanıt, hümoral, hücresel

EVALUATION OF ALBENDAZOLE ON HUMORAL AND CELLULAR IMMUNE RESPONSE

SUMMARY

In this study, humoral and cellular immune response of albendazole, is a benzimidazole anthelmentic was evaluated. Humoral immune response was studied on mice (Swiss albino); for this aim four groups were done (control, 10 mg/kg, 20 mg/kg and 40 mg/kg albendazole treating), each having eight mice. Humoral immune response was evaluated as primer and secondar immune response. In addition, differences were also determined at final period on the lymphocytes, monocytes, leucocytes and polymorphonuclear leucocytes. The results were shown that high doses of albendazole stimulated of humoral immune response.

Cellular immune response was studied on guineapigs. These are also splitted into four groups. The results indicated that albendazole was suppressed to cellular immune response, so this evaluation was done with the purified protein derivative test, 21 day later. Thus, differences on the lymphocytes, monocytes, leucocytes and polymorphonuclear leucocytes levels were determined in this period.

Key Words: Albendazole, immune response, humoral, cellular

GİRİŞ

Evcil hayvanlarda karşılaşılan helmint hastalıklarının sağaltımında benzimidazol bileşiği esasına dayanan çok sayıda antelmentik kullanılmaktadır. Bu grupta tiyabendazol ile benzimidazol türevi diğer ilaçlar bulunur. Benzimidazol grubu antelmentiklerin bazıları şunlardır: Albendazol, mebendazol, kambedazol, fenbendazol, parbendazol, oksfendazol, flubendazol, siklobendazol ve triklabendazol (1-5).

[1]A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE
[2]Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE
[3] Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara-TÜRKİYE
Geliş tarihi: 25.03.1999 Kabul edilş tarihi: 03.06.1999
Yazışma Adresi: Dr. Ender YARSAN, A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE

Bu grup içerisinde değerlendirilen albendazol benzimidazol-karbamat yapısında (metil 5-propiltiyo-tH-benzimidazol-2-kabamat, $C_{t2}H_{t5}N_3O_2S$) bir ilaçtır. Mebendazol'dan sonra sentezlenmiş bir maddedir. Albendazol'un sindirim kanalından emilimi çok azdır. Ağız yoluyla verilen dozun ancak %0.4'ü emilebilmektedir. Hızla metabolitlerine ayrılır ve sulfoksit, sülfon ve 2-aminosülfon bileşiklerine dönüşür. Antelmintik etkinliği sülfoksit kısmı gösterir. Albendazol beşeri hekimlikte özellikle *Enterobius*, *Ascaris*, *Ancylostoma*, *Necator*, *Trichuris*, *Taenia* ve *Trichinella spiralis*'in neden olduğu hastalıklarda kullanılmaktadır. Veteriner hekimlikte ise gevişenlerde *Bunostomun*, *Cooperia*, *Haemonchus*, *Nematodirus*, *Oesophogostomus*, *Trichostrongylus*, *Strongyloides* ve *Dictyocaulus* türlerine; atlarda, *Strongylus*, *Strongyloides*, *Dictyocaulus*, *Parascaris*, *Oxyuris* ve *Anoplocephala* türlerine; köpek ve kedilerde akciğer kurtlarına, kalp kurtlarına, askaridlere, kancalı kurtlara, şeritlere; kanatlılarda, *Ascaridia*, *Heterakis*, *Kapillaria*, *Amidostomum*, *Trichostrongylus* ve *Hymenolopis* türlerine karşı kullanılmaktadır. Yine, arterlerin adventisya tabakasında göç halinde bulunan *S.vulgaris* larvalanna karşı da son derece etkilidir. Albendazol sayılan paraziter infeksiyonlara karşı farklı hayvan türlerinde değişik doz ve sürelerde kullanılmaktadır (3-5). Albendazol'un gerek beşeri ve gerekse veteriner hekimlikte bir diğer önemli kullanım alanı kist hidatidozdur. Bu amaçla, insan ve hayvanlarda t0-t5 mg/kg günlük dozlarda kullanılmaktadır. Tedavi olayı bir aylık periyod dahilinde yapılmaktadır (t - 7).

Bu çalışma kapsamında, albendazol'un, kullanım süresinin uzamasına bağlı olarak konakçının immun sisteminde meydana gelebilecek değişiklikler hümoral ve hücresel düzeyde değerlendirildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hümoral Immun yanıtın ölçülmesi: Bu amaçla, çalışmada dört grup oluşturuldu; her grupta 8 fare (Swiss albino) olmak üzere toplam 32 fare kullanıldı. Çalışmanın başlangıcında bütün gruplara, *Brucella abortus* 99 suşundan hazırlanan antijen $2x t0^9$ yoğunluğunda verildi ve çalışmanın sekizinci gününden itibaren kontrol grubu dışındakilere, albendazol uygulamasına başlandı. Birinci grup, kontrol olarak ayrıldı ve sadece *Br. abortus* 99 antijeni verildi, ikinci gruba t0 mg/kg, üçüncü gruba 20 mg/kg ve dördüncü gruba da 40 mg/kg dozda albendazol verildi.

Bu uygulama 30 gün süreyle, her gün ilacın sularına katılması şeklinde yapıldı. Birinci antijenin verilmesinden yedi gün sonra bütün gruplardan kan alınarak antikor titreleri belirlendi (kan alma işlemi direk olarak kalpten yapıldı). İlaç uygulamasından beş gün sonra (birinci antijenin verilmesinden t3 gün sonra) bütün gruplardan kan alınarak yine primer immun yanıt değerlendirildi. İkinci antijen uygulaması da, ilk antijen verilmesinden 20 gün sonra yine $2x t0^9$ yoğunluğunda aynı antijenin periton içi yolla verilmesiyle yapıldı. Çalışmanın 29. gününde sekonder immun yanıt yine yukarıda olduğu gibi total antikor düzeylerinin tesbiti ile belirlendi. Ve son olarak 30 günlük ilaç uygulamasının bitimindeki parametrelerin değerlendirilebilmesi için de aynı analizler yapıldı. Primer ve sekonder immun yanıtın değerlendirilmesinde belirlenen günlerde kan alınıp antikor titreleri Brucella Aglütinasyon Wright tekniği ile ölçüldü (8, 9). Son dönemde, kan tablosundaki değişiklikler lökosit, PMNL, lenfosit ve monosit sayımlarının yapılmasıyla değerlendirildi (t0, t t).

Hücresel immun yanıtın ölçülmesi: Hücresel immun yanıt kobaylarda çalışıldı. Hücresel immun yanıt, BCG aşısı verilerek (deri altı yolla, 0.05 ml) uyarıldı. İlaç uygulaması hümoral yanıtta olduğu gibi sekizinci günde başladı. BCG uygulamasından 2t gün sonra PPD (purify protein derived) uygulaması yapılarak (deri içi yolla, 0.t ml) gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu belirlendi (t2). Meydana gelen reaksiyonlar kompas ile ölçülerek 48. saat sonunda mm cinsinden saptandı. Yine bu son dönemde lenfosit, lökosit, PMNL ve monosit sayımları da yapılarak kan tablosu ile ilgili

değişiklikler tesbit edildi (10, 11).

İstatistik Hesaplamalar: Bu amaçla; gruplardaki ortalama, standart sapma, en alt ve en üst değerler ve gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı. Gruplar arasında karşılaştırmalar LSD (Least Significant Differences) testi ile gerçekleştirildi.

BULGULAR

Hümoral Immun yanıt: Çalışma sonunda, hümoral immun yanıt, total antikor titrelerinin belirlenmesiyle gerçekleştirildi. Çalışmanın ilk gününden itibaren 7., 13., 29. ve 38. günlerinde, primer ve sekonder nitelikteki değişiklikleri gösterecek antikor titreleri belirlendi. Tablo 1'de de görüldüğü gibi, 7., 13., 29. ve 38. günlerdeki antikor titreleri; kontrol grubunda, 75.00±39.64, 100.00±37.03, 400.00±148.13 ve 640.00±296.26; 10 mg/kg albendazol verilen grupta 80.00±52.37, 112.50±45.27, 520.00±165.61 ve 680.00±267.04; 20 mg/kg albendazol verilen grupta 85.00±49.85, 120.00±42.76, 720.00±372.78 ve 840.00±380.07; 40 mg/kg albendazol verilen grupta 80.00±37.03, 130.00±41.40, 840.00±380.07 ve 960.00±342.09 olarak saptandı.

Kan tablosunda meydana gelecek değişiklikler de çalışmanın sonunda, 38. günde değerlendirildi. Buna göre kontrol grubunda lökosit, 4487±155.26, 10 mg/kg albendazol verilen grupta 4600.00±169.03, 20 mg/kg albendazol verilen grupta 4700.00±92.58 ve 40mg/kg albendazol verilen grupta ise 4700.00±220.38 olarak ölçüldü. PMNL değeri, kontrol grubunda 10.75±3.57, 10 mg/kg albendazol verilen grupta 11.00±2.44, 20 mg/kg albendazol verilen grupta 8.00±2.00 ve 40 mg/kg albendazol verilen grupta ise 5.00±0.75 olarak; lenfosit değeri, kontrol grubunda 85.37±2.06, 10 mg/kg albendazol verilen grupta 86.50±3.38, 20 mg/kg albendazol verilen grupta 90.50±2.50 ve 40 mg/kg albendazol verilen grupta ise 93.75±0.70 olarak ve son olarak monosit değeri de, kontrol grubunda 2.62±0.74, 10 mg/kg albendazol verilen grupta 2.37±1.30, 20 mg/kg albendazol verilen grupta 1.50±0.75 ve 40 mg/kg albendazol verilen grupta ise 1.25±0.46 olarak tesbit edildi (Tablo 2).

Hücresel immun yanıt: Çalışmada hücresel immun yanıt, gecikmiş tip aşırı duyarlılık testi ile değerlendirildi. Buna göre, 21. gün sonunda PPD verilmesiyle elde edilen zon çapları 48. saat sonunda mm cinsinden tesbit edildi. Tablo 3'te de görüldüğü gibi; kontrol grubunda, 11.40±0.54, albendazol verilen gruplardan 10 mg/kg'lık grupta 6.20±0.83, 20 mg/kg'lık grupta 4.60±0.54 ve 40 mg/kg'lık 4.60±0.54 olarak saptandı. Bu dönemde kan tablosunda elde edilen sonuçlar da Tablo 4'te gösterildi. Buna göre; kontrol grubunda lökosit (mm^3), 9120.00±2138.22, 10 mg/kg albendazol verilen grupta 9320.00±1480.54, 20 mg/kg albendazol verilen grupta 8280.00±1819.89 ve 40mg/kg albendazol verilen grupta ise 8680.00±1819.89 olarak; PMNL değeri, kontrol grubunda 34.00±2.82, 10 mg/kg albendazol verilen grupta 31.20±1.09, 20 mg/kg albendazol verilen grupta 33.60±2.60 ve 40 mg/kg albendazol verilen grupta ise 35.20±4.14 olarak ölçüldü. Lenfosit değeri, kontrol grubunda 60.40±1.67, 10 mg/kg albendazol verilen grupta 60.00±1.41, 20 mg/kg albendazol verilen grupta 60.00±2.00 ve 40 mg/kg albendazol verilen grupta ise 58.80±3.03 olarak; monosit değeri de, kontrol grubunda 6.80±1.78, 10 mg/kg albendazol verilen grupta 8.40±1.67, 20 mg/kg albendazol verilen grupta 6.80±1.09 ve 40 mg/kg albendazol verilen grupta ise 6.40±1.67 olarak tesbit edildi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Benzimidazol grubu bir madde olan albendazol; gerek beşeri hekimlikte gerekse veteriner hekimlikte antiparaziter ilaç olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bu grup ilaçların sağıtım indeksi (10 - 100) oldukça geniştir (1, 2,13). Bununla birlikte, özellikle doz aşımına ve yanlış kullanımına bağlı olarak laboratuvar hayvanlarında albendazolun teratojenik ve embriyotoksik etkili olduğu da bilinmektedir. Diğer taraftan, tedavi sırasında karaciğer, kemik iliği ve böbrek fonksiyonlarıda sık sık kontrol edilmelidir.

Tablo 1. Kontrol ve çalışma gruplardaki total antikor titreleri

Gruplar	*Primer*			
	7. gün	*13. gün*	*Sekonder (29. Gün)*	*Sun (38. Gün)*
Kontrol (n:8)	1/80	1/80	1/320	1/640
	1/40	1/80	1/320	1/320
	1/40	1/80	1/320	1/640
	1/80	1/160	1/640	1/640
	1/80	1/80	1/320	1/640
	1/80	1/160	1/640	1/1280
	1/160	1/80	1/320	1/640
	1/40	1/80	1/320	1/320
	75.00±39.64 [I]	**100.00±37.03** [I]	**400.00±148.13** [a II]	**640.00±296.26** [III]
	(40.00 - 160.00)	**(80.00 - 160.00)**	**(320.00 - 640.00)**	**(320.00 - 1280.00)**
10 mg/kg (n:8)	1/80	1/80	1/640	1/640
	1/160	1/160	1/640	1/640
	1/40	1/80	1/320	1/640
	1/80	1/80	1/640	1/640
	1/160	1/160	1/320	1/640
	1/40	1/80	1/640	1/640
	1/40	1/180	1/320	1/320
	1/40	1/80	1/640	1/1280
	80.00±52.37 [I]	**112.50±45.27** [I]	**520.00±165.61** [ac II]	**680.00±267.04** [II]
	(40.00 - 160.00)	**(80.00 - 180.00)**	**(320.00 - 640.00)**	**(320.00 - 1280.00)**
20 mg/kg (n:8)	1/80	1/160	1/1280	1/1280
	1/40	1/80	1/640	1/640
	1/80	1/160	1/640	1/640
	1/80	1/80	1/640	1/640
	1/40	1/80	1/320	1/640
	1/160	1/160	1/640	1/1280
	1/160	1/80	1/320	1/320
	1/40	1/160	1/1280	1/1280
	85.00±49.85 [I]	**120.00±42.76** [I]	**720.00±372.78** [bc II]	**840.00±380.07** [II]
	(40.00 - 160.00)	**(80.00 - 160.00)**	**(320.00 - 1280.00)**	**(320.00 - 1280.00)**
40 mg/kg (n:8)	1/80	1/160	1/1280	1/1280
	1/80	1/80	1/320	1/640
	1/40	1/160	1/1280	1/1280
	1/80	1/80	1/640	1/640
	1/40	1/160	1/640	1/1280
	1/80	1/80	1/640	1/640
	1/160	1/160	1/640	1/640
	1/80	1/160	1/1280	1/1280
	80.00±37.03 [I]	**130.00±41.40** [I]	**840.00±380.07** [b II]	**960.00±342.09** [II]
	(40.00 - 160.00)	**(80.00 - 160.00)**	**(320.00 - 1280.00)**	**(640.00 - 1280.00)**

[a, b, c] Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark önemli ($p<0.05$)

[I, II, III] Aynı satırda farklı rakamlarla gösterilen gruplar arasındaki fark önemli ($p<0.05$)

Tablo 2. Hümoral immun yanıtta 38. gündeki kan tablosu sonuçları

Gruplar (n:32)	Lökosit (mm^3)	PMNL (%)	Lenfosit (%)	Monosit (%)
Kontrol	4487.50±155.20 [a]	11.75±3.57 [a]	85.37±2.16 [a]	2.62±0.74 [a]
(n:8)	(4200.0-4700.0)	(4.00-16.00)	(82.00-88.00)	(2.00-4.00)
10 mg/kg	4600.00±169.03 [ab]	11.00±2.44 [a]	86.50±3.38 [a]	2.37±1.30 [ab]
(n:8)	(4300.0-4900.0)	(7.00-15.00)	(82.00-92.00)	(1.00-5.00)
20 mg/kg	4700.00±92.58 [b]	8.00±2.00 [b]	91.50±2.30 [b]	1.50±0.75 [bc]
(n:8)	(4600.0-4800.0)	(5.00-11.00)	(87.00-94.00)	(1.00-3.00)
40 mg/kg	4700.0±220.38 [b]	5.00±0.75 [c]	93.75±0.70 [c]	1.25±0.46 [b]
(n:8)	(4400.0-5000.0)	(4.00-6.00)	(93.00-95.00)	(1.00-2.00)

[a,b,c] .Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark önemli ($p<0.05$)

Tablo 3. Hücresel immun yanıtın PPD(mm) ölçüm değerleri

Dönem	Kontrol	10 mg/kg	20 mg/kg	40 mg/kg
48. saat	11.40±0.54 [a]	6.20±0.83 [b]	4.60±0.54 [c]	4.60±0.54 [c]
	(11.00-12.00)	(5.00-7.00)	(4.00-5.00)	(4.00-5.00)

[a,b,c]. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p<0.05$).

Tablo 4. Hücresel immun yanıtta 21. gündeki kan tablosu sonuçları

Gruplar (n:20)	Lökosit (mm^3)	PMNL (%)	Lenfosit (%)	Monosit (%)
Kontrol	9120.00±2138.22	34.00±2.82	60.40±2.67	6.80±1.78
(n:5)	(6000-11000)	(30.00-36.00)	(58.00-62.00)	(4.00-8.00)
10 mg/kg	9320.00±1480.54	31.20±1.09	60.80±1.43	8.40±1.07
(n:5)	(7600-10400)	(30.00-32.00)	(58.00-62.00)	(6.00-10.00)
20 mg/kg	8280.00±1819.89	33.60±2.60	60.00±2.00	6.80±1.09
(n:5)	(6600.00-10200)	(30.00-36.00)	(58.00-62.00)	(6.00-8.00)
40 mg/kg	8080.00±1819.89	35.20±4.14	58.80±3.03	6.40±1.67
(n:5)	(6600.00-10000)	(32.00-42.00)	(54.00-62.00)	(4.00-8.00)

Bugün için gerek antiparaziter ilaçların gerekse diğer maddelerin istenmeyen etkilerinin en önemlisi de immun sistem üzerine olan etkileridir (1, 2, 12, 14 -16).

Çevresel kirleticilerin yanı sıra, tedavi amacıyla kullanılan pek çok maddenin immun sistem üzerinde etkinliği vardır. İmmun sistem üzerinde toksik etki gösteren maddeler; farmasötik ilaçlar (antibakteriyel ilaçlar, anastezik ilaçlar, anti-inflamatuvar ilaçlar,

immunomodülatörler), ve immunotoksik maddeler (metaller, pestisidler, halojenli aromatik hidrokarbonlar, plastik monomerleri, aromatik hidrokarbonlar, aromatik aminler, hava kaynaklı kirleticiler, yem katkı maddeleri ve kirleticiler ve fiziksel etmenler) olmak üzere iki grupta değerlendirilir (14,15,17,18).

Bununla birlikte canlı organizma da kendisini yabancı ajanlara karşı doğuştan bağışıklık ve kazanılmış spesifik bağışıklık şeklindeki mekanizmalarla savunur. Kazanılmış bağışıkta antijen adı verilen spesifik ajanlar bağışıklık sistemini uyarırlar. Bunun için bu maddelerin bağışıklık sistemini uyaran hücreler tarafından tanınması gerekir. Antijenlere karşı organizmada hümoral ve hücresel nitelikte immun yanıt şekillenir (12, 16, 17).

Hümoral immun yanıtta, bütün memelilerin kan ve doku sıvılarında bulunan antikorların oluşturduğu sıvısal bağışıklık değerlendirilir. Hücresel immun yanıt ise, antikorların yerine duyarlı kılınmış T lenfositlerin saptanmasıyla yapılır (14, 16, 17). Bunun yanısıra yine antijenlerin aynı hayvana bir veya birden fazla verilmesi ile ilgili iki tür immun yanıt gelişir. Primer immun yanıtta antijenin ilk kez verilmesi sonucunda oluşan antikor cevabı dört dönemlidir oransal olarak da IgM'ler daha fazladır. Aynı hayvana antijen birden fazla verildiğinde sekonder immun yanıt şekillenir. Kanda IgG'ler daha fazladır. Oluşan antikor miktarı primer cevaba göre 10-100 kat daha fazladır ve bu oran yıllarca sürebilir (14, 15, 17).

Bütün bu değerlendirmeler, gerek ilaçların ve gerekse kullanımda olan farklı maddelerin immun sistem üzerine olan etkilerinin iyi bir şekilde bilinmesini ve kullanılmalarının buna göre düzenlenmesi gerektiğini göstermektedir. Veteriner hekimlikte kullanılmakta olan ilaçlar arasında antiparaziter ilaçlar, sayı olarak antibiyotiklerden sonra ikinci sırada gelmekte ve bu şekliyle de önemli bir yer tutmaktadır (5, 14).

Antiparaziter ilaçlar arasında gerek beşeri hekimlikte ve gerekse veteriner hekimlikte önemli ölçüde kullanılmakta olan albendazol'un bu yöndeki (immun sisteme yönelik) etkisi konusunda ülkemizde yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Diğer taraftan immun sistem üzerine ilaçların etkisinin değerlendirildiği çalışmalar genellikle antibiyotiklerle sınırlı kalmıştır. Hümoral ve hücresel temele dayanan değerlendirmelerin yapıldığı bu çalışmalarda, özellikle tetrasiklin grubu antibiyotiklerin (17 - 20), penisilinlerin (21, 22), aminoglikozidlerin ve sefalosporinlerin (23, 24) immun sistem üzerine olan etkileri incelenmiştir. Yapılan literatür taramalarında antiparaziter ilaçlardan levamizol'e ilişkin immunolojik etkinlikle ilgili veriler bulunurken (25 - 29) bu gruptan diğer ilaçlarla ilgili fazlaca kaynak tesbit edilememiştir; yapılan çalışmalarda da özellikle benzimidazol grubu maddelerden, daha çok mebendazol'un farklı paraziter infeksiyonlara karşı kullanılması durumundaki immunolojik etkinlik değerlendirilmiştir (30 - 34). *Hymenolopis nana* infeksiyonunda farelerde albendazol ve mebendazol'un eozinofilik cevaba etkinliğinin incelendiği bir çalışmada (31) konakçının eozinofilik cevabında, albendazol'un mebendazol'a karşı biraz daha etkili olduğu gösterilmiştir. Mebendazol ile ilgili olarak yapılan diğer çalışmalarda da, immun sistemle ilgili yanıtlarda farklı şekillerde etkinliğinin olduğu belirlenmiştir.

Ridi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (35) praziquantel, tiyabendazol, mebendazol, siklofosfamid ve kortizon'un ince barsaklarda ve iskelet kaslarında histopatolojik etkileri değerlendirilmiş, ayrıca T lenfosit miktarı ve serum IgG düzeyi üzerine olan etkileri ratlarda deneysel trichinosis oluşturularak incelenmiştir. Praziquantel, tiyabendazol ve mebendazol'un parazitin intestinal fazı sırasında T lenfositlerine önemli bir etkisi olmazken, paraziter infeksiyonun muskuler fazında T lenfositlerin miktarında önemli bir azalma meydana gelmiştir. IgG düzeylerinde ise her iki dönemde de önemli bir değişiklik olmamıştır.

Levamizol'un immun sistem üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada (26), balıklarda

immun sistemin *Yersinia ruckeri* O-antijeni ile uyarılması sonucunda levamizol'un nonspesifik immun sistemi uyarırken, spesifik immun sistemi baskıladığını tesbit etmişlerdir.

Raisow tarafından yapılan çalışmada (34) ise; kobaylar, *Trichinella* larvalarıyla infekte edilmiş, mebendazol tedavisi yapılarak immun sistemdeki değişiklikler ve tedavi etkinliği değerlendirilmiştir. Bu amaçla, immunolojik indikatörler olarak, T ve B hücresi miktarları, rozet formasyonu, migrasyon inhibisyon faktörü üretimi gibi kriterler incelenmiştir. Sonuçta; mebendazol, nematosidal yönden bir etkinlik gösteremezken, paraziter infeksiyonla birlikte şekillenen immunsupresyon olayı ortadan kalkmıştır.

Diğer taraftan yine levamizol ile yapılan bir çalışmada (25), kronik bruselloztu hastalarda levamizolun in vitro ve in vivo monosit fagositozis üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda levamizol'un B-lenfositlerinde önemli değişiklikler yapmadığı, ancak hücresel immuniteyi arttırdığı tesbit edilmiştir.

Çalışmada elde ettiğimiz veriler değerlendirildiğinde, albendazol'un hümoral immun cevabı, doz artışına bağlı olarak arttırdığı görülmektedir. Bu artış, özellikle primer ve sekonder dönemlerde ortaya çıktı. Uygulamanın son döneminde ise, gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmadı. Yine bu dönemde kan tablosunda ise, albendazolun, artan dozlarının kontrol gruplarına göre lökosit, PMNL, lenfosit ve monosit değerlerinde değişikliklere neden olduğu saptandı. Yine bu çalışmada hücresel immünitenin bir göstergesi olan, gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu PPD testi ile değerlendirildi. PPD uygulamasından 48 saat sonra elde edilen değerler sonunda, yüksek dozdaki albendozolun hücresel immun cevabı baskıladığı ortaya kondu. Diğer taraftan kan tablosundaki verilerde ise önemli değişiklikler olmadı. Yapılan literatür taramalarında, albendazolun direkt olarak immun sistem üzerine etkilerinin gösterildiği bir çalışma bulunamadı. Ancak bazı antiparaziter ilaçların, başta levamizol olmak üzere immunostimulan etkilerinin olduğu da bilinmektedir.

Bu değerlendirmelerin ışığı altında; antiparaziter ilaç olarak geniş ölçekte kullanılmakta olan ve özellikle beşeri hekimlikte, bugün için kist hidatik hastalığının (30 gün süreyle) tedavisi amacıyla en çok yararlanılan albendazolun; hümoral immun cevabı uyardığı ve hücresel immun cevabı da baskıladığı ortaya çıkmıştır. Bu şekliyle de; albendazolun, özellikle paraziter infeksiyonların önlenmesinde immun sistemi harekete geçirerek etkili olabileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1-Booth N H , Mc Donald. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 6th Ed. Iowa State University Press / Ames. 1988.

2-Brander G G ,Pugh D M, Bywater R J. Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. 4th Edition. Bailliere Tindall, London. 1982.

3-Şanlı Y, Veteriner Farmakoloji Kemoterapotik İlaçlar. A Ü Vet Fak Yayınları. No: 412. Ders Kitabı. Ankara. 1988.

4-Şanlı Y , Kaya S. Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağıtım Seçenekleri. Medisan Yayınları. Yayın No: 4. 1994.

5-Şanlı Y , Kaya S. Veteriner İlaç Rehberi ve Uygulamalı Bilgiler El Kitabı. Medisan Yayın Serisi. No: 16. Ankara. 1994.

6-Barış İ Y ve ark. Hidatik Kist Hastalığı ve Türkiye'deki Konumu. Türkiye Akciğer Hastalıkları Vakfı Yayını No: 1. Ankara. 1989.

7-Doğanay A. Farelerde sekonder hidatidoza karşı albendazol ve okstendazol'un etkisi. A Ü Vet Fak Derg 1994; 41 (3-4): 497-508.

8-Bakker F J. Progress in Medical Laboratory Technigue. Butterworths, London. 1962.

9-Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, 1. baskı, İzmir. 1992.

10-Konuk T. Pratik Fizyoloji. A Ü Vet Fak Yayınları. Yayın No: 378. Ders kitabı: 276. İkinci baskı, Ankara. 1981.

11-Natt M P, Herrick C A. A new blood dilvent for counting the erytrocytes and leucocytes counts. Avian Dis 1952; 3: 272.
12-Gülmezoğlu E, Ergüven S. İmmunoloji. Feryal Matbaası. Ankara. 1994.
13-Demet Ö, Şanlı Y. İlaçlardan kaynaklanan zehirlenmeler. Alınmıştır. Veteriner Klinik Toksikoloji Editör. S Kaya. Medisan Yayınevi. Yayın No: 21. Ankara. 1995.
14-Baydan E. İmmunotoksikoloji. Alınmıştır. Veteriner Klinik Toksikoloji Editor. S Kaya. Medisan Yayınevi. Yayın No: 21. Ankara. 1995.
15-Durupınar B. Bazı İlaçların immun yanıt üzerine etkileri. Mikrobiyol Bült 1987; 21: 117-130.
16-Özbal Y. Temel İmmunoloji. 1. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri Tic. Ltd. Şti. 1994.
17-Kutlu İ. Artan Dozlardaki Oksitetrasiklinin Tavşanlarda İmmun Sistemin Çeşitli Parametreleri Üzerine Etkileri. A Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. Ankara. 1996.
18-Yılmaz Ş. Bağışıklık sistemini olumsuz yönde etkileyen maddeler. A Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü doktora Seminer Notları. 1996.
19-Ommaty M R. Üçüncü Kuşak Sefalosporin ve Kinolon Türevi Kemoterapotiklerin İmmun Yanıt Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. 1992.
20-Back O, Norberg B. The effect of a therapeutic doxycycline concentration on polymorphonuclear leucocyte migration in vitro. Scand J Infect Dis 1984;16:369-372.
21-Atabey N, Gökoğlu M. Bazı antibiyotiklerin hücresel immun yanıt üzerine etkileri. ANKEM Derg 1993; 7: 225-230.
22-Bretzke M L , Buprick M, Hitchcock C R. Diffuse spreading clostridium specticum infection malignant disease and immune suppression. Surgery Gynecology Obstetrics 1988; 3:197-199.
23-Burgaleta C, Moreno T. Effect of ß-lactams and aminoglycosides on human polymorphonuclear leucocytes. J Antimicrob Chemother 1987; 20:529-535.
24-Chaperon E A, Sanders W E. Supression of lymphocyte responses by cephalosporins. Infection and Immunity 1978; 2:378-384.
25-Boura P, Raptopoulov G M , Acrıvıadıs F, Goulis G. Reevaluation of the effect of levamisole in chronic brucellosis: In vitro and in vivo effect on monocyte phagocytosis. J Immunopharmacol 1984; 6:135-146.
26-Swicki A K , Anderson D P, Dixon Q W. Comparisons of nonspecific and specific immunomodulation by oxalinic acid, oxytetracycline and levamisole in salmonids. Vet Immunol Immunopathol 1989; 23:195-200.
27-Khan A M , Gupta S , Malaviya R, Katiyar J C. *Ancylostoma ceylanicum*: immunological concequences after anthelmentics therapy in hamsters (Mesocricetus autatus). Indian J Exp Biol 1991; 29:786-789.
28-Schnaper H W, Aune T M. Supression of immune responses to sheep erythrocytes by the lymhokine soluble immune response supressor (STRS) in vivo. J Immunol 1986; 137: 863-867.
29-Christensen K D , Johnsen H F, Petersen C M. Cell-mediated immunity in seronegative spondarthritis treated with levamisole in a double-blind placebo-controlled study. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand C 1983; 91: 391-395.
30-Bardon R , Cuellar C , Aguila C , Guillen J L, Aguila C. Evaluation of meben-dazole activity on experimental murine toxocariasis by immune complexes determination. J of Veterinary Medicine Series. B. 1995; 42: 235-246.
31-Kaskhedikar P, Johri G N. Effect of mebendazole and albendazole therapy on the intestinal eosinophilic response of mice during different stages of *Hymenolepis nana* infection. Indian J Parasitology 1992; 16 (1): 85-87.
32-Li F R , Cao H X , Jiang C P, Wang Q. Evalvation of circulating antigen and antihody detection for therapeutic effecks on secondary cysts of *Echinococcus multilocularis* in mice. Chinese J of Parasitic Disease Control 1994; 7: 194-196.
33-Necapunchai D , Ishii A I , Terada M , Kino H , Sano M. Humoral immune responses in mice infected with Angiostrangylus costaricensis. Serodiagnosis and Immunotherapy in Infectious Disease. 1989; 3: 51-56.
34-Raisov T K , Temirbekov D A , Arkhipov G S, Ozeretskovskaya N N. The influence of mebendazde on the immune reaction of guineapigs with experimantal Trichinella infection. Meditsinskaya-Parasitologiya-i-Parazitarnye-Bolezni. 1987; 6:14-17.
35-Ridi A M , Ragab H A , Ismail M M , Sehahata M M , Ramadan M F, Etewa S F. Effect of some drugs on some histopathological and immunological aspects of experimental trichinosis in albino rats. J Egypt Soc Parasitol 1990; 20:99-104.

ARAŞTIRMA

Cilt 56, No 2, S 75 - 77
Türk Hij Den Biol Derg 1999

PSEUDOMONAS AERUGINOSA SUŞLARINDA İNDÜKLENEBİLİR BETA LAKTAMAZLARIN SAPTANMASI

Gül Bahar ÜLKAR[1] Mustafa ÇAĞATAY[1]
Oğuz GÜRBÜZ[1] Ali MERT[1]

ÖZET

Bazı gram-negatif bakterilerdeki indüklenebilir beta laktamazların oluşturduğu klinik problemler giderek önem kazanmaktadır. Yeni beta-laktam antibiyotiklerle tedavi esnasında hızla ortaya çıkan çoklu beta laktam direnci bu problemlerin en önemlisidir. Bu gibi çoklu dirençli mikroorganizmalar hastane içersinde yayılmış ve önemli nosokomiyal patojenler olmuştur.

Bu çalışmada örneklerden izole edilen 82 *Pseudomonas aeruginosa* suşunda indüklenebilir beta laktamaz oluşumu çift disk indüksiyon yöntemi ile araştırılmıştır. 82 Klinik izolattan 34'ünde (%41.5) indüklenebilir beta laktamaz oluşumu gösterilmiştir. Tüm *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının potansiyel olarak indüklenebilir beta laktamaz oluşturduğu bilindiğinden gram-negatif basillerin doğru identifikasyonu bu testlerden daha önemli ve güvenilirdir.

Anahtar kelimeler: İndüklenebilir beta laktamaz, *Pseudomonas aeruginosa*, çift disk indüksiyon

DETECTION OF INDUCIBLE BETA LACTAMASES IN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS

SUMMARY

The clinical problems caused by inducible beta lactamases in certain gram-negative bacteria are being recognized with increasing importance. The most important of these problems is the rapid emergence of multiple beta lactam resistance during therapy with many of the newer beta lactam antibiotics. Such multiply resistant microorganisms are now spreading within the hospital and have become important nosocomial pathogens.

In this study inducible beta lactamase production of 82 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* is investigated with double disk induction method . Of the 82 clinical isolates , inducible beta lactamase production is shown in 34 (%41.5) isolates. As we know all *Pseudomonas aeruginosa* isolates are potential producers of inducible beta lactamases, correct identification of gram-negative bacilli is more important and reliable than these tests.

Key Words: Inducible beta lactamase, *Pseudomonas aeruginosa*, double disk induction

GİRİŞ

Gram-negatif basillerde beta laktamaz varlığının saptanmasına gerek yoktur, çünkü bu bakterilerde zaten beta laktamaz üretilmektedir(1). Gram-negatif bakterilerde var olduğunu bildiğimiz beta laktamazların yapısal (konstitütif), indüklenebilir ya da geniş spektrumlu olup olmadığını tespit etmek uygulanacak tedavinin seçiminde yol gösterici olacaktır(2).

Enterobacteriaceae ailesi bireylerinin çoğu (*Citrobacter freundii, Enterobacter spp, Morganella spp, Proteus vulgaris, Providencia spp. Serratia marcescens), Acinetobacter spp* ve

[1]SSK Ankara Eğitim Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara
Bu çalışma 13. ANKEM Kongresinde poster olarak sunulmuştur
Geliş tarihi : 07.06.1999 Kabul edilş tarihi : 09.07.1999
Yazışma Adresi: Dr. Gül Bahar ÜLKAR, SSK Ankara Eğitim Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve Mikrobiyoloji Bölümü Ankara

Pseudomonas aeruginosa indüklenebilir beta laktamaz sentezleyebilir(3,4). İndükleyici bir ajana maruz kalma halinde bu mikroorganizmalar primer ve geniş spektrumlu penisilinler ile sefalosporinleri hidrolize eden beta laktamazları sentezlerler(3,4,5). Ancak bu indüklenebilir beta laktamazlar rutin laboratuvar testleriyle saptanamamaktadır. Bunların gösterilmesi amacıyla çeşitli testler kullanılabilmektedir. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenebilir beta laktamazların gösterilmesi amacıyla çift disk indüksiyon yöntemi uygulanmıştır.

GEREÇ veYÖNTEM

SSK Ankara Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 83 *Pseudomonas aeruginosa* suşu çalışmaya dahil edildi. Beta-laktamaz indüklenmesi amacıyla sefoksitin diski ve hedef beta-laktam olarak seftazidim ve sefotaksim diskleri kullanıldı. Önce standart Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile sefoksitine dirençli suşlar ayrıldı ve sefoksitine duyarlı bulunan bir suş çalışma dışı bırakıldı. Hedef beta-laktam diskleri ile duyarlılık testi yapılarak her suş ve hedef beta-laktam için inhibisyon zon çapı belirlendi. Bulunan zon çapından diskin kendi çapı çıkarılıp, kalan rakam ikiye bölünerek indükleyici disk ile hedef beta laktamın diğer yanındaki zon çapı ölçüldü. Aradaki farkın 4≥ mm olması halinde suşun indüklenebilir beta-laktamaz enzimine sahip olduğuna karar verildi (6).

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 82 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun 38' i idrar, 18'i kulak, 14'ü yara, altısı trakeal aspirat, üçü kateter, biri plevral mayi, biri kan, ikisi dren kaynaklı idi. 82 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun 34'ünde (%41.5) indüklenebilir beta-laktamaz varlığı gösterilebilirken 48'inde (%58.5) gösterilemedi. 34 suşun 31'inde indüklenebilir beta-laktamazlar sefotaksim ile saptanırken ikisinde seftazidim ile, birinde de her ikisi ile saptandı.

TARTIŞMA

Beta-laktamazlar amid, amidin ve benzeri karbon-azot bağlarını parçalayan enzimlerdir. Beta-laktamaz üretimi başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere gram- negatif bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere direncindeki en önemli mekanizmadır(7).

Enterobacter spp, Citrobacter freundii, Morganella morganii, Proteus vulgaris, Providencia spp, Pseudomonas aeruginosa ve *Serratia marcescens*'de kromozomal beta-laktamazlar indüklenebilen türdedir (1). Ortamda antibiyotik yoksa enzim en düşük düzeyde yapılmakta, buna karşın beta-laktam antibiyotik varlığında geçici olarak enzim sentezi artmaktadır. Genelde indükleyici ajanın çekilmesi halinde beta-laktamaz sentezi durur, ancak bazı izolatlarda mutasyon sonucu beta-laktamaz devamlı yüksek düzeyde sentezlenmeye başlayabilir. Buna derepresyon veya stabil derepresyon denilmektedir(1,3,5).

Beta-laktamaz dereprese mutantlar indüklenebilen beta-laktamaz sentezleyen bakteri toplumlarında labil zayıf indükleyiciler ile tedavi sırasında ortaya çıkmaktadırlar. Bunun nedeni bu bileşiklerin indüklenebilen hücreleri öldürmesi, buna karşın 10^{-5} sıklıkta ortaya çıkan dereprese mutantların seleksiyonuna yol açmasıdır(5,8).

Bakterilerin indüklenebilir beta-laktamaz sentezleyip sentezleyemediğini saptamak için bazı testler tanımlanmıştır. Ancak hemen hemen yukarıda belirtilen tüm türlerde indüklenebilir beta-laktamaz sentezleme potansiyeli bulunduğundan bu testlerin klinik uygulamada kısıtlı yeri vardır.Yine de bu testlerin uygulanmasının görülmesi amacıyla ülkemizde bazı merkezlerde konu ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Büyükbaba ve arkadaşları (9) çalışmalarında hastane ortamından izole edilen 60 *Enterobacter* ve 50 *Pseudomonas* suşunda indüklenebilir beta-laktamaz belirlenmesi amacıyla çift disk indüksiyon yöntemi ile

indükleyici içeren besiyerinde indüksiyon yöntemini karşılaştırmışlardır. Çift disk indüksiyon yöntemi ile *Enterobacter* suşlarının %45'inde, *Pseudomonas* suşlarının %34'ünde indüklenebilir beta-laktamaz varlığını göstermişlerdir.

Öztürkeri ve arkadaşları (10) ise *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenebilir beta-laktamaz oluşumunu göstermek için yaptıkları çalışmada; suşların %35'inde indüklenebilir beta-laktamaz oluşumunu gösterebilmişlerdir.

Kocabeyoğlu ve arkadaşları(11) yaptıkları çalışmada 65 *Pseudomonas aeruginosa* suşunda çift disk indüksiyon yöntemi ile hedef beta-laktama göre değişmek üzere indüklenebilir beta-laktamaz oranını %26-40 arasında saptamışlardır.

Şanlıdağ ve arkadaşları(12) ise 67 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun 23'ünde (%34) indüklenebilir beta-laktamaz varlığını çift disk indüksiyon yöntemi ile göstermişlerdir.

Bu çalışmada indüklenebilir beta-laktamaz sentezi çift disk indüksiyon testi ile örneklerin %41.5'inde gösterilebilmiştir. Sonuç olarak klinik izolatların indüklenebilir beta-laktamaz yönünden araştırılması gerekli görülmemekte ve önerilmemektedir, gram-negatif bakterilerin doğru tanısı ve indüklenebilir beta-laktamaz sentezleyebilen mikroorganizmaların bilinmesi ile bu mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonların tedavisinde seçilen beta-laktam antibiyotik ile başarısız olma olasılığının bulunduğu bilinmelidir.

KAYNAKLAR

1-Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev.1995; 8:557-84.

2-Bal Ç. Beta-laktamaz testleri ve rutinde kullanımları. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı sayfa 101-111. İstanbul (1997).

3-Swenson JM, Hindler JA, Peterson LR. Special tests for detecting antibacterial resistance. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH (eds) Manual of Clinical Microbiology pp 1356-67. Am Soc Microbiol, Washington (1995).

4-Livermore DM. Clinical significance of beta-lactamase induction and stable derepression in gram-negative rods. Eur J Clin Microbiol.1987;6:439-45.

5-Gür D. Beta-laktamazlar. Flora Derg.1997;2(3):1-16.

6-Gür D. Beta-laktamaz testleri. Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Standardizasyonu Workshop sayfa 37-46. Ankara (1996).

7-Gülay Z. Beta-laktamaz inhibitörlerine dirençli TEM benzeri enzimler. Ankem Derg. 1997; 11: 213-19.

8-Sanders CC, Sanders WE. Clinical importance of inducible beta-lactamases in gram-negative bacteria. Eur J Clin Microbiol. 1987;6:435-37.

9-Büyükbaba Ö, Katrancı H, Nakipoğlu Y, Derbentli Ş. Gram-negatif çomaklarda indüklenebilir beta-laktamaz belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin değerlendirilmesi. Ankem Derg.1997;11(4):419-28.

10-Öztürkeri H, Kocabeyoğlu Ö, Koşan E, Diler M, Özcan Ş. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında sefoksitin ile beta-laktamaz indüksiyonu. Ankem Derg.1997;11(4): 429-31.

11-Kocabeyoğlu Ö, Erdemoğlu A, Özcan Ş, Düztaş O. Gram-negatif bakteri suşlarında uyarılabilir beta-laktamazların araştırılması. Ankem Derg. 1997;11(2):99.

12-Şanlıdağ T, Terzioğlu A, Karslı B, Küçükyavuz Z, Öztop Y, Saygı G. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenebilir beta-laktamazların saptanması. Ankem Derg. 1997;11(2):99.

ARAŞTIRMA

Cilt 56, No 2, S : 79 - 82
Türk Hij Den Biol Derg 1999

ÇOKLU DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* İZOLATLARI VE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Gül Bahar ÜLKAR[1] Ali MERT[1]

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa hastane infeksiyonlarının başlıca etkenleri arasında olup, ciddi morbidite ve mortaliteye yol açar, birçok antibiyotiğe de dirençlidir. Bu çalışmada SSK Ankara Eğitim Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen elli sekiz *P. aeruginosa* suşunda çoklu ilaç direnci varlığı araştırıldı. Çoklu direnç kriteri olarak seftazidime ve test edilen antibiyotiklerden üçüne direnç varlığı kriter olarak alındı. Test edilen suşların 13'ünde (% 22.4) çoklu direnç varlığı tespit edildi. Antibiyotik direnç oranları ise sırasıyla; sefaperazona % 22.5, ofloksasine % 36.3, netilmisine % 55.2, meropeneme % 20.7, imipeneme % 24.2, seftazidime % 26.0, siprofloksasine % 41.4, gentamisine % 55.2, sefepime % 26.0, amikasine % 27.7, aztreonama % 29.4 olarak bulundu.

Anahtar kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, çoklu direnç, hastane infeksiyonu

MULTIDRUG RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATES AND THEIR SUSCEPTIBILITIES AGAINST VARIOUS ANTIBIOTICS

SUMMARY

Pseudomonas aeruginosa is one of the leading causes of hospital inlections. *Pseudomonas* infections cause significant morbidity and mortality and are often resistant to treatment with antibiotics frequently used. In this study, presence of multidrug resistance in fifty eigth *P. aeruginosa* strains isolated from different clinical specimens sent to the Clinical Microbiology Laboratory of SSK Ankara Eğitim Hastanesi were investigated. Multidrug resistance was found in 13 (22.4%) of the isolates tested. Resistance to ceftazidime and three antibiotics tested was taken as the criterion of multidrug resistance. Resistance rates of the isolates to the antibiotics tested were as follows; cefaperazone 22.5 %, ofloxacin 36.3 %, netilmicin 55.2 %, meropenem 20.7 %, imipenem 24.2 %, ceftazidime 26.0 %, ciprofloxacin 41.4 %, gentamicin 55.2 %, cefepime 26.0 %, amikacin 27.7 %, aztreonam 29.4 %.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, multidrug resistance, hospital infection

GİRİŞ

Pseudomonadaceae ailesinde *Pseudomonas* cinsi bakteriler doğada yaygın olarak bulunurlar. Suda ve nemli ortamda iyi ürerler. Doğada yaygın bulunmalarına rağmen insanlarda fırsatçı infeksiyonlara neden olurlar. Değişik sıcaklık derecelerinde üreyebilirler. Güçlü metabolizmaları ve birçok antibiyotiğe dirençleri nedeniyle *Pseudomonas* cinsi bakteriler hastane ortamlarında kolaylıkla barınabilirler(1).Bu cins içerisinde *Pseudomonas aeruginosa* klinik örneklerden en sık izole edilen türdür. Özellikle yanık, kistik fibrosis, akut lösemi, transplantasyon hastalarında, ilaç bağımlılarında, uzun süre antibiyotik ve radyoterapi alanlarda, metabolik hastalığı bulunanlarda, yaşlılarda ve yeni doğanlarda en önemli infeksiyon etkenlerinden biridir(2,3).

P.aeruginosa infeksiyonlarında en önemli problem tedavide kullanılan antibiyotiklere

[1]SSK Ankara Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara
Geliş tarihi : 07.06.1999 Kabul ediliş tarihi : 24.09.1999
Yazışma Adresi : Dr. Gül Bahar ÜLKAR, SSK Ankara Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

dirençtir. Antibiyotiklerin günümüzde yaygın ve çoğu kez de gereksiz kullanılması sonucunda infeksiyon hastalıkları açısından en önemli sorunlardan biri olarak kabul edilen antibiyotiklere dirençli bakterilerle gelişen infeksiyonlar giderek daha sık ortaya çıkmaya başlamıştır. Öncelikle yanıklı hastaların yaraları olmak üzere, özellikle yanık ünitelerindeki nosokomiyal infeksiyon salgınlarından sorumlu çoklu dirençli *P.aeruginosa*lar izlenmektedir(4). *Pseudomonas* infeksiyonlarında aminoglikozid, antipseudomonal penisilin ve sefalosporinler ile karbapenem, monobaktam ve florokinolon grubu antibiyotiklerin additif veya sinerjistik etkili kombinasyonlarının kullanılması tercih edilmektedir(5). Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının sık kullanılan bazı antibiyotiklere duyarlılıkları ve çoklu direnç varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

SSK Ankara Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örnekler kanlı ve EMB agar plaklarına ekildi. 35°C'de 18-20 saat inkübasyondan sonra; kanlı agarda hemolizli R tipi, piyosiyanin oluşturmuş tipik aromatik kokulu, EMB agarda ise laktoz negatif koloniler yapmış olan, oksidaz pozitif mikroorganizmalar biyokimyasal özellikleri de dikkate alınarak *P.aeruginosa* olarak identifiye edildi. Toplam 58 *P. aeruginosa* suşu çalışmaya dahil edildi. 150 mm çaplı plaklardaki Mueller-Hinton besiyeri yüzeyine 0.5 Mc Farland standardına göre hazırlanan bakteri süspansiyonu yayıldı. Daha sonra plaklara kenardan kenara uzaklıkları 20mm olacak şekilde siprofloksasin (CİP), ofloksasin (OFX), netilmisin (NET), gentamisin (CN), meropenem (MEM), imipenem (İMP), seftazidim (CAZ), sefaperazon (CFP), sefepim (FEP), amikasin (AK), aztreonam (ATM) diskleri yerleştirildi. 35°C'de 18-20 saatlik inkübasyondan sonra diskler çevresindeki inhibisyon zon çapları ölçülerek duyarlı, orta duyarlı veya dirençli olarak değerlendirildi. Seftazidime ve test edilen antibiyotiklerden en az üçüne dirençli olan suşlar çoklu dirençli olarak kabul edildi(3). Kontrol olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanıldı.

BULGULAR

Klinik örneklerden izole edilen toplam 58 *P. aeruginosa* suşunun antimikrobiyal duyarlılık test sonuçları tablo 1 de gösterildi.

Antibiyotik	Duyarlı		Orta duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%
Aztreonam	35	60.3	6	10.3	17	29.4
Amikasin	39	67.2	3	5.1	16	27.7
Gentamisin	24	41.4	2	3.4	32	55.2
Netilmisin	26	44.8	0	0	32	55.2
Ofloksasin	31	53.4	6	10.3	21	36.3
Siprofloksasin	33	56.9	1	1.7	24	41.4
İmipenem	43	74.1	1	1.7	14	24.2
Meropenem	46	79.3	0	0	12	20.7
Sefoperazon	42	72.3	3	5.2	13	22.5
Seftazidim	42	72.3	1	1.7	15	26.0
Sefepim	40	68.9	3	5.1	5	26.0

Tablo 1. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

Test edilen izolatlar; en çok meropenem (% 79.3) ve imipeneme (% 74.1) duyarlı bulunurken, en az gentamisin (% 41.4) ve netilmisine (% 44.8) duyarlı bulundu. Dirençli suşların 13' ünün (% 22.4) çoklu dirençlilik kriterine uyduğu saptandı.

TARTIŞMA

P.aeruginosa infeksiyonlarında kullanılabilecek antibiyotiklerin sayısı azdır. Çünkü bu bakteriler pek çok antibiyotiğe intrinsik olarak dirençlidir veya tedavi esnasında direnç geliştirebilir(6). Bu da özellikle immün yetmezlikli hastaların tedavisi esnasında mortaliteyi arttıran en önemli nedendir. Önceleri bu direncin tek mekanizmasının dış membran geçirgenliğinin azlığı olduğu düşünülüyordu(7). Günümüzde ise bunun; ilaçları hücre dışına atan geniş spesifiteye sahip pompalar ile düşük dış membran geçirgenliği arasındaki sinerjiden kaynaklandığı bilinmektedir(8). *P.aeruginosa* infeksiyonlarında

tedavi esnasında da direnç gelişebileceği ile ilgili Fransa'da yapılan bir çalışmada altı aylık bir dönem içerisinde yatan hastalardan toplanan 835 izolattan 21'inde başlangıçta test edilen sekiz antibiyotiğin tamamına duyarlılık tespit edilmişken, sonraki kontrollerde en az birine direnç geliştiği görülmüştür(9). Çin'de yapılan bir diğer çalışmada ise 192 *P.aeruginosa* suşu 11 antibiyotik ile test edilmiş, çoklu direnç kriteri olarak sekiz antibiyotiğe direnç varlığı alınmış ve 16 (% 8.3) suşta çoklu direnç tespit edilmiştir(10). Ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda ise dirençlilik oranlarının imipenem için % 2-39, seftazidim için % 10-52, amikasin için % 4-71, aztreonam için % 16-71, meropenem için % 7-25, siprofloksasin için % 6-40, sefepim için % 8-20, gentamisin için % 13-64, netilmisin için % 10-50, ofloksasin için % 16-73 arasında değiştiği görülmüştür(11-20). Bu çalışmalardaki direnç oranları arasındaki farklılıkların oldukça yüksek olduğu gözlenmektedir.

Çalışmaların bazıları yoğun bakım hastalarından gönderilen örneklerden izole edilen suşlarda yapılmıştır. Bazıları ise yatan hastalar ile poliklinik hastaları arasındaki direnç oranlarını karşılaştırmak amacı ile, bu hastalardan gönderilen örneklerden izole edilen suşlarla yapılmıştır. Direnç oranları arasındaki belirgin fark bu nedenden dolayı olabilir. Bizim çalışmamızda ise direnç oranları; imipenem için % 24.2, seftazidim için % 26.0, amikasin için % 27.7, aztreonam için % 29.4, meropenem için % 20.7, siprofloksasin için % 41.4, sefepim için % 26.0, gentamisin için % 55.2, netilmisin için % 55.2, ofloksasin için % 36.3, sefaperazon için % 22.5 olarak bulunmuştur. Çoklu dirençli suşların oranı ise % 22.4 olarak bulunmuştur. Sonuçlar diğer çalışmalara benzemekle birlikte genelde direnç oranlarının üst sınırlara yakın olarak tespit edildiği dikkat çekmektedir. Bu çalışmada poliklinik hastaları ile yatan hastalardan elde edilen suşlar arasındaki direnç farklarını tespit etmek amaçlanmamıştır. Fakat hastanemiz polikliniğinin ayrı olması nedeni ile suşların çoğunluğu yatan hastalardan gönderilen örneklerden izole edilmiştir. Direnç oranlarının yüksek olmasının bu sebepten olabileceği düşünülmüştür.

Genel olarak *P. aeruginosa*'da önemli bir direnç sorununun olduğu gözlenmektedir. Ancak başta belirtildiği gibi bu bakteriler özellikle hastane infeksiyonu etkeni olarak yanık, yoğun bakım, yenidoğan ünitelerinde tehdit oluşturmaktadır ve birçok antibiyotiğe intrinsik olarak dirençlidir. Özellikle ampirik antibiyotik tedavisi verilirken bu durumun dikkate alınması gereklidir. Sonuç olarak önemli morbidite ve mortalite kaynağı olan bu infeksiyonların öncelikle ciddi önlemler alınarak gelişmesinin önlenmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. (Eds) A Colour Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 5th Ed. Lippincott Philadelphia.1997: 253-320.

2-Buttery JP, Alabaster SJ, Heine RG, Scott SM, Crutchfield RA, Garland SM. Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a pediatric oncology ward related to bath toys.Pediatric Infect Dis 1996; 17: 509-513.

3-Hsueh PR, Teng LJ, Yang PC, Chen YC, Ho SW, Luh KT. Persistance of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in an intensive care burn unit. J Clin Microbiol 1996; 36: 1347-1351.

4-Fujita J, Negayama K, Yamagashi Y, Kubo A, Yamaji Y, Takahara J. Activity of antibiotics against resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 1992; 29: 539-546.

5-Korvik JA, Victor LYU. Antimicrobial agent therapy for Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 2167-2172.

6-Bonfigilo G, Laksai Y, Franchino L, Amicosante G, Nicoletti G. Mechanism of beta-lactam resistance amongst *Pseudomonas aeruginosa* isolated in an Italian survey. J Antimicrob Chemother 1996; 42: 697-702.

7-Srikumar R, Kon T, Gotoh N, Poole K. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* multidrug efflux pumps MexA-MexB-OprM and MexC-MexD-OprJ in a multidrug-sensitive Escherichia coli strain. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 65-71.
8-Zhi X, Zhang L, Srikumar R, Poole K. Beta-lactamase inhibitors are substrates lor the multidrug efflux pumps of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 399-403.
9-Ziha-Zarifi I, Llanes C, Köhler T, Pechere JC, Plesiat P. In vivo emergence of multidrug-resistant mutants ol *Pseudomonas aeruginosa* overexpressing the active efflux system MexA-MexB-OprM. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 287-291.
10-Chen G, Hu Y, Fukuchi K, Wakuta R, Zhang X. Analysis of genome-type, serovar and antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in Beijing Hospital China in 1991 to 1993. Rinsho Byori 1997; 45: 1091-7.
11-Özgenç O, Urbarlı A, Erdenizmenli M, Fldan N, Arı A. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının çeşitli antimikrobiklere dlrenç oranlarının araştırılması. Ankem Derg 1997; 11(2): 116.
12-Kaleli İ, Özen N, Şengül M, Akşit F. *Pseudomonas* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılığı. Ankem Derg 1997; 11(2): 117.
13-Gürler N, Kaygusuz A, Öngen B, Öksüz L, Karayay S, Töreci K. Cerahat, yara ve doku örneklerinden izole edilen bakteriler ve antimikrobik maddelere duyarlılıkları. Ankem Derg 1998; 12(2): 117.
14-Yorgancıgil B, Demirci M, Demir İ, Yıldırım S, Ökten B, Arda M. Değişik klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnci. Ankem Derg 1998; 12(2): 137.
15-Karayay S, Gürler N, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K. Gram negatif bakteri suşlarında sefepim direnci. Ankem Derg 1997; 11(2): 119.
16-Er H, Şenol G, Coşkun M, Türker M, Kayabaş R. Gram negatif ve gram pozitif mikroorganizmalarda sefepim direnci. Ankem Derg 1997; 11(2): 119.
17-Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N, Töreci K. Gram negatif çomaklarda antibiyotik direnci ve genişlemiş spektrumlu beta laktamaz oluşturma sıklığı. Ankem Derg 1997; 11(2): 108.
18-Tünger A, Yamazhan T, Yüksel E, Özkan F. Yoğun bakım üniteleri ve diğer kliniklerde yatan hastalardan soyutlanan *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları. Ankem Derg 1997; 11(1): 26-9.
19-Erdemoğlu A, Emekdaş G, Kocabeyoğlu Ö, Diler M, Göksu GT. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklan. 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı 1998; 210.
20-Sütçü A, Fındık D, Tuncer İ, Baysal B. E. Coli ve *Pseudomonas* suşlarına sefepim ve bazı sık kullanılan antlbiyotiklerin etkinlikleri. Ankem Derg 1997; 11(4): 469-472.

ARAŞTIRMA

Cilt 56, No 2, S 83 - 86
Türk Hij Den Biol Derg 1999

KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ'NDE SABIN FELDMAN DYE TESTİ İLE KOYUN VE KEÇİLERDE *TOXOPLASMA GONDII*'NİN SEROPREVALANSI

Serpil NALBANTOĞLU[1] Cahit BABÜR[2] Ayşe ÇAKMAK[1]
Zafer KARAER[1] Ersan KORUDAĞ[3]

ÖZET

Bu çalışma ile Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde ilk defa Sabin Feldman dye testi ile koyun ve keçilerde *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bunun için Kıbrıs'ın farklı bölgelerinden 71 koyun ve 38 keçiden kan alınarak, serumları çıkarılmış ve Sabin Feldman dye testi ile *T.gondii* antikorları araştırılmıştır. Serolojik muayeneleri yapılan koyunlardan %52.11'i, keçilerden ise %52.63'ü seropozitif bulunmuştur.Serepozitif bulunan koyunlardan 18'inin (%48.64) ve keçilerden 6'sının (%30) 1/64 ve yukarısı sulandırma basamağında pozitif bulunması, bu hayvanlarda klinik toxoplasmosis'in var olabileceğini ortaya koyması bakımından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, Sabin-Feldman dye test, koyun ve keçi

SERO-PREVALENCE OF *TOXOPLASMA GONDII* BY THE SABİN-FELDMAN DYE TEST İN GOATS AND SHEEP İN TURKISH REPUBLIC OF NORTHERN CYPRUS

SUMMARY

The aim of the present study was carried out detect *Toxoplasma gondii*'in goats and sheep in North Cyprus for the first time by using Sabin-Feldman dye test. Serum samples from 71 sheep and 38 goats were investigated for *Toxoplasma gondii* antibodies by using the test. In this test, 52.11% of sheep and 52.63% of goats found to be posivite have carried of the antibodies. Eighteen out of 37 (48.64%) seroposivite sheep and 6 out of 20 (30%) seroposivite goats found to be posivite at a dulition 1/64 or higher have showed that these animals may have clinical toxoplasmosis.

Key Words: *Toxoplasma gondii*, Sabin-Feldman dye test, sheep and goat

GİRİŞ

Koyun ve keçilerde *Toxoplasma gondii* önemli bir abort etkeni olup yerleştiği ve geliştiği plasenta ile kotiledonlar'da nekrozlar oluşturarak prenatal ölümlere sebep olurlar. (1,2). Bu yüzden koyun ve keçi yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplar meydana gelir (1-3). Ayrıca *T.gondii*'nin arakonakta gelişmesinin ikinci dönemi olan kist oluşturma aşamasında, gelişen kistler insanlar için enfeksiyon kaynaklarındandır. (1-7). Koyun ve keçilerde toxoplasmosis diğer hayvanlardaki gibi subklinik seyrlidir. Bazı akut olaylarda vücut ısısı artışı, iştahsızlık, durgunluk ve solunum güçlüğü, bazen ishal gibi hastalık için karakteristik olmayan genel bozukluklar ortaya çıkabilir. (1,2,6). Bu yüzden canlı hayvanlarda toxoplasmosis'in teşhisi ancak bazı serolojik yöntemlerle yapılmaktadır.(1-3,6,8,9). Bugüne kadar teşhisde hastalık için spesifik test olan SF (1,5,10-13) dışında, IFAT (1,14,15), LAT (1,15-20), ELİSA (1,7,21), İHA (1,21-24), CF (1,5,22) gibi test tekniklerinden yararlanılmıştır.

[1]Ank Üniv Veteriner Fakültesi, Protozoloji ve Entomoloji Bilim Dalı, Ankara
[2]Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Mikrobiyoloji Bölümü Sıhhıye - Ankara
[3]Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti Veteriner Dairesi, Lefkoşa
Geliş Tarihi: 08.07.1999 Kabul edilş tarihi: 19.08 1999
Yazışma Adresi: Prof Dr.Zafer KARAER, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji ve Entomoloji Bilim Dalı Dışkapı - Ankara

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde koyun ve keçilerde toxoplasmosis değişik zamanlarda (1986-1997) hazırlanan yıllık raporlarda bildirilmiştir. Buna göre İHA testi ile koyunlarda %19-55.6 oranlarında, keçilerde ise %16.3-56.4 arasında yıllık seropozitifik saptanmıştır. (25).

Bu çalışma ile Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetinde ilk defa Sabin Feldman testi lle koyun ve keçiyerde *T.gondii*'nin seroprevalansının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nin Lefkoşa ve Mağuso yöresinde yürütülmüştür. 1987-1997 yılları arasında farklı zamanlarda Lefkoşa yöresinden 8 koyun, 21 keçi; Mağusa yöresinden 63 koyun, 17 keçi olmak üzere abort yapmış toplam 71 koyun, 38 keçiden tekniğine uygun olarak kan alınmıştır. Labaratuvara getirelen kanlardan serum elde edilerek, test edillnceye kadar -20°C 'de derin dondurucuda saklanmıştır.

Serumlar Türkiye'de Sağlık Bakanlığına bağlı Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığının Toxoplasmosis Labaratuvarında Sabin-Feldman dye testi ile muayene edilmiştir.

BULGULAR

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyet'inde Lefkoşa ve Mağusa yöresi koyun ve keçilerden toplanan serumların SF dye test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışma merkezinde SF testi ile koyun ve keçilerde *T.gondii* enfeksiyonunun seropozitiflik durumu

	Koyun		Keçi	
Çalışma Merkezl	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Lefkoşa	3	5	12	9
Mağusa	34	29	8	9
TOPLAM	37	34	20	18

Tablo 1'den anlaşılacağı gibi serolojik kontrolu yapılan 71 koyundan 37 (%52.63) si, 38 keçiden 20 (%52.63) si pozitif bulunmuştur. İllere göre seropozitiflik ise koyunlarda Lefkoşa'da %37.5, Mağusa'da %53.96; keçilerde Leşkoşa'da %57.14, ve Mağusa'da %47.05 olarak saptanmıştır.

Tablo 2'de ise seropozitifliğin titrasyon basamakları gösterilmiştir.Buna göre 37 seropozitif koyundan 19 (%51.35)'u 1/16'da; 14 (%37.83)'ü 1/64'de, 4'(%10.81)'ü ise 1/256'da pozitif bulunmuştur.Yine aynı tabloda seropozitif 20 keçiden tablodaki sulandırma basamakları sırasına göre 14(%70), 5(%25) ve 1(%5) pozitiflik tespit edilmiştir.

Tablo 2. Koyun ve keçilerdeki pozitifliğin titrasyon basamaklarına dağılımı

	1/16	1/64	1/256	TOPLAM
Koyun	19	14	4	37
Keçi	14	5	1	20

Yine bu tabloya göre (Tablo 2) hastalık titrasyon basamağı kabul edilen 1/64 ve üzerindeki sulandırma basamağında koyunlarda 18 (%48.64), keçilerde 6(%30) pozitiflik tespit edildiği görülmektedir.

Ayrıca 1/64 sulandırma basamağında pozitif olan koyunlardan 1'inin, kan alınmadan 1 hafta önce abort yaptığı sahibinden öğrenilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyet'inde koyun ve keçilerde toxoplasmosis konusu üzerinde sadece 1986-1997 yılları arasında hazırlanan yıllık çalışma raporları sonuçlarında, IHA testiyle koyunlarda tespit edilen pozitiflik oranının (%19-55.6) düşük olmadığı, keçilerde de koyunlardakine benzer bir pozitiflik oranının (%20-56.4) saptandığı görülmektedir. Bu çalışma lle koyunlarda seropozitiflik oranının %52.11, keçilerde ise %52.63 olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyet'inde mevcut koyun ve keçilerin her ikisinden birinde, *T.gondii* antikoru tespit edilmiştir. Özellikle SF testinin hastalık için kritik sulandırma basamağı olarak kabul edilen 1/64 ve 1/256'da koyunlarda %25.34, keçilerde %15.78'lik seropozitiflik

toxoplasmosis'in, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyet'inde üzerinde durulması gereken hastalıklardan biri olduğunu göstermektedir.

Bugüne kadar Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyet'inde yalnız Tarım teşkilatının raporu şeklinde, bildirilen toxoplasmosis'in yapılan bu çalışma ile koyun ve keçilerde toxoplasmosis'in yüksek oranlarda tespit edilmiş olması, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyet'inde hayvancılığın bu sektöründe ekonomik kayıplara sebep olabileceği ve daha da önemlisi hasta hayvanların özellikle koyunların insanlar için enfeksiyon kaynağı olarak rol oynayabileceği fikrini kuvvetlendirmektedir. Bu yüzden ülke çapında yapılacak epidemiyolojik çalışmalarla koyun ve keçilerde toxoplasmosis'in gerçek boyutlarının ortaya konması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1-Dubley JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of Animal and Man. CRC Press İnc. Boca Raton, Florida 1988;61-80.
2-Eckert J, Kurtzer E, Rommel M, Bürger HJ, Körting W. Veterinarmedizinische Parasitologie. Begründet von Josef Boch und Rudolf Supperer. Verlag Paul Perey, Berlin und Hamburg 1992; p.905.
3-Opel U.Serologishe untersuchungen auf *Toxoplasma* antikörper mit dem inderekten immunfluoreszenztest (IFAT) und dem latex agglutinations test (LAT) bei Ziegen und Hunden in Neuseeland. Vetmed Diss Hannover 1987.
4-Dubey JP. Toxoplasmosis. JAVMA 1994; 250, 11, 1593-1597.
5-Ekmen H. Toxoplasmosis'te enfeksiyon kaynakları, I-Koyun ve sığırlarda *Toxoplasma* antikorları. Mikrobiyol Bült 1967; 1(4) 243-248.
6-Levine ND. Veterinary Protozoology. Lowa State University Press-Ames 1985.
7-Markell EK, Vage M, John DT. Medical Parasitology, W.B. Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc.,Phaladelphia 1992.
8-Hiepe T, Jungmann R. Lehrbuch der Parasitologie. Veterinarmedizinische Parasitologie. Gustav Fischer Verlag, Stutgart 1983; p.231.
9-Soulsby EJL. Helminths, Arthropords and Protozoa of Domesticated Animals. Seven edition. Bailliere Tindall, London 1982; p.809.
10-Beverley JKA, Mackay RR. Ovine abortion and toxoplasmosis in the East Midlans. Vet Rec 1962; 74,499-500.
11-Beverley JKA, Watson WA. Further studies on toxoplasmosis and ovine abortion in Yorkshire. Vet Rec 1962; 74,548-553.
12-Beverley JKA, Hutchison WM, Allsup TN, Spence JB, Watson WA. Studies on the Spread of *Toxoplasma gondii* to Sheep . Br Vet J 1975; 131, 130-136.
13-Weiland G, Dalchow W. Toxoplasma infectionen bei Haustieren in der Türkei (serologische untersuchungen im Sabin-Feldman Test). Berl Müch Tierarztl Wochenschr 1970; 83, 65-68.
14-Monero T, Martinez-Gomez F, Hernandez Rodriquez S, Martinez-Cruz M-S, Martinez-Monero A. The seroprevalence of ovine toxoplamosis in Cordoba. Spain Ann Trop Med Parasitol 1991; 85,2,287-288.
15-Opel U, Charleston WAG, Pomroy WE, Rommel M. A Survey of the prevalence of *Toxoplasma* infection in goat in New Zeland and a comparison of the latex agglutination and indirect fluorescence tests. Vet Parasitol 1991; 40, 181-186.
16-Johnson J, Duffy K, New L, Holliman RE, Chessum BS, Fleck DG. Direct agglutination test other assays for measuring antibodies to *Toxoplama gondii*. J Clin Pathol 1989; 42:536-541.
17-Kobayoshi A, Hirai N, Suzuki Y, Nishikawa H. Watanabe N.Evaluation of a commercial *Toxoplasma* latex agglutination test. J Parasitol 1977; 26(3) :175-180.
18-Ohshima S, Tsubota N, Hiraoka K. Latex agglutination microtier test for diagnosis *Toxoplasma* infection in animals. Zbl Bakt Hyg 1 Abt Orig A 1981; 250:376-382.

19-Samad MA, Rahman KMB, Basher SA. Serological status to natural *Toxoplasma gondii* infection in mixed flocks of sheep and goats in Bangladesh. J Protozool Res 1993; 3,25-28.
20-Samad MA, Rahman KMB, Halder AK. Seroprevalance of *Toxoplasma gondii* in domestic ruminant in Bangladesh. Vet Parasitol 1993; 47, 157-159.
21-O'Donoghue PJ, Riley MJ, Clarke JF. Serological survey for *Toxoplasma* infections in sheep. Aust Vet J 1987; 64,2, 40-45.
22-Blewett DA, Teale AJ, Miller JK, Scott GR, Buxton D. Toxoplasmosis'in ram:possible Signifcance of venera! transmission. Vet Rec 1982; 111, 73-75.
23-Dumanlı N, Güler S, Köroğlu E, Orak S. Elazığ yöresinde koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin yayılışı. Doğa, Tr J of Veterinary and Animal Sciences 1991; 16,10-18.
24-Katsube Y, Hagiwara T, İmazumi K, Hanaki T, Nobuto, K. Reliability oe the dye and modified hemaglutination test for the laternt infection of *Toxoplasma*. Jap J Vet Sci 1972; 34:123-133.
25-Anon, (1986-1997 yılları arasına ait raporlar). Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı Veteriner Dairesi Yıllık Raporları.

ARAŞTIRMA

Cilt 56, No 2, S : 87 - 90
Türk Hij Den Biol Derg 1999

AFYON ÇAY SELULOZ FABRİKASINDA HAVANIN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

Nilay ÇÖPLÜ[1]

ÖZET

Afyon Çay seluloz fabrikasında havanın mikrobiyolojik analizi yapılmıştır. Bu amaçla impingment sistemi kullanılmıştır. Fabrikadan alınan hava örneğinde bakteri koloni sayısı $8x10^3$ cfu/m^3, ofisten alınan örnekte ise $6x10^3$ cfu/m^3, yine fabrikadan alınan hava örneğinde mantar koloni sayısı $2x10^3$ cfu/m^3, ofisten alınan örnekte ise $1.8x10^3$cfu/m^3 şeklinde saptanmıştır. Tozlu bir ortam olan fabrika ile kontrol örneklerin alındığı ofis kısmındaki mikroorganizmaların koloni sayıları birbirine yakın ve normal düzeylerde olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Organik tozlar, hava

THE MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF THE WORKING ATMOSPHERE IN AFYON ÇAY PAPER FACTORY

SUMMARY

The microbiological analysis of the working atmosphere in Afyon Çay pulp factory have been performed. For this purpose the impingment system have been used. The colony count of bacteria in the factory was $8x10^3$ cfu/m^3 and in offise $6x10^3$ cfu/m^3, also the coloni count of fungi in the factory was $2x10^3$ cfu/m^3 and in the office division $1.8x10^3$cfu/ m^3. The amount of the colony forming units measured in the factory which contains dust in working atmosphere and the office from where control samples have been taken were close to each other and in normal levels.

Key Words: Organic dust, working atmosphere

GİRİŞ

Solunan havada bulunabilen biyohazardlar solunum sistemini tehdit edebilmektedir. Havadan kaynaklanan biyohazardlar arasında organik tozlar da yer almaktadır. Bakteri, fungus ve metabolitleri de bu organik tozlar arasındadır. Solunan organik tozlar, immunolojik ya da non-immunolojik mekanizmalarla solunum sisteminde cevap oluştururlar (1). Gram pozitif bakteriler daha sık görülmektedir. Gram negatif bakteriler daha seyrek görülmekle birlikte endotoksinleri nedeniyle daha patojendirler. Fungal sporların ise ekstrinsik allerjik alveolitin sık olduğu yerlerde daha yüksek miktarlarda olduğu gözlenmiştir (1,2).

Bu çalışma Afyon ili Çay ilçesinde bulunan bir seluloz fabrikasında yapılmıştır. Bu fabrikada ortamın çok tozlu olması nedeniyle, bakteri ve fungus miktarının da artıp artmadığını saptamak hedeflenmiştir.

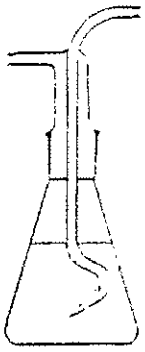
GEREÇ VE YÖNTEM

Afyon Çay Seluloz fabrikasında havanın mikrobiyolojik incelemesi yapılmıştır. Alınan örnekler Ankara Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü laboratuvarlarında çalışılmıştır. Örnek alımında EGO Genel Müdürlüğünden alınan anma debisi 4 m^3 olan sayaç kullanılmıştır. Sayacın hava girişi açıktı

[1]Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı ,Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Sıhhıye - Ankara
Geliş tarihi :19.07.1999 Kabul ediliş tarihi : 05.11.1999

The European Respiratory Journal Abstracts ERS Annual Congress Barcelona,Spain, September 16 - 20th 1995 de sunulmuştur.
Yazışma Adresi : Dr.Nilay ÇÖPLÜ, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı ,Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Sıhhıye - Ankara

bırakılarak 0.5 m^3 havanın negatif basınçla sayaçtan geçmesi için gereken süre beklenmiştir. Sayacın çıkışı steril bir boru ile impinger sistemine bağlanmıştır. İmpringer sistemi şekil 1'de gösterilmektedir. Sistemde iki ayrı balon kullanılmıştır. Balonlardan birine brain heart buyyonu (Difco,USA), diğerine sıvı Stuart (Oxoid,UK) konulmuştur. Steril hortum ve cam borularla sayaçtan gelen hava balon da bulunan sıvı besiyerinin içinden geçirilerek dışarı çıkması sağlanmıştır. Aynı işlemler kontrol amacıyla fabrikanın ofis kısmında da tekrarlanmıştır (3).



Şekil 1. İmpinger sistemi

Çalışma sonbaharda, havanın nemli olduğu bir dönemde, fabrikanın dışarıya açık ve toz oranının çok yüksek olduğu bir kısmında yapılmıştır.

Hava geçirme işlemi sonunda zaman kaybetmeksizin katı besiyerine 1'er ml. ekim yapılmıştır. Her bir balon için ikişer adet olmak üzere %5 insan kanlı agar, çikolata agar ve EMB agar (Oxoid,UK) kullanılırken, Sabouraud dextroz agar (SDA)(Oxoid,UK) dörder adet kullanılmıştır. SDA'ların ikişer adedi 26°C da bir hafta inkübasyona bırakılırken diğer plaklar 37°C'da 48 saat inkübe edilmiştir. Diğer besiyerlerinin tümü 37°C"da 48 saat inkübe edilmiştir. İnkubasyon sonrası bakteri ve mantar kolonileri sayılmıştır. Total hacme dayanarak yapılan hesaplama sonucunda havanın 1 m^3'de bulunan koloni oluşturan birim (cfu) sayısı saptanmıştır.

Bakteri identifikasyonu için koloni morfolojisi, hemolizi, pigmenti, gram ve modifiye Ziehl-Nelsen boyaları, katalaz, oksidaz, koagülaz, basitrasin ve novobiosin duyarlılığı, hareket muayenesi, bile eskulin, safrada erime, % 6.5 NaCl'de üreme deneyleri, glukoz fermentasyonları çalışılmıştır (4,5).

Küfler için koloni morfolojisi ve pigmentinin yanısıra laktofenol pamuk mavisi ile mikroskopik incelemeleri yapılmıştır (6).

Mayalar için germ tüp ve fermentasyon deneyleri yapılmıştır (7).

BULGULAR

Bakteri kolonileri fabrika kısmında toplam 31 adet, ofis kısmında toplam 23 adet bulunmuştur. Mantar kolonileri ise fabrikadan alınan örnekte 10, ofisten alınan örnekte 9 adet bulunmuştur. Bakteri ve mantarların dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1: Fabrika ve ofisin havasında mikroorganizmaların dağılımı

Mikroorganizmanın adı	Koloni sayısı	
	Fabrika	Ofis
Micrococcus sp.	10	8
Corynebacterium sp.	7	6
Staphylococcus aureus	1	-
Staphylococcus epidermidis	2	1
Staphylococcus saprofiticus	3	1
Streptococcus viridans	3	2
Nocardia sp.	3	2
Bacillus sp.	2	3
Chrysosporium sp.	3	2
Penicillium sp.	2	3
Cephalosporidium sp.	2	1
Trichoderma sp.	1	2
Fonsecaea	1	-
Candida albicans	1	1

Bakterilerin tümü Gram pozitif olup Gram negatif bakterilere ait koloni tespit edilememiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda fabrikadan alınan hava örneğinde $8x10^3$ cfu/m^3, ofisten alınan örnekte ise $6x10^3$ cfu/m^3 bakteri

saptanmıştır. Mantar kolonileri incelendiğinde fabrikadan alınan hava örneğinde $2x10^3$ cfu/m^3, ofisten alınan örnekte ise $1.8x10^3$cfu/m^3 mantar varlığı saptanmıştır.

TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan çalışmalarla organik tozların akciğer hastalıkları ve belli genel semptomlara sanıldığından çok daha fazla yol açtıkları saptanmıştır. Semptomlar pulmoner hücresel reaksiyonlardan, özellikle inflamasyondan kaynaklanmaktadır (2). Organik tozlar arasında bakteri ve metabolitleri (endotoksin), fungi ve metabolitleri (glukan) da sayılmaktadır (1). İnsan ve hayvan deneylerine göre bakteriyel endotoksin çok düşük dozlarda bile pulmoner inflamasyon başlatabilmektedir (2). Fungal sporlar ise çiftçi akciğeri gibi allerjik olaylardan sorumlu olabilmektedir (2,8).

Bizim çalışmamızda fabrikanın içinden alınan örnekte $8x10^3$ cfu/m^3 Gram pozitif bakteri saptanmıştır. Bakterilerin dağılımı sıklık sırasıyla mikrokok, *Corynebacterium, Staphylococcus sp, Streptococcus viridans, Nocardia ve Bacillus sp.* şeklindedir. Kontrol amacıyla ofisten alınan hava örneğinde ise $6x10^3$ cfu/m^3 Gram pozitif bakteri üremiş olup tür dağılımı benzerdir. Afyon Çay seluloz fabrikasında diğer organik tozlar oldukça yüksek oranda olmakla birlikte bakterilerden oluşan organik tozlar yüksek bulunmamış, ofisten alınan kontrol örneğiyle çok yakın sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu bulgular Zejda ve arkadaşlarının (1) çiftliklerde yaptıkları çalışmaların kontrol örnekleriyle uyumludur.

Mantar kolonileri incelendiğinde ise fabrikadan alınan örneklerde üreyen koloni sayısı $2x10^3$ cfu/m^3 olup ofis kısmında $1.8x10^3$ cfu/m^3 üreme gözlenmiştir. Mantarlarla ilgili veriler de yine organik tozlar arasında mantarların yüksek oranda bulunmadığını göstermektedir. Zejda ve arkadaşlarının (1) çalışmasında ise şehirde airborne spor konsantrasyonu 10^2 cfu/m^3 şeklinde olup bizim çalışmamızdan biraz daha düşüktür (1).

Kaliforniya'da yapılmış olan bir çalışmada havada bulunan bakteri ve fungus konsantrasyonları saptanmıştır. Bu çalışma iki yıl boyunca yeni bir apartman dairesinde yapılmış olup bakteriler için koloni sayısı 96 cfu/m^3, mantarlar için ise 198 cfu/m^3 bulunmuştur (9). Bu konsantrasyonlar bizim çalışmamızın verileri ile uyumludur.

Kodama ve arkadaşlarının (10) yapmış olduğu bir başka çalışmada ise merkezi havalandırma sistemi ile doğal olarak havalandırılan evlerden ve bu evlerin yakınından açık havadan örnekler alınmıştır. Örnekler mantar açısından incelendiğinde koloni sayısı10^3cfu /m^3, bakteriler açısından incelendiğinde ise10^2 cfu/m^3 bulunmuştur. Bu bulgularda bizim çalışmamızın verileri ile uyumludur.

Bu çalışmada saptanan mikroorganizmalar doğada yaygın bulunan bakteri ve mantar türleridir. Koloni sayısı olarak da normal sınırlarda bulunmaktadır. Benzer çalışmaların mevsimsel değişiklikleri de göz önünde tutarak yılın belirli dönemlerinde tekrarlamalarının yararlı olacağına inanıyoruz.

KAYNAKLAR

1-Zejda J E,Dosman J A. Respiratory Disorders in agriculture. Tubercle and Lung Disease 1993;74:74-86.
2-Rylander R. Diseases associated with exposure to plant dusts: focus on cotton dust. Tubercle and Lung Disease 1992;73:21-26.
3-Bötsch Hubert. Hygiene control a growing challenge. Biotest International Distributor Meeting 1989.24-25.
4-Baron E J, Peterson L R, Finegold S M. Bailey's and Scott's Diagnostic Microbiology.9th ed. Mosby-Year Book,Inc.1994.
5-Koneman E W, Allen S D, Janda W M, Schreckenberger P C, Winn W C Jr. Color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology.5th ed. Lippincott-Raven Publishers.1997.

6-Campbell M, Stewart L J. The Medical Mycology Handbook. John Wiley and sons New York Chichester Bristone Toronto,1992.
7-Larone D H. Medically important fungi a guide to identification. 2nd ed. American Society for Microbiology.1993.
8-Sapan N, Gedikoğlu S, Tunalı Ş.Bursa ilinde eviçi mantar florası. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1991;21(1):73-78.
9-MacherJ M, Huang F Y: A two year study of microbiological indoor air quality in a new apartment. Archieves of environmental health. Jan/feb.1991;46:1;25-29.
10-Kodama A M, McGee R I. Airborne microbial contaminants in indoor environments. Naturally ventilated and air conditioned homes. Archives of environmental health. Sep/oct.1986;41;5;306-311.

ARAŞTIRMA

Cilt 56, No 2, S : 91 - 95
Türk Hij Den Biol Derg 1999

ULTRASTRUCTURAL EFFECTS OF X- IRRADIATION ON SPERMATOGENESIS IN RATS

Yusuf KALENDER[1] Suna KALENDER[2] Hakkı TAŞTAN[2]

SUMMARY

In this study, ultrastructure of both spermatogenic and Sertoli cells of mature rat testes 10 days after an exposure of 9 Gy of X rays were studied by transmission electron microscopy. A considerable swelling in spermatogonium and disruptions in its nucleoplasm structure were detected. Besides, there was an increase in the number of lysosomal bodies in the cytoplasm of spermatogonium cells. Lysis of cytoplasm of primer spermatocytes and large number of vacuoles were also observed. There was a considerable decrease in the number of sperm cells and an apparent defect occurred in their morphology. As far as cytoplasm of Sertoli cells are concerned, there were also an increase in the number of lysosomes and noticeable swellings in cristae of some mitochondria.

Key Words: X-irradiation, spermatogenesis, Sertoli cells, electron microscopy

FARELERDEKİ SPERMATOGENEZ ÜZERİNE X IŞINLARININ ULTRASTRÜKTÜREL ETKİSİ

ÖZET

Bu çalışmada, olgun fare testislerine 9 Gy X ışını verildikten 10 gün sonra spermatojenik hücrelerin ve Sertoli hücrelerinin ince yapısı transmisyon elektron mikroskobu ile incelendi. Spermatogonyumlarda şişme ve bu hücrelerin nükleoplazmalarında bozulmalar tespit edildi. Aynı zamanda bu hücrelerin sitoplazmasında lizozomal cisimciklerin yapısında bir artış belirlendi. Primer spermatositlerin sitoplazmasında erimeler ve büyük vakuoller gözlendi. Sperm hücrelerinin sayısında belirgin bir azalma ve morfolojilerinde bozulmalar meydana geldi. Sertoli hücrelerinin sitoplazmasındaki lizozomların sayısında artış ve bazı mitokondrilerin kristalarında şişmeler tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: X-ışını, spermatogenez, Sertoli hücreleri, elektron mikroskobu

INTRODUCTION

The irradiation testis of the adult animal has been often used to study germ cell radiosensitivity (t-3) and spermatogonial renewal and differentiation (4-6). Spermatogonia are known to be the most radiosensitive cells in the testis, but if the radiation dose is higher, more differentiated cells can also be destroyed (t, 7). Although the number of Sertoli cells remains unchanged following irradiation, reports on their function are contradictory (8-t t).

The purpose of this study is to examine the ultrastructural changes in seminiferous tubules of rat testes ten days after a single dose of 9 Gy of X-rays.

MATERIAL AND METHODS

Animals and irradiation procedure

The experiments were performed using mature (t0-t2 weeks-old) male Wistar rats. The animals were supplied with standard food and tap water ad libitum. Control and irradiated animals

[1]Gazi University, Faculty of Arts and Science, Department of Biology, Ankara
[2]Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara
Geliş tarihi 14.12.1999 Kabul ediliş tarihi 28.12.1999
Correspondence to: Dr. Yusuf KALENDER, Gazi University, Faculty of Arts and Science, Department of Biology, 06100 Ankara - TURKEY

were kept under controlled temperature and lighting conditions (12h dark,12h light).

Fifteen minutes prior to irradiation, each rat was anesthetized with an intraperitoneal injection of pentobarbital (30 mg/kg) and it resulted in a moderate anesthesia and relaxation.

The animals were then placed in posterior recumbent. All legs and tail were firmly fixed by surgical tape on plastic plate. Radiographic pictures of animals from pilot group prepared in this way showed that whole testes and a portion of pelvic girdle were included within the field of irradiation. In every case the testes were exactly situated in the field of irradiation. An anterior radiation field (6x6 cm) was centered over the testi-cular area. The X-ray source to midtesticular distance was 100 cm. Testes were irradiated with 6 MV X-rays using a Philips SL 25 Linear Accelerator unit at a dose rate of 400 cGy/minute. All rats in experimental group (n:12) received a single exposure of 9 Gy X-radiation for three minutes. We obtained testes from experimental groups ten days after a single exposure of 9 Gy X-radiation to the rats. Control animals (n: 12) were sham-irradiated i.e., they were subjected to the identical manipulation procedure without the irradiation. Animals were then returned to their individual cage following irradiation and allowed to recover from anesthetics in a quiet, darkened environment.

Preparation of tissue samples

For electron microscopic examinations of tissues, primer fixation was made in 3% glutaraldehyde in sodium phosphate buffer (200 mM, pH 7.4) for 3 hr at 4°C. Materials were washed with same buffer and postfixed in 1% osmium tetroxide and in sodium phosphate buffer pH 7.4 for 1hr at 4°C. Tissue samples were washed with same buffer for 3 hours at 4°C, and dehydrated in a graded ethanol and embedded in Araldite. Thin sections were cut with Reichert OM U3 ultramicrotome. Samples were stained with 2% uranyl acetate and lead citrate. After that, the sections were viewed and photographed on a Jeol 100 CX II transmission electron microscope (TEM) at 80 kV.

RESULTS

The spermatogonia in the testes of control group were found to be in close association with basal lamina. In the cytoplasm of these cells, mitochondria and endoplasmic reticulum were noticeable (Figure 1a).

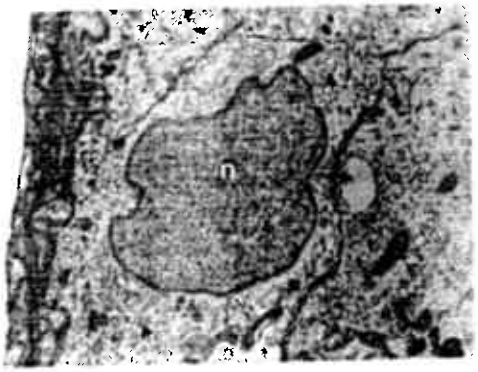


Figure 1a. Electron micrograph of the spermatogonium in testes of control group. The Junctional complexes (thic arrows) between Sertoli cells (S). n: nucleus. mitochondria (thin arrows), endoplasmic reticulum (arrow head) . X10000.

The junction between plasma membrane of spermatogonia and that of Sertoli cells was seen to be formed frequently (Figure 1a).

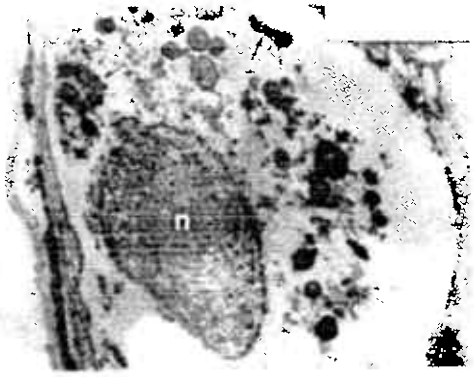


Figure 1b. Swelling of spermatogonium after 10 days exposure to 9 Gy X irradiation. n: nucleus, lysosomes (thick arrows), mitochondria (thin arrows). X10000.

The spermatogonia of rat testes were found to be swelled following exposure to X-rays. The nucleoplasm of these cells were seen to be defected, and their cytoplasm were found to lost their homogenous formation and found to be melted. The endoplasmic reticulum that were apparently seen in the cytoplasm of the control group was seen to be lost completely in these cells of rats exposed to X rays. Besides, there was a considerable increase in the number of lysosomes (Figure 1b). When spermatocytes of rat testes exposed to X rays were compared with that of control group a number of vacuoles with various size was noticed to be formed in the cytoplasm of cells exposed to X rays (Figure 2a, 2b).

Figure 2a. Electron micrograph of the sperpmatocyte in testes of control group. n: nucleus. X10000.

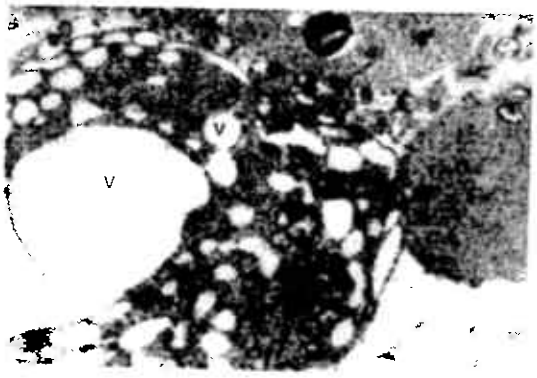


Figure 2b. Large number of vacuoles in spermatocyte cell after 10 days exposure to 9 Gy X irradiation. v: vacuole, f:fibrils. X12500.

As far as sperms in the testes of rats exposed to X rays are concerned; their size were found to be larger as compared to that of control group (Figure 3a). Besides a significant morphological changes especially in the head and tail were seen to be formed (Figure 3b).

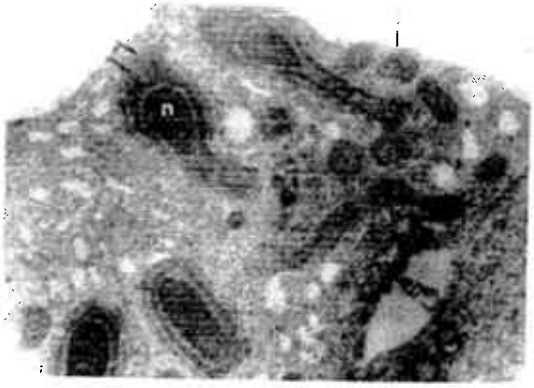


Figure 3a. Electron micrograph of the sperm in testes of control group. n: nucleus. acrosome (arrow). X17000.

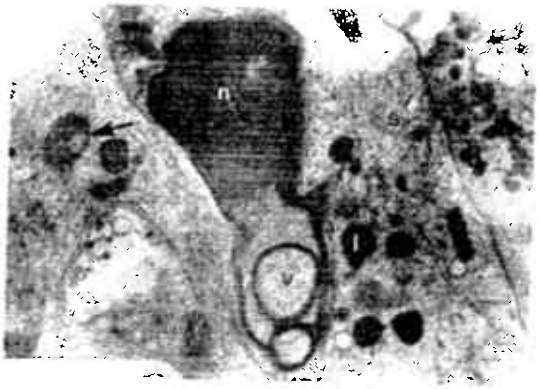


Figure 3b. Electron micrograph of morphologically abnormal sperm following 10 days exposure to 9 Gy X irradiation. S: Sertoli cell, n: nucleus, v: vacuole surrounded by membrane, mitochondria with a swelled cristae (arrow), l: lyossome. X13000.

Such types of sperms were common throughout this study. In addition, the increase in the number of lysosome and swelling in the cristae of mitochondria were observed in the cytoplasm of Sertoli cells of the rat testes exposed

to X rays (Figure 3b). Besides, in the studies done by light microscope a remarkable decrease in the number of spermatogenic cells of rat testes exposed to X rays was noticed.

DISCUSSION

There are a lot of studies on the effects of irradiation on the testes. Most of these studies are physiological, biochemical or histopathological (12-15). Researches have found similar results in most of studies and shown that the pathologic effects have changed due to the dose applied. In this study of ours apparent defects have been observed in all of the cells in the testes.

10 days after exposure to 9 Gy X rays, a decrease in the number of spermatogenic cells was seen when the testes of rats were analyzed by both light and electron microscope. This indicates that spermatogenic cells lost their ability to divide meiosis. The results are in harmony with the results of previous studies (1, 7). Pinon-Lataillade et al., (16) examined histological structure of testes from 7 to 180 days after an acute exposure of rats to 9 Gy of gamma rays. Researchers detected an apparent decrease in the number of the spermatogenic cells in the seminiferous tubules. In addition, they reported that the spermatogenic cells lost their meiosis division ability. With reference to this finding, they also stated that DNA was damaged. In our histological studies, an apparent decrease was also observed in the number of the spermatogenic cells and even no spermatogenic cells were observed in some seminiferous tubules.

Radiation damage to the seminiferous epithelium is usually accompanied by an increase in serum concentrations of FSH. This was again a feature of the present study where the increases seen are consistent with previous reports (9, 17, 18). The mammalian testis is not only responsible for the production of spermatozoa but is also an important endocrine organ, being the major source of the androgenic steroids in man. LH stimulates the testicular Leydig cells to secrete testosterone that is required for maintaining spermatogenesis and associated sexual functions. Previous studies have indicated damage to the Leydig cell population following single doses of radiation, either as a decrease in serum testosterone (19) or more usually as a compensatory increase in serum LH (9, 10, 17, 18).

Schlappack et al., (20) exposed rats to 5.5 and 9 Gy gamma rays. Having compared testes, seminal vesicle, epididymal and ventral prostate with those in the control group, the researchers detected apparent differences. In this study we didn't measure weights, but observed lysis in the testes. The fact that the spermatogenic cells significantly decreased in the seminiferous tubules has similarity to the other studies. In our electron microscope findings, the effect of the X-ray on the testes were clearly observed. After the exposure of X-rays few spermatozoa were observed in the seminiferous tubules. In this group, we detected the sperms with morphological defects. Generally, either the tails or the acrosomes of these sperms revealed a defected.

ACKNOWLEDGEMENT

We gratefully acknowledge Dr. Serdar Yardımcı (Department of Physiology, Faculty of Medicine, Ankara University) and Dr. Mustafa Cengiz (Department of Radiation Oncology, Faculty of Medicine, Hacettepe University).

REFERENCES

1-Oakberg EF, Di Minno RL. X-ray sensitivity of primary spermatocytes of the mouse. Int J Radiat Biol 1960; 2 196-209.

2-Erickson BH. Effect of ^{60}Co gamma radiation on the stem and differentiating spermatogonia of the postpuberal rat. Radiat Res 1976; 68, 433-448.

3-Van Beek MEAB, Davis JAG, de Rooij DG. Non random distribution of mouse spermatogonial stem cells surviving fission neutron irradiation. Radiat Res 1986; 107, 111-23.
4-Huckins C. Behavior of stem cell spermatogonia in the adult rat irradiated testis. Biol Reprod 1978; 19, 747-760.
5-Huckins C, Oakberg EF. Morphological and quantitative analysis of spermatogonia in mouse testes using whole mounted seminiferous tubules. II. The irradiated testes. Anat Rec 1978; 192, 529-542.
6-Meistrich ML, Hunter NR, Suzuki N, Trostle PK, Withers HR. Gradual regeneration of mouse testicular stem cells after exposure to ionizing radiation. Radiat Res 1978; 74, 340-362.
7-Shaver SL. X-irradiation injury and repair in the germinal epithelium of male rats. Am J Anat. 1953; 92, 391-431.
8.Cunningham GR, Huckins C. Serum FSH, LH and testosterone in 60Co gamma irradiated male rats. Radiat Res 1978; 76, 331-338.
9-Hopkinson CRN, Dullisch B, Gauss G, Hitscher W, Hirschhäuser C. The effect of focal testicular irradiation on testicular histology and plasma hormone levels in the male rat. Acta Endocrinol 1978; 87, 413-423.
10-Wang J, Galil KAA, Setchell BP. Changes in testicular blood flow and testosterone production during aspermatogenesis after irradiation. J Endocrinol 1983; 98, 35-46.
11-Pineau C, Velez de la Calle JF, Pinon-Lataillade G, Jégou B. Assessment of testicular function after acute (neutron + gamma) and chronic (gamma) irradiation: further evidence for an influence of late spermatids upon Sertoli cell function in the adult rat. Endocrinology 1989; 124, 2720-2728.
12-Paranich AV, Pocherniaeva VF, Dubinskaia GM, et al. Effect of supposed radioprotectors on oxidation-reduction of vitamin E in the tissues of irradiated rats. Radiats Biol Radioecol 1993; 33, 653-657.
13-Vergouwen RP, Huiskamp R, Bas RJ. Radiosensitivity of testicular cells in the fetal mouse. Radiat Res 1995; 141, 66-73.
14-Ban Y, Komatsu T, Kemi M, et al. Testicular spermatid and epididymal sperm head counts as an indicator for reproductive toxicity in rats. Vikken-Dobutsu 1995; 44, 15-22.
15-Verhoeven G, Deboel L, Swinnen J, et al. Effect of androgens on the germ cell-depleted testes of prenatally irradiated rats. Int J Androl 1995; 18, 23-34.
16-Pinon-Lataillade G, Viguier-Martinez MC, Touzalin AM, Maas J, Jégou B. Effect of an acute exposure of rat testes to gamma rays on germ cells and on Sertoli and Leydig cell function. Reprod Nutr Dev 1991; 31, 617-629.
17-Bain J, Keene J. Further evidence for inhibin; changes in serum LH and FSH levels after X-irradiation of rat testes. J Endocrinol 1975; 66, 279-280.
18-Delic JI, Hendry JH, Morris ID, Shalet SM. Dose and time relationships in the endocrine response of the irradiated adult rat testis. J Androl 1986; 7, 324-41.
19-Delic JI, Stanley JA, Harwood JR. Testicular function in adult rats treated with alkylating agent chlorambucil. Arch Androl 1986; 17, 167-174.
20-Schlappack OK, Delic JI, Harwood JR, Stanley JA. Attempted protection of spermatogenesis from single doses of gamma-irradiation in the androgen pretreated rat. Arch Androl 1987; 19, 269-274.

Cilt 56, No 2, S. 97
Turk Hij Den Biol Derg 1999

DÜNYA LİTERATÜRLERİNDEN ÖZETLER / FOREIGN ABSTRACTS

BAŞLIK : **DNA** vaccine for **HCV protects** against infection in a mouse model
YAZAR ADI: **Berzofski JA**, et al.
DERGİ ADI : **Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97: 297-302**

FARE MODELİNDE DNA AŞISI HCV'YE KARŞI KORUMA SAĞLIYOR

İnsan MHC Class I geni taşıyan transjenik fareler Hepatit C virusu 'core' proteini kodlayan bir DNA plazmidi ile bağışıklandıktan sonra, HCV 'core' proteini eksprese eden rekombinant bir vaccinia virusu enfeksiyonuna karşı en az on dört ay süreyle korunabilmişlerdir.

Hepatit C virusunun doku kültüründe üremesi zayıftır ve olağan koşullarda fareleri enfekte etmez. Bu nedenle aşı çalışmaları genellikle primatlar üzerinde yapılmaktadır. A.B.D. Bethesda-Maryland'da bulunan Ulusal Sağlık Enstitüsü'den Dr. Jay A. Berzofski ve ark. aşı çalışmaları yapmak üzere bir hayvan modeli oluşturmak amacıyla insan HLA-A2.1 aleli taşıyan farelere, HCV nükleokapsid veya 'core' geni taşıyan bir plazmid enjekte etmişlerdir.

Fareler, kontrol plazmidi enjekte edilen farelerin aksine, immünizasyondan sonra en az 14 ay süreyle HLA-A 2,1 ile sunulan HCV 'core' peptidine özgül sitotoksik hücre yanıtı oluşturmuşlardır ve hedef hücre lizisine yol açmışlardır. CD8 veya HLA-A2.1 (CD4 değil) antikorlarının eklenmesi sitotoksik T hücre aktivitesini ciddi şekilde azaltmıştır.

Bu yaklaşımın koruyucu potansiyelini değerlendirmek amacıyla, araştırmacılar fareleri DNA aşısıyla aşılamayı takiben iki, altı ve 14. aylarda HCV 'core' proteini ekspresyonu yapan bir vaccinia virusu ile enfekte etmişlerdir. Bağışıklamadan sonra ikinci ayda virusla enfekte edilen farelerde, kontrollere kıyasla, virus titresinde 6-12 log'luk bir azalma olduğu saptanmıştır. Virus titresindeki azalma, altıncı ayda 7 log, 14. ayda 5 log düzeyinde olmuştur. Tüm çalışma grubu farelerinde, anti-CD8 antikorlarının eklenmesi bu korumayı bloke etmiştir.

Farelerde alınan yanıta karşın, insanlarda bu uygulamanın aynı sonucu getireceği tartışmalıdır. Ancak çarpıcı ve uzun süreli bir yanıtın alınması cesaret vericidir.

Bu çalışmanın önemli kısıtlamalarından biri farelerin hala kendi majör doku uygunluğu antijenlerine sahip olmalarıdır. Bu durumda farelerin kendi (MHC) moleküllerini kullanabileceği olasılığı vardır ve bunlar aşının koruyucu etkisinde rol oynayabilir. Ancak, sadece insan majör doku uygunluğu antijenlerini taşıyan, kendi antijenlerinden yoksun fareler de üretilmiştir ve benzer çalışma bu tür farelerle sürdürülmektedir.

Çeviri: Uzm.Dr. Tülay **YALÇINKAYA**

Cilt 56 No 3 S 98
Türk Hij Den Biol Derg 1999

Başlık Adı: Selenium and viral virulence
Yazar Adı : Levander OA, Beck MA
Dergi Adı : British Medical Bulletin 1999; 55: 528 - 533

Selenyum ve Viral Virulans

Makaleye konu olan çalışmada, 'coxsackie virüs' kaynaklı miyokardit fare modeli, viral virulansın nutrisyonel determinantların araştırılması amacıyla kullanılmıştır.

Keshan hastalığı, doğurgan yaştaki kadınlarla çocukları etkileyen, selenyum tedavisine cevap veren, kardiyomiyopati ile karakterize bir hastalıktır. Çin'de daha önce yapılan bir çalışmada, Keshan hastalığının sık görüldüğü bir bölgeden hazırlanan; selenyum içeriği düşük diyetle beslenen farelerde, coxsackie virusuyla enfekte edildiklerinde (aynı diyetle uygulanıp da özefagal entübasyonla ek selenyum verilen farelere oranla), daha yaygın kalp hasarının çıktığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada ise, benzer diyetle beslenen farelerin virulan bir coxsackie virus B3 suşuyla (CVB3/20) enfeksiyonu virusun daha virulan bir hale gelmesine yol açmıştır. Ayrıca, non-virulan bir suş (CVB3/0), enfeksiyon sırasında virulans kazanmıştır. CVB3/0 virusunun virulansındaki dönüşüme eşlik eden genomundaki değişiklik, suşu virulan virus CVB3/20'ye daha yakın hale getirmektedir.

Bilindiği kadarıyla bu rapor, enfeksiyon etkeni bir virusun konağın beslenme durumuna bağlı olarak genetik değişim gösterdiğine dair bildirilen ilk rapordur. Böylece, beslenme uzmanlarının, diyet-enfeksiyon ilişkisinin daha iyi anlaşılması için, artmış viral virulanstaki bu mekanizmayı göz önünde bulundurmaları gerekebilir.

Çeviri: Uzm. Dr. Metin ÖZSOY

Cilt 56, No 2, S 99
Türk Hij Den Biol Derg 1999

BAŞLIK : Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite
YAZAR ADI: Huque J, Kota K, Yamaga M, Iwaku M, Hoshino E
DERGİ ADI : International Endodontic Journal 1998; 31: 242 - 250

SODYUM HİPOKLORİTLİ ULTRASONİK İRRİGASYON YOLUYLA KÖK DENTİNİNDEN BAKTERİLERİN ERADİKASYONU

Bu inceleme çekilmiş insan dişi kullanarak kök dentininin yüzey, sığ ve derin tabakalarından bakteriyi temizlemede izlenilen intrakanal irrigasyon prosüdürlerini değerlendirmeyi hedeflemektedir.Yapay bakteri yayma tabakası, kök kanal duvarlarında dental plak ve yapay olarak dekalsifikye olmuş denin veya çürük dentin karışımının birleştirilmesiyle başarılı bir şekilde üretilir.Rezervuar deliği, 3.5 mm derinliğinde, 1 mm çapında ve beş bakteri türünün bulunduğu (*Actinomyces israelii, Fusobacterium nucleatum, Propionibakterium acnes, Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sanguis*) kaplaması çıkarılan plakalar üzerindeki kok kanallarının 1.5 mm uzağına ve paraleline gelecek şekilde hazırlanır.

Hazırlanan kanalların irrigasyonundan sonra bakteriyal eradikasyon, bakterilerin temizlenmesi :

i) Bakterilerin yapay olarak yayıldığı kök kanal yüzeyleri ve sığ tabakayla,

ii) Kök kanal rezervuar deliklerinin daha derin tabakaları yoluyla temizlenmesi ile belirlenir.

Sonuç olarak, %12 NaOCl'li şırıngalı irrigasyon yeterli değilken, %5.5 ve %12 NaOCl'le yapılan ultrasonik irrigasyon, yapay yayma tabakasından bakteriyi arındırmıştır. Su veya %15 EDTA içeren ultrasonik irrigasyon bakteriye yayılmış yüzeylerden arındırmakta yetersiz kalmıştır. *F. nucleatum* örneğinde, 12 örnekten beşinde çok az sayıda bakteri bulunmasına rağmen, %12 NaOCl'li ultrasonik irrigasyon, rezervuar kanallarına yerleştirilen *A. İsraelii, F. Nucleatum, P. Acnes, S. Mutans ve S. Sanguis*'i öldürmüştür. Daha az konsantre NaOCl'li ultrasonik irrigasyon,birçok numunede rezervuar kanallarından tamamen temizlenememiştir. %12'li ultrasonik irrigasyon, kök dentinin yüzey, sığ ve derin tabakalarından bakteriyi etkin bir şekilde temizlemiş gibi görünmektedir.

Çeviri: Doç. Dr. Nilgün AYHAN

Cilt 56, No 2, S : 100
Turk Hij Den Biol Derg 1999

BAŞLIK : Hepatitis viruses A,B,C,D,E ve G and G: implications for dental personnel
YAZAR ADI: Gillcrist J A
DERGİ ADI : JADA 1999; 130: 509 - 520

A,B,C,D,E VE G HEPATİT VİRUSLARI : DENTAL PERSONEL İÇİN BİLGİLER

Bu makalede, dental personele viral hepatit türleri ve bunların epidemiyolojileri, klinik özellikleri, korunma yolları ve tedavileri ile ilgili özet bir taslak hazırlanmıştır.

Viral Hepatit en az altı ayrı virusun sebep olduğu karaciğer enflamasyonudur. Hepatit A ve E virusları (HAV ve HEV) sadece akut hastalıklara neden olan ve bağırsaklar yoluyla geçen viruslardır. Hepatit B, C ve D virusları (HBV, HCV ve HDV) daha çok enfeksiyonlu kan yoluyla geçer; ancak diğer enfeksiyonlu vücut sıvıları yoluyla da geçebilir. Bu üç virus akut veya kronik hepatite neden olabilir. Kronik viral hepatitli kişilerde kronik karaciğer hastalığı, siroz ve karaciğer hücrelerinde karsinoma görülebilir. Hepatit G virusu yakın zamanda teşhis edilmiştir, klinik olarak akut veya kronik hepatite sebep olup olmadığı henüz bilinmemektedir.

Diş sağlığı çalışanları (DHCW) özellikle HBV, HCV ve HDV'ye önem vermelidirler. Çünkü bu patojenlere mesleki olarak maruz kalmaları sonucunda akut veya kronik enfeksiyonlara yakalanabilirler. Aşılar ve bağışık globülinler HAV, HBV ve HDV enfeksiyonlarına karşı korunmada etkilidirler, ancak HCV'ye karşı etkili değildirler.

Diş sağlığı çalışanları viral hepatit konusunda bilgilendirilmeli ve Hepatit B'ye karşı aşılanmalıdırlar. Enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması, hepatit viruslarını da içeren tüm kan kaynaklı patojenleri mesleki yollarla geçişini önlemeye yardımcı olacaktır.

Son 33 yıldır viral hepatite yol açan altı ayrı virus teşhis edilmiştir. Bunlar: A, B, C, D, E ve G viruslarıdır. 1982'den 1995'e kadar ABD'deki akut viral hepatit vaka raporları incelendiğinde bunların %48'ine Hepatit A'nın (HAV), %34'üne Hepatit B'nin (HBV), %15'ine Hepatit C'nin (HCV), %3'üne ise A ve E'ye kadar olan viruslardan farklı bir virusun neden olduğu görülmektedir. Ayrıca, bilinen virusların serolojik belirtilerini taşımayan, ancak akut viral hepatitin ortak semptomlarını geçiren hastalar da vardır; bu da henüz keşfedilmemiş virus ya da virusların olduğunu göstermektedir.

Diş sağlığı çalışanlarının hepatit viruslarına karşı dikkatli olmalarını gerektiren dört önemli neden vardır:

-Viruslar dünya çapında yaygındır;

-Virusların çoğu önemli oranda morbidite ve mortaliteye sahiptir;

-Kandan üreyen virus türlerinin mesleki koşullarla bulaşması dişle ilgili alanlarda kolaylıkla oluşabilir;

-İmmünoprofilaksi, yaşam şartlarının modifikasyonu ve enfeksiyon kontrolü gibi bazı özel korunma önlemleri hastalıkların tedavisinde yardımcı olabilir.

Çeviri: **Doç. Dr. Nilgün AYHAN**

Cilt 56, No 2, S 101
Türk Hij Den Biol Derg 1999

BAŞLIK : Sonic and mechanical toothbrushes
YAZAR ADI: MacNell S, Walter DM, Dey A, Glaros AG, Cobb CM
DERGİ ADI : J Clin Periodontol 1998; 25: 988 - 993

SONİK VE MEKANİK DİŞ FIRÇALARI

Bu çalışmanın amacı mekanik ve sonik diş fırçalarının *Actinomyces viscosus*'un viabilitesi üzerinde in vitro etkilerinin karşılaştırılmıştır. Agresif mekanik absiyon veya sonik enerji sonucunda ortaya çıkan tamiri imkansız mikrobiyal tahribatın başlangıcı başarılı kolonizasyon prosesini önleyebildiği veyı bozabildiği rasyonel olgusunu incelemektir. *A. viscosis* kültürleri standardize ootik bir dansiteye göre üretilmiştir ve her bir yıpı örnekten oluşan üç tedavi grubuna bölünmüştür. Tedavi grubları 15,30,45 ve 60 saniye süre ile mekanik yada sonik diş fırcasının uygulandığı bir tedavi edilmiş kontrol grubundan oluşmuştur.Bildirilen tedavidan sonra plaktan alınan örnek subkültüre edilmiş ve cfu sayıları tayin edilmiştir. Negatif boyama ve elektron mikroskopi ile inceleme için ilave örnekler alınmıştır. Her tedavi intervalinde her bir tedavi grubunun ortalama cfu sayıları ANOVA ve multiple pairwise kıyaslamalarla istatiksel olarak analiz edilmiştir. Sonuclar diş fırçaları ($p<0.0001$) ve uygulama süresi ($p<0,0001$) için anlamlı bir etki tatbik süresinin interaksiyonu ($p<0.055$) için sadece marjinal bir anlam göstermiştir.Post hoch testler, tedavi edilmemis kontrol ve mekanik diş fırçaları için önemli derecede daha büyük sayıda cfu'lar göstermiştir. Elektron mikroskopik inceleme sonik diş fırçası grubunda agregrasyon eğiliminde bir azalma ve fimbrianın kaybı olduğu ortaya çıkmıştır. Hücre hasarı ve kontrol grubu üzerinde cfu'ların artışını belirten morfolojik delillerin yokluğuna dayanarak ne mekanik ne de sonik diş fırçaları hücre viabilitesini etkilememektedir.

Çeviri: Doç. Dr. Nilgün AYHAN

KONGRE VE SEMPOZYUM DUYURULARI

1-4 Eylüt 1999
VI.Ulusal Halk Sağlığı Günleri: Türkiye'de 2000'e Doğru Bulaşıcı Hastalıklar Sorunu ,Malatya
Başvuru: Malatya Cem Tour,Nasuhi Cad,Galeria İş Merkezi K.1 No.11, Malatya

3-8 Eklm l999
9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya.
Başvuru: Prof. Dr. Hasan Çolak, Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı , 26040 Eskişehir
İnternet: www.ogu.edu. tr/ Klimik 99

October 6-8, 1999
Safety and Health in 1he Construction Industry in Ihe 21st Century. Vienna, Austria. Secretariat of the Symposium, Office for International Relations and Conferences of AUVA, Adalbert Stifter-Strasse 65, A-1200 Vienna, Austria
Tel: 43 1-33111-537; Fax: 431-33111-469

13-16 Eklm l999
15. Ulusal İmmünoloji Kongresi, Antalya
Başvuru: Prof. Dr. Olcay Yeğin, Akdeniz Üniversites, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya

22-23 Kasım 1999
Seminar on "Food Safety and Nutrition Policy: developments in safety assesment and nulrition research"
Organised by
International Life Sciences Institute -ILSI Europe in Collaboration with UniveDepartment of Food Engine ering Hacettepe University -Department of Nutrition and Dletetics
Prof.Dr.Aziz Ekşi at the University of Ankara
Tel: 312 317 0550 Fax: 312 317 8711

5-9 Aralık l999
Third International Conference on Therapies for Viral Hepatitis, Maui, Hawaii, ABD
Başvuru: International Medical Press, 2989 Piedmont Road, Atlanta GA 30033005 USA

26-28 Ocak 2000
Fifth International Conference on the Macrolides, Azalides, Streptogramins, Ketolides and Oxazolidinones, İstanbul
Başvuru: ICMASKO V Secretariat, c/oWallace Communications, Inc., 56 East Andrews Drive, Suite 14, Atllanta, GA 30305. USA
İnternet: www.ICMAS-KO.org

12-15 Mart 2000
8Ih Biennial Conference on Antiinfective Agenls ad Chemotherapy (BICON). Munich
Başvuru: Futuramed Congress Organization, P.O. Box 83 03 58, D- 8t703 Munich Almanya
İnternet: www. fuluramed. de

24-27 Nlsan 2000
Kapadokya Birinci Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi
İletişim Adresi: Doç.Dr.Tanıl KOCAGÖZ
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 06100 Sıhhıye - Ankara
İş Tel: 0312 311 4752 Cep Tel: 0532 32t 17 84
Faks: 312 31t 52 50
E-posta: tk 05-a tr,nel. net. tr
Kongre Bürosu : Diasos Seyahat Turizm ve Tic. Ltd. Şti. Rabat sok. 27/3 Gaziosmanpaşa - Ankara - 06700
Tel: 312 447 17 44 (pbx) e-posta: Lergun adomi.net.tr

28-31 Mayıs 2000
10th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Stockholm, Sweden
Başvuru: Stockholm Convention Bureau, P.O.Box 6911, SE-102 39 Stockholm, Sweden
İnternet: www.slocon.se/eccmid

June 10-13, 2000
FEMS Symposium Laboratory Monitoring of viral Infections and Antiviral Resistance Detection Organized by the Federation ot European Microbiological SocietyThe Marmara Hotel İstanbul
Congress Secretenat: Prof.Dr. Gülden Yılmaz, M.D. Departmenl of Microbiology and Clinial Microbiology

İstanbul Faculty of Medicine Çapa 34390 İstanbul, Turkey
Phone : +90212 631 18
Fax: +90212 635 1186 +90212 635 25 82
E-mail:ercuyilmaz a Superonline com.

29 Haziran-1 Temmuz 2000
European Conference on Congenital Toxoplasmosis, Vienna-Avusturya
Başvuru:European Conference on Congenital Toxoplasmosis, c/o Laboratory of Parasitology, Statens Serum Institut, Artillerivej 5.DK-2300 Copenhagen S.Denmark

10-14 Eylül 2000
8th European Multicolloquium of Parasitologist (EMOP-8), Poznan, Polonya
Başvuru: Organising Commitee of EMOP-8 Department of Biology and Medical Parasitology, K.Marcinkowski University of Medical Sciences, Fredry Street 10, PL-61-701 Poznan, Poland.

TELİF HAKKI DEVRİ

REFİK SAYDAM HIFZISSIHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Biz aşağıda imzaları bulunan:
(Yazarların Adı):.....
.....
(Makale Adı):.....
.....

Biz aşağıda imzaları bulunan yazarlar, sunduğumuz makalenin orjinal olduğunu; herhangi bir başka dergiye yayınlanmak üzere verilmediğini; daha önce yayınlanmadığını; orjinal telif hakkı formu ile birlikte Yayın Kurulu Başkanlığı'na gönderildiğini bildiririz.

Makalenin telif hakkından feragat etmeyi kabul ederek sorumluluğu üstlenir ve imza ederiz.

Bu vesileyle makalenin telif hakkı THDBD'ne devredilmiştir ve Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi Yayın kurulu makalenin yayınlanabilmesi konusunda yetkili kılınmıştır. Bununla birlikte yazarların aşağıdaki hakları saklıdır.

NOT: Aşağıdaki bütün durumlarda makalenin Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'de yayınlandığına dair tam olarak referans verilmelidir.

1- Telif hakkı dışında kalan kalan patent v.b. bütün tescil edilmiş haklar;

2- Yazarın gelecekteki kitaplar ve dersler gibi çalışmalarında: Makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanmak hakkı; ve

3-Makaleyi satmamak koşulu ile kendi amaçları için çoğaltma hakkı.

Bütün yazarlar tarafından imzalanmak üzere:

İmza:.....Tarih:..... İmza:..... Tarih:.....

Açık Adı:..... Açık Adı:.....

İmza:.....Tarih:..... İmza:..... Tarih:.....

Açık Adı:..... Açık Adı:.....

İmza:.....Tarih:..... İmza:..... Tarih:.....

Açık Adı:..... Açık Adı:.....

Yazışma Adresi:.....
.....

Telefon:..... Fax:..... E-mail:.....

NOT: Lütfen formu doldurunuz, İmzalayınız ve aşağıdaki adrese metinle birlikte gönderiniz.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü
06100 Sıhhiye-ANKARA

Tel: (0 312) 433 70 01 Fax: (0 312) 433 70 00 E-mail: thbd @ saglik.gov.tr

COPYRIGHT RELEASE
REFİK SAYDAM HYGIENE CENTER
Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

The undersigned authors release Turkish Bulletin of Hygine and Experimental Biology concerning the manuscript entitled:
(Title of paper):.....
.....
By (authors names):.....
.....
upon its submission to the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. The undersigned authors warrant that the article is original, is not under consideration by another journal, has not been previously published or that if it has been published in whole or in part, any permission necessary to publish it in the above mentioned Bulletin has been obtained and provided to the togother with the original copyright notice. We sign for and accept responsibility for releasing this material.

Copyright to the above article is hereby transferred to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology effective acceptance for publication. However, the following rights are reserved by the authors:

Note: In all of the below cases, the article's publication by Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology must be appropriately stated as a complete reference.

1. All proprietary rights other than copyright, such as patent rights;

2. The right to use, free of charge, all or part of this article in future works of their own, such as books or lectures; and

3. The right to reproduce the article for their own purposes provided the copies are not offered for sale.

To be signed by all authors:

signature:..... date:..... signature:..... date:.....
printed name:..... printed name:.....

signature:..... date:..... signature:..... date:.....
printed name:..... printed name:.....

signature:..... date:..... signature:..... date:.....
printed name:..... printed name:.....

Correspondence address:.....
.....

Tel:..... Fax:..... E-mail:.....

Note: Please complete and sign this form and mail it to the below address with your manuscript.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü
06100 Sıhhiye-ANKARA

Tel: (0 312) 433 70 01 Fax: (0 312) 433 70 00 E-mail: thbd @ saglik.gov.tr