

T.C.  
Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı  
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi  
Başkanlığı

# **Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi**

Cilt: 45—No:2  
(1988)

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

**TÜRK HİJ.DEN.BİYOL.DERG.**  
Vol.:45—No:2  
(1988)

Alle planlaması ve Ana Çocuk Sağlığı Genel Müdürlüğü  
Matbaası — ANKARA

# **Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi**

*Sorumlu Yayın Yönetmeni:* Hematolog Dr.Özgül ATAKENT – BAŞKAN

*Teknik Yönetmen* Mehmet ÖZDEN  
Yayın ve Dokümantasyon Müdürü

Yayın Kurulu  
Editorial Board

Dr.Med. Vet.Mehmet BOZKURT  
Kim.Yük.Müh.Serpil ŞENELT  
Farm.Ecz.Tambay TAŞKIN  
Bak.Tülin TUNCER  
Bak.Çiğdem ARTUK  
Sağ.Eğt.Uz.Ruhi Selçuk TABAK

ISSUED BY  
PUBLIE PAR  
HERAUSGEGEBEN VOM

REFİK SAYDAM HIFZISSIHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI  
YAYIN VE DOKÜMANTASYON MÜDÜRLÜĞÜ  
ANKARA

*Mizanpaj* : Nevzat IŞIK  
*IBM Dizgi* : Nesrin AYABAKAN

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

## SAYIN YAZARLARA : YAYIN KURALLARI

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

Klinik araştırma ve gözlemler derginin çerçevesi dışındadır.

2- Yukarıdaki bilim dalları ile ilgili toplantıların gündem ve tutanakları tarih, isim ve yer belirlemek koşulu ile özet olarak yayımlanabilir.

3- Güncel bir konu üzerinde çeşitli görüşleri yansıtan derleme yazılar, kaynak göstermek koşulu ile kabul edilir. Tek makaleden yapılmış çeviri yazılar kabul edilmez. Başka yerlerde yayınlanmış yazılar dergiye alınmaz.

4- Dergiye yazıların makina ile yazılmış aslı ile okunaklı bir sureti gönderilmelidir. Yazılar beyaz kağıda ve sahifenin bir yüzüne iki makine satırı açıklık bırakılarak daktilo edilmeli sol tarafta 3, sağ tarafta 2 cm, altta 3 cm boşluk bırakılmalıdır. Paragraflar arasında üç makine satırı aralık olmalı, satır başları üç harf yeri kadar içerden başlamalıdır. Yazılar temiz bir Türkçe ile yazılmalı, yazı ve gramer hataları bulunmamalı, silintili ve üzerinden düzeltilmeli olmamalıdır. Tüm olarak 15 sahifeyi (bir sahife ortalama 200 kelime ) geçen yazılar kabul edilmez.

5- Dergide yayımlanan yazılar için 30 adet ücretsiz ayrı baskı verilir.

6- Fotoğraflar parlak kontrast kağıda basılmış ve arkaları numaralanmış olmalıdır. Şekil ve grafikler, siyah çini mürekkebi ile aydınlatılmış kağıda veya beyaz kağıda şablonla çizilmeli ve aynı şekilde numaralanmalıdır. Şekil, grafik ve fotoğraflar " Şekil 1,2,....." olarak sıraya konmalı, metin içinde yeri gelince bu sıraya göre belirlenmeli ve her şeklin altında, şekil numarası ve şekli açıklayan bir yazı bulunmalıdır. Metindeki tablolara da sıra numarası verilmeli ve hepsinin üstünde tabloyu açıklayan kısa bir başlık bulunmalıdır.

7- Dergiye verilecek orijinal yazılar şu sıra gözönünde tutularak düzenlenmelidir.

Özet ( ortalama 120 kelime), Giriş (Ortalama bir sayfa), materyal ve metodlar, bulgular, tartişma ve sonuç, yabancı dilde yazılmış bir özet, teşekkür, kaynaklar (ortalama 15 adet).

8-Yabancı dil olarak, İngilizce, Almanca veya Fransızca'dan birini veya birkaçını seçmekte yazar serbesttir. Bütün makale 15 daktilo sahifesinin içinde kalmak şartı ile, Türkçe metnin tamamı bir yabancı dilde tekrarlanabilir.

9- Makale başlıkları metne uygun kısa ve açık ifadedeli olmalıdır. Yazarın titri, ismi ve soyadı (soyadı büyük harflerle yazılacak) başlığın alt ve ortasına konur. Çalışmanın yapıldığı yer ismin altında belirtilir. Yazarlar birden fazla ise, isimleri yan yana yazılır. Çalışma yerleri farklı olduğu hallerde birinci sahifenin altında ayrı ayrı gösterilir.

10- Kaynaklar metnin içinde numaralanmalı ve bu sıra ile yazılmalıdır. Sıralama aşağıda olduğu gibidir.

Flexner, S. Nouguchi, H., Snake venom in relation to haemolysis, bacteriolysis and toxicity, J. Exper. Med., 6: 277 - 301, 1901.

Metinde konusundan söz edilmeyen yazarlar kaynak bölümüne konulmaz.

11- Dergide yayınlanması istenen yazılar bir dilekçe ile Merkez Başkanlığına gönderilir.

Başkanlık yayın kurulu gönderilen yazıların yayınlanıp yayınlanmaması konusundaki kararında serbesttir. Yayınlanmayan yazılar geri verilmez.

Yayın Kurulu şekle ait gerekli değişiklikler yapmaya yetkilidir.

Yazıların fikir ve kapsam sorumluluğu yazara aittir.

YAYIN KURULU

## I Ç İ N D E K İ L E R

- 1- Berdan AKALIN  
Ankara Balgat Çukurambar Bölgesinde Aşılı ve Aşısız Anti-  
kor Araştırması . . . . . 139
- 2- Ayşe BAYSAL  
Üniversite Öğrencilerinde Sigara İçimi ile, Plözma C Vi -  
tamini Düzeyi İlişkisi . . . . . 153
- 3- Ekrem YILMAZ, Hüseyin GÜN, Ömer KOCABEYOĞLU, Sabri GÜNGÖR  
İbrahim BAYDAR, Çakır GÜNEY: Kistik Hidatidoz Tanısında  
İmmünofloresan Yöntemin Değeri . . . . . 161
- 4- Pınar BULUT, Ü.Yaşar HEKİMOĞLU:  
Ülkemizdeki Halothan Preparatlarının Usp'de Öngörülen Ge-  
çirgenlik Testine Uygunluğunun Araştırılması . . . . . 173
- 5- Tulin TUNCER, Mine TUNAOĞLU  
Değişik Risk Gruplarında FTA-ABS İle Doğrulanmış Sifiliz  
Olguları . . . . . 179
- 6- Hüseyin GÜN, Ömer KOCABEYOĞLU, Ekrem YILMAZ, Sabri GÜNGÖR  
Gürol EMEKDAŞ : Yenidoğanlara ve Çocuklara Ait Gaitalarda  
Elisa Yöntemiyle Rotavirus Araştırması . . . . . 187
- 7- Mülkiye KASAP, Halil KASAP, M.Mihri MİMİOĞLU  
Çukurova Bölgesinde An.sacharovi'nin Üreme Mevsimi Popu -  
lasyon Yoğunluğunun Sıtmalı Oranı İle İlişkisi. . . . . 195
- 8- İbrahim BAYDAR, Şadi YENEN, Ekrem YILMAZ, Ömer KOCABEYOĞ-  
LU, Hüseyin GÜN, Sabri GÜNGÖR : 4930 Gaita Örneğinin Bar-  
sak Parazitleri Yönünden İncelenmesi . . . . . 201
- 9- Orhan N.YALÇINDAĞ  
Bozık Azot Atomu Taşıyan Bazı Organik İlaçların Mikrok -  
ristalloskopi ve Kimyevi İdentifikasyonları XIV . . . . . 209
- 10- Osman DEMİRHAN, Mülkiye KASAP, Halil KASAP, Davut ALPTE-  
KİN : Konakçı Çeşidinin An.sacharovi Favre'nin Yumurta  
Verimine Etkisi . . . . . 217
- 11- Sabri GÜNGÖR, Hüseyin GÜN, Ömer KOCABEYOĞLU, Ekrem YILMAZ  
Şadi YENEN, İbrahim BAYDAR : Hayat Kadınlarında Antisperm  
Antikor Sıklığı ve Fertilite Azalmasının Değerlendirilme-  
si . . . . . 229
- 12- Hatice AYHAN  
Teikoik Asitler . . . . . 235

13- Firdevs GÜRER	
Ascorbic Acid ve Immün Sistem . . . . .	243
14- Mehmet BOZKURT	
Hayvan Ürünlerinde Anabolik (Hormonal) Rezütler ve Ulusal	
Yasal Düzenlemeler . . . . .	259

## C O N T E N T S

1- Berdan AKALIN The Determination Of The Antibodies To Poliomyelitis In Vaccinated And Non-Vaccinated Persons In Balgat, Çuku - rambar District Of Ankara	139
2- Erdal BEŞER, Ayşe BAYSAL, Göneng CİLİV The Relation Between Smoking And Plasma Vitamin C Le- vels Among University Students . . . . .	153
3- Ekrem YILMAZ, Hüseyin GÜN, Ömer KOCABEYOĞLU, Sabri GÜN- GÖR, İbrahim BAYDAR, Çakır GÜNEY: The Value Of Indirect Immunofluorescent Antibody Test In The Diagnosis Of Cy- stic Hydatidosis . . . . .	161
4- Pınar BULUT, Ü.Yaşar HEKİMOĞLU The Investigation Of Suitability To Permeability Test Given At USP Of Halothan Preparations In Turkey . . . .	173
5- Tülin TUNCER, Mine TUNAOĞLU Syphilis Cases In Different Risk Groups Confirmed BY FTA-ABS . . . . .	179
6- Hüseyin GÜN, Ömer KOCABEYOĞLU, Ekrem YILMAZ, Sabri GÜN- GÖR, Gürol EMEKDAŞ : Detection Of Rotavirus In Stools Of Newborns And Young Children By Enzyme Immunoassay... .	187
7- Mülkiye KASAP, Halil KASAP, M.Mihri MİMİOĞLU Relations Between Density Of Breeding Season Populati - ons Of An.sacharovi And Malarial Casses In Çukurova. . .	195
8- İbrahim BAYDAR, Şadi YENEN, Ekrem YILMAZ, Ömer KOCABE - YOĞLU, Hüseyin GÜN, Sabri GÜNGÖR : Exam Of 4930 Stool Semples For Intestinal Parasites . . . . .	201
9- Orhan N.YALÇINDAĞ Microcrystalligraphic Identification Of Some Organic Drugs Containing Basic Azot Atom XIV . . . . .	209
10- Osman DEMİRHAN, Mülkiye KASAP, Halil KASAP, Davut ALP - TEKİN : Effects Of Different Blood Sources To The Egg Production Of Anopheles sacharovi Favre . . . . .	217
11- Sabri GÜNGÖR, Hüseyin GÜN, Ömer KOCABEYOĞLU, Ekrem YIL- MAZ, Şadi YENEN, İbrahim BAYDAR : The Incidence Of An - tispermatozoal Antibodies In Prostitutes And The Evalu- ation Of Decreased Fertility . . . . .	229
12- Hatice AYHAN Teichoic Acids . . . . .	235

13-	Firdevs GÜRER	
	Ascorbic Acid And The Immune System . . . . .	243
14-	Mehmet BOZKURT	
	Scientific Report Hormonal Anabolic Residues In Animal Production And National Regulations . . . . .	259



# ANKARA BALGAT ÇUKURAMBAR BÖLGESİNDE AŞILI VE AŞISIZ KİŞİLERDE POLIOMYELITİS'E KARŞI ANTİKOR ARAŞTIRMASI

Berdan AKALIN\*

## ÖZET

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı'nın eğitim, araştırma ve uygulama alanı olan Ankara, Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı bölgesinde çeşitli yaş gruplarında polio aşısı ile aşılanmış ve aşılanmamış kişilerde anket formu ve laboratuvar yöntemiyle polloya karşı bağışıklık durumu araştırılmıştır.

Araştırma sonucunda; poliovirusu her üç tiptin (Tip. 1, Tip.2, Tip.3) doğada yaygın olduğu, bağışıklanmamış kişilerde de her 3 tipe karşı anti-kor oluştuğu, bağışıklığın, poliovirusu Tip. 1'e karşı daha yoğun bulunduğu saptanmıştır. Bu sonuçlara dayanarak çevrenin sanitasyonu yanında bilhassa aşılanmanın daha da erkene alınmasının önemi belirtilmiştir.

## GİRİŞ

Ülkemizin poliomyelitis durumunu saptama ve sorunu tanımada, yararlanabileceğimiz kaynakların oldukça az olduğu dikkati çekmektedir. Poliomyelitis olgu araştırmasının yapılmamış olması, erken ve gizli olguların ortaya çıkartılması için, tanıda laboratuvarların yetersizliği ve paralitik de olsa olgu bildirimlerinin zamanında ve gerçeği yansıtacak nitelikte olmaması kayıtların genelleme ve güvenilirlik derecesini etkilemektedir.

Hastalığın özgül olmayan ön belirtilerle başlaması yaklaşık % 99 olgunun felçsiz seyretmesi nedeniyle, çoğunlukla yanlış tanı konulmaktadır. Belki de farkına bile varılmamaktadır. Klinik olarak poliomyelitis tanısı konan olgular sadece paralitik görünümde olanlardır ve bunlar da % 1'i geçmemektedir. Bu demektir ki, (eğer hastalık bir ECHO ve COXACKIE virüsü ile olmamışsa) görülen tek olgunun gerisinde bir yüz kadda non-paralitik poliomyelitli hasta vardır (1,2,3,5,6).

---

\* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve Adli Tıp Anabilim Dalı Başkan Vekili, Doç.Dr.

Poliomyelitisin bildirimini ülkemizde zorunludur. 1593 sayılı Umumi Hıfzı-sıhha Yasasının 57. ve onu izleyen maddelerinin (8) kesin hükümlerine ve Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığının titiz davranışlarına karşın bildirimler yeterli olmamıştır ve olmamaktadır.

Konuya mortalite açısından bakıldığında, gene gerçeğe yakın bir sonuca ulaşmanın zorluğu kendini göstermektedir. Bugün ülkemizde genel ölümlerin yaklaşık % 50 kadarı 0-4 yaş grubundadır. Başta 0-1 yaş olmak üzere, bu grupta kesin ölüm nedenleri saptanabilseydi, poliomyelitise bağlı ölüm sayısında da önemli bir artış görülebilirdi ve buradan da poliomyelitis prevalansı ve insidansı hakkında bir yargıya varmak mümkün olabilirdi. Oysa, toplumumuzun bazı kesimlerinde yeni doğanlara kimlik kartı çıkarma alışkanlığı dahi henüz yerleşmemiştir. Doğanlarla ölenler bile kesin takip edilememekte, hatta, on yaşındaki bir çocuğa "eceliyle öldü" defin ruhsatı dahi verilebilmektedir.

Poliomyelitisin oluşumu ve yayılımında iklim, mevsim, yaş, sosyo-ekonomik durum, kalabalık aile yapısı, alt yapı yetersizliği, toplum ve kişisel hijyen düzeyindeki aksamalar büyük ölçüde etkeni olmaktadır. Hastaların, portörlerin, çığ yiyeceklerin, su, süt ve süt ürünlerinin, zararlı kemiricilerin de etkili olduğu düşünülürse poliomyelitis ülkemizde bugün için de bir halk sağlığı sorunu olarak güncelliğini korumaktadır (1,2,3,4) ve ilerisi için paralitik ve non paralitik olgu sayılarında büyük rakamlar beklenmelidir (2,2,5,6,7).

## AMAÇ

Ülkemizin salgın ve bulaşıcı hastalıklarla ilgili alt yapı ve çevre koşulları, poliomyelitisin bulaşma yolları da göz önüne alınarak, çocukluk çağında paraliz görülmeyen, belki teşhis de edilmeden, yaygın olduğu çeşitli araştırmalarla ortaya konmuş sokak virüsü ile poliomyelitisin geçirilmiş olduğu düşünülebilir. Geçirilmiş bir enfeksiyona bağlı olarak, aşılınmış ve aşılınmamış kişilerde poliomyelitise karşı antikor oluşumunun varlığını, polio virusunun üç tipinden hangisinin daha yaygın olduğunu ve gerçekten aşı uygulamasının gerekli olup olmadığını hatta aşılama zamanlamasını ortaya koymak üzere Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı'nın Eğitim, Araştırma ve Uygulama alanı olan Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı bölgesinden çeşitli yaş gruplarında anket formu ve laboratuvar yöntemiyle bağışıklık durumunun saptanması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOD

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Eğitim, Araştırma ve Uygulama Alanı olan Balgat Çukurambar Sağlık Ocağı bölgesinde rastgele sistematik örnekleme ile ev halkı tesbit fişlerinden her 5 aile atlamış altıncı fiş

seçilerek 1000 aile denek olarak alınmıştır. Böylece, bu fişlerden poliomyelitise karşı bağışıklık durumları incelenmek üzere 5000 kişi alınması planlanmış ancak, 4846 kişi tamamlanabilmiştir. Başta aile reisinden, bulunmadığı zaman, yaşlılardan başlayarak 18 yaşına kadar olan kişilerden ailedekilerin poliomyelitise karşı ağızdan verilen şekerli aşı alıp almadıkları sorulmuştur. Denek grubunun yaş ve cinsine göre dağılımı, Tablo I'de gösterilmiştir. Yaş gruplarına göre kadın erkek arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).

TABLO I— Ankara, Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı Bölgesinde Denek Grubunun Yaş ve Cinsine Göre Dağılımı

YAŞ GRUBU	C İ N S					
	ERKEK		KADIN		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
0 — 4	602	23.6	423	18.0	1025	21.2
5 — 9	451	18.4	485	20.7	936	19.3
10 — 14	460	17.8	469	19.9	929	19.2
15 — 19	511	20.8	490	20.9	1001	20.7
20 ve üzeri	475	19.4	480	20.5	954	19.6
TOPLAM	2449	100.0	2347	100.0	4846	100.0

$p > 0.05$

Araştırmada, 5 hekim, 5 hemşire görev almıştır. 4846 kişilik denek grubuna aşı olup olmadıkları konusunda anket uygulanmıştır. Tablo II'de, deneklerdeki aşı durumu görülmektedir. Aşılı ve aşısız olanların cinsine göre dağılımları önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).

Anket uygulananlar arasında yaş gruplarına ve aşı durumlarına göre tabakalaştırılarak rastgele sistematik örnekleme ile 500 kişide polio antikorları bakımından bir mikrobiyoloji—viroloji uzmanı ve ekibi tarafından doku kültüründe nötralizasyon testi uygulanmıştır.

Serumlar hekimler ve hemşireler aracılığı ile, koldan ve 0—1 yaşta olanlardan boyundan, (disposable) kullanılıp atılan enjektörlerle sterilizasyona özen gösterilerek 5 ml. ağız kapatılmış vakumlu tüplere venöz kanı alınmıştır. Kanlar aynı gün 3000 devirli santrifüjle santrifüje edilip titrasyon çalışmalarına kadar  $-20^{\circ}\text{C}$  de, derin dondurucuda saklanmıştır.

500 denekten çeşitli nedenlerle ancak 450'sinin kanı alınabilmiştir. 450 kişinin serumundan polio virüsü nötrleyen antikorları saptamada araç, gereç ve zaman yönünden kısıtlılık gösterdiği için laboratuvara rastgele sistematik 1/2

TABLO II— Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı Bölgesinde Denek Grubunun Poliomyelitis'e Karşı Aşılı Olanlarla Aşılı Olmayanların Yaş ve Cinsine Göre Dağılımı

YAŞ GRUBU	AŞILI		AŞISIZ		BİLMİYOR		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
<b>ERKEK</b>								
0 — 4	399	36.3	176	16.8	27	7.7	602	24.3
5 — 9	260	23.6	153	14.6	38	10.9	451	18.4
10 — 14	248	22.5	166	15.7	46	13.1	460	18.5
15 — 19	193	17.5	265	25.2	53	15.2	511	20.5
20 ve üzeri	2	0.1	288	27.7	185	53.1	475	18.3
<b>TOPLAM</b>	<b>1102</b>	<b>100.0</b>	<b>1048</b>	<b>100.0</b>	<b>349</b>	<b>100.0</b>	<b>2499</b>	<b>100.0</b>
<b>KADIN</b>								
0 — 4	300	27.5	121	12.9	2	0.6	423	18.0
5 — 9	301	27.6	155	16.5	29	9.2	485	20.7
10 — 14	285	26.1	144	15.3	40	12.6	469	20.0
15 — 19	200	18.3	232	24.7	58	18.3	490	20.8
20 ve üzeri	15	0.5	287	30.6	188	59.3	480	20.5
<b>TOPLAM</b>	<b>1091</b>	<b>100.0</b>	<b>939</b>	<b>100.0</b>	<b>317</b>	<b>100.0</b>	<b>2347</b>	<b>100.0</b>
<b>GENEL TOPLAM</b>	<b>2193</b>		<b>1987</b>		<b>666</b>		<b>4846</b>	

$p > 0.05$

örnekleme ile seçilen 224 serum intikal ettirilmiştir.

Laboratuvar olanakları ve zaman açısından titrasyon için çok uzun süre gerektiğinden her yaş grubundan aşılı ve aşısız olmak üzere 10'ar kişiden serum seçilmiş, bunlardan sadece 9'u uygun bulunmadığından ancak 41 serumda antikor titrasyonu yapılabilmektedir. Deneklerde aşılı ve aşısızlar arasındaki oran farkları önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).

Laboratuvar çalışmasında steril çalışmaya steril araç ve gereç kullanmaya son derece özen gösterilmiştir.

Polio virusuna karşı antikorlar doku kültüründe nötralizasyon yöntemi ile saptanmıştır. Çalışmada denek serumu, virus ve doku kültürü işlenmiştir (9).

Testte kullanılan hücre, Pe-2 (insan larynx carcinoma devamlı epitel benzeri hücre) olmuştur (10).

TABLO III— Ankara, Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı Bölgesinde Polio Virüsünü Nötrleyen Antikor Titrasyonu Yapılanların Yaş, Cins ve Aşı Durumlarına Göre Dağılımı

GRUPLARI	AŞILI		AŞISIZ		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
0 — 4	4	16.0	3	18.7	7	17.1
5 — 9	5	20.0	3	18.7	8	19.6
10 — 14	7	28.0	3	18.7	10	24.4
15 — 19	6	24.0	5	31.4	11	26.4
20 ve üzeri	3	12.0	2	12.5	5	12.5
TOPLAM	25	100.0	16	100.0	41	100.0

p &gt; 0.05

Hücre pasajlarında tüp hazırlamada ve deneyde Earle'nin lactoalbumin Hydrolysate (% 0.5) besiyeri kullanılmıştır.

Hücre kaldırma işlemi için tripsin kullanılmıştır. 700 ml. distile suda eritilmiş, N/1 HCl eklenerek PH 7.7'ye ayarlanıp % 1'lik Phenol red, penicillin ve streptomycin katılarak distile su ile 1 lt.ye tamamlanmıştır. İçine 2.5 gr. Tripsin eklenip bir gece 4° C de bekletilmiş, Zeitz süzgeçinden geçirilerek sterilize edilmiştir (10).

HEP-2 hücresinde üretilen viruslar, Reed and Muench metodu ile titre edilmiştir. Testte kullanılan virus 100 TCID 50/0.1 (Tissue Culture Infective Dose), 10<sup>3.5</sup> idi.

Titreleri bilinen viruslar -20° C de saklanmış ve kullanılacakları zaman sulandırılmışlardır.

Serumların 1/16, 1/32, 1/64 sulandırılmaları Versen (P.B.S.) ile yapılmış ve 56°C de 30 dk. inaktivasyon için bekletilmişlerdir. Versen (P.B.S.) 1000 ml. distile suda eritilmiş, 20 ml. miktarlarında şişelere dağıtılmış ve otoklavda 120° C'de 15 dk. tutularak steril duruma getirilmiştir. Kullanılacağı zaman Tripsin-Versen solüsyon olarak 1 kısım tripsin 4 kısım versenle karıştırılmıştır.

Hazırlanmış serumların tüplerde eşit miktarda virüsle karışımları yapılmış ve 37° C'de 2 saat bekletilmiştir. Sürenin sonunda hasta serumunun her üç dilüsyonu için 2 şer doku kültürü tüpüne ekim yapılmıştır.

Ekim yapılan tüpler 37° C'de enkübe edilmiş, 48 saatten başlamak üzere tam üreme görüldüğü zaman her gün okunmuş, değerlendirilmiş ve kayıtları yapılmıştır (10, 11, 12, 13).

Araştırmada, yüzdeleri ve sayıları belirtilen deneklerde gruplararası farkın önem kontrolü yöntemi kullanılmıştır (14, 15).

### BULGULAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Başkanlığının Eğitim, Araştırma ve Uygulama Alanı, Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı bölgesinde, araştırmamıza konu olan aşı ve aşız kişilerde polio virüsünü nötrleyen antikor titrasyonu sonuçları saptanan antikor durumları, çeşitli yönleri ile Tablo IV, V, VI, VII'de gösterilmiştir.

TABLO IV. Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı Bölgesinde Alınan Serumlarda, Poliovirüsüne Nötrleyen Antikorların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı (Aşılı, aşızsız birlikte)

SERUM TITRASYON SONUÇLARI	YAŞ GRUPLARI												TOPLAM	
	0-4		5-9		10-14		15-19		20 ve üzeri					
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yalnız T.1 için Pozitif	1	14.7	-	-	1	10.0	1	9.0	-	-	-	-	3	7.4
Yalnız T.2 için Pozitif	-	-	1	12.5	-	-	-	-	1	20.0	-	-	2	4.8
Yalnız T.3 için Pozitif	-	-	1	12.5	1	10.0	-	-	-	-	-	-	2	4.8
T.1, T.2 için Pozitif	3	42.8	-	-	2	20.0	4	36.5	-	-	-	-	9	21.9
T.1, T.3 için Pozitif	1	14.7	-	-	-	-	1	9.0	1	20.0	-	-	3	7.4
T.2, T.3 için Pozitif	-	-	1	12.5	1	10.0	4	36.5	2	40.0	-	-	8	19.7
T.1, T.2, T.3 için Pozitif	2	28.8	5	62.5	4	40.0	1	9.0	1	20.0	-	-	13	31.7
Negatif	-	-	-	-	1	10.0	-	-	-	-	-	-	1	2.3
TOPLAM	7	100.0	8	100.0	10	100.0	11	100.0	5	100.0	-	-	41	100.0

HEM TIP İÇİN TOPLAM												
T.1	7	100.0	5	62.5	7	70.0	7	63.6	2	40.0	28	68.2
T.2	5	71.3	7	85.0	7	70.0	9	81.8	4	80.0	32	78.0
T.3	3	42.8	7	85.0	6	60.0	6	54.5	4	80.0	26	63.4
0	-	-	-	-	1	10.0	-	-	-	-	1	2.4

TABLO V— Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı Bölgesinde Aşılı Olanların Serumlarında Poliovirusu Nötrleyen Antikor Titrasyonu Sonucunun Poliovirus Tilerine Göre Dağılımı

Nötrleyen Antikor Titrasyonu	Poliovirus Tipi							
	Tip.1		Tip.2		Tip.3		TOPLAM	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
1/16	8	32.0	3	12.0	8	32.0	19	25.3
1/32	3	12.0	2	8.0	8	32.0	13	17.4
1/64 ve üzeri	7	28.0	16	64.0	1	4.0	24	32.0
Negatif	7	28.0	4	16.0	8	32.0	19	25.3
TOPLAM	25	100.0	25	100.0	25	100.0	75	100.0

TABLO VI— Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı Bölgesinde Aşısız Olanların Serumlarında Poliovirus Nötrleyen Antikor Titrasyonu Sonucunun Poliovirus Tilerine Göre Dağılımı

Nötrleyen Antikor Titrasyonu	Poliovirusu Tipi							
	Tip.1		Tip.2		Tip.3		TOPLAM	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
1/16	3	18.7	2	12.5	2	12.5	7	14.6
1/32	5	31.3	2	12.5	4	25.0	11	22.9
1/64 ve üzeri	7	12.5	7	43.7	2	12.5	11	22.0
Negatif	6	37.5	5	31.3	8	50.0	19	39.5
TOPLAM	16	100.0	16	100.0	16	100.0	49	100.0

TABLO VII-- Balgat, Çukurambar Sağlık Ocağı Bölgesinde Serumda Poliovirüsü Nötrleyen Antikor Titrasyonu Sonucunun Poliovirüs Tiplerine Göre Dağılımı

Nötrleyen Antikor Titrasyonu	Poliovirüsü Tipleri							
	Tip.1		Tip.2		Tip.3		TOPLAM	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
1/16	11	26.9	5	13.2	10	24.0	26	21.2
1/32	8	19.5	4	9.7	12	30.0	24	19.4
1/64 ve üzeri	9	21.9	23	57.2	3	7.0	35	28.4
Negatif	13	31.7	9	21.9	16	39.0	38	31.0
TOPLAM	41	100.0	41	100.0	41	100.0	123	100.0

(Aşılı ve Aşısız Denekler Birlikte Gösterilmiştir).

## TARTIŞMA

Bu araştırmamızda ulaştığımız sonuca daha kapsamlı bir tartışma zemini hazırlamak için ülkemizde bu güne kadarki poliomyelitisle ilgili laboratuvar çalışmalarının sonuçlarına bir göz atmak yerinde olacaktır. Burada sadece önemli bir kaç örnek sunulmuştur.

1) 1965-1969 yıllarında 214 poliomyelitis olgusu üzerinden yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda toplam denekten % 58.9'unda Tip. 1, % 9.4'ünde Tip. 2, % 6.5'inde Tip. 3 saptanmış, % 25.2'sinin non-polio olduğu görülmüştür (11).

2) 1968 yılında İstanbul'dan 326, Ankara'dan 93 paralitık polio olgularında izolasyon ve serolojik çalışma yapılmıştır. İstanbul verilerinde paralitık polioya yakalanan 317 (% 97.24) kişi 0-4 yaş grubunda, 9 (% 2.76) kişi 4 yaşın üstünde bulunmuştur ve bunlardan on altı olgu Tip. 1, bir olgu Tip. 2, bir olgu da Tip. 3 olarak saptanmıştır (16).

3) Ankara'daki 93 hastadan Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Viroloji Şubesinde yapılan izolasyonda 4 olgu Tip. 1 bulunmuş, 4 olguda da polio saptanmıştır. Geri kalanlar (2 COX. B 5) ve tiplendirilememiş olgular olarak sonuçlandırılmıştır (16).

4) 1955 yılında Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinde, 0-9 yaş grubundaki 500 çocukta Berke ve Arı, tarafından yapılan serolojik çalışmada, Tip. 1 çoğunlukta olmak kaydıyla her 3 tipe karşı da nötrleyen antikor bulunmuştur (17).



5) 1972 yılında Alaçam, R. tarafından 300 denekte yapılan bir çalışmada nötrleyen antikorun Tip. 1'de daha yaygın olduğu görülmüştür (18).

Balgat, Çukurambar araştırmamızda 41 denekte aldığımız sonuçlar önceki yıllarla yapılmış olan diğer laboratuvar ve çeşitli serolojik yöntemler sonuçlarından farklı bulunmamıştır.

Deneylerin sonucunda:

- Yalnız Tip. 1 için (0–4), (10–14), (15–19) yaş gruplarında,
- Yalnız Tip. 2 için (10–15), 20 ve üzeri yaş gruplarında,
- Yalnız Tip. 3 için (10–14) ve (15–19) yaş gruplarında,

pozitiflik saptanmıştır.

Ayrıca:

- Tip. 1 ve Tip. 2'nin birlikte antikor oluşturduğu 9 denek,
- Tip. 1 ve Tip. 3'ün her ikisinde birden antikor bulunan 3 denek,
- Tip. 2 ve Tip. 3'ün her ikisinde birden antikor bulunan 8 denek,

saptanmıştır. 13 denekte ise, her üç tipe karşı da antikor bulunmuştur. 10–14 yaş gruplarından sadece 1 denekte her 3 tipe karşı negatif sonuç alınmıştır. Tip. 1'e karşı 28 denekte (% 68.2), Tip. 2'ye karşı 32 denekte (% 63.4) antikor saptanmıştır (Tablo: IV).

Aşılı olan deneklerden alınan serumlarda % 74.7'sinde antikor titrasyonu pozitif sonuç vermiştir (Tablo: V). Diğer bir deyişle, aşılı örneklerin % 74.7'si poliomyelitis Tip. 1, 2 ve 3'e karşı bağışıklıdır. Aşısız olanlarda ise, serumlarında poliomyelitis virusuna karşı antikor % 69.0'ında pozitif bulunmuştur (Tablo: VI). Aşısızların % 69.0'unda antikor pozitif iken % 31.0'unda antikor yoktur. Aşılı ve aşısız olanların serumlarında antikorun bulunuşu yönünden fark istatistiksel yönden önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).

Aşılı ve aşısızlar birlikte 1/6 titrasyonla % 21, 1/32 titrasyonla % 19.4 ve 1/64 ve üzeri titrasyonla % 28.4 olmak üzere her üç tipe karşı antikor bulunmuştur (Tablo: VII).

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırma ülkemizde polio virusunun her 3 tipinin doğada yaygın olduğunu, bilhassa aşısız kişilerde polio virusuna karşı (özellikle Tip. 1) çocukluk çağında geçirilmiş polio enfeksiyonuna bağlı olarak bağışıklanmanın olabileceğini göstermiştir (Tabii Polio enfeksiyonu bağışıklığı).

20 yaşın üzerindeki 45 ve 50 yaşlarındaki iki denekte de antikor saptanmıştır. Oysa, polioya karşı ilk aşı uygulaması ülkemizde 1964 yılında yani, 24 yıl önce başlamıştır (19, 20, 21, 25). Kaldığı bu denekler aşı olmadıklarını da belirtmişlerdir (Bu da Türkiye'deki Tabii Polio enfeksiyonunun kanıtıdır).

Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı'nın kayıtlarından izlendiği gibi (21) poliomyelitisin geçmiş yıllarda geniş epidemiler yapmamış olmasına karşın ülke çapında endemik olduğunu ve diğer etkenlerin de devreye girmesi ile, her an, il düzeyinde bölgesel, ya da geniş toplulukları içeren epidemiler oluşabileceğini düşündürmektedir. Başka bir deyişle önemli bir halk sağlığı sorunu olarak güncelliğini korumaktadır.

Tüm dünyada olduğu gibi poliomyelitis ülkemizde de daha ziyade 0—4 yaş grubu hastalığı olarak karşımıza çıkmaktadır ( 22, 23, 24). 0—4 yaş grubundaki poliomyelitis olguları tüm yaş grubundakilerin (yıllara göre) % 88.3—94.8, 0—2 yaş grubundaki olguların ise % 76.3'ünü oluşturmaktadır (21). Araştırmamızda bu durum aynen teyid edilmiş olmaktadır.

Özetle; Virusun her 3 tipi de ülkemizde yaygındır. Hastalık, bilhassa ülkemizde 0—4 yaş grubunda çok önemlidir, ancak 0—2 yaş grubunda ise yığılımlar daha fazla görülmektedir. O halde Poliomyelitis çok erken yaş hastalığı olarak karşımızdadır. İklim koşullarımızın enfeksiyon için uygunluğu, alt yapı sorunlarımız, kalabalık ve geniş aile yapımız, su ve gıda kirliliğimiz, alt yapı sorunlarımız, sosyo—ekonomik yetersizliğimiz ile kültür düzeyi ve sağlık anlayışındaki noksanlıklara bir de virusun ülkemizde yaygınlığının eklenmesi her an için bir epidemi (özellikle polio Tip. 1 virusu ile) doğurabilecek potansiyeli olması düşünülmelidir. Bu nedenle konu, önemli ve güncel halk sağlığı sonucu olarak karşımızda bulunmaktadır.

### Öneriler

Bu potansiyelin kinetik hale dönüşmemesi için:

- Enfeksiyonun yayılmasında olumsuz yan etkiler düzeltilmeli, (Bilhassa alt yapı islahı yapılmalı, çevresel sanitasyon önlemler alınmalı),
- Olgu bildirimleri daha titiz takip edilmeli,
- Olgular izole ve idantife edilmeli,
- Hastalar, taşıyıcılar ile gizli olguları zamanında bulmak üzere sürveyyans çalışmaları yapılmalı ve bu çalışmalar laboratuvarlarla desteklenmeli (Halk Sağlığı Laboratuvarları geliştirilmelidir).
- Çok önemli ve etkin bir tedbir olan aşı ile bağışlama eksiksiz ve çok ciddi bir organizasyonla ele alınmalı, aşılama bebeklerde 2 aylıktan daha erkene alınmalı, önce kampanyalar şeklinde, daha sonra rutin olarak her doğana bilimsellik çerçevesinde aşıları yapılmalı ve bağışıklıkları laboratuvar tetkikleri ile teyit edilmeli,
- Paralitik olgular rehabilite edilmelidir.

## THE DETERMINATION OF THE ANTIBODIES TO POLIOMYELITIS IN VACCINATED AND NON-VACCI- NATED PERSONS IN BALGAT, ÇUKURAMBAR DISTRICT OF ANKARA

Doç.Dr.Berdan AKALIN\*

### SUMMARY

Research on the antibody analysis against poliomyelitis in vaccinated and not vaccinated individuals in Ankara, Balgat, Çukurambar Health Center Region. The attitude of resistance in vaccinated and not vaccinated individuals against poliomyelitis in Ankara, Balgat, Çukurambar Health Center the area of research and practice of the Department of Public Health of Gazi University, Medical Faculty has been investigated with laboratory and interview methods.

As a result of the investigation, it has been concluded that, all the three types of poliomyelitis vines (Type, 1, Type, 2 Type, 3) are widespread in nature and with vaccination antibodies are achieved against all the three types with Type 1, being the most intensely resistable one. Proposals on the preventive measures are briefly outlined. Beside the enviromental sanitation measures, the importance of early vaccination is particularly mentioned.

### KAYNAKLAR

- 1- Onul, B.: Infeksiyon Hastalıkları. 6.bs., Ankara Üniversitesi Basımevi, s. 269, 1980.
- 2- Onul, M.: Sistemik Infeksiyon Hastalıkları, 2.bs., Ankara, Ayyıldız Matbaacılık A.Ş., s. 246, 1983.
- 3- Berke, M.Z.: Poliomyelitis, Tıbbi Viroloji, C.I, Ankara, Göksoy Matbaacılık Sanayii, s. 78,80,114, 1974.
- 4- Baykan, N.: Sungur, C. ve Bilgin, Y.: "Poliomyelitis", Toplum Hekimliği Ders Kitabı, 2. bs., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, No: 379, Ankara, Yargıçoğlu Matbaası, s. 104, 105, 1979.
- 5- Akan, E.: Özel Viroloji, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, No: 1, Kemal Matbaası, 1978.
- 6- Akan, E.: Genel Viroloji, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, No: 3, Adana, Güney Matbaası, 1980.
- 7- Benenson, S., A.: İnsanda Bulaşıcı Hastalıkların Kontrolü, Çev.: Akyol, M., 13. bs., Ankara, Hatiboğlu Yayınevi, s. 347, 1986.

- 8- Ekşioğlu, K.: Sözlüklü Tüm Toplu Sağlık Mevzuatı, İstanbul, Yasa Yayıncılık A.Ş., Yaşayan Yayınlar Dizisi: 1, s. 80, 1986.
- 9- Ege, N.: "He—LA Hücreleri Kültüründe İnsan Barsak Viruslarının Husule Getirdikleri Göze Yozlatkan Etki" Türk Hij.ve Tec.Biyol. Dergisi, XXI: 1—2, 219, 1961.
- 10- Artuk, C.: Polio Antikorları Bakımından Doku Kültüründe Nötralizasyon Testi. Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü, Teksir, Yayınlanmamış.
- 11- Arda, A., Gemicioğlu, N.: "1965—1969 Yılları Arasında Yurdumuzda Polio ile İlgili Laboratuvar Çalışmaları ve Yapılan İncelemeler", Mikrobiyoloji Bülteni, V: 1'den ayrı basım, Ankara, Güzel İstanbul Matbaası, 15, 1971.
- 12- Arda, M.: Hastalık Etkenlerinin Titrasyon ve Nötralizasyon Testlerinde Uygulanan Laboratuvar Metotları, A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları, 273, Tatbikat Klavuzu: 175.
- 13- Artuk, Ç.: Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Viroloji Şubesi, Antikor Titrasyonu Laboratuvar Çalışması, 1982. (Teksir)
- 14- Sümbüloğlu, K.: Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Ankara, Çiğ Matbaası, 1978, Passim.
- 15- Baker, D.J.P.: Pratik Epidemiyoloji Çev.: Bertan, M., Tezcan, S., 2.bs., Ankara, Baylan Matbaası, 1979, Passim.
- 16- Kaymak, M.: "1968 İstanbul Poliomyelit Epidemisi ve Düşündüklerimiz", Mikrobiyoloji Bülteni, V: 1. 1968.
- 17- Berke, Z., Arı, A.: "Türkiye'nin Akdeniz ve Karadeniz Bölgelerinde 0—9 Yaşları Arası Olan Çocuklarda Poliomyelitis Antikor Seviyesi". Türk Hij. ve Tec. Biyol.Der., XX: 3,342, 1960.
- 18- Alaçam, R.: "Toplumdaki Polio Antikorlarının Metabolizma Önleminin Testi ile Taranması", Mikrobiyoloji Bülteni, VII: 2, 1973.
- 19- Arı, A.: "Türkiye'de Ağızdan Verilen Sabın Tipi Canlı Attenué Polio Aşısı Kampanyası (1) Pilot Çalışma Kampanyası", Sağlık Dergisi, XXX: 5—6, 24, 1963.
- 20- Sarıgöl, S.: Yurdumuzda Polio Savaşı ve Yeni Uygulama Prensipleri. Mikrobiyoloji Bülteni, V: 2, 1971.
- 21- SSBYB.: Türkiye Yıllık Bulaşıcı Hastalıkları Bülteni, SSBYB Yayınları, 1982.
- 22- Payne, A.M.M.: Poliomyelitis as a World Problem, 3. International Poliomyelitis Conference, Philadelphia, J.B. Lippincott Company 393—400, 1955.
- 23- Spicer, C.C.: The Incidence of Poliomyelitis Virus in Normal Children Aged 0—5 Years, A Report on a Study by the Public Health Laboratory Service and Local Health Authorities, J. Hyg, 143—159, 1961.
- 24- Gard, S.: Poliomyelitis in the Underdeveloped Areas of the World, WHO. Monograph Series, No. 26: Ceneva, 31. 1955.

- 25- Waring, W.W.: Çocuk Hastalıkları Pratik El Kitabı Çev.: Yulgar, E., Ankara, Hacettepe—Taş Kitapçılık Lt.Şt., s. 289, 1983.
- 26- Arı, A., Özsoylu, Ş., Akalın, B. ve Ark: Aşı ve Serum Uygulama Rehberi. Ankara, 1980. (S.S.Y.B. yayınlarından).



# ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNDE SİGARA İÇİMİ İLE, PLAZMA C VİTAMİNİ DÜZEYİ İLİŞKİSİ

Erdal BEŞER \*

Ayşe BAYSAL \*\*

Gönenc CİLİV \*\*\*

## ÖZET

Bu çalışmada, sigara içen 50 ve içmeyen 10 üniversite öğrencisinin plazma C vitamini düzeyleri karşılaştırılmıştır. Plazma C vitamini düzeyi; sigara içimiyle doğru orantılı olarak azalmakta ( $P < 0.05$ ) ve gıdalarla alınan C vitamini ile doğru orantılı olarak artmaktadır ( $P < 0.05$ ). Plazma C vitamini konsantrasyonu 8 öğrencide  $0.40 \text{ mg/dL}$ 'nin altında bulunmuştur. Bunlardan sigara içmeyen ve C vitamini yetersiz alan bir öğrenci ile sigara içen 7 öğrencide depresyon v.b. belirtilere rastlanmıştır. Yani sigara plazma C vitamini düzeyini düşürerek depresyon v.b. belirtilere neden olmaktadır. Sigara içenlerin, içmeyenlere göre doğal yoldan 2 misli fazla C vitamini almaları gerekir. Preperat olarak aşırı C vitamini bir çok olumsuz etkileri olduğundan aşırı C vitamini alınmasından kaçınılmalıdır. Diğer yandan bu tür araştırmalar öğrencilere sigara zararlarını somut olarak göstermektedir. Araştırmamız sürerken sigara içen öğrencilerden % 26'sı sigarayı bırakmıştır.

## GİRİŞ

C vitamini; fibroblast, kollajen dokunun yapımında, tiroksin, folik asit, histamin, kortikosteroid, safra asitlerinin metabolizmasında ve bazı toksinlerin etkinliğinin azaltılmasında rolü vardır (1,2). Ayrıca C vitamini bitkisel besinlerden "hem" olmayan demirin biyoyararlılığını arttırarak aneminin önlenmesinde de etkindir (1,2).

Sigara içiminin plazma C vitamini (askorbik asit) düzeyini düşürdüğü rapor edilmiştir (3, 4, 5, 6). C vitamini plazma düzeyi  $< 0.20 \text{ mg/dL}$  (vücut sıvı- larındaki toplam C vitamini düzeyi  $< 300 \text{ mg}$ ) olunca skorbut gelişmektedir (1). Plazma C vitamini düzeyi  $< 0.40 \text{ mg/dL}$  (vücut sıvı- larındaki C vitamini düzeyi

\* Doç.Dr.H.Ü.Öğrenci Sağlık Merkezi

\*\* Prof.Dr. H.Ü.Beslenme ve Diyetetik Bölümü Başkanı

\*\*\* Prof.Dr.H.Ü.Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

< 600 mg) olunca; hipokondriyak belirtilerde artma, depresyon, histeri ve psiko-motor görevler için motivasyonda azalma gibi belirtilen başlamaktadır (1).

H.Ü. öğrencilerinde daha önce yaptığımız bir araştırma sonuçlarına göre, sigara içen öğrencilerin % 27.5'i sıkıntılarını hafifletmek amacıyla sigara içtiklerini belirtmişlerdir (7). Diğer yandan sigara etkisiyle plazma C vitamini düzeyi azalmakta ve sıkıntı diye bilinen depresyon v.b. daha çok görülmektedir (1). Yani üniversite öğrenciler sıkıldıkça sigara içiyor, sigara içtikçe de sıkıntı şeklindeki psikolojik sorunları artıyor. Sonuçta sigara tiryakisi, sigaraya tam bağımlı hale geliyor.

Üniversite öğrencilerinin sigaranın zararları konusunda aydınlatılabilmesi, sigara içimi ve C vitamini alım durumları ile plazma C vitamini düzeyi ilişkisini ortaya koymak amacıyla bu araştırma yapılmıştır.

## MATERYAL VE METODLAR

Araştırma grubunu 1988 yılı Ocak ayında H.Ü. Öğrenci Sağlık Merkezi'ne müracaat eden; 50 sigara içen, 10 sigara içmeyen 60 gönüllü öğrenci oluşturmuştur. Öğrenciler günlük içtikleri sigara miktarı yönünden 10'ar kişiden 6 gruba ayrılmışlardır (1. grup: sigara içmeyen, 2. grup: 5 veya altında sigara içen, 3. grup: 6 – 10 sigara içen, 4. grup: 11–15 sigara içen, 5. grup: 16–20 sigara içen, 6. grup: 21 veya üstünde sigara içen).

Öğrencilerden kan alınmadan önce, 3 günlük tüm yedikleri gıdaları yazıp getirmeleri istenmiştir. Sonuçta öğrenciler C vitamini kaynağı taze sebze ve meyve tüketim düzeylerine göre 3 gruba ayrılmışlardır. 1. grup: yetersiz (3 günde hiç çiğ salata veya meyve alınmamış), 2. grup: az (3 günde 1–2 kez salata veya meyve alınmış), 3. grup: yeterli düzeyde C vitamini alanlar (her gün salata veya meyve, özellikle portakal v.b. alınmış).

Plazma C vitamini düzeyini azaltan salisilik asid, oral kontraseptif v.b. ilaçlardan alanlar, preparat olarak C vitamini alanlar, C vitamini gereksinimini artıran ishal, hipertroidi gibi hastalığı olanlar araştırmaya dahil edilmemiştir.

Plazma C vitamini tayinleri kolorimetrik yöntemle (8) H.Ü. Biyokimya Bölümü'nde yapılmıştır.

C vitamininin normal plazma düzeyi; 0.75 – 1.50 mg/dL olarak kabul edilmiştir (1).

Araştırmaya katılanlar 19 kız, 41 erkek öğrenci olup, yaş ortalaması 19'dur. Sigara içen 50 öğrenci en az 2 yıldır sigara içmektedir.

İstatistik değerlendirmelerde Mann-Whitney U ve İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testleri kullanılmıştır (9).



## BULGULAR

Tablo 1'de sigara içen ve içmeyenlerin plazma C vitamini düzeyleri verilmiştir.

TABLO 1: Sigara İçmeyen ve İçen Grupların Plazma C Vitamini Düzeylerinin Karşılaştırılması

GRUPLAR (Sigara/gün)	GRUP SAYISI	PLAZMA C VİTAMİNİ DÜZEYİ (mg/dL)			
		Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Aralık
(1.) 0	10	1.20	0.60	0.19	0.31-2.36
(2.) 5 veya daha az	10	1.16	0.47	0.15	0.46-1.76
(3.) 6-10	10	1.33	0.38	0.12	0.71-1.99
(4.) 11-15	10	1.21	0.40	0.13	0.70-1.96
(5.) 16-20	10	0.87	0.33	0.10	0.38-1.26
(6.) 21 veya daha fazla	10	0.44	0.16	0.51	0.24-0.71

İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi kullanılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- 1. ile 2. grup  $T= 0.13, P>0.05$
- 1. ile 3. grup  $T= 0.58, P>0.05$
- 1. ile 4. grup  $T= 0.01, P>0.05$
- 1. ile 5. grup  $T= 1.55, P>0.05$
- 1. ile 6. grup  $T= 3.90, P<0.05$
- 2. ile 3. grup  $T= 0.91, P>0.05$
- 2. ile 4. grup  $T= 0.23, P>0.05$
- 2. ile 5. grup  $T= 1.61, P>0.05$
- 2. ile 6. grup  $T= 4.62, P<0.05$
- 3. ile 4. grup  $T= 0.73, P>0.05$
- 3. ile 5. grup  $T= 2.94, P<0.05$
- 3. ile 6. grup  $T= 6.01, P<0.05$
- 4. ile 5. grup  $T= 1.05, P>0.05$
- 4. ile 6. grup  $T= 5.61, P<0.05$
- 5. ile 6. grup  $T= 3.74, P<0.05$

Tablo 2'de günlük diyetle alınan C vitamini düzeyi ile, plazma C vitamini düzeyi düşük öğrencilerin dağılımı gösterilmiştir.

**TABLO 2: Günlük İçilen Sigara Miktarına Göre Diyetle Alınan C Vitamini ve Plazma C Vitamini Düzeyleri Düşük Olanların Dağılımı**

GRUPLAR	C VİTAMİNİ ALIM DURUMU						PLAZMA C VİTAMİNİ DÜZEYİ DÜŞÜK OLANLAR				TOPLAM	
	Taze Sebze		Et		Veteriner		I. Derece		II. Derece		Plazma C	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
1	1	20	3	70	1	10	1	10	1	10	2	20
2	-	-	5	60	4	40	2	20	-	-	2	20
3	-	-	4	80	5	60	1	10	-	-	1	10
4	-	-	4	40	6	60	1	10	-	-	1	10
5	-	-	7	70	3	30	2	20	1	10	3	30
6	1	10	3	90	1	10	4	40	6	60	10	100
TOPLAM	2	3.33	27	61.36	21	35	11	18.33	8	13.33	19	31.67

Not: Rakamlar küçük olduğu için herhangi bir istatistik yöntemle karşılaştırma yapılamamıştır.

Tablo 3'de aynı düzeyde C vitamini kaynağı tüketenlerin sigara içme durumlarına göre plazma C vitamini düzeyleri, Tablo 4'de ise sigara içenlerde C vitamini alımı ile plazma C vitamini düzeylerinin karşılaştırılması verilmiştir.

**TABLO 3: Günlük Diyetle Aynı Oranda C Vitamini Kaynağı Taze Sebze ve Meyve Tüketenler Arasından; Sigara İçen ve İçmeyenlerin Plazma C Vitamini Düzeylerinin Karşılaştırılması**

GRUPLAR	PLAZMA C VİTAMİNİ DÜZEYİ (mg/dL)		
	en az	en çok	ortalama
Sigara İçenler	0.32	1.31	0.70
İçmeyenler	0.74	1.76	1.17

Mann Whitney U Testi uygulanmıştır.  $Z = 2.85$   $P < 0.05$ .

TABLO 4 : Sigara İçenlerde, Diyetleriyle C Vitamini Kaynağı Taze Sebze ve Meyve Alım Düzeyi İle Plazma C Vitamini Düzeyi İlişkisi

SİGARA İÇİN GRUPLAR	PLAZMA C VİTAMİNİ DÜZEYİ (mg/dL)		
	En az	En çok	Ortalama
Taze sebze ve meyveyi az alanlar	0.31	1.31	0.70
Taze meyve ve sebzeyi yeterli alanlar	0.71	1.99	1.40

İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi kullanılmıştır.  $T=7.92$   $P < 0.05$ .

3 gün süreyle hiç taze sebze ve meyve yemeyen iki kişiden sigara içen bir öğrencinin plazma C vitamini düzeyi : 0.24 mg/dL. ve sigara içmeyen bir öğrencinin ise 0.31 mg/dL olarak bulunmuş ve ortalamalara alınmamışlar, sadece 1. tabloda genel değerlendirmeye alınmışlardır. Yine yeterli taze sebze ve meyve yiyen gruptan bir öğrencinin plazma C vitamini düzeyi, 2.36 mg/dL gibi çok yüksek bir değerde bulunmuş ve ortalamalara alınmamış, sadece 1. tabloda genel değerlendirmeye alınmıştır.

## TARTIŞMA

Tablo 1'de görüldüğü gibi, plazma C vitamini düzeyi yönünden günde 21 veya daha çok sigara içen 6. grup ile tüm gruplar arasında fark önemli bulunmuştur. Yani günde 21 veya üzerinde sigara içen grubun plazma C vitamini düzeyi diğer tüm gruplardan anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Diğer yandan 5. grup ile 3. grup arasında fark da önemli bulunmuştur. Yani günde 16–20 sigara içen grubun plazma C vitamini düzeyi 6–10 sigara içen gruptan anlamlı ölçüde düşüktür.

C vitamininin plazma düzeyi 0.75 mg/dL nin altına inince (I. derecede C vitamini eksikliği) C vitamini yetersizliğinin hafif spesifik olmayan, direnç azalması gibi belirtileri başlamaktadır. C vitamininin düzeyi 0.40 mg/dL nin altına inince (II. derecede C vitamini eksikliği) sıkıntı şeklindeki psikolojik sorunlar artmakta 0.20 mg/dL nin altına inince (III. derecede C vitamini eksikliği) skorbut oluşmaktadır (1).

Tablo 2'de görüldüğü gibi araştırmamızda hiç sigara içmeyen 1. grupta; 1 kişi yetersiz, 1 kişi yeterli, 8 kişi de az düzeyde diyetleriyle taze sebze ve meyve almaktadırlar. Bu gruptan 1 kişi de (% 10) I. derecede, 1 kişide de (% 10) II. derecede C vitamini eksikliği tespit edilmiştir. (Bu tarzda bir değerlendirme için, rakamlar küçük olduğundan herhangi bir istatistik yöntem uygulanamamıştır).

Günde 5 veya altında sigara içen 2. grupta; 4 kişi yeterli düzeyde, 6 kişi az düzeyde, taze sebze ve meyve almaktadırlar. Bu gruptan 2 kişi de (% 20) I. derecede C vitamini eksikliği tespit edilmiştir.

Günde 6–10 sigara içen 3. grupta; 6 kişi yeterli, 4 kişi de az düzeyde, taze sebze ve meyve almaktadır. Bu gruptan 1 kişide (% 10) I. derecede C vitamini eksikliği tespit edilmiştir.

Günde 11–15 sigara içen 4. grupta durum aynen 3. grupta olduğu gibidir.

Günde 16–20 sigara içen 5. grupta; 3 kişi yeterli, 7 kişi az düzeyde, taze sebze ve meyve almaktadır. Bu gruptan 2 kişide (% 20) I. derecede, 1 kişide II. derecede C vitamini eksikliği tespit edilmiştir.

Günde 21 veya üzerinde sigara içen 6. grupta; 1 kişi yeterli, 1 kişi yetersiz, 8 kişi de az düzeyde taze sebze ve meyve almaktadır. Bu gruptan 4 kişide (% 40) I. derecede, 6 (% 60) kişide II. derecede C vitamini eksikliği tespit edilmiştir.

Plazma C vitamini düzeyi 8 öğrencide 0.4 mg/dL altında bulunmuştur. Bunlardan sigara içmeyen 1 öğrencide (C vitamini yetersiz almaktadır) ve içen 7 öğrencide depresyon v.b. belirtiler saptanmıştır. Yani sigara plazma C vitamini düzeyini düşürerek depresyon v.b. gibi psikolojik durumların oluşmasında etkili olduğu izlenimi edinilmiştir. Bu bulgu literatürlerde belirtilen görüşleri destekler niteliktedir (1).

Tablo 3'de görüldüğü gibi günlük diyetle aynı oranda C vitamini alan sigara içen ve içmeyenlerin plazma C vitamini düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Yani sigara içenlerde, içmeyenlere göre plazma C vitamini düzeyi daha fazla düşmektedir. Bu bulguda daha başka yerlerde yapılan araştırma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (3, 4, 5, 6).

Tablo 4'de görüldüğü gibi, sigara içenlerde taze sebze–meyve alım düzeylerine göre plazma C vitamini düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Yani sigara içenlerden yeterli C vitamini kaynağı taze sebze ve meyve alanların plazma C vitamini düzeyleri C vitamini az alan gruptan önemli oranda yüksek bulunmuştur.

C vitaminin günde doğal gıdalarla 50–75 mg alınması yeterlidir (1, 2). Sigara içenler doğal gıdalarla 2 misli fazla C vitamini almalıydılar (1). Preparat olarak aşırı C vitamini almaları önerilmez. Örneğin 0.5 gr. C vitamini verilmesinin B 12 vitamininin biyoyararlılığının azalmasına neden olduğu belirtilmiştir (2).

Ayrıca C vitamininin preparat olarak yüksek dozlarda alınması kan ve idrar PH'sını değiştirmekte, okzalat atılımını artırmakta ve vücutta çeşitli olumsuz etkilere yol açmaktadır (1, 10).

Ayrıca C vitamini alımı artınca emilim düzeyi azaldığından aşırı alınmasının da bir yararı yoktur. Günlük alınan 130 mg C vitamini vücuttaki C vitamini miktarını en üst doymuşluk düzeyinde tutabilmektedir.

Araştırmamızı yürütürken sigara içenlerden (% 26) 13 öğrenci sigarayı bırakmıştır. Bu veri, sigara içen öğrencilere sigaranın somut zararları gösterildiğinde sigaranın belli oranda bırakılabileceğini göstermektedir.

## SONUÇ

Sonuç olarak; sigara içimi plazma C vitamini düzeyini düşürmektedir. Sigara içenler içmeyenlere göre 2 misli fazla C vitamini içeren gıda, tüketmelidirler. Öğrencilere sigaranın somut zararları gösterildiğinde sigaranın belli oranda bırakılabileceği tespit edilmiştir.

Öğrencilere hem sigaranın zararları hem de ellerindeki olanaklarla daha yeterli, dengeli ve sağlıklı beslenebilmeleri konusunda eğitim verilmelidir.

## THE RELATION BETWEEN SMOKING AND PLASMA VITAMIN C LEVELS AMONG UNIVERSITY STUDENTS

Erdal BEŞER

Ayşe BAYSAL

Gönenc CİLİV

### SUMMARY

In this study, plasma vitamin C levels of 60 university students, 50 smokers and 10 non-smokers were investigated. Plasma vitamin C concentration was significantly lower in the smoking group than in the non-smoking group ( $P < 0.05$ ). Plasma vitamin C level was found below 0.40 mg/dL in 8 students. One of the student whose plasma vitamin C concentration below 0.40 mg/dL did not eat any fresh fruits and vegetables within three days (non-smoker). 7 smoker and 1 non-smoker having vitamin C levels below 0.40 mg/dL, showed some psychological symptoms. It may be concluded that smoking decreases plasma vitamin C levels. For this reason smokers should get twice more vitamin C in their diets. Taking vitamin C pills at high dosage was not recommended. During the study, 26 % of the smokers quitted smoking. This may indicate that educating the students about the various hazards of cigarette may stimulate them to quit smoking or prevent them from starting to smoke.

KAYNAKLAR

- 1- Olson, A.J., Hodges, R.E.: Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin C in humans. *Am.J. Clin. Nutr.*, 45: 693-703, 1987.
- 2- Baysal, A., Güneşli, U., Bozkurt, N., Keçeciöğlü, S., Aksoy, M.: *Diyet El Kitabı, Hacettepe Üniversitesi Yayınları /A - 44, s. 42-163.*
- 3- Keith, R.E., et al.: Ascorbic acid status of smoking and non smoking adolescent Females. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 56(4): 363-6, 1986.
- 4- Calder, H.J., Cartis, R.C., Fore, H.: Comparison of vitamin C in plasma and leucocytes of smokers and non-smokers. *The Lancet*, March 9: 556, 1963.
- 5- Mc Clean, H.E., et al.: Vitamin C concentration in plasma and leucocytes of men related to age and smoking habits. *N.Z. Med. J.*, 83: 226-229, 1976.
- 6- Kallner, A.B., Hartmann, D., Hornig, D.H.: On the Requirements of ascorbic acid in man: Steady-state turnover and body pool in smokers. *Am.J.Clin. Nutr.*, 34: 1347-55, 1981.
- 7- Beşer, E.: Üniversite öğrencilerinde sigara içme nedenleri. *A.Ü. Diş Hekimliği Dergisi (Baskıda)*, 15:(1) 1988.
- 8- Denson, W., Bowers, F.E.: The determination of ascorbic acid in white blood cells. *Clin. Sci.* 21: 157-162, 1961.
- 9- Sümbüloğlu, K.: Sağlık bilimlerinde araştırma teknikleri ve istatistik. *Çağ Matbaası-Ankara, 1978.*
- 10- Alsan, S.: Modern ilaç ve tedavi, Türk Tabipler Birliği Ankara Tabip Odası Yayını, TÜBİTAK Fotoğraf Klîşe Laboratuvarı ve Ofset Tesisleri, Cilt 1: 250, 1981.

# KİSTİK HİDATİDOZ TANISINDA İMMÜNOFLORESAN YÖNTEMİN DEĞERİ

Ekrem YILMAZ\*

Hüseyin GÜN\*

Ömer KOCABEYOĞLU \*

Sabri GÜNGÖR \*\*,

İbrahim BAYDAR\*\*\*

Çakır GÜNEY\*\*\*\*

## ÖZET

İndirekt floresan antikor yöntemi günümüzde birçok hastalığın immünolojik tanısında kullanılmaktadır. Yaptığımız bu çalışma indirekt immünofloresan antikor (IFA) yönteminin kistik hidatidoz tanısındaki önemini, İndirekt hemaglutinasyon (IHA) ve counter immunoelectrophoresis (CIE) yöntemleriyle kıyaslayarak değerlendirmeye çalıştık.

Koyun karaclığı kist hidatik skoleksleri, hidatik sıvıdan arındırılarak antijen olarak kullanılmıştır. Hidatidozlu olduğu operasyonla doğrulanmış 42 adet hasta serumu ile yaptığımız bu çalışmada; IFA ile 35 (% 83.3), IHA ile 34 (% 80.9) ve CIE ile 26 (% 61.9) pozitif sonuç elde edilirken, (IFA + CIE), (IFA + IHA), (IHA + CIE) ve (IFA + CIE + IHA) şeklinde uygulanan test kombinasyonlarında ise sırası ile % 88.0, % 92.8, % 88.0 ve % 95.2 gibi daha yüksek oranlarda pozitiflikler elde edilmiştir.

Bu yöntemlerden IFA yönteminin tek başına kistik hidatidoz tanısında diğer yöntemlere göre daha yüksek pozitif sonuç vermesine karşılık, ikili veya üçlü kombinasyonların yapılabilmesi halinde tanıya daha doğru varılabileceği, ancak özellikle yanlış negatiflikler nedeniyle daha duyarlı ve özgül yöntemlere ihtiyaç olduğu kanısındayız.

## GİRİŞ

HIPOCRATES'dan beri bilinen hidatik kistlerinin hayvan doğası ile ilgili olabileceği görüşleri 17.nci yüzyıl sonlarına doğru ortaya atılmıştır. Daha sonra 1863 de B.NAUNIN Almanya'da, K.H.KRABE İzlanda'da, K.M.DIESING Güney Amerika'da, 1885 de A.P.W.THOMAS Avustralya'da insan kist hidatiklerinden aldıkları protoskoleksleri köpeklere yedirerek bunların ince barsaklarında erişkin ekinokokların geliştiğini gösterdiler. Böylece bu parazitin şerit ve kese şekillerinin bir türün iki ayrı gelişim evresine ait şekiller olduğu saptanmış oldu (15).

(\*) GATA ve As.Tıp Fak.Mikrobiyoloji ve Kl.Mik.ABD Yrd.Doç.

(\*\*) GATA ve As.Tıp Fak.Mikrobiyoloji ve Kl.Mik.ABD Bşk.Prof.Dr.

(\*\*\*) GATA ve As.Tıp Fak.Enfek.Hast. ve Kl.Mik.ABD Bşk.Doç.Dr.

(\*\*\*\*) GATA ve As.Tıp Fak.Kan Bankası Uzm.Vet.Hek.

Kistik hidatidoz dünyanın her iklim bölgesinde ve özellikle koyun ve keçi yetiştiren ülkelerde yaygın bir şekilde görülür. Yurdumuzda da hemen her bölgede yaygın bir biçimde bu enfeksiyona rastlamaktayız. Yurdumuzda bu hastalıkla ilgili olarak ötedenberi çeşitle çalışmalar yapılmış ve buna ait 600'den fazla yayın yapılmıştır (15, 16, 19).

İnsanda hastalık *Echinococcus granulosus*'un larvaları ile olmaktadır. İnsan bu parazitin arakonakçıları arasında bulunur ve tesadüfen enfeksiyon zincirine dahil olur. Kistler insan vücudunda başta karaciğer ve akciğerler olmak üzere hemen her organda yerleşebilir.

Hidatidozun özgül bir belirtisi mevcut olmadığı gibi, hastalık kemoterapötik maddelerle de tedavi edilememektedir. Tek tedavi metodu cerrahidir. Bu durum hastalığın tanısında kullanılacak laboratuvar yöntemlerinin güvenilir olmasının önemini artırmaktadır.

*E. granulosus*'un erişkin şeklinin boyu 2.5–5.5 mm eni 0.6 mm kadar olup, skoleks, boyun ve 3–4 halkadan oluşur. Gebe olan son halka parazit boyunun yarısı kadardır ve 200–800 dolayında yumurta içerir. Şeritten kopan son halkanın patlaması ile serbest hale geçen yumurtalar köpek dışkıyla çevreye yayılırlar. Embriyonlu olan bu yumurtaların koyun, sığır gibi memeliler tarafından alınması sonucu bu canlıların değişik organlarında kistler gelişir. İnsanlar enfeksiyon zincirine bu aşamada tesadüfen katılırlar.

Hidatidozda enfekte organizmada etken antijenlerine karşı antikorlar oluşur. Bu antikorların immünolojik metodlarla tesbiti için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler şunlardır :

1. İntradermal yöntem (Casoni cilt testi)
2. Kompleman birleşmesi deneyi (KBD)
3. Aglütinasyon yöntemleri :
  - a. İndirekt hemaglütinasyon (IHA)
  - b. Latex aglütinasyon (LA)
4. Presipitasyon yöntemleri :
  - a. Agar jel diffüzyon (AGD)
  - b. İmmünelektroforez (İEP)
  - c. Karşıt immünelektroforez (Counterimmunoelectrophoresis – CIE)
5. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
6. Radio-Immuno Assay (RIA)
7. İndirekt İmmünofloresan Antikor Testi (IFA)

Çalışmamızda, günümüzde pek çok hastalığın tanısında kullanılmakta olan IFA yöntemini kistik hidatidoz tanımında kullandık. Aynı zamanda IHA ve CIE yöntemlerini de kullanarak bu yöntemlerin sonuçlarını kıyasladık. Çalışmamızda kullandığımız test serumları, GATA Cerrahi Kliniklerine yatarak operasyonla hidatidozlu oldukları doğrulanmış hastalardan alınmıştır.



## GEREÇ ve YÖNTEM

GATA ve Askeri Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Kliniklerinde 1983-1986 yılları arasında ameliyat edilerek hidatidozlu oldukları saptanan 42 hastadan alınan serumlar % 0.01 sodyum azid ilave edilerek testler uygulanıncaya kadar  $-20^{\circ}$  C de saklandı. IFA yönteminin özgüllüğünü kontrol etmek üzere 25 sağlıklı kişiden alınan kan serumları da kontrol grubunu oluşturdu ve bu serumlar da aynı şartlarda saklandı. Yine hastalığı operasyonla doğrulanmış hastalardan elde edilen ve yapılan CIE testinde pozitif ve IHA testinde ise 1/4096 ve daha yüksek titrede pozitif bulunan hasta serumları ise pozitif kontrol serum olarak kullanıldı.

Antijen olarak koyun karaciğerlerinden fertil olan skoleksli kist sıvıları kullanıldı. Enjektörle aspire edilerek steril bir balonda toplanan kist sıvıları 1000 devir/dk. hızla 5 dakika santrifüje edildi. 3 kez serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra tekrar santrifüje edilerek, % 10 formol solüsyonunda mililitrede 4000-8000 skoleks olacak şekilde sediment sulandırıldı. Daha sonra alkol-eter karışımında bir gece bekletilerek iyice temizlenmiş ve kurutulmuş lamlar üzerine eşit aralıklarla 3 damla damlatıldı. 0.5 cm. çapında yayılarak oda ısısında kurutuldu ve testte kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}$  C'de saklandı.

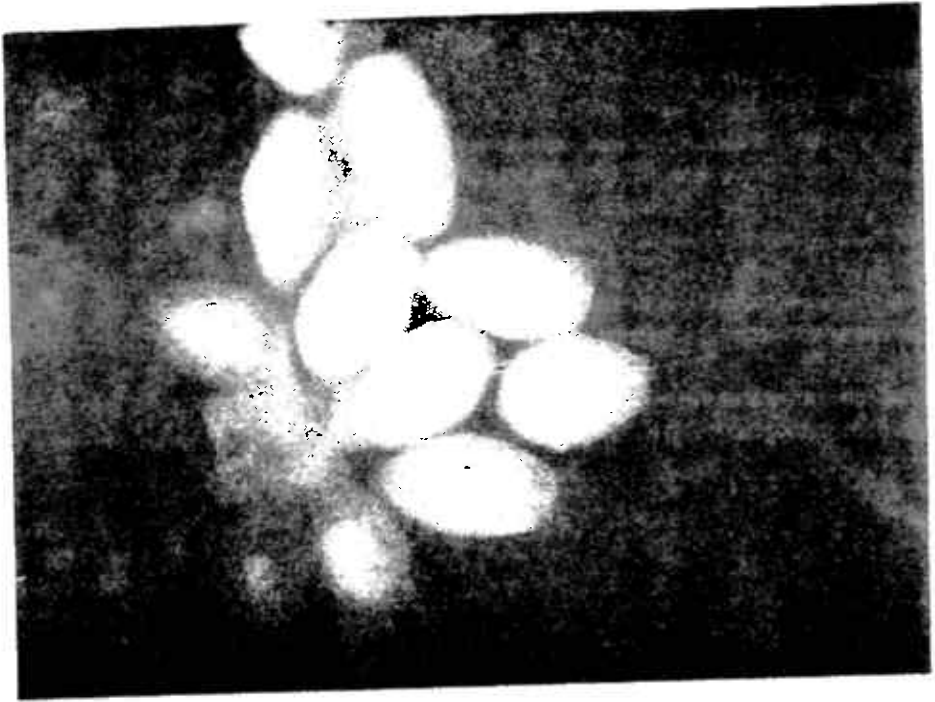
CIE yöntemi için skoleks içeren fertil kist sıvıları ultrasonik vibratörde 2 saat süre ile işleme alınıp skoleksler parçalandı. 2500 devir/dk. da 5 dakika süre ile santrifüje edildi ve süpernatant sıvı 5 ml. iik steril şişelere konuldu. Üzerine % 0.01 sodyum azid ilave edilerek kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}$  C'de saklandı.

Hasta ve kontrol grubu kanlarında kist hidatik antikoriarını saptamak üzere IFA, CIE ve IHA yöntemleri kullanıldı.

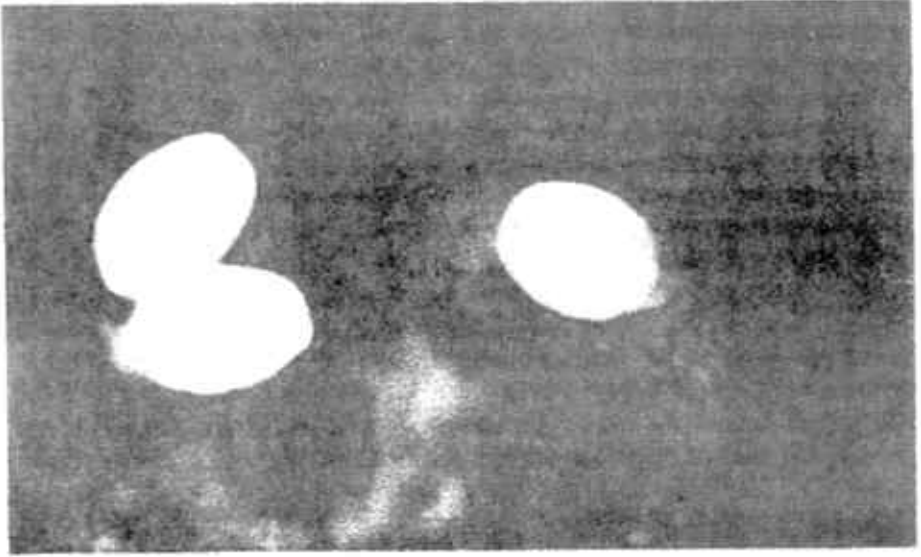
IFA yönteminde; önceden kistli koyun karaciğerlerinden hazırlanan antijenin damlatılmış olduğu lamlar 10 dakika süre ile saf asetonda tesbit edildikten sonra etrafları oje ile çevrilip küçük birer kuyucuk içerisine alındılar. Üzerlerinde PBS (fosfat buffer solüsyonu - PH : 7.2) ile 1/8, 1/16.....1/2048 dilüsyonlarda olacak şekilde hasta serumları ve aynı zamanda pozitif ve negatif kontrol serumlarının 1/8 dilüsyonları konuldu. Rutubetli ortamda ve  $37^{\circ}$  C'lik etüvde 30 dakika inkübasyondan sonra bir magnetik çalkalayıcı yardımı ile PBS eriyiğinde 3 kez 5'er dakika süre ile yıkandı. Daha sonra fluorescein ile işaretli anti-human globulin ile (1/20) reaksiyona bırakılan lamlar PBS ile tekrar yıkama işlemine tabi tutuldu. En az 1 saatlik son yıkamadan sonra 1/10.000 Evans-blue eriyiği ile karşıt boyama yapıldı. Yeniden yıkanan preparatlar üzerine kaplama solüsyonu (9 kısım gliserol, 1 kısım PBS) ile kaplanarak Standard-Zeiss floresan mikroskopunda incelemeye alındı. Değerlendirmede mikroskopun BG-2 (exciter) ve 50/44 (barrier) filtreleri kullanıldı. Negatif preparatlarda skolekslerin çevresinin ya da tamamının kırmızıya boyandığı (Şekil 1), pozitif preparatlarda ise skolekslerin çevresinin veya tamamının sarı-yeşil floresans verdiği (Şekil 2) gözlemlendi.

IFA yönteminde Cellognost–Echinococcus (Behringwerke) IFA kiti kullanıldı. Çukurlu mikrotirasyon plaklarına antijen kontrolü, pozitif ve negatif kontrol serumları ve hasta serumları uygun miktarlarda konulup üzerlerine ilave edilen antijenle oda ısısında 2 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. Kuyucukların dip kısmında yaygın ve kenarları düzgün olmayan çöküntüler pozitif, nokta ya da yüziik şeklinde kenarları düzgün çöküntüler ise negatif olarak değerlendirildi. (Şekil 3).

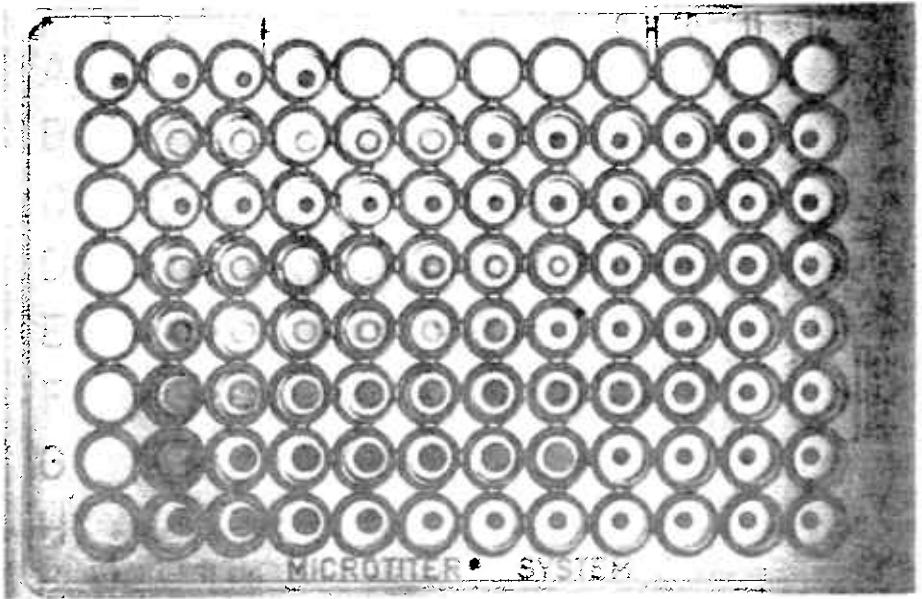
CIE yönteminde ise % 1'lik agar jeli kaplı plaklarda karşılıklı olarak açılan kuyucuklara katod tarafına antijen, anod tarafına ise hasta serumları gelecek şekilde gerekli materyal 25 mikrolitre miktarlarında pipetle konuldu. Güç kaynağına yerleştirildikten sonra 30 mA akımda 90 dakika süre ile elektroforeze tabi tutuldu. Kuyucuklar arasında meydana gelen presipitasyon bantları görüldüğünde sonuçlar pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 4).



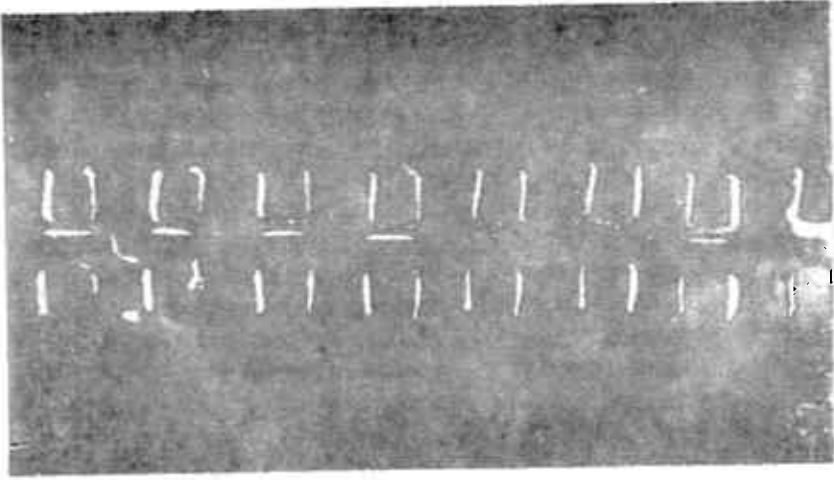
Şekil 1 : IFA yöntem— ile kist hidatik antikorları Negatifliği (x 125)  
(Kendi çalışmalarımızdan)



Şekil 2 : IFA yöntemi ile kist hidatik antikorları pozitifliği (x 125)  
(Kendi Çalışmalarımızdan)



Şekil 3 : IHA yönteminde pozitif ve negatif reaksiyonlar  
(Kendi çalışmalarımızdan)



Şekil 4 : CIE yönteminde oluşan presipitasyon bandları  
(Kendi çalışmalarımızdan)

## BULGULAR

IFA yöntemi ile yaptığımız çalışmada, operasyon sonucunda hidatidozlu olduğu doğrulanmış 42 hastaya ait serumdan 35'inde 1/8 ile 1/512 arasında değişen titrelerde pozitif sonuçlar alındı. 7 hastaya ait serumda ise negatif sonuç bulundu. İHA yönteminde 42 hasta serumundan 34'ünde 1/32 ile 1/4096 arasında değişen titrelerde pozitiflik, 8. hasta serumunda ise negatiflik saptandı.

CIE yönteminde ise 42 hasta serumundan 26'sında pozitif, 16'sında ise negatif sonuç alındı (TABLO I).

TABLO I : 42 Hasta serum ve 25 Kontrol Grubunda İFA, İHA ve CIE yöntemleri ile edilen pozitiflik oranları.

YÖNTEM	Çalışılan Serum Sayısı	Pozitif Serum Sayısı	Negatif Serum Sayısı	Kontrol Grubu	
				Pozitif	Negatif
İFA	42	35 (% 83.3)	7 (% 16.7)	–	25(%100)
İHA	42	34 (% 80.9)	8 (% 19.1)	–	25(%100)
CIE	42	26 (% 61.9)	16 (% 38.1)	–	25(%100)

Aynı hasta serumunda iki ya da üç yöntemin kombinasyonu şeklinde uygulanması ile elde edilen pozitiflik oranları ise TABLO II'de görülmektedir.

TABLO II : Yöntem kombinasyonları ile elde edilen pozitiflik oranları

YÖNTEMLER	IFA		IFA		İHA		İHA	
	IFA	İHA	CIE	İHA	CIE	CIE	CIE	CIE
Pozitiflik								
Yüzdesi	83.3	80.9	61.9	92.8	88.0	88.0	95.2	
Çalışanlar								
Serum sayısı	42	42	42	42	42	42	42	
Kontrol								
Serum sayısı	25	—	—	—	—	—	—	

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Hidatik kistlerin vücuttan yerleşimi organa özel olmadığı gibi, hastalığın spesifik bir klinik belirtisi de yoktur. Kemoterapötiklerle tedavi edilemeyen bu hastalıkta cerrahi müdahale tek tedavi çaresidir. Bu durum operasyon öncesi kesin tanı konulmasını son derece önemli hale getirmektedir.

Radyolojik, ultrasonografik, sintigrafik ve fizik muayenelerden tanıda şüphesiz ki yararlanılmaktadır. Ancak buna rağmen tanının immünolojik yöntemlerle desteklenmesine her zaman ihtiyaç vardır. Ayrıca immünolojik yöntemler diğerlerine göre daha da ekonomik yöntemlerdir. Bu durum immünolojik yöntemlerin değerini arttırmaktadır. Ancak ne yazık ki bugüne kadar % 100 oranında doğru sonuç veren bir serolojik yöntem henüz geliştirilmiş değildir.

Diğer taraftan testlerde kullanılan antijenin seçimi de dahil olmak üzere birçok faktör kullanılan yöntemin duyarlılığı ve özgüllüğünü etkilemektedir. Hidatidozun immünolojik tanımında en çok kullanılan antijen kistlerden elde edilen hidatik sıvıdır. Bu sıvı değişik maddelerin karışımı olup içerdiği karbonhidrat ve proteinlerin bir kısmı muhtemelen konak canlıdan gelmektedir (7, 18).

Hidatik kistlerin doku ve skoleks ekstrelerinden elde edilen antijenler ise daha yüksek oranda özgüllük gösterirler (1, 3, 7, 9). İnsan, siğir ve koyun hidatik kistlerinden elde edilen antijenlerin özellikleri incelenmiş ve koyun kistlerinden elde edilen antijenlerin serolojik testlerde kullanılabilir nitelikte olduğu saptanmıştır (16, 21).

IFA yöntemi 1963–1964 yıllarında AZEVEDO ve ROMBERT tarafından hidatidoz tanısında uygulanmaya başlanmış ve daha sonra da pek çok araştırmacı tarafından kullanılarak duyarlı bir yöntem olduğu belirtilmiştir. (2, 3, 5, 6, 7, 8, 12, 13, 17, 18, 21).

Operasyonla tanısı doğrulanmış olgularda IFA yöntemi ile % 65–100 arasında değişen oranlarda pozitif sonuçlar elde edilmiştir (TABLO—III).

TABLO III : 1964–1985 Yılları Arasında Yapılan Çeşitli Araştırmalarda IFA Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar.

KAYNAKLAR	YIL	POZİTİFLİK YÜZDESİ
Praga De Azevedo ve Rombert 8	1964	% 100
Pozzuoli, Costanzi, Deiana ve Tamburini 8	1965	% 100
Sorice, Castagnari ve Tolu 8	1966	% 92
Fischman 6	1968	% 81.5
Capron 5	1970	% 88
Gore 7	1970	% 82–87
Matosian 13	1975	% 68–96
Ambroisse 3	1976	% 94
Lapierre 11	1980	% 65–89–100
Speiser 20	1980	% 65
Sermet 10	1980	% 69.5
Kuman 10	1980	% 93–75
Altıntaş 2	1985	% 97.7

CAPRON, operasyonla doğrulanmış 50 olguda % 88 oranında ve 1/10–1/1280 arasında değişen titrelerde pozitif sonuç aldığını bildirmiştir (5).

MATOSIAN, Karaciğer kist hidatiklerinde IFA yöntemi ile % 96, akciğer kist hidatiklerinde ise % 68 oranında pozitiflik elde ettiğini bildirmektedir. 13.

LAPIERRE ve arkadaşları IFA yöntemini kemik, karaciğer ve akciğer kist hidatiklerinde uygulamışlar ve kemik kist hidatiklerinde % 100, karaciğer kist hidatiğinde % 89 ve akciğer kist hidatiğinde ise % 65 oranında pozitif sonuç bulmuşlardır (11).

Biz yaptığımız bu çalışmada, hidatidozlu olduğu operasyonla doğrulanmış 42 olguda IFA yöntemi ile % 83.3 oranında değişen titrelerde pozitiflik saptadık. Kontrol grubunu oluşturan 25 serum örneğinde ise 1/8 ve daha yukarı titrelerde pozitiflik saptanmadı.

Elde ettiğimiz sonuçlar kaynak bilgilerde belirtilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir (2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 20, 21)

Yöntemin duyarlılığındaki farklılıklar, kistin lokalize olduğu organla, antijenin elde edildiği konak canlı ile ilgili olabileceği gibi, sonuçların değerlendirilmesindeki kişisel farklılıklara bağlı olabilir.

IHA yöntemi 1957 yılında GARABEDIAN ve arkadaşları tarafından hidatidoz tanısında kullanılmaya başlanmış ve daha sonraki yıllarda yaygın bir biçimde günümüze kadar bu alanda kullanılagelmiştir. IHA yönteminin duyarlılığı çeşitli

çalışmalara göre % 66 ile % 100 arasında değişmektedir. Bu yöntemle yaptığımız çalışmada hidatidozlu olduğu operasyonla doğrulanmış 42 olguda % 80.9 oranında ve 1/32 ile 1/4096 arasında değişen titrelerde pozitif sonuç elde ettik.

CIE yöntemi ile hidatidozlu oldukları operasyonla doğrulanmış olgularda % 47 ile % 100 arasında değişen pozitiflikler bildirilmektedir (10, 20). Bu yöntemle bizim aldığımız sonuç ise % 61.9'dur.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların biyoistatistiksel değerlendirilmesi TABLO-IV'da görülmektedir.

TABLO IV : Hidatidozlu oldukları operasyonla doğrulanmış 42 olguda IFA, IHA ve CIE yöntemleri ile üç testin kombinasyonu ile elde edilen sonuçların 25 kişilik kontrol grubuna göre biyoistatistiksel değerlendirilmesi.

SEROLOJİK YÖNTEM	POZİTİF SERUM	POZİTİFLİK YÜZDESİ	BİYOİSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	
IFA	35	83.3	$t_1=0.1852$	$P_1 0.05$
IHA	34	80.9	$t_2=2.2650$	$P_2 0.001$
CIE	26	61.9	$t_3=1.9708$	$P_3 0.05$
IFA+IHA+CIE	40	95.2	$t_4=1.6432$	$P_4 0.05$

Sonuç olarak, IFA yönteminin IHA ve CIE yöntemlerine nazaran daha duyarlı olduğu çeşitli araştırma gruplarıncı da doğrulanmıştır. Ancak hastalığın tanısında ikili veya üçlü test kombinasyonlarının imkanlar ölçüsünde kullanılmasının daha doğru karar vermede etkin olacağına inanmaktayız.

## THE VALUE OF INDIRECT IMMUNOFLOUORESCENT ANTIBODY TEST IN THE DIAGNOSIS OF CYSTIC HYDATIDOSIS

Ekram YILMAZ  
Sabri GÜNGÖR

Hüseyin GÜN  
İbrahim BAYDAR

Ömer KOCABEYOĞLU  
Çakır GÜNEY

### SUMMARY

In this study we tried to evaluate the importance of indirect immunofluorescent antibody test (IFA) in the diagnosis of cystic hydatidosis comparing with indirect hemagglutination (IHA) and counter-immunoelectrophoresis (CIE) techniques.

We used sheep liver cyst hydatid scolices which were obtained from hydatid fluid as antigen. IFA, IHA and CIE techniques were performed in the sera of 42 patients with hydatid disease confirmed by surgery and positivity rates were % 83.3 (35/42) with IFA, % 80.9 (34/42) with IHA and % 61.9 (26/42) with CIE. Where as the positivity rates were higher with some test combination such as (IFA + CIE), (IHA + CIE), (IFA + IHA) and (IFA + IHA + CIE). The results were % 88.0, % 88.0, % 92.8 and % 95.2 respectively.

However IFA test gave a higher positivity rate than the other techniques. We believe that using two or three test combinations will be more reliable in the diagnosis of cystic hydatidosis.

### KAYNAKLAR

- 1- ABRANTES,P.,AVILA,R.: Scolex Antigens in the Laboratory Diagnosis of Hydatid Disease. *Lancet* 24: 432-433, 1969.
- 2- ALTINTAŞ,N.: Kist Hidatik ve İç Organlar Larva Göçü Hastalıklarında İmmünolojik Tanı Yöntemleri ve Değerleri. E.Ü.Tıp Fak.Parazitol.B.D. Doktora Tezi İzmir, 1985.
- 3- AMBROISE-THOMAS,P.: Immunofluorescence in the Diagnosis, Therapeutic Follow-Up and Sero-Epidemiological Studies of Some Parasitic Diseases. *Trans.R. Soc.Med.Hyg.* 70 (2) : 107-112, 1976.
- 4- BRADSTREET,PATRICIA, C.M.: A Study of Two Immunological Tests in the Diagnosis and Prognosis of Hydatid Disease. *Ö.Med.Micrrobiol.* 2.: 419-433, 1969.



- 5- CAPRON, A., YARZABAL, L. VERNES, A., FRUIT, J.: Le Diagnostic Immunologique de L'echinococcose Humain. *Pathol. Biol.* 18 : 357-365, 1970.
- 6- FISCHMAN, A.: A New Whole-Scolex Complement-Fixation Test for Hydatid Disease. *Bull. W.H.O.* 39-43, 1968.
- 7- CORE, R. W., SADUN, E. H., HOFF, R.: Echinococcus granulosus and E. multilocularis : Soluble Antigen Fluorescent Antibody Test. *Exp. Parasitol.* 28: 272-279, 1972.
- 8- KAGAN, I. G.: A Review of Serological Test for the Diagnosis of Hydatid Disease. *Bull. W.H.O.*, 39: 25-37, 1968.
- 9- KAGAN, I. G., AGOSIN, M.: Echinococcus Antigens. *Bull. W.H.O.* 39: 13-24, 1968.
- 10- KUMAN, A.: Paraziter Hepatomegaliler, E.Ü.Tıp Fak.Parazitolojisi, Doç. Tezi 1980.
- 11- LAPIERRE, J., MORICE, J., CHOCHILLION, C., ANCELIE, T., TOURTE SCHAFFER, C.: Diagnostic Immunologique de L'echinococcose. *Nou. Presse Med.*, 9 (14): 1013-1016, 1980.
- 12- MATOSSIAN, R. M., KANE, G. J., CHANTLER, S. M., BATTY, I. SARHADIAN, H.: The Specific Immunoglobulin in Hydatid Disease. *Immunology*, 22: 423-430, 1972
- 13- MATOSSIAN, R. M., ARAJ, G. F.: Serologic Evidence of the Postoperative Persistence of Hydatid Cysts in Man. *J. Hyg.*, 75: 333-340, 1975.
- 14- MERDİVENÇİ, A.: Türkiye'de Kist Hidatik Hastalığı. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları, No: 136. Hilal Matbaacılık, 1976, İstanbul.
- 15- MERDİVENÇİ, A., AYDINOĞLU, K.: Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı) İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları No: 97, Fatih Gençlik Matbaası, 1982, İstanbul.
- 16- MUSIANI, R., PIANTELLI, M., LAURIOLA, L., ARRU, E., POZZUOLI, R.: Echinococcus granulosus: Specific quantification of the Two Most Immunoreactive Antigens in Hydatid Fluid. *J. Clin. Pathol.*, 31: 475-475, 1978.
- 17- ÖGÜTMAN, R.: Hidatidoz Tanımında Serolojik Metodlar. Türkiye'de Ekinokokoz Problemi Simpozyumu. 1-3 Kasım Erzurum, 1974, 57-62.
- 18- ÖZCEL, M. A.: İmmüno Floresans ve Parazitolojide Uygulanması. E.Ü. Tıp Fak. Yayınları No: 108, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova-İzmir, 1978 146-151.
- 19- SAĞLAM, M., GÜNGÖR, S., GÜMRÜKÇÜ, E., KORAL, Y.: Kistik Hidatidoz Tanımında Kullanılan Çeşitli Serolojik Yöntemlerin Değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 43: 2, 1-9, 1986.
- 20- SERMET, İ.: İnsan Kist Hidatik Olgularında Operasyondan Önce ve Sonra Serum Antikorları Düzeyinin Saptanması ve Uygulanan Yöntemlerin Değerlendirilmesi. E.Ü. Tıp Fak. Parazitolojisi Doçentlik Tezi, İzmir, 1980.

- 21- SPEISER,F.: Application of the Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Diagnosis of Filariasis and Echinococcosis. Tropenmed. Parasit. 31: 459-466, 1980.
- 22- VARELA-DIAZ,V.M., COLTORTI,E.A., D'ALESSANDRO: Immuno-electrophoresis Test Showing Echinococcus vogeli and Cysticerosis-Multiple Myeloma. Am.J.Trop.Med.Hyg., 27(3): 553-557, 1978.
- 23- YARBAZAL,L.A., DUPAS,H.BOUT,D., CAPRON,A.: Echinococcus granulosus. Distribution of Hydatid Fluid Antigens in Tissues of The Larval Stage. I. Localization of the Specific Antigen of Hydatid Fluid (Antigen 5). Exp.Parasitol 40: 391-369, 1976.
- 24- YARZABAL,L.A., DUPAS,H.BOUT,D., NAOIRA,F.,CAPRON,A.: Echinococcus granulosus: The Distribution of Hydatid Fluid Antigens in the Tissues of Larval Stage. II. Localization of the Thermostable Lipoprotein of Parasitic Origin (Antigen B), Exp.Parasitol. 42: 115-120, 1977.

# ÜLKEMİZDEKİ HALOTHAN PREPARATLARININ USP'DE ÖNGÖRÜLEN GEÇİRGENLİK TESTİNE UYGUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

Pınar BULUT \*

Ü.Yaşar HEKİMOĞLU \*

## ÖZET

Bu çalışmada sıkı kapatılmış kaplara konması gereken halothan kaplarının USP'ye göre sıkı kapatılmış sınıfına girip girmedikleri test edilmiştir. Ayrıca içinde halothan bulunan kapların hacim azalması takip edilmiştir. Sonuçta 3 firmanın ambalajlarının sıkı kapatılmış sınıfına girdikleri ve hacim azalmasının yılda % 0.9 – 2.6 arasında olduğu bulunmuştur.

## GİRİŞ

Halothan inhalasyon anesteziği olarak cerrahide sık sık kullanılan bir maddedir. Kapalı formülü  $C_2HBrClF_3$  (2-bromo,2-klorotrifloro etan) olup, molekül ağırlığı 197.39'dur (1). Halothanın kaynama derecesi  $50.2^{\circ}C$  derece olup, USP'ye göre % 0.008–0.012 oranında timol ile stabilize edilir. Preparat için saklama şartı olarak USP'de sıkıca kapalı, ışığa rezistan tercihan NP tip cam şişede (toz etme deneyi ile hidrolitik dayanımı en çok 15 ml 0.02 N sülfirik asit olan soda-kireç camından yapılmış non-parenteral preparatlarda kullanılan cam kap), aşırı sıcaktan korunarak saklanması, BP'de ise iyi kapatılmış kaplarda ışıktan korunarak  $25^{\circ}C$  dereceyi aşmayan sıcaklıkta saklanması öngörülmüştür (2,3).

USP'ye göre kaplar ışığa rezistan, iyi kapatılmış, sıkı kapatılmış, hermetik kapatılmış, tek birim içeren, çok birim içeren, tek dozluk, çok dozluk gibi çeşitli sınıflara ayrılmıştır. Ancak kantitatif bir ölçü sadece ışığa rezistan, iyi kapatılmış ve sıkı kapatılmış kaplar için verilmiş olup, konumuza giren sıkı kapatılmış kaplar için USP'de verilen geçirgenlik testi sonucunda öngörülen su buharı geçirgenliği değeri litrede gün başına 100 mg'dir. Aynı test sonucunda iyi kapatılmış kaplar için öngörülen değer ise 2000 mg/gün.litre'dir.

---

(\* ) Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, İlaç ve Kozmetik Araştırma Müdürlüğü, Araştırma Laboratuvarı. Ecz.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız ülkemizde halothan üreten 3 firmanın preparatları üzerinde uygulanmıştır. Ayrıca aynı firmalar imalatta kullandıkları şişelere USP'de belirtildiği şekilde halothan yerine 4 mesh büyüklüğünde susuz kalsiyum klorür koymuş ve kendi makinalarında kapattıktan sonra numuneler tarafımızdan teste alınmıştır.

Testte kullanılan iklim dolabı Heraeus marka, VTRK 150 model olup sıcaklık hassasiyeti 0.1 C derece, nem hassasiyeti % 1'dir.

Terazi ise Bosch marka S 2000 model olup, tartım hassasiyeti 0.1 mg'dır.

İçinde kalsiyum klorür bulunan şişeler USP'ye göre 14 gün 20°C derece ve % 75 bağıl neme ayarlanmış iklim dolabında bekletilmiş ve sürenin sonunda tartılarak başlangıç ağırlığına nazaran ağırlık artışı bulunmuştur. Ağırlık artışı, aynı koşullarda hazırlanmış ve bekletilmiş içinde cam boncuk bulunan 2 numunenin ağırlık farkları ortalamasına göre düzeltilerek aşağıdaki bağıntıya göre su buharı geçirgenliği litrede gün olarak bulunmuştur.

$$\text{Su buharı geçirgenliği (mg)} = \frac{A - B}{V \cdot 14} * 1000$$

A – Numunenin ağırlık farkı, mg

B – Cam boncuk bulunan 2 numunenin ağırlık farkı ortalaması, mg

V – Şişenin hacmi, ml

Ayrıca içinde halothan bulunan numuneler dolap içinde ışıktan korunarak çalışma odası sıcaklığında bekletilmiş ve zaman zaman tartılarak ağırlık azalışı takip edilmiştir. Süre sonundaki ağırlık farkı, cam boncuk bulunan şişelerin ağırlık farkı ortalamasına göre düzeltilmiş ve bulunan miktar halothanın yaklaşık 1.87 olan dansitesine bölünerek uçan halothan hacmi bulunmuştur. Daha sonra uçan miktar 50 ml halothan hacmine göre oranlanarak bekletilen süredeki % azalma tespit edilmiştir. Bu miktardan yıllık azalma miktarına geçilmiştir.

## BULGULAR

1– İçinde kalsiyum klorür bulunan 10'ar numunenin USP'ye göre yapılan testteki ağırlık artışı ve su buharı geçirgenliği Tablo 1'de gösterilmiştir.

**TABLO 1 : USP testine göre su buharı geçirgenliği**

Firma	Ağırlık artışı ± SH (mg)	Su buharı geçirgenliği (mg/ gün.litre)
A	0.98 ± 0.16	1.4
B	3.20 ± 0.21	6.0
C	1.65 ± 0.11	2.5

Not: Her seride 4 adet numune kullanılmıştır. Her serinin ortalaması ve standart hatası hesaplanmıştır.

**TABLO 2 : Üç seri için kapakların ortalaması ve standart hatası**

Seri	Boyut	Yükseklik	Ağırlık artışı ± SH	Su buharı geçirgenliği
A	4	14	1134 ± 497	1.3
B	2	16	1993 ± 552	1.6
C	4	16	1122 ± 435	0.9
C	4	16	3081 ± 221	2.6

3- C firmasının 2 serisindeki numuneler arasındaki farklılığa yorum getirmek amacıyla, numunelerin şişe ve kapak boyutları kumpasla ölçülmüştür. Ancak Tablo 3'teki verilere göre sıhhatli yorum yapma olanağı bulunamamıştır. Sadece kapakların A boyutundaki farklılık biraz dikkati çeker mahiyettedir.

**TABLO 3 : Şişe ağzı ve kapakların ortalama boyutları (mm) (Değerler standard hatasıyla birlikte verilmiştir ). (\*)**

	Şişe ağzı		Kapak	
	A	B	A	B
1. SERİ	192.9 ± 0.6	212 ± 0.5	207.8 ± 0.7	218 ± 0.9
2. SERİ	192.0 ± 0.4	211.3 ± 0.5	211.5 ± 1.2	218.4 ± 0.5

(\*) A boyutu ağız ve kapağın vida içlerinden, B boyutu vida üstlerinden ölçülmüştür.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışma bulgularından görüldüğü üzere ülkemizde halothan üreten her 3 firmanın halothan ambalajları USP'nin sıkı kapatılmış sınıfına girmektedir. Halothan uçmasından doğan yıllık hacim azalması ise en fazla C firmasının 2. serisinde bulunmuştur. Dikkati çeken bir husus bu oranın aynı firmanın diğer serideki numunelerine nazaran yaklaşık 3 kat fazla olmasıdır. Bu husus muhtemelen şişe ağzı ile kapağın uyumundan kaynaklanabilir. Kanımızca firmaların kalite kontrol bölümlerinde ambalaj malzemesinin boyutları sıkıca kontrol edildiğinde bu gibi farklılıklar azalabilir. Ayrıca gene üretimden sonra preparatın hemen satışa arz edilmeyip, kalite kontrol bölümünce alınan numunelerin 3 ay gözlenip tartılarak hacim azalmasının tespitinden sonra, hacim azalması makul seviyede bulunduktan sonra salıverme işleminin yapılması düşünülebilecek bir tedbirdir. Ancak bu tedbirlere rağmen genede aynı serideki bazı numuneler hatalı kapatma işleminden dolayı bu yönden kusurlu olabilecektir.

Bilhassa hastane eczacılarını ilgilendiren bir husus olarak, halothanın 25°C derecenin altında, hatta mümkün olduğu kadar serin bir yerde saklanması gerektiği aşikardır. Bu tedbirin kaynama noktası 50°C derece olan halothanın saklanması zaruri olduğu, ayrıca depoya ilk giren ilk çıkar kuralıyla beraber zaman zaman eczacı tarafından şişe muhteviyatlarının gözlenmesinin yerinde olacağı kanısındayız.

THE INVESTIGATION OF SUITABILITY TO PERMEABILITY  
TEST GIVEN AT USP OF HALOTHAN PREPARATIONS  
IN TURKEY

Pınar BULUT

Ü.Yaşar HEKİMOĞLU

## SUMMARY

In this study, the halothan containers which have to be pack in the tight closed containers have been tested in order to find if they are in the class of tight closed ones according to USP. In addition to this, the decrease of the volume of the containers which have halothan inside have been observed. Consequently the packages of all of the three firms have been admitted to belong to the tight closed containers class and it has been found that the decrease of the volume is 0.9 – 2.6 percent per year.

## KAYNAKLAR

- 1- Merck Index, X, 1983
- 2- USP XXI, NF XVI, 1985
- 3- BP 1980





# DEĞİŞİK RISK GRUPLARINDA FTA—ABS İLE DOĞRULANAN SİFİLİZ OLGULARI

Tülin TUNCER \*

Mine TUNAOĞLU \*\*

## ÖZET

Bu çalışmamızda risk grupları olarak düşünülen genel ev kadınları, evlenme adayları ve klinik yakınması olan hastalarda sifiliz olguları, standart serolojik (Kolmer, VDRL) ve özgül testlerle (TPHA,FTA—ABS) incelenmiştir.

Çalışmalarımız üç grup halinde ve toplam 1752 serum örneği üzerinde yapılmıştır. 1515 genel ev kadınında 79 (% 5,22), 117 evlenme adayında 3 (% 2,56), 120 klinik yakınmalı hastada ise 66 (% 55) adet FTA—ABS ile doğrulanan sifiliz olgusu bulunmuştur.

Toplam olarak 1752 kişi üzerinde yaptığımız çalışmada 148 (% 8,44) FTA—ABS ile doğrulanan pozitiflik olgusu görülmüştür.

## GİRİŞ

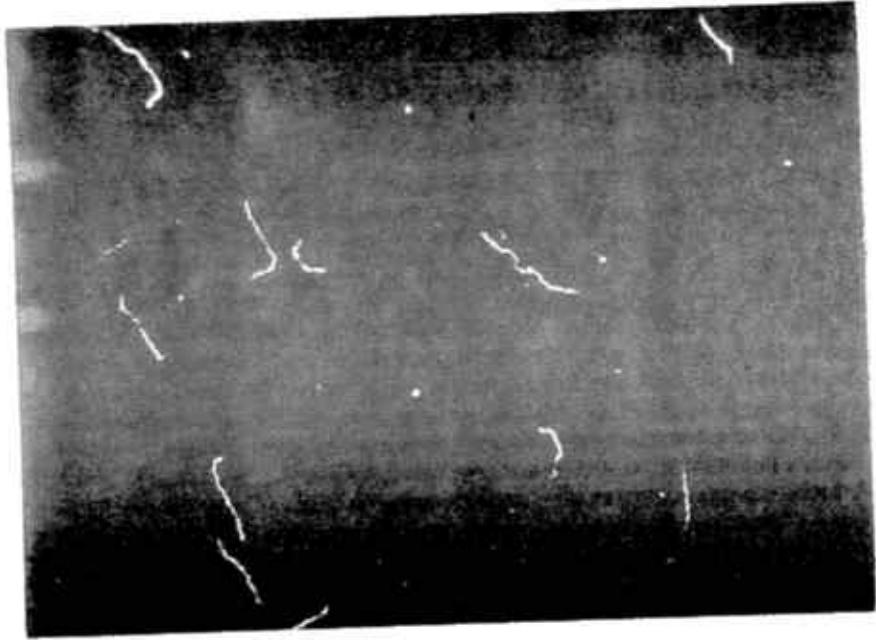
Cinsel başıbozukluğun giderek arttığı şu günlerde buna paralel olarak veneren hastalıklarda da artışlar gözlenmektedir. Bu hastalıklar arasında sosyal ve psikolojik içerikli olması dolayısı ile önemli bir yeri olan Sifilis'in değişik risk gruplarında ve hastalarda tarama ve doğrulama testleri ile teşhisinin yapılarak kesin tanıya gidilmesi gerekmektedir. Tanı yöntemleri içinde VDRL flokülasyon, Kolmer kompleman birleşmesi standart serolojik testlerden olup ilk taramalar için kullanılır. Özgül testlerden FTA—ABS ve TPHA testleri ise doğrulama testleridir. Standart serolojik testlerinin negatif olduğu seronegatif şankr döneminde de pozitif sonuçlar vermesi bu özgül testlerin hem doğrulama hem de erken tanıda en değerli testler olduğunu göstermektedir.

FTA—ABS ve TPHA testleri IgM ve IgG antikorlarını saptamaktadır. Sifiliz enfeksiyonu süresince ilk olumlu reaksiyon veren test FTA—ABS olarak saptanmıştır. Primer şankrın görülmesinden 3—5 gün sonra FTA—ABS testi olumlu sonuç vermektedir (1, 6, 7, 8). Sifiliz tanısında diğer bir özgül test olan TPHA testinin FTA—ABS ile yaklaşık eşit duyarlılıkta olduğu da gösterilmiştir (6).

\* Bakterioloji Uzmanı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürü

\*\* Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bakterioloji Uzmanı

FTA-ABS testi; İndirekt immunofloresans tekniğiyle hasta serumundaki treponemal antikorların varlığını gösteren bir yöntemdir. Antijen olarak obje taşıyıcısı üzerinde kurutulmuş fikse edilmiş ölü Nicols türü *Treponema pallidum* süspansiyonu kullanılır. Bu treponemal süspansiyon üzerine şüpheli hasta serumu ilave edilir. Hasta serumlarındaki non spesifik grup antikorlarını uzaklaştırmak için ultrasonografik olarak fragmente edilen Reiter türü treponemaların ekstraları ile absorbe edilir. Böylece yalancı pozitiflikler en düşük düzeye getirilmiş olur. Daha sonra üzerine florescin ile işaretlenmiş anti-human globulin ilave edilerek treponemalar floresans mikroskopta görülebilir hale getirilir (Şekil 1).



Şekil 1: Floresan mikroskopta *Treponema pallidum*'un görünüşü.

Sifiliz enfeksiyonlarının erken teşhisinde ve biyolojik yalancı pozitif reaksiyon düşünülen durumlarda FTA-ABS ve TPHA testlerinin yapılması ve durumun buna göre değerlendirilmesi gereklidir (1, 9).

Çalışmamız, risk grupları olarak düşünülen genel ev kadınları, evlenme adayları ve klinik yakınması olan toplum 1752 kişinin kan serumları üzerinde yapılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Tüm Türkiye genelinde Tıp Fakülteleri, Deri ve Tenasül Dispanserleri ve Hastaneleri, Frengi-Lepra Savaş Merkezleri ve özel olarak Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğüne başvuran kişilerin kan serumları üzerinde çalışılmıştır. Genel ev kadınlarından 1515, evlenme adaylarından 117, klinik yakınması olan kişilerden 120 kan serumu incelemeye alınmıştır.

## YÖNTEM

Kan serumları öncelikle VDRL ve Kolmer gibi nonspesifik testler ile, daha sonra TPHA ve FTA-ABS gibi spesifik testler ile araştırılmıştır. VDRL, flokülasyon, Kolmer, kompleman birleşmesi, TPHA, indirekt hemaglutinasyon esasına göre çalışıldı. FTA-ABS testinde; Hasta serumları 56 °C'de 30 dak. inaktive edildikten sonra sorbent ile 1/5 oranında seyreltildi. Her hasta serumu paralel olarak BABS ile de 1/5 oranında sulandırıldı. Daha önceden antiijen fikse edilmiş lamalar 15 dak. süre ile oda ısısında bekletildi. Serum sulandırılmaları 10 µl. olarak bu lamalara dağıtıldı. Ayrıca her bir lama serotrol, nonspesifik serum ve negatif serum dilüsyonu yapılarak ilave edildi. Lamalar 30 Dak. 37° C'de nemli bir ortamda bekletildi. Daha sonra lamalar 2 defa her defasında 5 dak. olmak üzere PBS de yıkandı. Distile sudan geçirildikten sonra kurutuldu. Her serum örneğine 10 µl. anti human globulin ilave edildi. Tekrar inkübasyon ve yıkama işlemi yapıldı. Lama fluorep damlatılıp üzerine lamel kapatıldı. U.V. aydınlatmalı fluoresens mikroskopunda (40 X objective) incelendi. Kuvvetli derecede yeşil fluoresan veren treponemalar pozitif, fluoresan vermeyen veya hafif yeşil olarak boyanan treponemalar negatif olarak değerlendirildi (2).

## BULGULAR

Çalışmamız genelev kadınları, evlenme adayları ve klinik yakınması olan hastalar olmak üzere 3 değişik grup üzerinde yürütülmüş ve toplam 1752 kan serumu incelenmiştir.

1. Grupta 1515 adet genel ev kadınının kan serumunda yapılan testlerde 79 pozitif olgu bulunmuştur (Tablo 1).

TABLO 1: Genel ev kadınlarının kan serumlarında yapılan testlere göre pozitif olguların dağılımı :

	Kolmer (-)	Kolmer (-)	Kolmer (-)	Kolmer (+)	Kolmer (+)	Kolmer (-)	
	VDRL (+)	VDRL (-)	VDRL (-)	VDRL (+)	VDRL (+)	VDRL (-)	
	TPHA (+)	TPHA (+)	TPHA (-)	TPHA (+)	TPHA (+)	TPHA (-)	
	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(+)	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(+)	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(-)	Toplam
Genel ev kadınları	24	4	-	2	49	1436	1515

2. Grup olarak 117 evlenme adayının kan serumu üzerinde çalışılmış, 3 adet pozitif olgu saptanmıştır (Tablo II).

TABLE II: Evlenme adaylarının kan serumlarında yapılan testlere göre pozitif olguların dağılımı :

	Kolmer (-)	Kolmer (-)	Kolmer (-)	Kolmer (+)	Kolmer (+)	Kolmer (-)	
	VDRL (+)	VDRL (-)	VDRL (-)	VDRL (-)	VDRL (+)	VDRL (-)	
	TPHA (+)	TPHA (+)	TPHA (-)	TPHA (-)	TPHA (+)	TPHA (-)	
	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(+)	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(+)	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(-)	Toplam
Evlenme adayları	1	-	-	-	2	114	117

3. Grupta çalışılan kan serumları klinik yakınmaları olan kişilerden seçilmiş ve toplam 120 hastadan 66 pozitif olgu bulunmuştur (Tablo III).

TABLE III : Klinik yakınmaları olan kişilerin kan serumunda yapılan testlere göre pozitif olguların dağılımı :

	Kolmer (-)	Kolmer (-)	Kolmer (-)	Kolmer (+)	Kolmer (+)	Kolmer (-)	
	VDRL (+)	VDRL (-)	VDRL (-)	VDRL (-)	VDRL (+)	VDRL (-)	
	TPHA (+)	TPHA (+)	TPHA (-)	TPHA (+)	TPHA (+)	TPHA (-)	
	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(+)	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(+)	FTA-ABS (+)	FTA-ABS(-)	Toplam
Klinik yakınmaları Hastalar	10	1	1	1	53	54	120

Genel ev kadınlarında pozitiflik oranının % 5,22 olduğu, evlenme adaylarından bu oranın % 2,56, klinik şikayetli kişilerin pozitiflik oranının % 55 olduğu saptanmıştır. Toplam 1752 kan serumundaki pozitiflik olgusu ise % 8,44 olarak bulunmuştur. Tablo IV.

TABLE IV : Her 3 gruptaki pozitiflik olgularının sayıları ve yüzdeleri

	Pozitif (+)		Negatif (-)		Toplam
	Sayı	%	Sayı	%	
Genel ev kadınları	79	5,22	1436	94,78	1515
Evlenme adayları	3	2,56	114	97,44	117
Klinik şikayetli h.	66	55,00	54	45,00	120
Genel Toplam	148	8,44	1604	91,55	1752

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Sexüel yolla bulaşan en önemli hastalıklardan biri olan sifilizde son yıllarda görülen artışlar dünyada olduğu gibi yurdumuzda da gözlenmektedir. Risk grubu olarak kabul edilen genel ev kadınları, evlenme adayları ile bulaş kaynakları değişik klinik yakınmaları olan kişiler arasında yaptığımız bu çalışmamızda % 8,44 oranında FTA—ABS ile doğrulanan bir pozitiflik görülmüştür. Ayrıca araştırmalarımıza göre FTA—ABS testinin % 100'e varan bir spesifite gösterdiği de saptanmıştır.

Harold W. Jaffe de benzer bir çalışmada FTA—ABS testinin hassasiyetini % 100, spesifitesini ise % 99 olarak belirlemiştir (3). Moyer, Hudson ve Hausler'in 1984 yılında 491 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada ise FTA—ABS testinin spesifitesini % 96.7 olarak bulmuşlardır (5). Özellikle primer ve geç latent sifilide de spesifitenin daha yüksek oranda olduğu vurgulanmıştır (5).

Çalışmalarımızda izlemiş olduğumuz primer şankırlı bir olguda yaptığımız ilk incelemelerde standart serolojik testlerden VDRL ve Kolmer negatif, özgül testlerden TPHA negatif olarak bulunmasına karşın FTA—ABS ile yapılan testte pozitif netice alınmıştır. Aynı hastadan bir hafta sonra tüm testler tekrarlanmış ve daha önce negatif bulduğumuz testlerin de pozitifleştikleri görülmüştür. Bu da bize preserolojik testlerden reagen testleri ve hatta özgül bir test olan TPHA testinin de negatif bulunduğu bu olguda FTA—ABS testinin pozitif bulunmuş olması, bu testin diğer testlere nazaran daha üstün bir test olduğunu göstermiştir.

James L. Beebe ve Nabil J. Nouri'nin yaptıkları bir çalışmada ise FTA—ABS testi primer sifilizde % 80—90, sekonder sifilizde ise % 95—99 oranında pozitif netice verdiği bildirilmiştir (4).

Çalışmamızda klinik yakınmalı grubuna aldığımız, bir hastadan sifiliz şüphesi ile laboratuvarımıza gönderilen iki ayrı bebeğin kan serumlarında önce TPHA ve FTA—ABS testleri pozitif olarak bulunmuştur. Daha sonraki günlerde ise VDRL ve Kolmer testlerinin de pozitifleştiği saptanmıştır. Yaptığımız ileri araştırmalarda bu bebeklerin annelerinin kan serumlarında da tüm sifilis serolojik testlerinin pozitif sonuç verdiği görülmüş ve ilk olay konjenital sifiliz olarak değerlendirilmiştir. Bu da FTA—ABS testinin konjenital sifilizin tanısında önemli bir yeri olduğunu göstermiştir.

Harold W. Jaffe de yaptıkları benzer bir çalışmada FTA—ABS testinin konjenital sifilizde reagen testlerinden daha hassas olduğunu vurgulamıştır (3).

Bizim yaptığımız bu araştırmada 1515 genel ev kadınında % 5, 22, 117 evlenme adayında % 2, 56 ve klinik yakınmalı 120 hasta % 55 oranında FTA—ABS testi ile doğrulanan sifiliz olgusu bulunmuştur.

Sonuç olarak toplam 1752 kan serumundaki pozitiflik olgusu % 8, 44 olarak bulunmuştur.

Sifilisin sosyal ve psikolojik içerikli bir hastalık olduğu gözönünde tutulacak olursa, tanısında FTA—ABS testinin uygulanmasının erken teşhis, tedavi ve epidemiyolojik yönden büyük faydalar getireceği kanısını taşımaktayız.

## SYPHILIS CASES IN DIFFERENT RISK GROUPS CONFIRMED BY FTA—ABS

Tülin TUNCER

Mine TUNAOĞLU

### SUMMARY

In this study, syphilis cases have been investigated in various risk groups, consisting of prostitutes, brides to be and subjects with clinical syphilitic symptoms, by means of standard serological and specific test.

Our study was conducted in three groups totalling in 1752 serum specimens. 79 out of 1515 prostitutes (5,22 %), 3 in 117 brides to be (2,56 %) and 66 of the 120 clinically symptomatic cases (55 %) were proven to be syphilitic by the FTA—ABS method. Of the 1752 subjects, 148 (8,44 %) were found to be positive through the FTA—ABS method.

### KAYNAKLAR

- 1- Bilgehan, H.: Cinsel ilişki ile Bulaşan Hastalıklar Türk Mikrobiyoloji Derneği 1982. No:3,
- 2- Bio—Merieux Manuel 1980.37.
- 3- Harold. W.Jaffe: The Laboratory Diagnosis Of Syphilis. 1975. 85, 846—850.
- 4- James, L.Beebe, and Nebil J.Nouri: Comparative evaluation of commercial fluorescent treponemal antibody—absorbed test J.Clin.Microbiol. 1984. 134—196.
- 5- Nelson, P.Moyer, Jerry D.Hudson, and William J.Hausler, JR.: Evaluation of the hemagglutination Treponemal test for Syphilis. J.Clin. Microbiol. 1984.849—852.

- 6- Sonnenwirth, A.C., Jarett, L.: *Gradwhols Clinical Laboratory methods and Diagnosis* 1980.Vol:2, 1853-1858.
- 7- Sandra A.lansen, Edith A.Hambie, Deborah E.Pettit, Mary W.Perryman and Stephen J.Kravs: Specificity, Sensitivity, and reproducibility among the fluorescent Treponemal antibody absorption test *J.Clin.Microbiol.* 1981. 441-445.
- 8- Thomas W.Huber, Sally Storms, Patsy Young, Lovellen Phillips, Thomas E.Rogers, David G.Moore, and Robert P.Williams: Reactivity of microhemagglutination, fluorescent Treponemal antibody absorption, Venereal Disease Research Laboratory, and RPR tests in primary syphilis: *J.Clin Microbiol* 1983 405-409.
- 9- Tüzün, Y., Kotoğyan, A., Saylan, T.: *Dermatoloji. Nobel Kitapevi.* 1985. 131.





# YENİDOĞANLARA VE ÇOCUKLARA AIT GAITALARDA ELISA YÖNTEMİYLE ROTAVİRUS ARAŞTIRILMASI

Hüseyin GÜN \*  
Sabri GUNGÖR \*\*

Ömer KOCABEYOĞLU \*

Ekrem YILMAZ \*  
Gürol EMEKDAŞ \*\*\*

## ÖZET

GATA Mik. ve Kl.Mik.ABD'de yapılan bu çalışmada 17 yenidoğan bebek ve 64 gastroenteritli çocuk gaitasında ELISA yöntemiyle rotavirus araştırıldı.

Yenidoğanlarda ( $\leq 5$  gün) rotavirus negatif bulundu. 5 gün 2 yaş grubunda % 26.7 (8/30), 2-6 yaş grubunda % 15 (3/20) ve daha büyük yaş grubunda ise % 14.3 (2/14) pozitiflik saptadık.

Çocuklarda görülen nonbakteriyel gastroenteritlerinin önemli bir bölümünden sorumlu olan rotavirus enfeksiyonlarının yurdumuzdaki durumunun daha geniş olarak araştırılması gerektiğine inanıyoruz.

## GİRİŞ

Rotavirus'lar ilk defa 1973 yılında akut gastroenteritli çocukların duodenum mukozasında Bishop ve arkadaşları tarafından tanımlandı(3, 18).

Reoviridae ailesinin bir üyesi olan rotaviruslar insan ve hayvanlarda hastalık yaparlar ve farklı gruplara (A, B, C...) ayrılırlar. A grubunda bulunan insan rotavirusları ortak bir grup antijenine sahiptirler ve iki subgruba (I, II) ve 4 serotipe ayrılırlar. Serotip 2 subgrup I de serotip 1, 3 ve 4 ise subgrup II de bulunur 8.

Çift iplikli ve 11 segmentli RNA içeren rotavirusların hayvanlarda hastalık yapan türleri ile insanlarda hastalık yapan türleri morfolojik olarak benzer, antijenik olarak farklı yapıdadırlar (8, 10, 12, 13, 16, 17). Ancak çeşitli rotavirus türleri arasında ortak bir CF (Complement-Fixation) antijeni bulunmaktadır (10, 11, 12, 13). Hücre kültürlerinde üreyen hayvan rotavirusları antijen olarak kullanılarak insan serumlarında CF testi ile antikor aranabilir. Non-A rotavirusların ise diğer rotaviruslarla ortak bir antijeni bulunmamaktadır (pararotavirus) (6, 11).

İnsan rotavirusları yakın zamana kadar hücre ve organ kültürlerinde üretilmemiştir. Son zamanlarda bir insan rotavirusu olan W<sub>2</sub> primer afrika yeşil maymun böbrek hücreleri kültürüne (AGMK) adapte edilmiştir(10),

- 
- (\*) GATA ve As.Tıp Fak.Mikrobiyoloji ve K.Mik.ABD, Yrd.Doç.  
(\*\*) GATA ve As.Tıp Fak.Mikrobiyoloji ve Kl.Mik.ABD, Bşk.Prof.Dr.  
(\*\*\*) GATA ve As.Tıp Fak.Mikrobiyoloji ve Kl.Mik.ABD, Uzm.Öğc.

Maymun rotavirüsü SA 11 primer hücre kültürlerinde kolayca üretilmekte ve insan rotavirus enfeksiyonlarının tanısında antijen olarak kullanılmaktadır(15, 17).

Siğir rotavirüsü 75/447 (İrland) siğir böbrek hücreleri sürekli kültüründe (MDPK) tripsin ile muamele edilerek üretilmiştir(4).

Canlı atenüe bovin ve rhesus rotavirus aşılı çocukların immünizasyonunda kullanılmış ve başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir(2, 7, 11, 19).Bovine ve Rhesus rotavirüsleri insan rotavirus seropit 3 ile benzer antijenik yapıdadır(11).

Nonbakteriyel gastroenteritler tüm dünyada toplumların büyük bir bölümünü etkiler. Gelişmiş ülkelerde en önemli hastalıklar olarak görülürken gelişmekte olan ülkelerde hem hastalığa hemde önemli derecede ölümlere neden olurlar. İnsan nonbakteriyel gastroenteritlerinin önemli bir bölümü, 70 nm büyüklüğünde rotavirüsler ve 27 nm büyüklüğünde norwalk virüsleri tarafından oluşturulur(2, 3, 10, 18).

Kusma ve dehidrasyonun eşlik ettiği rotavirus gastroenteritlerinde en yüksek insidans 7-24 aylık çocuklarda görülmektedir(2, 17). Enfekte çocuklarla temas eden erişkinlerin % 41'inde subklinik bir enfeksiyon olduğu saptanmıştır(17).

Gelişmiş ülkelerde yapılan pek çok çalışmada yenidoğanlarda asemptomatik rotavirus enfeksiyonu prevalansının yüksek olduğu gösterilmiştir 1. Diyareli ve diyaresiz seyreden hastalıklarda rotavirus çıkarılma sıklığı yönünden çok az fark bulunmuş ve yine virüs çıkarımı ile kusma-ışhal-ateş semptom üçlüsü arasında da belirgin bir ilişki saptanamamıştır(5).

Çin'de erişkinler ve çocuklar arasında şiddetli diyareli epidemiyeye neden olan bir ajan ADRV (Adult Diarrhea Rotavirus) olarak adlandırılmış ve bu virusa ait antiserumların A ve C grup rotavirüslerle reaksiyon vermediği fakat B grubundan bovine yada porcine rotavirüsleriyle reaksiyon verdiği ve bu yeni virüsü saptamak için ELISA testi geliştirildiği bildirilmiştir(14).

Yaptığımız bu çalışmada, 1.10.1987 - 15.1.1988 tarihleri arasında GATA Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD ve Dışkapı S.S.K. hastanesi çocuk kliniğine başvuran değişik yaşlarda 64 ishaller ve GATA Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde yeni doğan 1-5 günlük normal bebeklere ait toplam 81 gaitada ELISA yöntemiyle rotavirus antijeni ve bakteriyolojik yöntemlerle patojen barsak bakterileri araştırdık. Çocuklarda ışhal, ateş ve kusma gibi belirtilerle seyreden olgularda rotavirus insidansını saptamaya çalıştık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Gaitalar: İshaller çocuklardan sağlanan gaitalar test kitinde belirtildiği şekilde 1/10 dilüye edildi ve 3000 RPM de 30 santrifüjlenip üst kısımdaki sıvı ayrıldı, 1/1000 oranında natrium acid ilave edilerek test edilinceye kadar -40 °C deep-freeze'de saklandı.

ELISA test kiti: Wellcozyme rotavirus test kiti tarifine uygun şekilde kullanıldı. Test sonuçları 450 nm filtre kullanılarak Biotex reader'da okundu ve kaydedildi.

Her çalışma için kullanılan 3 negatif kontrol absorbanslarının  $< 0,2$  ve 2 pozitif kontrol absorbanslarının  $> 0,5$  olması koşuluyla, negatif kontroller absorbanslarının ortalamasına 0,1 eklenerek cut-off değeri bulundu ve bu değer üzerinde absorbanslar pozitif altındaki absorbanslar ise negatif olarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Sonbahar ortası ve kış başında 3,5 aylık bir zaman periyodunda değişik kaynaklardan toplanan 81 gaita örneğinde yapılan rotavirus antijeni araştırmamız 3 aşamada tamamlandı. 1 nci aşamada GATA Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğinden sağlanan 10 ateşli ve ishelli çocuk gaitasından 6'sında (% 60) rotavirus saptandı. 2 nci aşamada Dışkapı S.S.K. Hastanesi Çocuk Kliniğinden sağlanan 28 ateşli ve ishelli çocuk gaitasının 2'sinde (% 7.1) rotavirus saptandı. 3 ncü aşamada ise her iki kurumdan sağlanan 36 gaitanın 6'sında (% 16.7) rotavirus tesbit edildi. Yine bu aşamada GATA Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD. Kliniğinde yeni doğan ( $\leq 5$  gün) 17 bebekten alınan gaita örneklerinde ise rotavirus tesbit edilemedi.

Bu gaita örneklerinin hiçbirinde patojen barsak bakterisi izole edilmedi.

Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular yaş gruplarına ve absorbans değerlerine göre Tablo 1'de görülmektedir.

TABLO 1: Değişik yaş gruplarından 81 çocuk gaitasında rotavirus dağılımı

Yaş Grupları	Absorbanslar (450 nm de)					Toplam
	-	+	++	+++	++++	
$\leq 5$ gün	17	-	-	-	-	17
$\leq 2$ yaş	22	5	2	1	-	30
$2 < 6$ yaş	17	2	-	1	-	20
$\geq 6$ yaş	12	1	1	-	-	14
Toplam	68	8	3	2	-	81

Açıklama : -  $\leq$  Cut-off - 0.100  
 +  $\leq$  0.600  
 ++  $\leq$  1.200  
 +++  $\leq$  1.999  
 ++++  $\leq$  2.000

Yeni doğanların tamamı rotavirus yönünden negatif bulunurken en yüksek pozitiflik oranının  $\leq 2$  yaş grubunda olduğu gözlenmekte ve daha büyük yaş gruplarında pozitiflik oranı azalmaktadır.

Yaş gruplarına göre rotavirus pozitif bulunanların % oranları Tablo II'de görüldüğü gibidir.

TABLO II : Değişik yaş grubundan 81 çocuk gaitasında rotavirus % oranları

Yaş Grubu	% pozitiflik	% negatiflik
$\leq 5$ gün	% 0 (0/17)	% 100 (17/17)
$\leq 2$ yaş	% 26.7 (8/30)	% 73.3 (22/30)
$2 < 6$ yaş	% 15 (3/20)	% 85 (17/20)
$\geq 6$ yaş	% 14.3 (2/14)	% 85.7 (12/14)
Toplam	% 16 (13/81) (ortalama)	% 84 (68/81) (ortalama)

## TARTIŞMA VE SONUÇ

1977 yılında Sydney'de yapılan bir çalışmada tamamı 3—4 günlük 628 yenidoğan bebeğin % 49'unun gaitasında rotavirus tesbit edilmiştir. 1 günlük bebeklere ait gaitalar ise rotavirus yönünden negatif bulunmuştur 17. Bu sonuç rotaviruslarla doğum kliniklerinde oluşan buluşmanın önemini vurgulamaktadır.

Bizim yaptığımız benzeri çalışmada GATA Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD. Kliniğinde yeni doğan ( $\leq 5$  gün) 17 bebek gaitasında rotavirus tesbit edilemeyişi, klinikte bir bulaşma olmadığını göstermektedir.

Rotavirus enfeksiyonlarında, serumdaki antikorlarla enfeksiyona direnç arasında bir paralellik bulunmamaktadır. Enfeksiyona dirençte barsak mukozal antikorları önemli rol oynar 3. Yenidoğanlarda rotavirus enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir(1, 9).

Bengaldeş'te 1 yıllık periyotta diyare ile tedavi merkezine başvuran 2 yaşın altındaki çocuklarda % 46 rotavirus pozitif bulunmuştur 11. 2 yaşın altındaki çocuklarda rotavirus enfeksiyonu insidensi en fazladır. Enfeksiyonun insidensi ve şiddeti yaş ile serum ve barsaklardaki antikor düzeyindeki artışa bağlı olarak önemli ölçüde azalmaktadır(2).

Bizim bulgularımıza göre de rotavirus enfeksiyon insidensi  $\leq 2$  yaş grubunda en fazladır. İleri yaş gruplarında ise azalma gözlenmektedir.

ELISA testi günümüzde gittikçe artan oranda antijen ve antikor aranması çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu testin geniş boyutlu çalışmalar için uygun bir test olduğu bildirilmiştir (17).

Erişkinlerde de subklinik rotavirus enfeksiyonları görülmektedir. Yapılan bir çalışmada rotavirus gastroenteritli çocuklarla temas eden 40 erişkinden 22'sinde (% 55) serolojik bulgular saptanmıştır. 17. Gelişmekte olan ülkelerde yılda 5-10 milyon öldürücü seyirli rotavirus enfeksiyonları görülmektedir(10).

Değişik rotavirus suşları ile atenué aşilar denenmektedir (2, 7, 11, 19). Rotavirus aşısı uygulama çağı olarak  $\leq 6$  ay olarak bildirilmiştir (2).

Non-bakteriyel çocuk gastroenteritlerinin çoğundan sorumlu olan rotavirus enfeksiyonlarının gerçek boyutlarını ortaya koymak amacıyla yurdumuzda kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğine inanıyoruz.

## DETECTION OF ROTAVIRUS IN STOOLS OF NEWBORNS AND YOUNG CHILDREN BY ENZYME IMMUNOASSAY

Hüseyin GÜN  
Sabri GÜNGÖR

Ömer KOCABEYOĞLU

Ekrem YILMAZ  
Gürol EMEKDAŞ

### SUMMARY

In this study we have investigated rotavirus in stools belonging to 17 newborns without diarrhea and 64 children with diarrhea in Gülhane Military Medical Academy—Microbiology Department by using ELISA.

Rotavirus was negative in newborns ( $\leq 5$  days). The positivity rates were % 26.7 (8/30) in 5 days-2 years old age group, % 15 (3/20) in 2-6 years old age group and % 14.3 (2/14) in the older age group.

Rotavirus infections are responsible from the majority of non-bacterial gastroenteritis in children. We believe that rotavirus infections should be investigated in our country more widely.

## KAYNAKLAR

- 1- ALBERT, M.J.: Rotaviruses and Immunobiologic Failures. *J. Infect. Dis.* Vol. 152, No.6: 1354-1355, 1985.
- 2- ANDERSON, E.L., BELSHE, R.B., BARTRAM, J., CROOKSHANKS-NEWMAN, F., CHANOCK, R.M. and KAPIKIAN, A.Z.: Evaluation of Rhesus Rotavirus Vaccine in Infants and Young Children. *J.Infect. Dis.* Vol. 153, No. 5: 823-831, 1986,
- 3- BISHOP, R.: *Viral Gastroenteritis. Infectious Diseases and Medical Microbiology.* 2 nd. Edition, (Eds) BRAUDE, A.J., DAVIS, D. E., FIERER, J., Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, Hong Kong, W.B. Saunders Company 1986, 957-963.
- 4- BURGU, İ., AKÇA, Y.: Sıgırlarda Rotavirus Antikorlarının Dağılımı Üzerinde Serolojik Araştırmalar. *A.Ü.Vet.Fak.Dergisi* 30 (1) : 35-44, 1983.
- 5- BURKE, V., GRACEY, M., MASTERS, P.: Rotavirus in Children. *J. Infect. Dis.* Vol. 152, No.3 : 646, 1985.
- 6- EIDEN, J., VONDERFECHT, S., THEIL, K., TORRES-MEDINA, A., and YOLKEN, R.H.: Genetic and Antigenic Relatedness of Human and Animal Strains of Antigenically Distinct Rotaviruses. *J.Infect. Dis.* Vol. 154, No. 6: 972-982, 1986.
- 7- FANG-TAO, L., SHU-BENG, C., GUAN-FU, W., FAN-ZHEN, Z., NAI-MIN, C., JI-ZUI, F.: Safety and Immunogenicity of Live Attenuated Rhesus Monkey Rotavirus Vaccine. *J. Infect. Dis.* Vol. 154, No. 6: 1045-1048, 1986.
- 8- GERNA, G., PASSARANI, N., SARASINI, A. and BATTAGLIA, M.: Characterization of Serotypes of Human Rotavirus Strains by Solid-Phase Immune Electron Microscopy. *J.Infect. Dis.* Vol. 152, No. 6: 1143-1151.
- 9- HERRMANN, J.E., BLACKLOW, N.R., PERRON, D.M. CUKOR, G., KRAUSE, P.J., HYAMS, J.S., BARRETT, H.J., OGRA, P.L.: Enzyme Immunoassay with Monoclonal Antibodies for the Detection of Rotavirus in Stool Specimens. *J. Infect. Dis.* Vol. 152, No.4: 830-832, 1985.
- 10- KAPIKIAN, A.Z., GREENBERG, H.B., WYATT, R.G., KALICA, A.R., KIM, H.W., BRANDT, C.D., RODRÍGUEZ, W.J., PARROTT, R.H. and CHANOCK, R.M.: *Viral Gastroenteritis. Viral Infections of Humans.* Second Edition. (Ed) EVANS, A.S. New York and London, Plenum Medical Book Company 1983, 283-326.
- 11- KAPIKIAN, A.Z., FLORES, J., HOSHINO, L., GLASS, R.I., MIDTHUN, K., GORZIGLIA, M. and CHANOCK, R.M.: Rotavirus: The Major Etiologic Agent of Severe Infantile Diarrhea May Be Controllable by a "Jennerian" Approach to Vaccination. *J. Infect. Dis.* Vol. 153, No. 5: 815-822, 1986.

- 12- KETCHUM, P.A.: Microbiology, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, John Wiley and Sons 1984, 430-431.
- 13- MELNICK, J.L.: Classification of Viruses. Infectious Diseases and Medical Microbiology. 2 nd. Edition, (Eds) BRAUDE, A.I., DAVIS, C.E., FIERER, J., Philadelphia, London, Toronto, Mexico, City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, Hong Kong, W.B. Saunders Company 1986, 68-80.
- 14- NAKATA, S., ESTES, M.K., GRAHAM, D.Y., LOOSLE, R., TAO, H., SHUSHENG, W., SAIF, L.J. and MELNICK, J.L.: Antigenic Characterization and ELISA Detection of Adult Diarrhea Rotaviruses. J. Infect. Dis. Vol. 154, No. 3: 448-455, 1986.
- 15- REYNOLDS, D., HUGHES, J.H.: Comparison of the Rotazyme Assay with an Avidin-Biotin-Amplified Dot-Immunobinding Assay for Detecting Rotaviruses. J. Infect. Dis. Vol. 152. No. 3: 647-648, 1985.
- 16- SERTER, D.: Klinik Viroloji. Ege Tıp Fak. Yayını No: 122, Ege Üniversitesi Basımevi Bornova-İzmir, 1986, 429-432.
- 17- STANLEY, N.F.: Reoviridae Pathogenic for Man. Infectious Diseases and Medical Microbiology. 2 nd Edition, (Eds) BRAUDE, A.I., DAVIS, C.E., FIERER, J., Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, Hong Kong, W.B. Saunders Company 1986, 545-549.
- 18- UNAT, E.K.: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi 1.nci Baskı, İstanbul, Dergah Tıp Yayınları 1982, 1102-1108.
- 19- VESİKARI, T., KAPIKIAN, A.Z., DELEM, A. and ZISSIS, G.: A Comparative Trial of Rhesus Monkey (RRV-1) and Bovine (RIT-4237) Oral Rotavirus Vaccines in Young Children. J. Infect. Dis. Vol. 153, No. 5: 832-838, 1986.





# ÇUKUROVA BÖLGESİNDE *An.sacharovi*'nin ÜREME MEVSİMİ POPULASYON YOĞUNLUĞUNUN SITMALI ORANI İLE İLİŞKİSİ

M.Mihri MİMOĞLU\*\*

Mülkiye KASAP\*

Halil KASAP\*

## ÖZET

Sıtma vektörü *An.sacharovi*'nin Şubat—Kasım ayları arasındaki üreme mevsimi boyunca populasyon yoğunluğu çalışmaları sürdürülmüştür. Populasyonun Şubat ayından itibaren hızla arttığı Mayıs'ta en yüksek düzeye ulaştığı görülmüş ve Eylül ayında da aynı şekilde yüksek düzeyde populasyon bulunmuştur. Temmuz ayında populasyonda artış görülmüş ise de bu artışın, Mayıs ve Eylül ayı populasyonlarından oldukça düşük düzeyde kaldığı saptanmıştır.

Bu veriler aynı devredeki sıtmalı sayısında görülen artış oranı ile karşılaştırıldığında sıtmalı sayısında Temmuz ve Kasım aylarındaki maksimal artışların sıvrisinek populasyonundaki artışlardan 1—2 ay sonraya rastladığı görülmüştür.

## GİRİŞ

Son yıllarda gelişmekte olan birçok ülkede olduğu gibi yurdumuzda da sıtma yeniden önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Çukurova bölgesi sıtma olgularına sık rastlanması ve diğer bölgelere de yayılması bakımından başta gelmektedir. Çukurova'da bu kadar çok sayıda sıtma olgusunun bulunması olayı hem iklimsel hem de sosyo—ekonomiktir.

Çukurova iklimi vektör *An.sacharovi*'nin uzun süre faaliyet gösterebilmesi için oldukça uygundur. Bu nedenle vektör kış aylarında kısa bir süre hariç, yılın uzun bir bölümünde aktif durumdadır (1, 2, 4, 5). Vektörün inaktif olduğu devre ise sadece Aralık ve Ocak aylarına rastlayan kışlama periyodudur (3).

---

\* Ç.Ü.Tıp Fak.Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ADANA

\*\* H.Ü.Fen Fak., Biyoloji Bölümü ANKARA

Kışlama periyodu dışında kalan devreler ise *An.sacharovi* için üreme mevsimidir. Bu mevsim içindeki populasyon yoğunluğunda oluşan değişimler sıtmalı sayısında da doğal olarak değişiklik oluşturacaktır. İşte bu ilişkiyi saptamak üzere *An.sacharovi*'nin üreme mevsimindeki populasyon yoğunluğu saptanarak yıl boyunca görülen sıtmalı sayısı ile karşılaştırılacaktır.

## MATERYAL ve METOD

Populasyon yoğunluğunu saptamak için 4 ayrı istasyon seçildi. Bu istasyonlar iki haftada bir ziyaret edilerek sayım yapıldı. Sayım için pilli el aspiratörleri kullanıldı. Bu aspiratörlerle her 10 dakikada toplanan sinekler ayrı ayrı kaplara konuldu, bu işlem çeşitli defalar yinelendikten sonra ortalama alınarak 10 dakikada sayılabilen populasyon yoğunluğu saptanmış oldu. Bu işleme üreme mevsimi boyunca devam edilerek populasyonda üreme mevsiminde meydana gelen değişiklikler saptandı. Elde edilen veriler değerlendirilerek grafiklendi.

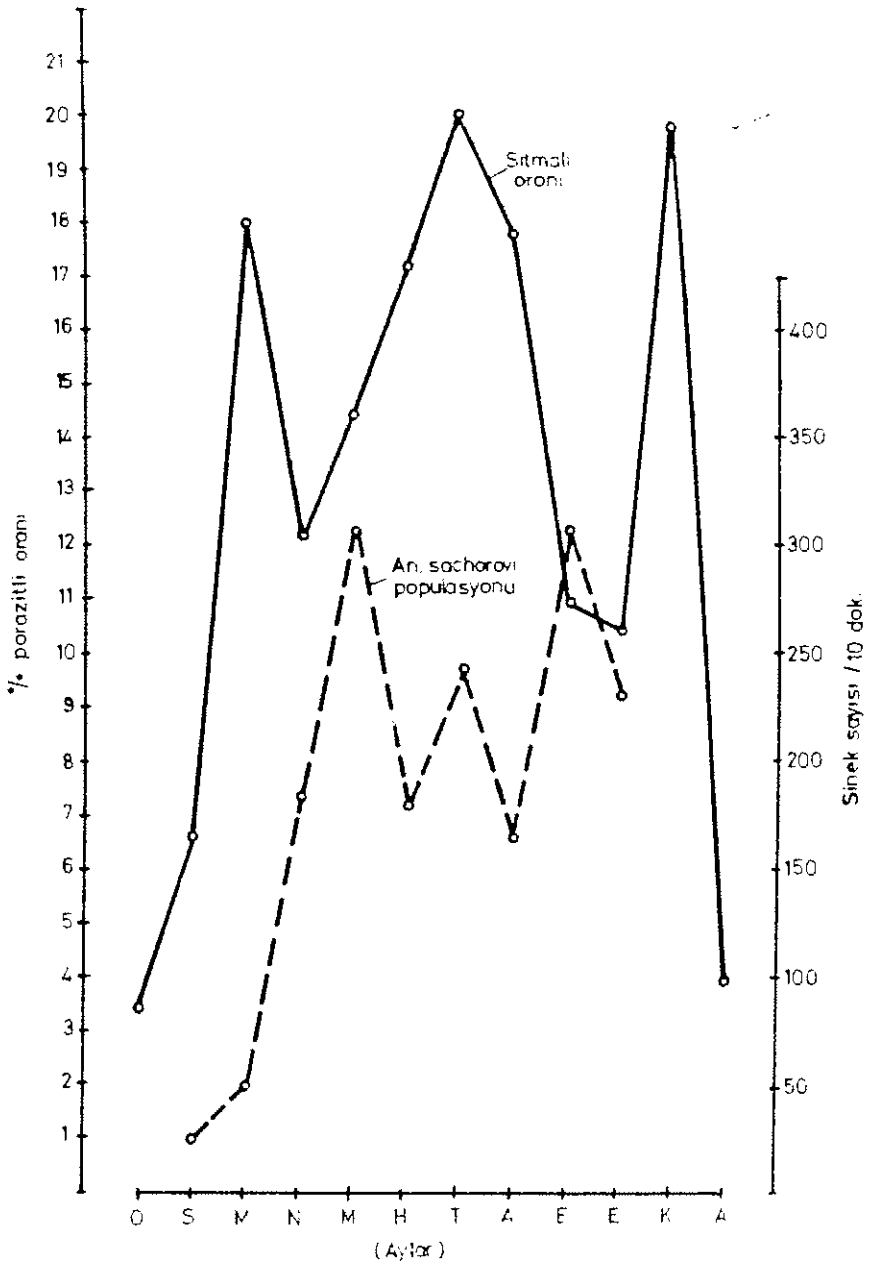
Çalışmanın ikinci kısmı ise aynı yöredeki sıtmalı sayısında oluşan değişikliklerin saptanması idi. Sıtmalı sayısına ait değişiklikleri içeren bilgiler ise Sıtma Bölge Başkanlığından temin edildi. Bu bilgilerde populasyon sayımı verilerinde kullanılan yöntemle grafiklendi. İki arasındaki ilişkiler tartışıldı.

## BULGULAR

a— *An.sacharovi*'nin üreme populasyonu (Şekil 1): *An.sacharovi* erginleri Şubat ayından itibaren kışlama yerlerini terketmeye başlarlar. Şubat ayı başından itibaren yapılan diseksiyonlar dişilerin Şubat ayı içerisinde yumurta geliştirmeye başladığını göstermiştir. Geliştirilen bu yumurtalar iklime bağlı olarak Şubat ayı içerisinde veya Mart ayı başında yumurtlanır. Bu nedenle Şubat ayı içerisinde kışlak yerlerindeki populasyonda bir hareketlenme ve genellikle bir düşme görülür. Mart ayından itibaren populasyonda büyük bir artış başlar ve bu artış Mayıs ayında en yüksek düzeye erişir. Haziran, Temmuz ve ağustos aylarında populasyon yoğunluğu düşüktür. Temmuz ayında bir yükselme olursada bu pik noktasına ulaşmaz. Ağustos ayında düşük düzeyde bulunan populasyon Eylül ayında tekrar yüksek bir yoğunluğa ulaşır. Ekim ayından itibaren düşmeye başlayan populasyon yoğunluğu kışlama populasyonu oluştuğunda en düşük düzeye ulaşır.

b— Sıtmalı oranının aylara göre dağılımı (Şekil 1).

Yıl boyunca takip edilen sıtmalı sayısının aylara göre artış oranına ait bilgiler Sıtma Bölge Başkanlığından elde edilmiştir. Bu verilen incelenecek olursa sıtmalı oranlarının Mart, Temmuz ve Kasım aylarında maksimal düzeyde olduğu diğer aylarda maksimale göre daha düşük düzeyle seyrettiği görülecektir.



Şekil 1. *An.sacharovi*'nin üreme mevsimi populasyonundaki artış ile sıtmalrı oranının karşılaştırılması

## TARTIŞMA ve SONUÇ

*An.sacharovi* popülasyonu kışlama yerlerini terk ettikten sonra Mart ayından itibaren artmaya başlar. Bu artış Mayıs ayında maksimal durumundadır. Mart Mayıs arasında Adana yöresi genellikle yağışlı geçtiğinden üreme için uygun yerlerin oranı oldukça boldur ve popülasyonun çoğalma hızını etkileyecek herhangi bir faktör mevcut değildir. Mayıs ayından Ağustos ayına kadar popülasyon yoğunluğu düşük düzeydedir. Mayıs ve Eylül aylarında popülasyonun maksimal düzeyde, bu aylar arasında daha düşük düzeyde olmasının çeşitli nedenleri vardır. Adana yöresinde Haziran ayından itibaren Pamuk sulaması ve bunun yanında tarımsal ilaçlama başlamaktadır. Diğer taraftan Temmuz ve Ağustos ayları Adana yöresinin en sıcak aylarıdır ve bu aylarda sivrisinek popülasyonunda fazla hareketlilik söz konusu değildir. Çünkü çok sıcak ve kurak olan bu aylarda aynen soğuk olan kış ayları gibi sivrisineklerde belli bir duraksamaya neden olur (5). Yukarıda sayılan nedenlerden dolayı bu aylarda popülasyon Mayıs ve Eylül aylarında görülen düzeyden daha düşük seyrederek.

Sivrisinek popülasyonundaki bu artış ve düşüşler sıtmalı sayısının da büyük oranda etkilerler. Çalışmanın yapıldığı süre içerisinde Adana yöresindeki sıtmalı artış oranı önce Mart ayında bir yükselme göstermiştir. Ancak bu mevsimde yüksek bir sivrisinek popülasyonu yoktur bu nedenle sıtmalı oranındaki bu artış tamamıyla kış malaryası olarak düşünülebilir. Fakat bundan sonraki malarya olguları Temmuz ve Kasım aylarında en yüksek düzeye ulaşmıştır. Burada görüldüğü gibi sivrisinek popülasyonu malarya olguları en yüksek düzeye ulaşmadan önce yükselmiş ve bu artış daha sonra malarya olgularının yüksek düzeye ulaşmasına neden olmuştur. Ancak yaz aylarındaki bu artışta çeşitli çevre faktörleride önemlidir. Mayıs ayında sivrisinek popülasyonu en yüksek düzeye ulaştığında Adana yöresinde işçi göçü başlamıştır. Çünkü bu mevsimde artık hem diğer tarımsal faaliyetler hem de pamuk sulama işlemi başlamıştır. Bu mevsimde insanla sivrisinek teması en yüksek düzeye ulaşır. Bunun sonucu da Temmuz ayında malaryalı sayısı en yüksek düzeye ulaşır. Malaryalı sayısındaki ikinci pik Kasım ayındadır. Yine Eylül Ekim aylarında pamuk toplama mevsiminde işçiler genelde dışarıda yaşamakta ve sivrisinekle temas oldukça yüksek olmaktadır. Buda yine Kasım ayında çok sayıda sıtmanın ortaya çıkmasına neden olmuştur.

Sivrisinek popülasyonundaki artış ile malarya olgularının yüksek oranda ortaya çıkması arasındaki 1—2 aylık fark çeşitce etmenlere bağlı olmalıdır. Sıtmalı sivrisineklerin sıtmayı kısa sürede yayması için çok sayıda kişi ile teması gerekir bu ise ancak insanların evlerin içinden dışarıya çıkması ve sivrisineğin ısırmasından sonra olur. İnsanda parazit gelişmesi için de belli bir süre geçmesi gerektiğinden malaryalı sayısının artışı sivrisinek popülasyonundaki artıştan daha sonra gerçekleşir.

RELATIONS BETWEEN DENSITY OF BREEDING SEASON  
POPULATIONS OF *An.sacharovi* AND MALARIAL CASSES  
IN ÇUKUROVA

M.Mihri MİMİOĞLU

Mülkiye KASAP

Halil KASAP

SUMMARY

The population density studies of malaria vector *An.sacharovi* were carried on during the whole breeding season, from February to November. The density of vector population starts to increase in February then reaches a peak once in May and once in September. However, another peak was also seen in July but this peak was not so high as those two mentioned.

If population density of the vector is compared with the malaria cases, it will be seen that the increase in malaria cases will be seen at least one or two mounts later than the population increase seen in the vector populations.

KAYNAKLAR

1. Kasap, H. ve Kasap, M. (1983 a) :  
Türkiye Anophelinae (Diptera : Culicidas) türleri. Türk.Hij.Den.Biyo Derg. 40(1) : 39-52.
2. Kasap, H. ve Kasap, M. (1983 b):  
Relative abundance of Mosquitoes breeding in Septic tanks in the Campus of Çukurova University. Ç.Ü.Tıp Fak.Derg. 8(4): 301-310.
3. Kasap, H., Kasap, M., Mimioğlu, M.M. ve Aktan, F. (1983):  
Anopheles sacharovi erginlerinin Adana yöresinde kışlama durumu. TÜBİTAK-TAG VII. Bilim Kong.Tebliği, No:557, 325-330.
4. Mimioğlu, M.M., Kasap, M. ve Kasap, H. (1979):  
Çukurova Bölgesinde Sıtma ve sivrisinek üzerine inceleme. Türk.Paraz. Derg. II(2): 1-6.
5. Postiglione, M., Tabanlı, B. and Ramsdale, C.D. (1973):  
The Anopheles of Turkey. Rivista di parassitologia XXXIV (2): 127-159.



# 4930 GAITA ÖRNEĞİNİN BARSAK PARAZİTLERİ YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

İbrahim BAYDAR \*

Şadi YENEN \*\*

Ekrem YILMAZ \*\*\*

Ömer KOCABEYOĞLU \*\*\*

Hüseyin GÜN \*\*\*

Sabri GÜNGÖR \*\*\*\*

## ÖZET

4930 gaita örneği barsak protozoonları ve helmintlerinin varlığı yönünden incelenmiş, 2739 olguda herhangi bir protozoon ya da helmint saptanamazken 2191'inde tek helmint, tek protozoon veya bunların çeşitli kombinasyonları görülmüştür. Olguların % 11.60'ında tek helmint saptanırken, % 31.72'sinde tek protozoon bulunmuştur. 796 örnekte görülen (% 16.14) *Entamoeba histolytica* ile 187 örnekte görülen (% 3.79) *Ascaris lumbricoides* en sık karşılaşılan protozoon ve helmint türleridir.

İncelenen örneklerin % 56'sında ise herhangi bir protozoon ya da helmint saptanamamıştır.

## GİRİŞ

Barsak parazitleri tüm dünyada hala önemli bir sorun olarak varlığını sürdürmekte ve neden oldukları hastalıklar çok yaygın olarak görülmektedir. Bu hastalıklar alt yapı düzeyi, eğitim ve beslenme yetersizliğine ek olarak kişisel hijyen kurallarının uygun bir şekilde uygulanmadığı ülkelerde daha da büyük bir önem kazanmaktadır (6, 15).

Sağlık ve temizlik kurallarına yeteri kadar uyma bilinç ve alışkanlığı olmayan çocuklarda barsak parazitlerinin yaygınlığı erişkinlerdekinden de fazladır (1).

Helmintler insanlarda en sık görülen enfeksiyöz ajanlardır. Yeryüzünde insan sayısı kadar helmintiyazis olduğu zannedilmektedir. *Ascaris* ve *Enterobius* birer milyar enfeksiyondan sorumlu tutulurken, *Trichuris* ve Çengelli kurtlarla enfekte toplam bir milyar kişi olduğu kabul edilmektedir (17).

---

\* GATA Enf.Hast. ve Kl.Mik ABD Başkanı

\*\* GATA Haydarpaşa Eğt.Hst.Mikrobiyoloji ve Kl.Mik.ABD,Yrd. Doç.

\*\*\* GATA Mikrobiyoloji ve Kl.Mik. ABD,Yrd.Doç.

\*\*\*\* GATA Mikrobiyoloji ve Kl.Mik. ABD Başkanı

İntestinal protozoonlar da insanlarda çok yüksek bir prevalans göstermektedir. Örneğin; dünya nüfusunun % 10'dan fazlasının *Entamoeba histolytica* ile enfekte olduğu zannedilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise enfeksiyon prevalansı % 50'ye kadar yükselmektedir. *Giardia lamblia* enfeksiyonlarına da tüm dünyada oldukça sık rastlanmaktadır. Özellikle sanitasyon standartlarının düşük olduğu ülkelerde giardiasis daha da büyük sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Ülkemizin de gelişmekte olan ülkelere benzer birisi olması nedeniyle barsak parazitolojisi büyük bir olasılıkla insan hastalıkları arasında önemli bir yer tutmaktadır. Örneğin; Yaşarol Türkiye'de her dört insandan üçünün parazitli olduğunu bildirmektedir. Bu görüşten hareketle yurdumuzda intestinal helmint ve protozoonların insanlarda yaygınlığını ve tek tek ya da birlikte bulunma sıklıklarını belirlemek amacıyla bu yayında 4930 olgunun gaita örneklerinde koproparazitolojik çalışmalar yapılmış ve elde edilen sonuçlar tartışılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Alınan her gaita örneği vakit geçirilmeden incelenmiş, önce makroskopik inceleme yapılarak parazitlerin varlığı araştırılmıştır. Daha sonra mikroskopik tetkike geçilmiştir. Bu amaçla bir lam üzerinde % 09'luk serum fizyolojikle sulandırılarak homojen hale getirilen dışkı örnekleri lamelle kapatılıp önce küçük, sonra büyük büyütme objektiflerle incelenmiştir. Preparatlar barsak helmintlerinin yumurta ve kurtçukları yanında protozoonlar ve kistleri yönünden de tetkik edilmiştir. Protozoon kistlerinin daha belirgin olarak saptanabilmesi amacıyla preparatlar lugol solüsyonu ile boyandıktan sonra da değerlendirilmiştir. Dışkıda herhangi bir protozoon ya da helmint saptanması durumunda buna başka birisinin daha eşlik etmesi ihtimali gözönüne alınarak preparatlar bir süre daha incelenerek çeşitli barsak parazitlerinin birlikte bulunma durumları da araştırılmıştır.

## BULGULAR

İncelenen 4930 olgudan 2739'unun gaitasında herhangi bir protozoon ya da helmint saptanamazken (% 55.55), 2191'inde (% 44.45) tek helmint, tek protozoon ya da bunların çeşitli kombinasyonları görülmüştür (Tablo -I). Tek helmint bulunanlar tüm örneklerin % 11.60, tek protozoon bulunanlar ise % 31.72'sini oluşturmaktadır. Bir helmint ile bir protozoonun birlikte bulunduğu dışkı örnekleri tüm örneklerin % 1.1'i kadardır (Tablo -II).

Tüm olguların 796'sında (% 16.14) *Entamoeba histolytica*, 768'inde (% 15.57) *Giardia lamblia*, 85'inde (% 1.72) *Taenia saginata*, 187'sinde (% 3.79) *Ascaris lumbricoides*, 65'inde (% 1.3) *Himenolepis nana*, 116'sında (% 2.35) *Enterobius vermicularis*, 116'sında (% 2.35) *Trichuris trichura* ve 3'ünde (% 0.06) *Ankilostoma duodenale* saptanmıştır.



*Entamoeba histolytica* + *Giardia lamblia* 20 dışkıda (% 0.4), *Ascaris lumbricoides* + *Taenia saginata* 20 dışkıda (% 0.4), *Entamoeba histolytica* + *Ascaris lumbricoides* 11 dışkıda (% 0.22) ve *Entamoeba histolytica* + *Enterobius vermicularis* 2 dışkıda (% 0.04) görülmüştür. Elde edilen bu bulguların 0–14 ve daha yukarı yaş gruplarına göre dağılımı Tablo I ve Tablo II'de topluca görülmektedir.

### TARTIŞMA VE SONUÇ

4930 dışkı örneğinin koproparazitolojik incelemesi sonucunda; tüm barsak helmintleri ve protozoonları birlikte değerlendirildiğinde görülme sıklığı yönünden *Entamoeba histolytica* (% 16.14) ve *Giardia lamblia* (% 15.57) ilk iki sırayı almaktadır. *Entamoeba histolytica* ile *Giardia lamblia*'nın birlikte ya da ikisinin diğer barsak helmint ve/veya protozoonları ile birlikte bulunma durumları da gözönüne alındığında bu oranlar da da büyümektedir.

TABLO I : 4930 olgunun Kopro—Parazitolojik İnceleme Sonuçları

Parazit	0–14 yaş	Erişkin	Toplam	%
<i>Entamoeba histolytica</i>	75	721	796	16.14
<i>Giardia lamblia</i>	509	259	768	15.57
<i>Taenia saginata</i>	14	71	85	1.72
<i>Ascaris lumbricoides</i>	43	144	187	3.79
<i>Hymenolepis nana</i>	31	34	65	1.30
<i>Enterobius vermicularis</i>	72	44	116	2.35
<i>Trichuris trichura</i>	16	100	116	2.35
<i>Ancylostoma duodenale</i>	0	3	3	0.06
<i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Giardia lamblia</i>	5	15	20	0.40
<i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Taenia saginata</i>	6	16	22	0.44
<i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	(–)	11	11	0.22
<i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Enterobius vermicularis</i>	2	(–)	2	0.04
Parazit Saptanamayan	1150	1589	2739	55.55
<b>TOPLAM</b>	<b>1923</b>	<b>3007</b>	<b>4930</b>	<b>100.</b>

TABLO II : 4930 Olgunun Kopro-Parazitolojik İncelemesinin Toplu Sonuçları

Parazit	0-14 Yaş	Erişkin	Toplam	%
Tek Helmint Bulunan	176	396	572	11.60
Tek Protozoon Bulunan	584	980	1564	31.72
Entamoeba histolytica				
Giardia lamblia	5	15	20	0.40
Entamoeba histolytica				
Ascaris lumbricoides	(-)	11	11	0.22
Entamoeba histolytica				
Enterobius vermicularis	2	(-)	2	0.04
Ascaris lumbricoides				
Taenia saginata	6	16	22	0.44
Parazit Saptanamayan	1150	1589	2739	55.55
<b>TOPLAM</b>	<b>1923</b>	<b>3007</b>	<b>4930</b>	<b>100.</b>

Yurdumuzda benzer çalışmalarda çeşitli araştırmacıların elde ettiği sonuçlar arasında zaman zaman önemli farklılıklar görülebilmektedir. Örneğin; Yüzbaşıoğlu M. Ege Ordusunda yaptığı bir araştırmada amibiyazisi % 2.71 oranında saptarken 20, Gevher Nesibe Tıp Fakültesinin yaptığı bir çalışmada 2207 olgunun 1068'inde helmint ya da protozoon bulunmuş ve bunun % 14.7'sinin Entamoeba Histolytica, % 28.48'inin ise Giardia lamblia olduğu tesbit edilmiştir(8).

Kurtpınar ve arkadaşları Diyarbakır'da yaptıkları bir çalışmada kentin sosyo-ekonomik düzeyinin düşük olduğu bölgelerinde Entamoeba histolytica'yı incelenen örneklerin % 18.7'sinde belirlerken, daha hijyenik şartlara sahip kesimlerde bu oranı % 7.5 olarak saptamışlardır(9).

Tüm nüfusunun 1/5'inin Entamoeba histolytica kisti taşıdığı tahmin edilen dünyamızda her yıl 10.000.000 civarında invaziv amibiyazis olgusu oluşmaktadır 10

Araştırmayı helmintler açısından değerlendirdiğimizde görülme sıklıklarına göre birinci sırayı Ascaris lumbricoides (% 3.79), ikinci sırayı % 2.35'lik oranlarla Enterobius vermicularis ve Trichuris trichura, üçüncü sırayı ise Taenia saginata (% 1.72) almaktadır (Tablo I). Bu konuda çok eski yıllardan günümüze kadar pek çok araştırmacı çalışmalar yapmıştır. Saptanan değerler zaman zaman birbirleri ile uyum göstermesine karşılık bazen de büyük farklılıklarla karşılaşılmalıdır. Sağlam M. 8244 dışkı örneğinde yaptığı çalışmada total örneklerin % 33.11'inde çeşitli helmintlerin mevcut olduğunu göstermiştir. Helmintler içinde % 18.04'lük görülme sıklığı ile Ascaris lumbricoides ilk sırayı almakta, bunu % 6.20 ile Trichuris trichura ve % 4.40 ile Taenia saginata izlemektedir 12. Yılmaz M. ve arkadaşları inceledikleri 1200 dışkı örneğinin % 26.4'ünde sadece Helmint, % 26'sında sadece

protozoon, % 12'sinde ise hem helmint hem de protozoon enfeksiyonu saptamışlardır (19). Bir başka çalışmada incelenen dışkıların % 26.5'inde parazit görülmüştür. Bunların % 60.6'sını protozoonlar, % 39.4'ünü ise helmintler teşkil etmektedir (16). Fazlı ŞA ve arkadaşları 6500 dışkı örneğinde yaptıkları çalışmada helmint saptama sıklığını (% 25.2) 5, protozoon bulunma sıklığını ise (% 33.26) 4 olarak belirlemişlerdir. Fazlı ŞA başka bir çalışmasında ise 16.600 dışkı örneği inceleyerek insanların % 54.2'sinin bir ya da daha fazla barsak paraziti ile enfekte olduğunu bildirmektedir 3 Hacettepe Üniversitesinde incelenen çocuk dışkı örneklerinin % 36.66'sında, erişkin dışkı örneklerinin ise % 22.49'unda barsak parazitleri saptanmıştır(13). Vural T. ve arkadaşları parazitöz oranını çocuklarda % 32.2, erişkinlerde ise % 23.2 olarak belirlemişlerdir (16). Bu çalışmada incelenen toplam 4930 dışkı örneği gözönüne alındığında tüm olguların ancak % 55 kadarında herhangi bir parazit saptanamamış, % 45 kadarında ise tek helmint, tek protozoon ya da bu organizmlerin çeşitli kombinasyonları ile karakterize poliparazitizm varlığı belirlenmiştir (Tablo II). İçinde yaşadığımız yüzyılda gittikçe gelişen hijyen koşulları ve etkili ilaçlar parazitlerle meydana gelen hastalıkların yeryüzünde gittikçe azalmasını sağlamakta ise de, özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde çok sayıda insanın barsağında bir, hatta birden fazla parazit bulunabilmektedir (11, 14). Bu arada bu çalışma sonuçlarında da görüldüğü gibi yurdumuzda çeşitli protozoon ve helmintlerin neden olduğu parazitözlerin sayısı toplum sağlığı açısından çok önemli boyutlardadır. Barsak parazitleri insanlarda çok çeşitli rahatsızlıklara neden olabilmektedir. Bunlar arasında malabsorbsiyon sendromları, anemiler ve çeşitli pulmoner semptomlar sayılabilir.

İnsan sağlığı yönünden önemli olan protozoon ve helmintlerin etken olduğu hastalıklardan korunmak için çeşitli kontrol yöntemlerinin uygulanması gerekir. Toplumun sosyo-ekonomik durumunun geliştirilmesi, hijyen kurallarının tam olarak uygulanması parazitözlerle karşı akla gelen ilk önlemlerdir. Genel olarak insan dışkısının çevreye yayılmasının ve toprağa karışmasının önlenmesi ile hemen bütün barsak helmintlerine karşı korunma sağlanmış olur. Hastaların saptanması ve tedavisi yanında aile ve çevrede parazit taşıyanların da araştırılması ve tedavi edilmesi gerekir.

Ayrıca toplumun parazitler yönünden eğitilmesi ve bunların buluşma yolları, hastalıklarının tehlikeleri, korunma önlemleri bakımından aydınlatılması ve bütün bireylerin bilinçli olarak katılmasıyla parazitözlerle karşı yapılan savaş başarılı olabilir.

## EXAM OF 4930 STOOL SEMPLES FOR INTESTINAL PARASITES

İbrahim BAYDAR  
Ömer KOCABEYOĞLU

Şadi YENEN  
Hüseyin GÜN

Ekrem YILMAZ  
Sabri GÜNGÖR

### SUMMARY

4930 stool semples were examined for intestinal protozoa and helminths. 2739 semples were negative for both protozoa and helminths. In 2191 stool semples single helminth, single protozoon or various Combinations of them were seen. Single helminth and single protozoon were found in % 11.60 and % 31.72 of the total cases, respectively. The most frequently encountered protozoon was *Entamoeba histolytica* (% 16.14) and helminth was *Ascaris lumbricoides* (% 3.79). In % 56 of the semples examined neither any protozoon nor helminth were determined.

### KAYNAKLAR

- 1- Bouree P., David P., Coco O., Baset D., Beauvais B.: Epidemiological Survey for Intestinal Parasites in Amazonia. Emop IV. The Fourth European Multicolloquium of Parasitology. Abstracts. Ed. By Tümbay E., Yaşarol Ş., Özcel M.A. October 14—19. 1984. s.: 147.
- 2- Çıtak Y.: Kayseri'de Barsak Parazitlerinin Bulunuş Oranları Mikrobiyol Bült. 14: 225—229, 1980.
- 3- Fazlı ŞA., Özbal Y., Kılıç H.: The Prevalance of Intestinal Parasites in the Kayseri Area. EMOP IV. The Fourth European Multicolloquium of Parasitology. Abstracts. Ed. By Tümbay E., Yaşarol Ş., and Özcel MA. October 14—19, 1984. S.: 145.
- 4- Fazlı ŞA., Özbal Y., Kılıç H.: 6500 Gaita Numunesinin Barsak Protozoonları Yönünden İncelenmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi. Acta Parasitologica Turcica. Cilt: VII, Sayı 1—2: 1—8, 1984.
- 5- Fazlı ŞA, Özbay Y., Kılıç H.: E.Ü. Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına başvuran 6500 Hastanın Barsak Helmintleri Yönünden İncelenmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, Acta Parasitologica Turcica Cilt: VII, Sayı:1—2:37—44, 1984.
- 6- Juniper K.: Giardiasis in "Infectious Diseases" Ed. By Hoeprich P.D. Harper and Row, Publishers. Philadelphia. Third Edition 1983, 683—687.

- 7- Karamızrak T., Orhan V.: İzmir'in Dört Köyünde Enterobiasis Araştırmaları. Türkiye Parazitoloji Dergisi Acta Parasitologica Turcica. Cilt: VI, Sayı: 2, 44-50, 1983.
- 8- Kayseri Üniversitesi Gevher Nesibe Tıp Fakültesi Tıp Günleri. Ayyıldız Matbaası 1982, Ankara. s.: 674-681.
- 9- Kurtpınar H., Sarıncı H., Mete Ö.: Diyarbakır'da Sosyo-Ekonomik ve Çevre Sağlığı Koşulları Farklı İki Semtin İlkokul Öğrencilerinde Barsak Parazitlerinin Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi Acta Parasitologica Turcica. Sayı: 1-2, Cilt:III, s.: 1-11, 1980.
- 10- Ravdin JI., Jones TC.: Entamoeba histolytica (Amebiasis) in Principles and Practice of Infectious Diseases. Ed. By Mandell GL., Douglas RG., Bennett JE. A Wiley Medical Publication. New York. Second Ed.Vol: 2, 1985. s.: 1506-1511
- 11- Rivera-Marrero CA.: Prevalence and Intensity of Helminth Infection in Southwest Puerto Rico. The Journal of Parasitology Vol.: 72, No:5, 787-788, 1986.
- 12- Sağlam M.: Türkiye'de Paraziter Barsak İnfeksiyonları. Başaistanlık Tezi. Ankara, 1962.
- 13- Selliöglü B., Özcan K.: Hacettepe Hastanelerinde 1974-1979 Yılları Arasında İncelediğimiz Dışkı Örneklerinde Barsak Parazitlerinin Dağılımı. Mikrobiyol Bül. 14: 235-240, 1980.
- 14- Şahin I., Baktır M., Özcan M., Orhan R.: A Parasitological Survey in the Orphanage of Kayseri, Turkey. EMOP IV. The Fourth European Multicolloquim of Parasitology. Abstracts. Ed. By. Tümbay E., Yaşarol Ş., Özcel MA. October 14-19, 1984, s.: 146.
- 15- Tolgay N.: Ankara ve Çevresi İlkokul Çocuklarında Bulunan Barsak Parazitleri, A.Ü.Tıp Fak. Mec. 23:1267, 1970.
- 16- Vural T., Mutlu G., Kumdaş A., Demir E., Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında Yapılan Kopro-Parazitolojik İncelemeler. Türkiye Parazitoloji Dergisi Acta Parasitologica Turcica. Cilt: IV, Sayı:2, 58-64, 1983.
- 17- Warren KS.: Diseases Due to Helminths in "Principles and Practice of Infectious Diseases". Ed. By Mandell GL., Douglas RG., Bennett JE. A Wiley Medical Publication. New York. Second Edition Vol: 2, 1985, 1562-1563.
- 18- Yaşarol Ş.: Medikal Parazitoloji. E.Ü. Tıp Fak.Yayınları No, 93, 1987, s.: 32.
- 19- Yılmaz M., Saygı G.: İlkokul Öğrencilerinde Bağırsak Asalaklarının Dışkı ve Sellofan Band Örnekleriyle Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi. Acta Parasitologica Turcica. Cilt:VII, Sayı: 1-2, s.:45-52, 1984.
- 20- Yüzbaşıoğlu M.: İzmir 800 Yataklı Asker Hastanesinde Kopro-parazitolojik Yöntemlerle Saptanan Parazitler. Türkiye Parazitoloji Dergisi. Acta Parasitologica Turcica. Cilt:VI, Sayı:2, 51-57, 1983.



# BAZIK AZOT ATOMU TAŞIYAN BAZI ORGANİK İLAÇLARIN MİKROKRİSTALLOSKOPİK ve KİMYEVİ İDENTİFİKASYONLARI XIV

Orhan N.YALÇINDAĞ \*

## ÖZET

Articaine HCl, Narceine HCl, Dextromethorphan HBr 2, 4, 7-triamino-6-(2-Bromophenyl) Pteridine'in identifikasyonları için, karakteristik mikrokristalloskopik reaksiyonlar tarif edilmiştir.

## GİRİŞ

İlaç analizi yapılırken, önce o ilacın içinde formülünde bulunan maddelerin teşhisleri yapılır, o madde veya maddeler teşhis edildikten sonra, miktar tayinine geçilir. Bu sebeple muhtelif müessir maddeler gibi, sıvağlarında teşhisleri ön planda mütalaa edilir.

Biz uzun senelerdenberi bu teşhisleri, bilhassa mikrokristalloskopik yollarla yapmağa devam ettik ve bunun pratikte faydalarını, tatbikatını da gördük.

Bu çalışmamızda da gene, bazik atomu taşıyan bazı organik ilaçların mikrokristalloskopik tanınmaları ile uğraştık.

## MATERYAL ve METOD

Bu çalışmamızda aşağıdaki ilaçlar incelenmiştir :

Articaine HCl : Hoechst A.G. Federal Almanya

Narceine HCl : E.Merck A.G. -Darmstadt/Federal Almanya

Dextromethorphan HBr. : E.Merck A.G.-Darmstadt

2, 4, 7-triamino-6-(2-bromophenyl) pteridine : Smith and Nephew research Ltd, /İngiltere

Reaktifler ve çözeltiler :

Bu çalışmamızda kullanılan bütün araçlar, E.Merck A.G. Darmstadt, firmasının pro analizi kalitesindeki maddeleri idi.

\* P.K. 139 — Kızıltoprak / İstanbul

Çözeltiler :

Reinecke ayracı : Reinecke tuzunun suda doymuş çözeltisi

Hg Cl<sub>2</sub> çözeltisi : Civa-2-klorürün suda doymuş çözeltisi

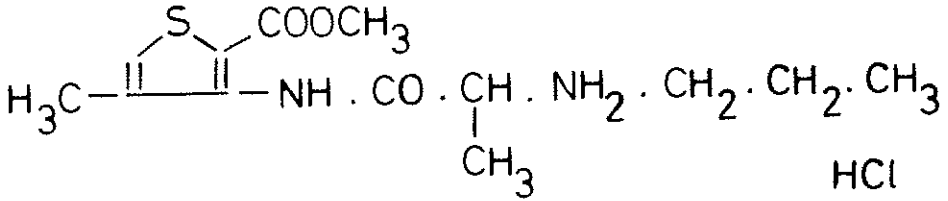
Pikrik asit çözeltisi : Pikrik asidin suda doymuş çözeltisi

N/10 İyon çözeltisi

Potasyum ferrisiyanür : Toz halinde

Potasyum ferrosiyanür : Toz halinde

### ARTICAİNE HCl



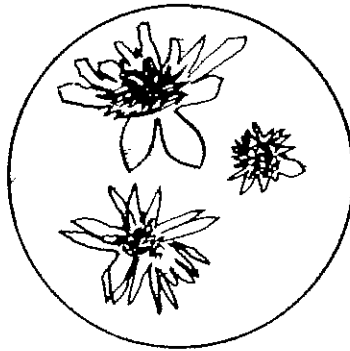
#### Formül 1

4-Methyl-3- (2-propylamine-propionamido) thiophen-2-karbonik asit metil esteri hidrokloratı

Lokal anestezi bir ilaçtır.

Mikrokristaloskopik reaksiyonu :

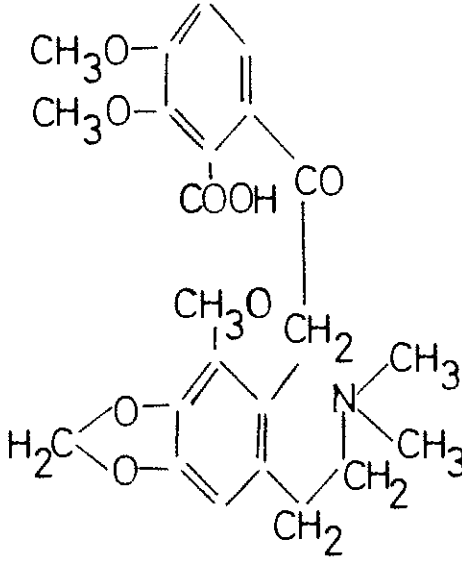
Articaine HCl in suda % 1'lik çözeltisinden bir damlası bir lam üzerinde 1 damla Reinecke ayracile muamele olursa (Şekil: 1) de görülen kristaller meydana gelir.



Şekil : 1 Articaïne - Reinecke tuzu



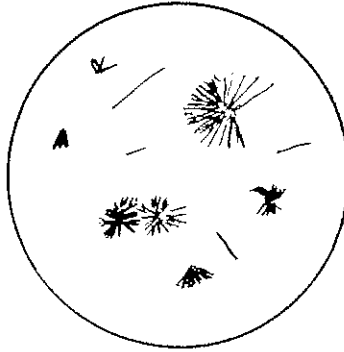
## NARCEİNE HCl



Formül 2

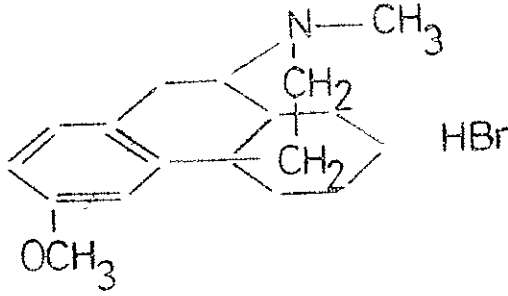
Mikrokristaloskopik reaksiyonu :

Narceine HCl in suda doymuş çözeltisinin 1 damlası, bir lam üzerinde, 1 damla Reinecke ayracile muamele olursa (Şekil : 2) de görülen kristaller teşekkül eder.



Şekil : 2 Narceine – Reinecke

## DEXTROMETHORPAN HBr



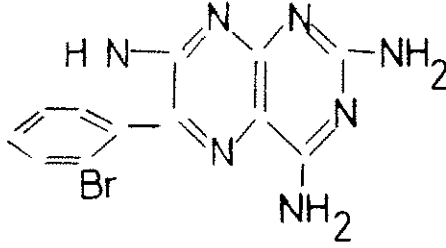
Formül 3 (+) methoxy-3-N, Methylmorphinane HBr.  
Antitussif bir ilaçtır.

Mikrokristaloskopik reaksiyonu :

Dextromethorphan HBr. in suda % 1'lik çözeltisinden 1 damlası, bir lam üzerinde, 1 damla suda doymuş Hg Cl<sub>2</sub> çözeltisiyle muamele olursa, bir kaç dakika sonra (Şekil :3)'de görülen karakteristik kristaller teşekkül eder.



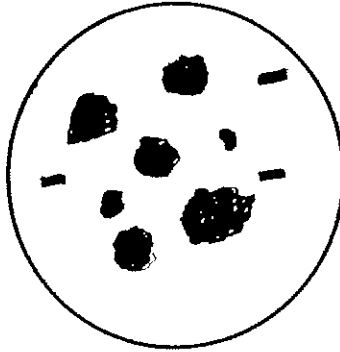
Şekil : 3 Dextrometh -- HgCl<sub>2</sub> sol



Formül : 4      2, 4, 7 – triamino–6–(2–bromophenyl) pteridine  
 Diüretik bir ilaçtır.

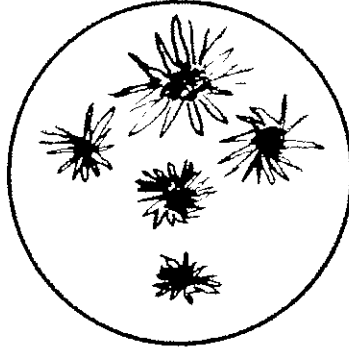
Mikrokristaloskopik reaksiyonları :

–. 2, 4, 7–triamino....nun N/10 HCl'de doymuş çözeltilisine aynı miktar distile su konur. Bu çözeltinin bir damlası, bir lam üzerinde 1 damla N/10 İyot çözeltisi ilave edilirse, 3 dakika sonra (Şekil:4)'de görülen koyu esmer renkli kristaller meydana gelir (büyültme 240).



Şekil : 4      N/10 – 2, 4, 7 – Triamino

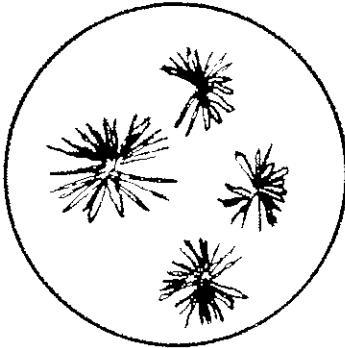
–. 2, 4, 7.–triamino ....nin yukarda tarif edilen şekilde hazırlanış çözeltisinin bir damlası, bir lam üzerinde bir damla pikrik asit ayraçı ile muamele olursa 5 dakika sonra açık sarı renkli (Şekil : 5)'de görülen kristaller meydana gelir (büyültme X 240).



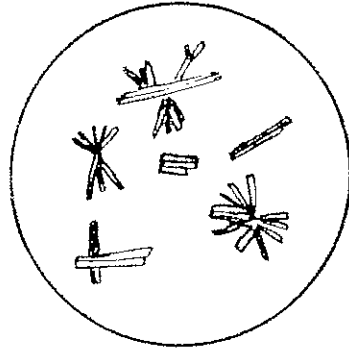
Şekil : 5 acid Picric – 2,5,7–triamino

–. 2, 4, 7.–triamino....nin yukarda tarif edilen şekilde hazırlanmış çözeltisinin 1 damlası bir lam üzerine, çok küçük bir kristal toz  $K_3 Fe(CN)_6$  konursa, 5 dakika sonra (Şekil : 6)'da görülen kristaller meydana gelir. Büyülte X 120.

–. 2, 4, 7.–triamino....niñ yukarda tarif edilen şekilde hazırlanmış çözeltisinden 1 damlası, bir lam üzerine, toz halinde küçük bir kristal  $K_4 Fe(CN)_6$  konursa, derhal (Şekil : 7)'de görülen kristaller meydana gelir (büyültme X 120).

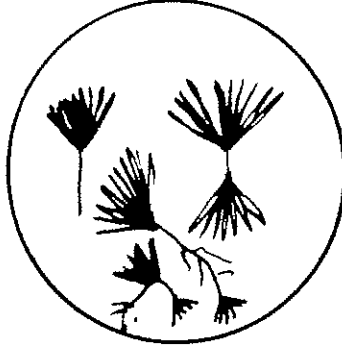


Şekil : 6  $K_3 Fe CN_6$ – 2,4,7– triamino



Şekil : 7  $K_4 Fe CN_6$  – 2,4,7– triamino

– 2, 4, 7, triamino...nin yukarda tarif edilen şekilde hazırlanan çözeltisinden bir damlası, 1 lam üzerinde 1 damla Reinecke ayracile muamele edilirse, (Şekil : 8)'de görülen kristaller meydana gelir.



Reinecke – 2, 4, 7– triamino

## MICROCRISTALLOGRAPHIC IDENTIFICATION OF SOME ORGANIC DRUGS CONTAINING BASIC AZOT ATOM XIV

Orhan N. YALÇINDAĞ

### SUMMARY

Microcrystaloscopic reactions of Articaïne, Narceïne, Dextromethorphan and 2, 4, 7, –triamino –6–(2–bromophenyl) pteridine, with Reinecke salt,  $Hg Cl_2$ , picric acid, N/10 Iodine soın.  $K_4 Fe (CN)_6$  and  $K_3 Fe (CN)_6$ , are described.



# KONAKÇI ÇEŞİDİNİN *An.sacharovi* FAVRE'NİN YUMURTA VERİMİNE ETKİSİ

Osman DEMİRHAN\*  
Halil KASAP\*

Mülkiye KASAP\*  
Davut ALPETİK\*

## ÖZET

Bu çalışma sıtma vektörü *An.sacharovi* dişilerinin beslendikleri kan kaynaklarına bağlı olarak geliştirdikleri total yumurta sayısını saptamak amacıyla yapıldı.

Değişik zamanlarda aynı günde pupadan çıkan sineklerden toplam 2341'i insan, kobay, koyun, tavşan ve civciv'den kan emdirilerek beslendi. Bunlardan 225 birey (% 83.33) in yumurtalarının açıldığı ve bunlardan da 30 (% 13.33) unun ikinci kez yumurtladığı saptandı. Her konak için ayrı ayrı elde edilen bulguların değerlendirilmesi sonucu, yumurta verimi bakımından konaklar arasında farklılık olduğu bulundu. Buna göre tavşan kanının sırası ile, kobay, civciv, insan ve koyun kanlarından daha fazla yumurta verimi sağladığı görüldü.

## GİRİŞ

Ülkemizin iklim koşulları ve doğal şartları, insan ve hayvan yaşamında oldukça önemli bir yer tutan sivrisineklerin üreme ve çoğalmasında için son derece uygundur. Yurdumuzda birinci derece sıtma vektörü olan *An.sacharovi* dişilerine konutlarda tüm yıl boyunca rastlanmaktadır (9).

Sivrisinek dişileri besin kaynağı olarak, şeker (karbonhidrat) ve kan (Protein) kullanırlar. Dişilerin emdiği kanı yumurta gelişimi için harcadıkları bilinmektedir, şekerler ise genel olarak enerji kaynağıdır. Kan emmiş dişilerde oosit gelişiminin kan proteinlerine bağlı olduğu (4, 10, 20), kan aminoasitlerinden izoleucinin yumurta verimini artırdığı (3, 11) saptanmıştır. Ayrıca çeşitli araştırmacılar emilen kan miktarı ile üretilen yumurta sayısı arasında bir ilişki olduğunu saptamışlardır (5, 7, 17, 22).

*An.stephensi* ile yapılan çalışmalarda, Roy (16) fare, kobay ve tavşan kanlarının insan kanına, Stahler ve Seeley (19) kobay kanının, tavşan, civciv ve insan kanlarına, Breaud ve Tubergen (1) ise fare kanının, kobay, sığır ve koyun kanına

\* Ç.Ü. Tıp Fak., Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Balcalı, ADANA

oranla daha fazla yumurta verimini sağladığını saptamışlardır. *Ae.aegypti*'de tavşan, kobay, kurbağa, kaplumbağa ve kanarya kanının insan ve maymun kanına oranla daha fazla yumurta verimini sağladığı saptanmıştır (21). *Cx.pipiens*'te kanarya kanı insan kanından (22), *Cx.salinarus*'ta ise civciv kanı kobay ve insan kanından daha fazla yumurta verimi sağlamıştır (18).

Yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi, sivrisineklerde farklı konaklardan emilen kan, yumurta verimini farklı yönde etkilemektedir. Yurdumuzda bugüne değin bu konuda yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Sivrisineklerde populasyon artışının sıtma yayılması ile yakın ilişkisi vardır. Bu ise beslenme faktörüne bağlıdır. Sıtmanın en sık rastlandığı Çukurova'da sıtma vektörü *An.sacharovi* ile böyle bir çalışmanın yapılması oldukça önemlidir.

## MATERYAL ve METOD

Çalışma için gerekli *An.sacharovi* erginleri Adana Tanrıverdi ve Yüzbaşı köylerinden toplandı. Toplanan sinekler kontrollü insektaryum odasına (sıcaklığı  $27 \pm 2$  °C, nem - %  $80 \pm 10$  RH ve fotoperiyodu 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık) alındı. Bu dişilerden elde edilen  $F_1$  -generasyonunun aynı günde çıkan erginleri kopulasyon için  $50 \times 50 \times 50$  cm boyutlarındaki kafeslere alındı. Beş günlük kopulasyon süresi boyunca % 10 luk şekerli su ile beslendi. Bu sürenin bitiminden 24 saat önce aç bırakıldı. Kan emdirilmeden önce sinekler bayıltılarak tek tek tartıldı ve dişilerin aç ağırlığı bulundu. Daha sonra sinekler beslenmeye alındı. Kan kaynağı olarak insan, tavşan, kobay, civciv ve koyun kullanıldı. Her konaktan kan emen sinekler, kan emdikten sonra tekrar tartılarak tok ağırlığı bulundu. Farklı konaklardan beslenen sineklerin her biri  $25 \times 20 \times 15$  cm boyutlarındaki kafeslere yerleştirildi. Yumurtlayan dişilerin yumurtaları ayrı ayrı sayılarak takibe alındı. Yumurtlayan sinekler tekrar aynı yöntem ile tartılıp kan emdirilerek ölüncüye kadar kaç kez yumurtladığı, her yumurtlamada her sineğin ne miktarda kan emdiği belirlendi. Kullanılan parametreler arasındaki ilişkiler "Korelasyon ve kovaryans analizi" yöntemi ile karşılaştırıldı.

## BULGULAR

Bu çalışma için toplam 2341 sinek, tavşan, kobay, civciv, insan ve koyundan kan emdirilerek takip edildi. Bunlardan toplam 270 birey (% 11, 53) in yumurtladığı, bu bireylerden 225 birey (% 83.33) in yumurtalarının açıldığı ve bunlardan 30 birey (% 13, 33) in ikinci kez yumurtladığı, yumurtaları açılmayan 45 birey (% 20) ise çalışma dışı bırakıldı (Tablo 1).

Beş günlük kopulasyon periyodu sonunda sağ kalan farklı grup bireylerden 565 dişi tavşandan, 298 dişi kobay'dan, 523 dişi civcivden, 339 dişi insandan ve 616 dişi koyundan değişik zamanlarda kan emdirilerek takip edildi. Yumurt-



lama periyodu boyunca tavşan, kobay, civciv, insan ve koyun için sırası ile 57 (% 10, 10), 54 (% 18, 12), 56 (% 10, 70), 52 (% 15, 33) ve 51 dişi (% 8.28) nin yumurtladığı, bunlardan her konak için 45 bireye ait yumurtaların sırasıyla her konak için (% 78, 94), (% 83, 33), (% 80, 35), (% 86, 53) ve (% 88,23) oranında açıldığı saptandı (Tablo 1). Birinci yumurtlamayı başaran dişilerden tavşan, kobay, civciv, insan ve koyundan ikinci kez kan emenlerden sırası ile 12 (% 26, 66), 4 (% 8, 88), 7(% 15, 55), 4(% 8.88)ve 3 birey(% 6.66) ikinci kez yumurtlamıştır (Tablo 1).

Birinci yumurtlamada bireylerin ortalama aç ağırlığı sırası ile tavşan, kobay, civciv, insan ve koyun için 1.80 mg (1.20–2.94) 2.20 mg (1.53–3.15 mg), 1.68 mg (1.20–2.60 mg), 1.87 mg (1.20–2.52 mg) ve 1.70 mg (1.32–3.15 mg), emdiği kan miktarı 1.83 mg (0.74.3–3.72 mg), 1.85 mg (1.0–3.04 mg), 1.59 mg (0.88–2.78 mg), 1.95 mg (1.20–3.33 mg) ve 2.11 mg (0.98–4.43 mg), üretilen yumurta sayısı 192.78–(36–404), 167,73 (62–346), 143,07 (44–270), 136.2 (44–298) ve 143.58 (53–290) ve açılan yumurta sayısı 93.86 (2.200), 93.46 (2–338), 63.67 (2–217), 61.93 (3–178) ve 62.46 (5–138) olarak saptandı (Tablo 1,2). Miligram kan başına üretilen yumurta sayısı ise sırayla ortalama 105.30 yum/mg, 91.11 yum/mg, 89.90 yum/mg, 69.85 yum/mg ve 67.78 yum/mg olarak bulundu (Tablo 1) (Şekil 6).

En az ve en fazla yumurta verimini sağlayan kan miktarı tavşanda 0.5 mg ile 2.49 mg, kobayda 1.0 mg ile 2.99 mg, civcivde 0.5 mg ile 2.49 mg, insanda 1.0 mg ile 3.49 mg ve koyunda 1.0 ile 3.49 mg arasındadır (Tablo 3). Ayrıca her konakçı için en fazla sineğin kan emdiği miktarda farklılık görünmektedir, bu tavşanda 1.5–1.99 mg, kobayda 1.5–1.99 mg, civcivde 1.0–1.49 mg, insanda 1.5–1.99 mg ve koyunda 1.5–2.49 mg olarak bulunmuştur(Tablo 3).

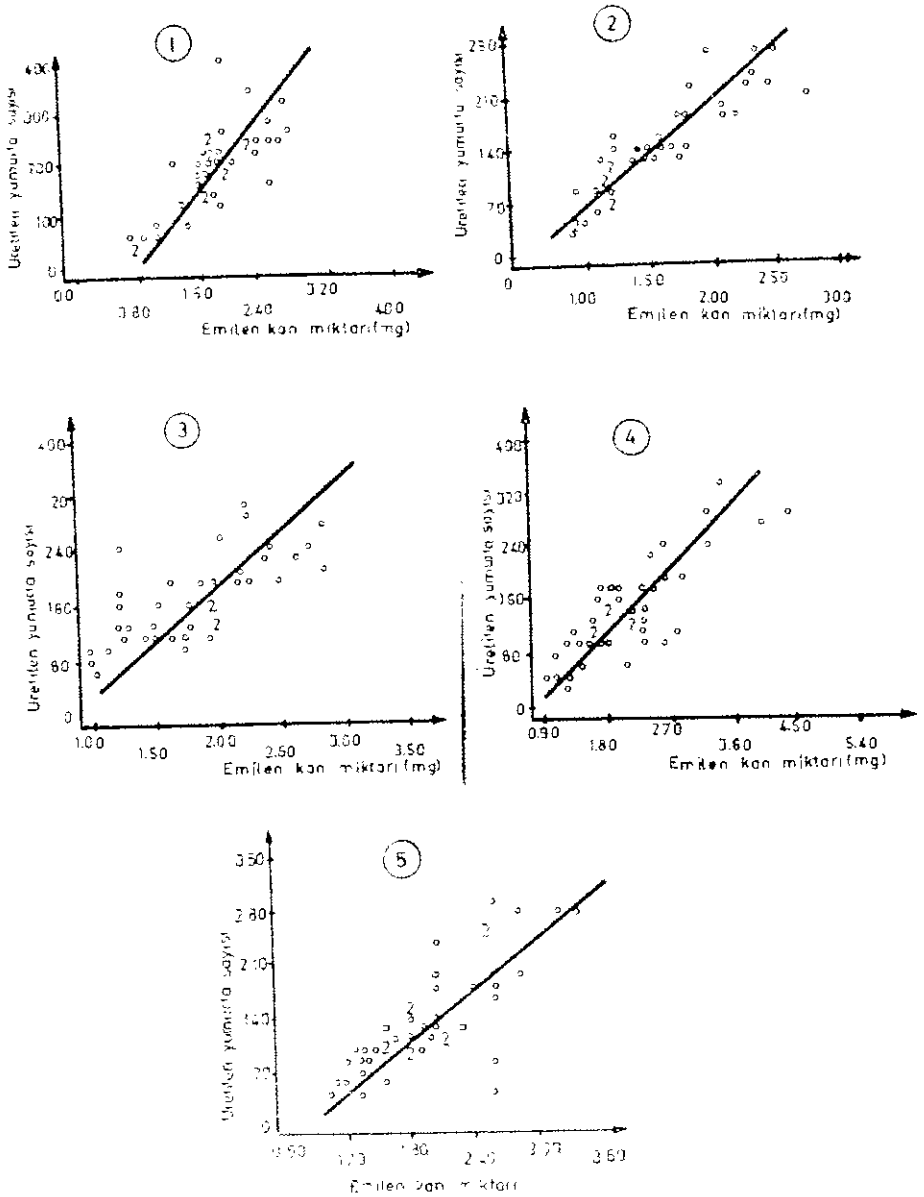
Her konak için sineklerin aç ağırlığı, emdikleri kan miktarı, üretilen yumurta sayısı ve yumurtaların açılma oranları arasındaki ilişki aşağıdaki şekilde bulunmuştur. Emilen kan miktarı ile aç ağırlık arasında tavşan, kobay, insandan kan emen sineklerde bir ilişki olmadığı ( $P > 0.05$ ), ancak bu ilişkinin civciv ve koyundan kan emen sinekler için önemli olduğu ( $P < 0.05$ ) saptanmıştır. Emilen kan miktarı ile üretilen yumurta sayısı arasında ise tüm konaklardan kan emen sineklerde önemli bir ilişki ( $P < 0.001$ ) bulunmuştur (Şekil 1–5). Ayrıca emilen kan miktarı ve üretilen yumurta sayısı ile açılan yumurta sayısı arasında yine tüm konaklardan kan emen sineklerde önemli bir ilişki saptanmıştır ( $P < 0.001$ ).

Tablo 1 : Farklı konaklardan beslenen An.sacharovi disilerinin çeşitli parametrelerine ait minimum, maksimum, ortalama ve yüzde değerleri.

KONAK	Kan emenlik sayı	Yumurta sayı ve yüz (%)	Yum. açılan sinek sayı ve yüz (%)	İkinci kez yum sinek sayı ve yüz (%)	Ac öğünük (mg)	Emilen kan miktarı (mg)	İletilen yum sayı	Aclan yum sayı	Aclan miktarı %	Mg kan başına yum. sayı
TAVSAN	565	57 10,10	45 78,94	12 26,66	140 (1,20-2,94)	183 (0,74-3,72)	192 78 (36-104)	93 86 (2-200)	48 68	105 30
KOBAY	298	54 18,12	45 83,33	4 8,88	2 20 (1,53-3,15)	1 85 (1,0-3,04)	167 73 (62-346)	93 46 (2-308)	55 72	91 11
CIVCIN	523	56 10,70	45 80,35	7 15,55	1 68 (1,20-2,60)	1 59 (0,88-2,78)	143 07 (64-270)	63 67 (2-217)	44 59	80 00
İNSAN	330	52 15,33	45 86,53	4 8,88	1 87 (1,20-2,52)	1 95 (1,20-3,33)	136 2 (64-298)	61 93 (3-178)	45 46	60 94
KOYUN	616	51 8,28	45 88,73	3 6,66	1 70 (1,32-3,15)	2 11 (0,98-4,43)	143 58 (53-280)	67 46 (5-109)	73 50	60 73
TOPLAM	2341	270 11,53	225 83,33	30 13,32						

Tablo 2 : An. sacharovi dişilerinde aç ağırlık ile çeşitli konakardan emilen kan miktarı, üretilen ve açılan yumurta sayıları

TAVŞAN	Sinek sayısı	Range	$\bar{X}$	SD	SE
Aç ağırlık (mg)	45	1.20 - 2.94	1.80	0.57	0.085
Emilen kan mik.(mg)	45	0.74 - 3.72	1.83	0.58	0.087
Üretilen yum. say.	45	36 - 404	192.78	80.2	11.97
Açılan yum. say.	45	2 - 200	93.86	57.1	8.52
KOBAY					
Aç ağırlık (mg)	45	1.53-3.15	2.20	0.453	0.068
Emilen kan mik.(mg)	45	1.0 - 3.04	1.85	0.53	0.080
Üretilen yum. say.	45	62 - 346	167.73	64.7	9.66
Açılan yum. say.	45	2 - 338	93.46	59.7	8.91
CIVCIV					
Aç ağırlık (mg)	45	1.20-2.60	1.68	0.38	0.06
Emilen kan mik.(mg)	45	0.88-2.78	1.59	0.50	0.08
Üretilen yum. say.	45	44-270	143.07	64.4	9.61
Açılan yum. say.	45	2-217	63.67	45.6	6.81
İNSAN					
Aç ağırlık (mg)	45	1.20-2.52	1.87	0.38	0.057
Emilen kan mik.(mg)	45	1.20-3.33	1.95	0.57	0.085
Üretilen yum. say.	45	44-298	136.2	70.2	10.47
Açılan yum. say.	45	3-178	61.93	42.2	6.30
KOYUN					
Aç ağırlık (mg)	45	1.32-3.15	1.70	0.37	0.055
Emilen kan mik.(mg)	45	0.98-4.43	2.11	0.75	0.11
Üretilen yum. say.	45	53-290	143.58	69.0	10.3
Açılan yum. say.	45	5-138	62.46	35.4	5.28

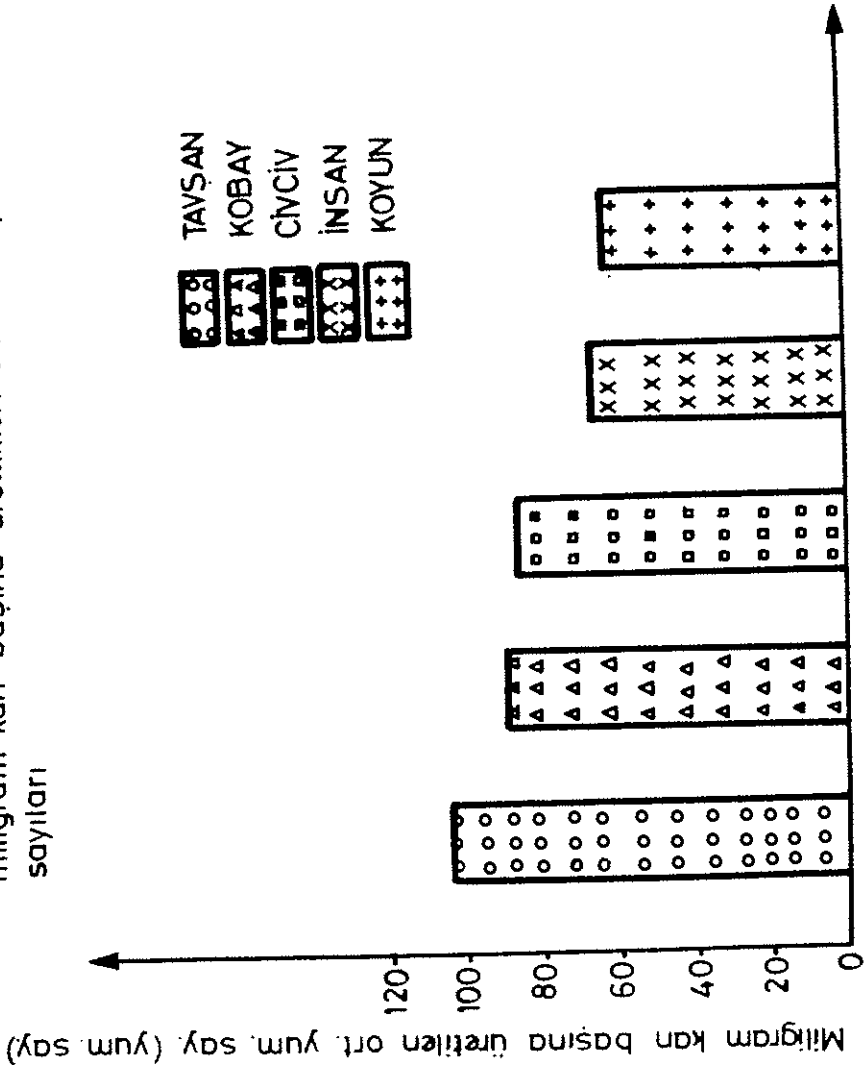


Şekil 1-5 An.sacharovi dişilerinin konaklardan emdiği kan miktarı ile ürettiği yumurta sayısı: Tavşan (Şekil-1), Koyun (Şekil-2), Cıvıv (Şekil-3), İnsan (Şekil-4), Koyun (Şekil-5).

Tablo 3 . An.sacharovi dişilerinin çeşitli konaklardan emdiği kan miktarları ile ürettikleri yumurta sayısı

KONAK	Başlangıç sınav sayısı	Emilen kan miktarları (mg)									
		0.5-0.99	1.0-1.49	1.5-1.99	2.0-2.49	2.5-2.99	3.0-3.49	3.5-3.99	4.0-4.49		
TAVŞAN	45	52.0 (4)	112.3 (6)	202.6(21)	251.0(9)	238.0(4)	—	319.0(1)	—	—	—
KOBAY	45	—	119.7 (13)	144.2 (17)	228.9(9)	246.8(6)	—	—	—	—	—
CIVCIV	45	48.3(4)	102.4(18)	168.8(13)	220.8(10)	—	—	—	—	—	—
İNSAN	45	—	74.0 (11)	113.2 (14)	156.4(9)	195.6(9)	280.5(2)	—	—	—	—
KOYUN	45	—	68.8(9)	120.1(13)	141.7 (13)	169.0(5)	289.3 (3)	—	—	—	281.0(2)

Şekil 6 : Farklı konaklarda beslenen An. sacharovi dişilerinin miligram kan başına ürettikleri ortalama yumurta sayıları



## TARTIŞMA

Bir vektörün yumurta veriminin saptanması eradikasyon çalışmaları için önemlidir. Çünkü vektörün verimliliğinin artması populasyon yoğunluğunun artışı sağlayacağından parazitin yayılma olasılığını artıracaktır. Değişik kan kaynaklarının sivrisineklerin yumurta verimi üzerine etkileri ile ilgili bugüne kadar yapılan çalışmalar, farklı koşullarda değişik tür sivrisinekler ve konaklar kullanılarak yapılmıştır.

Bulgularımızda civciv ve koyun kanı ile beslenmiş sivrisineklerde aç ağırlık ile emilen kan miktarı arasında bir ilişki olduğu, ancak tavşan, kobay ve insan kanları ile beslenmiş sivrisineklerde ise önemli bir ilişki olmadığı görülmektedir. Bu noktadaki bulgularımız Woke ve ark. (23), Colles ve Chellapah (5) ile Nayar ve Sauerman (14) in çeşitli tür sivrisinekler ve değişik konaklar üzerinde yaptıkları çalışmaları desteklenmektedir. Çalışmamızda kan emmeden önce şekerli besin ile beslenmiş ve bunu yeterince sindirmemiş dişilerde, vücut ağırlığı, sindirmiş olanlara oranla daha yüksek olduğu için bu dişilerin diğerlerine göre daha az kan emdikleri gözlemlendi. Sineğin kan emmesine engel olarak konağın duyarlılığı, sinek yoğunluğu ve konak tercih mekanizması gibi faktörlerin etkili olduğu düşünülürse, emilen kan miktarı ile aç ağırlık arasındaki ilişkinin konaktan konağa farklı oluşunun pek anlamlı olmadığı düşünülebilir. Nitekim farklı araştırmalarda konak davranışları ve sinek yoğunluğunun kan emme oranını etkilediğini ileri sürmüşlerdir (6, 7, 15).

Emilen kan miktarı ile üretilen yumurta sayısı arasındaki ilişki hem çalışmamızda hem çeşitli araştırmacılar tarafından bulunmuştur (5, 7, 8, 16, 17, 21). Bu ise kan proteinlerinin yumurta üretilmesinde kullanıldığını ve alınan miktarın fazlalığına göre yumurta sayısının etkilendiğini düşündürmesi bakımından önemlidir. Ayrıca bu çalışma en az ve en fazla yumurta verimini sağlayan kan miktarları bakımından konaklar arasında farklılık olduğuda göstermektedir (Tablo 3). Bunun ise, tamamiyle değişik kanlar içerisindeki değişik proteinlerden ileri geldiği düşünülebilir. Woke ve ark. (3) *Ae.aegypti* ve Jalil (8) *Ae.triseriatus* ile yaptığı denemelerde benzer sonuçlar elde etmişler ve bu farklılığın hem sinek türlerine, hem de emilen kanların besin değerindeki farklılığa bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Nitekim yapılan çalışmalarda, emilen kanın miktar ve yapısının üretilen yumurta sayısını etkilediği (4), kanın yumurta gelişimini başlatan kesin bir etken olduğu ve uygun sayıda yumurta üretimini sağladığı bildirilmektedir (7).

Çalışmamızda açılan yumurta sayısı ile üretilen yumurta sayısı ve emilen kan miktarı arasında önemli bir ilişki olduğu saptandı. En fazla yumurta veriminin en fazla kan emen sineklerde olduğu ve yine açılma oranlarının bu sineklerin yumurtalarında en yüksek olduğu görülmektedir. Bu da kan proteinlerinin yumurta yapımında kullanıldığını belirlemektedir.

Bulgularımızda tavşan, kobay, civciv, insan ve koyun kanları arasında yumurta verimi en yüksek kan kaynağının tavşan olduğu görülmektedir (Tablo 1)(Şekil 6). Meller (13) yumurta verimi bakımından laboratuvar koşullarında *An.stephensi* için en iyi kan kaynağının tavşan, Stahler ve Seeley (19) ise aynı tür için kobay olduğunu açıklamışlardır. Emilen kanın besin içeriğinin sineğin yumurta verimi ve diğer metabolik faaliyetlerini etkileyeceği açıktır. Nitekim Briegel (2) *Ae.aegypti* için kobay kanının yumurta verimi açısından insan kanından daha üstün olduğunu, bunun kobay kanındaki izoleucin oranının yüksek oluşundan ve yumurta gelişiminde kullanılan diğer amino asitlerin miktarının da insan kanından daha yüksek oluşundan ileri geldiğini belirtmiştir. Nitekim çalışmamızda da kobay kanının yumurta verimi bakımından insan kanından daha üstün olduğu ortaya çıkmaktadır (Tablo 1) (Şekil 6), ancak tavşan kanına oranla daha düşük yumurta verimi sağlamıştır.

Diğer taraftan *Cx.pipiens* ile yapılan çalışmada; kuş kanının yumurta bakımından insan, kobay ve tavşan kanlarına oranla daha verimli olduğu bildirilmiştir, bunda kuş eritrositlerinin çekirdekli olmasının etken olabileceği ileri sürülmüştür (22). *Ae.aegypti* de ise kanarya kanının kobay ve tavşan kanlarına göre yumurta verimini düşürdüğü bulunmuştur (21).

Çalışmamızda yumurta bakımından en verimli kan kaynağının tavşan olduğu görülmektedir (Tablo 1) (Şekil 6). Buna tavşan kanı içerisindeki yumurta yapımında kullanılan amino asitlerin ve izoleucin miktarının diğer konakçılardan kanlarına oranla, belki daha fazla olması neden olabilir. Tavşan kanına en yakın verimliliği kobay kanı sağlamaktadır. Tavşan ve kobay her ikisinde aynı gruptan olması nedeniyle, her ikisinde de benzer özellikler olmalıdır. Ancak her iki konakçının kan komponentlerinin analizi yapıldığı takdirde kesin sonuca varılabilir. Bu aşamada tavşan ve kobayın iyi birer konakçı olduğunu ve bunların popülasyonu hızlı bir biçimde artırabileceğini söylemekle yetineceğiz.



## EFFECTS OF DIFFERENT BLOOD SOURCES TO THE EGG PRODUCTION OF *Anopheles sacharovi* FAVRE

Osman DEMİRHAN  
Halil KASAP

Mülkiye KASAP  
Davut ALPTEKİN

### SUMMARY

The total egg Production of *An.sacharovi* females were determined in relation to the blood sources.

A total of 2341 females of the same age were blood-fed on human, guinea pig, sheep, rabbit and chicken in different times but under similar physical conditions. Overall the eggs of 225 females (83.33 %) hatched and 30 of which (13.33 %) layed eggs second time. Evaluations of results showed that there are differences, in respects to egg production, between the hosts as blood sources. It was found that the rabbit blood resulted in the highest rate of egg production, followed by guinea pig, chicken, human and sheep blood.

### KAYNAKLAR

- 1- Breaud, T.P. and Tubergan, T.A. 1978 A comparison of four blood sources for egg production in *An.stephensi*. Mos. News. 38(1):136-137.
- 2- Briegel, H. 1985. Mosquito reproduction: incoplete utilization of the blood meal protein for oögenesis. J.insect. Phy.31(1):15--21.
- 3- Chang, Y.H and Judson, C.L.1979. Amino acid composition of human and guinea-pig blood proteins and of ovarien proteins of the yellow fever mosquito *Ae. aegypti* and effects on the mosquito egg production. their Comp. Biochem, Phys. 62 A: 753--55.
- 4- Clements, A.N. 1963. The physiology of mosquitoes. pergamon Press Oxford, England. 393 p.
- 5- Colless, D.H. and Chellapah, W.T. 1960. Effects of body weight and size of blood-meal upon egg production in *A.aegypti* Ann.Trop.Med. Parz. 54:475--82.
- 6- Edman, J and Kale, H.W. 1971 Host behavior: Its influence on the feeding success of mosquitoes. Ann. of Ent.Soc.Am. 64 (2):513--16.
- 7- Edman, J.D. and Iyn, H.C. 1975. Relationship between blood meal volume and ovarian development in *Cx.nigripalpus* (Dip:Culi.). Ent. Exp. and Appl. 18:492--96.
- 8- Jalil, M. 1974. Observations on the fecundity of *Ae.triseriatus*. Ent. Exp App. 17:223--233.

- 9- Kasap, H., Kasap, M., Mimioğlu, M.M., Aktan, F. 1980. An.sacharovi erginlerinin Adana yöresinde kışlama durumu. TÜBİTAK 6. Bilim Kon. Tıp Arş. Grubu Teb.
- 10- Laurence, B.R and Roshdy, M.A. 1963. Ovary development in mosq. Nature Lond: 200:495-96.
- 11- Lea, A.O.1972. Regulation of egg maturation in the mosquito by the neuroserotory system the role of the corpus cardiacum. Gen.Comp. Supl. 3: 602-608.
- 12-Mather, T.N. and Defohart, G.R. 1983. Effect of host blood source on the gonotrophic cycle of *Ae.triseriatus* Am. J.Trop. Med. Hyg. 32 (16): 189-93.
- 13-Meller, H. 1962. Verg leichende beobachtugen uber die biologie van *An. atropalpus* and *An.stephensi* unter laboratoriu umogen ungungen. 2.Trop. Parz. 13 (1): 80-100.
- 14- Nayar, J.K. and Saurman, D.M. 1975. The effects of nutrition on survival and fecundity in Florida Mos. Part 3: Utilization of blood and sugar for fecundity, J.Med.Ent. 12 (2): 220-225.
- 15- Reeves, V.C. 1971. Mosquito vector and vertebrata host intraction. The Econ. and Phy. of Parz. p:223-233.
- 16- Roy, D.N. 1931. On the ovulation of *An.stephensi*. J.Med. Res. 19(2): 617-28.
- 17- Roy, D.N. 1936. On the role of blood in ovulation in *Ae.aegypti*. Bull. Ent. Res. 27 (3): 423-29.
- 18- Shelton, R.M. 1972. The effects of blood source and quantity on production of eggs by *Cx.salinarius coquillett*. Mos. News. 32:31-37.
- 19- Stahler, N. and Seeley, D.C. 1971. Effect of age and host on oviposition of *An.stephensi* in the laboratory, J.Econ. Ent. 64 (2):561-2.
- 20- Van Handel, E. 1964. Metabolism of nutrients in the adult Mosq. Mos. News. 44 (4): 573-79.
- 21- Woke, P.A. 1937 a. Comparative effects of the blood of different species of vertebrates on egg-production of *Ae.aegypti* Am. J.Trop. Med. Hyg. 17 (5): 729-45.
- 22- Woke, P.A., 1937 b. Comparative effects of the blood of man and of canary on egg production of *Cx.pipiens*. J.Parz. 23 (3): 311-13.
- 23- Woke, P.A. Ally, M.S. and Rosenberger, C.R. 1956. The numbers of eggs developed related to the quantities of human blood ingested in *Ae.aegypti*. Ann.Ent. Soc. of Am. 49: 435-41.

# HAYAT KADINLARINDA ANTİSPERM ANTİKOR SIKLIĞI VE FERTİLİTE AZALMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Sabri GÜNGÖR \*  
Ekrem YILMAZ \*\*

Hüseyin GÜN \*\*  
İbrahim BAYDAR \*\*\*\*

Ömer KOCABEYOĞLU \*\*  
Şadi YENEN\*\*\*

## ÖZET

110 genelev kadınının kan serumlarında indirekt immünofloresan antikor tekniği (IFAT) ile antisperm antikor (ASA) araştırıldı. Bunlardan 61'inde (% 55.45) pozitiflik saptanırken, kontrol grubunu oluşturan 30 evlenmemiş bayan kan donöründe aynı teknikle yapılan incelemede ise pozitiflik oranı % 3.3 (1/30) olarak bulundu. Sperm alloantijenleri ile kronik bir şekilde stimülasyona maruz bulunan genel kadınlarda neticede oluşan alloimmünizasyon, bu grupta büyük oranda oluşan fertilitate azalmasını izah etmektedir.

## GİRİŞ

Antisperm antikorlarla infertilite ilişkisi 1959'da Isojima, Katsh, Tyler ve arkadaşları tarafından ortaya konulalıberi, bu konuda çeşitli klinik ve deneysel araştırmalar birbirini izlemektedir. Örneğin deney hayvanları üzerinde homolog erkek genital organ salgıları ve dokuları ile yapılan immünizasyonlarda fertilitate azalma gözlemlendiği gibi, yine deney hayvanlarında sperm veya yabancı protein antijenlerle vajen yolu ile infertilite oluşturulabildiği çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (2, 3). Behrman ve Otani, kobayları vajen yolu ile ve homolog spermler kullanarak immünize etmişler ve fertilitenin azaldığını ortaya koymuşlardır (2). Son yıllarda da ASA'larla infertilite arasındaki ilişkiye yönelik yoğun klinik ve deneysel çalışmalar yapılmaktadır. Franklin ve Duker çeşitli incelemelerde infertiliteyi izah edilemeyen kadınlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda serumda ASA'ların varlığını mikroaglutinasyon tekniği ile göstermişlerdir (4). Aynı araştırmacılar izledikleri ASA pozitif 13 kadının 10'unda 6 ay süre ile kondom kullan-

(\*) GATA ve As.Tıp Fak.Mik. ve Kl.Mik.ABD.Başkanı, Prof.Dr.

(\*\*) GATA ve As.Tıp Fak.Mik. ve Kl.Mik.ABD.Yard.Doç.

(\*\*\*) GATA H.Paşa Eğ.Hast.Mik ve Kl.Mik. Enst.Drk., Yard.Doç.Dr.

(\*\*\*\*) GATA ve As.Tıp Fak.Enf.Hast. ve Kl.Mik.ABD.Başkanı, Doç.Dr.

dirarak eşlerinin spermeleri ile temasın kesilmesi sonucu antikör düzeyinin saptanamayacak ölçüde minimale indiğini veya negatifleştiğini gördüler. Bu kadınların 9'unda daha sonraki dönemde gebelik elde edildiğini rapor ettiler.

1971 de Shulman, sperm antijenlerine karşı dolaşımında meydana gelen antikörlerin fertilité azalmasına neden olabileceğini ifade etmiştir (12). Biz de 1985 yılında yaptığımız bir çalışmada % 15.96 oranında ASA pozitifliği saptadığımız bir grup kadın hastada 3-6 aylık kondom uygulaması ve düşük doz uzun süreli kortizon uygulaması ile elde ettiğimiz immünoşüpressif tedavi ile % 21.14'lük gebelik oranı elde ettik (5).

Bu çalışmaların ışığında, genel kadınlarda azalmış olarak saptanan fertilitenin temelinde immünolojik bazı olayların yattığı ifade edilebilir. Aslında bu bir yeni görüş te değildir. 1871'de Darwin tarafından fahişelerdeki bu infertilite açık bir şekilde ifade edilmiştir. Konu 1921'de tekrar gündeme gelmiş ve daha sonra bu konuda çalışmalar yine birbirini izlemiştir. 1958'de Gebhard ve arkadaşları fahişelerde yüksek oranda infertilite oluştuğunu ve yine yüksek insidanda spontan abortuslar bulunduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda genel kadın serumlarında IFAT ile antisperm antikör sıklığını araştırarak elde edilen sonuçların fertilité azalmasındaki etkinliğini tartışmaya çalıştık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma kapsamına S.S.Y.B.Zührevi Hastalıklar Hastanesine periyodik kontrol için başvuran 110 genelev kadınından elde edilen serum örnekleri alınmıştır. GATA Kan Bankasına donör olarak gelen genç evlenmemiş bayanlar arasından seçilen 30 kişilik bir grup ise kontrol grubu olarak çalışmaya alınmıştır.

ASA saptanmasında indirekt immünofloresan antikör tekniği kullanıldı. Bu amaçla 0-Rh negatif kan grubundan olan fertil erkeklerden alınan taze ejakülat antijen olarak kullanıldı. 0.1 ml. taze semen 10 ml. serum fizyolojik ile sulandırıldı, 2000 rpm'de 10 dakika santrifüje edildi. 2 kez daha aynı işlem tekrar edilerek yıkanmış olan bu spermatozoonlardan 1 ml. de  $10 \times 10^6$  sayıda olacak şekilde fizyolojik serum ile sulandırılarak test antijen süspansiyonu hazırlanmış oldu.

Teflonla kaplı lamalar üzerindeki kuyucuklara birer damla bu antijen süspansiyonundan damlatıldı. Lamlar fan altında kurutulduktan sonra metanolle 5 dakika fikse edildi ve teste alınmaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

Test ve kontrol serumlarının  $1/30$ 'ar dilüsyonlarından kuyucuklar üzerine birer damla damlatılarak rutubetli ortamda 30 dakika inkübe edildi. Bu süre sonunda PBS (PH=7.2) ile ve bir manyetik çalkalayıcı yardımı ile lamlar 30 dakika yıkandı. Daha sonra floresein ile konjuge edilmiş polivalan anti insan globulini (Wellcome laboratory) ilave edilerek 30 dakika nemli ortamda ve oda ısısında preparatlar tutuldu. Bu süre sonunda PBS ile ve yine bir manyetik çalkalayıcı yardımı

ile 1 saat yıkandıktan sonra lam kenarları ve kuyucuk araları kurulandı. Kuyucuklar üzerine PBS/bidistile gliserol=1/9 karışımından damlatılarak lamelle kapatıldı ve floresan mikroskopta incelendi (Standard Carl-Zeiss, HB-200 mikroskop). 1/30 dilüsyonda incelemeye alınan bu serumlarda parlak sarı-yeşil floresans tesbit edilenler pozitif olarak değerlendirildi ve pozitif serumların daha ileri dilüsyonları hazırlanarak aynı yöntemle incelendi.

## BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 110 serum örneği ile kontrol grubuna ait serumlarda IFAT ile yapılan testlerde elde edilen ASA pozitiflikleri ve pozitiflik titrelere TABLO I ve TABLO II'de toplu halde görülmektedir.

TABLO I : Olgularda ve Kontrollerde IFAT ile elde edilen ASA pozitiflikleri

Olgu Grubu	Çalışılan Serum Sayısı (n)	Asa Pozitif Serum Sayısı	Pozitiflik Yüzdesi
Genelev Kadınları	110	61	% 55.45
Kontrol Grubu	30	1	% 3.33

Tablo I'de görüldüğü gibi toplam 110 serum örneğinden 61'inde değişik titrelere ASA pozitifliği saptanırken, kontrol grubunu oluşturan 30 serum örneğinin sadece 1 tanesinde ve düşük titrede pozitiflik saptanmış ve aralarındaki fark istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur ( $t = 5.145$ ,  $p < 0.001$ ).

TABLO II : Olgu gruplarında saptanan ASA pozitifliklerinin titrelere göre dağılımı.

Olgu Grubu	Çalışılan Serum Sa.	Pozitif Serum Sa.	POZİTİFLİK TİTRELERİ			
			1/30	1/60	1/120	1/240
Genelev kadınları	10	61	18	17	17	9
Kontrol Grubu	30	1	1	-	-	-

Çalışma kapsamına alınan 110 serum içerisinde ASA saptanan 61 serumda antikor titrelerini bulmak üzere yapılan kantitatif çalışmada 9 serumda 1/240, 17'şer serumda 1/120 ve 1/60, 18 serumda ise 1/30 düzeyinde antikor bulunmuştur. Buna karşılık kontrol grubunda bulunan ASA pozitif 1 serumda ise düşük düzeyde antikor (1/30) saptanmıştır.

## TARTIŞMA

Bugüne kadar çeşitli araştırmacılar tarafından değişik yöntemlerle dolaşımda saptanan antispermatozoal antikorlarla fertilité azalması arasındaki ilişki ortaya açık bir şekilde konulmuştur. İlk kez 1952 de Kibrick ve arkadaşları tarafından uygulamaya konulan mikroskopik sperm aglütinasyon testi ve daha sonra Franklin ve Duker tarafından tarif edilen mikroskopik sperm aglütinasyon testlerinden sonra devam ettirilen çalışmalarla sperm immobilizasyon testi, jelatin aglütinasyon testi, Tube-slide testi, Tray test, MAR test (mixed antiglobulin reaction), floresan antikor testi ve nihayet ELISA yöntemleri uygulamaya konulmuştur (1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11).

Mann, sperm aglütinasyonuna yol açan kimyasal ve fiziksel nedenleri bir liste halinde bildirirken, özellikle bakteriyel kontaminasyonların (başta E.coli olmak üzere) önemine değinmiştir. Chang 1947'de taze insan serumunun homolog ve izolog spermatozoonlar üzerinde öldürücü etkili olabildiğini aynı zamanda nadiren spermatozoonların kendiliğinden de aglütine olabildiklerini ifade etmiştir.

Çeşitli incelemeler sperm aglütinasyonuna yol açan faktörlerin daha çok seminal plazmada bulunduğunu göstermiştir (12). Nitekim 1954'de Wilson spermogramlarında fertil bulunan iki erkeğin çocuk sahibi olmadıklarını ve bu hastaların spermalarının baş başa veya kuyruk kuyruğa birleşerek kümeleşmeler gösterdiklerini, ayrıca bunların kan serumu ve seminal sıvılarının birkaç kez sulandırılmalarına rağmen fertil donörlerden alınan spermatozoitleri de aglütine ettiklerini ve etkinin fertil kontrol serum ve seminal sıvılarda bulunmadığını tesbit etmiştir. Bu hastaların eşlerinde post-koital test uygulandığında yine sonucun zayıf olduğunu ve spermatozoitlerin servikal mukus içerisinde hareketlerini süratle yitirdiklerini görmüştür.

Yine çeşitli araştırmalar genel kadınların reprodüktif hikayelerinin zayıf olduğunu ve yüksek sıklıkta düşük oluşmasından yakındıklarını ortaya koymuştur. Kontrollü çalışmalarda bu hayata başlamadan önce genel kadınlarda serumda antikor saptanmadığı halde zaman içerisinde serokonversiyon olduğu ve ASA pozitif buldukları saptanmıştır. ASA pozitifleşmesi gebeliğin önlenmesini izah edebilmekte ise de genel kadınlarda abortus insidansının artışı açıklayıcı değildir.

Çalışmamızda genel kadınlarda % 55.45 gibi yüksek sıklıkta ASA pozitifliği bulunmasına karşılık kontrollerde % 3.33 bulunmuştur. Bulduğumuz sonuçlar

benzer çalışmalarındaki sonuçlara paralellik göstermektedir. Evlenmemiş genç kızlardan oluşan kontrol grubu olgularındaki düşük te olsa 1 vakada saptanan ASA pozitifliği, birtakım çapraz reaksiyon veren antijenlerle ilgili olsa gerektir.

Kadında spermatozoitlere karşı duyarlılaşma yolları incelenmiş ve herhangi bir korunma olmaksızın yapılan cinsel birleşme ile vajen yolu, uterus yolu, tüpler veya peritoneal yolla absorpsiyonun mümkün olabileceği ifade edilmiştir (2,3). Primatlarda yapılan çalışmalarda uterus içinde fagositoz ve lokal antikor prodüksiyonu olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular dokuda lokalize antikorların fertilité azalmasıdaki rollerini göstermektedir. Bununla birlikte serumdaki dolaşan antikorların da şüphesiz fertilité azalmasında önemli rolü vardır. 3-6 ay süre ile kondom uygulanması ile spermatozoit temasından ve dolayısıyla antijenik stimulan korunan kadınlarda ASA pozitifliği negatifleşmekte veya çok önemsiz titrelelere kadar düşmektedir. Şu halde genel kadınlarda kronik bir şekilde ve değişik antijenik özelliklerde spermatozoitlerle olagelen antijenik uyarımlar lokal ve genel antikor yapımına yol açmakta ve zaman içerisinde fertilité azalmasına veya infertilitéye yol açacak düzeylerde ASA oluşmasına neden olmaktadır. Şüphesiz ki bu konuda da ileri çalışmalara ihtiyaç gösteren karanlık noktalar mevcuttur.

## THE INCIDENCE OF ANTİSPERMATOZOAL ANTİBODİES IN PROSTITUTES AND THE EVALUATION OF DECREASED FERTILITY

Sabri GÜNGÖR  
Ekram YILMAZ

Hüseyin GÜN

Ömer KOCABEYOĞLU  
Şadi YENEN

İbrahim BAYDAR

### SUMMARY

110 sera from prostitutes were studied by immunofluorescent antibody techniques (IFAT) for anti-spermatozoal antibodies (ASA). 61 of these sera (% 55.45) were positive. On the other hand thirty unmarried healthy women blood donors were examined as a control group and the positivity rate was 3.3 % (1/30) in latter group.

It is obvious that there is a direct relationship between the presence of antispermatozoal antibodies and decreased fertility.

### KAYNAKLAR

- 1- ALEXANDER, N.J., BEARWOOD, D.: An immunosorption assay for antibodies to spermatozoa : comparison with agglutination and immobilization tests. *Fertil. and Steril., and Steril.*, 41: 2, 270-276, 1984.
- 2- BEHRMAN, S.J., OTANI, Y.: Transvaginal immunization of the guinea pig with homologous testes and epididymal sperm. *J. Fertil.*, 8: 829, 1963.
- 3- ADWARDS, R.G.: Antigenicity of rabbit semen, bull semen and egg yolk after intravaginal or intramuscular injections into female rabbits. *J. Reprod. Fertil.*, 1: 385, 1960.
- 4- FRANKLIN, R.R., DUKES, C.D.: Antispermatozoal antibody and unexplained infertility. *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 89: 6, 1964.
- 5- GÜNGÖR, S., SAĞLAM, M., SAĞLAM, R., AŞAR, G.: İnfertil çiftlerde antisperm antikor sıklığı ve immünosipressif tedavi ile elde edilen gebelik oranı. *Türk Üroloji Dergisi*, 11: 4, 365-374, 1985.
- 6- GÜNGÖR, S., SAĞLAM, M., GÜMRÜKÇÜ, E., AŞAR, G., KERSE, M., YILMAZ, E.: İnfertilite nedeni açıklanamayan erkek ve kadınlarda anti-sperm antikor sıklığı. *GATA Bülteni*, 25: 1201-1210, 1983.
- 7- HENDRY, W.F.: The diagnosis and treatment of antisperm antibodies in subfertile males. *Recent Advances (3), Urology/Andrology*, Ed. by. W.F. Hendry, Chapt. 22, 1981, Churchill Livingstone, 339-352.
- 8- ISOJIMA, S., TSUCHIYA, K., KOYAMA, K., TANAKA, C., NAKA, O., ADACHI, H.: Further studies on sperm-immobilizing antibody found in sera of unexplained cases of sterility in women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 112: 2, 199-207, 1972.
- 9- KIBRICK, S., BELDING, D.L., MERRIL, B.: Methods for the detection of antibodies against mammalian spermatozoa. *Fertil. and Steril.*, 3: 430, 1952.
- 10- MAVLIGIT, G.M., TALPAZ, M., HSIA, F.T., WONG, W., LICHTIGER, B., MANSELL, P.W.A., MUMFORD, D.M.: Chronic immune stimulation by sperm alloantigens. *JAMA*, 251: 2, 237-241, 1984.
- 11- ÖZEN, H., ASAR, G., GÜNGÖR, S., PEKER, A.F.: Varicocele and antisperm antibodies. *International Urology and Nephrology*, 17 (1), 97-101, 1985.
- 12- SHULMAN, S.: Spermantibodies as a cause of infertility. *Clinical review in Clinical laboratory Science*, 393, 2, 1971.



# TEİKOİK ASİTLER

Hatice AYHAN

## ÖZET

Teikoik asitler, gram pozitif bakterilerde hücre duvarında bulunan ve hücre duvarının kuru ağırlığının % 30—40'ını oluşturan komponentlerdir. Peptidoglikan omurgasındaki NAMA(N—asetil muromik asit) molekülüne fosfodiester bağları ile bağlı olup, bakterinin yüzey antijenini meydana getirir. Teikoik asitler gliserol fosfat veya ribitol fosfat içeren polimerleri kapsar. Antijenik özelliklerini ise yapılarındaki şeker, kolin ve D—alanin molekülleri belirler. Türlerle özgüllük gösterdiğinden immunolojik özellikleri ile mikroorganizmaların klasifikasyonunda önem taşırlar.

## GİRİŞ

Gram pozitif bakterilerde, hücre duvarında 2 önemli komponent bulunur. Bunlar, teikoik asitler ve peptidoglikan (mukopeptid, murein tabakası, glikoamino-peptid)dir (1, 2, 3).

Gram pozitif bakterilerde hücre duvarında bulunan teikoik asit, hücre duvarının kuru ağırlığının % 30—40'ını oluşturmaktadır (2). Teikoik asit terimi, ilk olarak gram pozitif bakterilerin hücre duvarından izole edilen ve fosfat içeren polimer gruplarını belirtmek amacıyla kullanılmıştır. İlk belirlenen gruplar, ribitol fosfat veya gliserol fosfat içeren polimerler olmuştur (4). Bu üniteler peptidoglikan omurgasındaki NAMA molekülüne fosfodiester bağları ile bağlanmış durumdadırlar (4). Hücre duvarının yüzeyine yerleşmiş teikoik asitler yüzey antijenini meydana getirirler ve gram negatif bakterilerdeki lipopolisakkaridin karşıtı olarak kabul edilirler. Teikoik asit ismi, gliserol fosfat ve ribitol fosfat molekülünü içeren membran polimerlerini de kapsamına alır. Bu asitlerin antijenik özelliklerini yapılarındaki şeker, amino şeker, kolin ve D—alanin molekülleri belirler. Şekerler  $\alpha$  ve  $\beta$  formlarında yerleşmiş olabilirler (3, 5). Farklı suşlardaki teikoik asitlerin özellikleri ve yapıları farklı olup, türlerle özgüllük gösterirler. Çevresel koşulların etkisiyle miktar ve özellikleri değişebilen teikoik asitler polisakkarid olarak da tanımlanırlar.

\* Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı , Uzm.Bio.

Farklı türlerde bulunan ve immunolojik özellikleri ile mikroorganizmaların klasifikasyonunda önem taşıyan bu moleküller, aşağıda belirtildiği gibi adlandırılmaktadır (Oeding, 1978):

Poly A $\alpha$	: $\alpha$ -N-asetilglukozamin ribitol teikoik asit
Poly A $\beta$	: $\beta$ -N-asetilglukozamin ribitol teikoik asit
Poly B $\alpha$	: $\alpha$ - glukozil gliserol teikoik asit
Poly B $\beta$	: $\beta$ - glukozil gliserol teikoik asit
Poly C	: $\beta$ -N-asetilglukozamin gliserol teikoik asit
Poly 187	: N - asetilgalaktozamin ribitol teikoik asit
Poly P	: $\alpha$ - glukoz ve gliserol glukoz amin ünitelerinin tekrarlandığı teikoik asit olduğu sanılmaktadır.

Teikoik asitler hücrede buldukları yere bağlı olarak iki büyük sınıf altında toplanabilirler (4).

I - Membran teikoik asitleri

II- Duvar teikoik asitleri

I- Membran Teikoik Asitleri :

Gram pozitif bakterilerin çoğunda az miktarlarda bulunan (kuru ağırlığın % 1-2'si) bu önemli komponentler lipoteikoik asit olarak da isimlendirilmektedirler (6). İlk önceleri, teikoik asitin hücre, hücre duvarındaki varlığı kesin olarak bilinmediğinden, teikoik asitlerin tümüne "intraselüler teikoik asitler" denilmekteydi. Bugün, membran teikoik asit terimi sadece intraselular teikoik asit için kullanılmaktadır (4). Bu komponentler sağlam bakteri hücrelerinde stoplazmik membranın dış yüzeyinde stoplazmik membran ile ilişkili teikoik asit formunu oluşturur ve duvar teikoik asitleri ile benzer polimerlerden meydana gelmiştir. Hücre membranına lokalize olan membran teikoik asitleri, glikolipid moleküllerine kovalent bağlarla bağlı gliserol ribitol zincirlerine sahiptirler (4). Sıvı fenolün kullanıldığı çeşitli ayırıştırma yöntemleri ile gram pozitif bakterilerden izole edilmiş olan bu teikoik asitlerin 25-30 gliserol fosfat molekülününün glikozil ve D-alanin ester grupları ile 1,3-fosfodiester bağına sahip oldukları bugün tümüyle açıklanmış durumdadır (6). *L.fermenti*'nin elektron mikroskop çalışmalarında ferritin ile işaretlenmiş antikorlar kullanılarak hücre duvarında membran teikoik asidinin varlığı gösterilmiştir (7).

Membran teikoik asitleri, duvar teikoik asitlerinin biyosentezinde "lipoteikoik asit taşıyıcısı" olarak önemli bir fonksiyona sahiptirler ve duvar teikoik asidinin peptidoglikana bağlanma safhasındaki rolü de son zamanlarda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (4).

Membranda lokalize olmuş teikoik asitler, hücre duvarındaki otolitik enzimler ile etkileşim halindedirler ve eksternal litik enzimlere karşı bakterileri korurlar. Bu yapılar, *Bacillus subtilis*'in saflaştırılmış duvarındaki litik aktiviteyi inhibe etmektedirler (4). Yine membran teikoik asitleri bakteri hücre yüzeyindeki bivalent (iki değerlikli) katyonların kontrolüne yardımcı olurlar (özellikle de  $Mg^{++}$  iyonlarının). Membranda lokalize olmuş teikoik asitler membran dış yüzeyi ile direk temas halinde olup, membran için katyon sağlarlar. Eğer membran teikoik asiti duvar teikoik asiti ile temas halinde ise bu komponentler (duvar ve membran teikoik asitleri) aracılığı ile hücre duvarının dış yüzeyinden hücre membranına doğru iyon değişimi olacağı açıktır (4).

Membran teikoik asitleri gram pozitif bakterilerde bulunmalarını, membran üzerinde lokalize olmaları, homojenik yapıları ile diğer membran komponentlerinden ayrılırlar (3, 4).

#### II- Duvar Teikoik Asitleri :

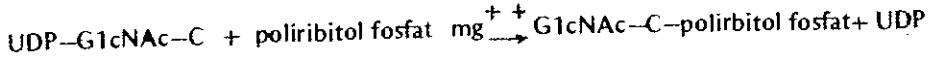
Gram pozitif bakterilerde hücre duvarında peptidoglikana kovalent bağlarla bağlı olarak bulunurlar ve bakteri duvarının kuru ağırlığının % 30-40'ını oluştururlar. Temel yapı poliribitol fosfat (*Bacillus subtilis* veya *Staph. aureus*) veya poligliserol fosfat (*Staph. epidermidis*)'dir. Bu polimerler glikozid bağları ile bağlı şeker ve amino şeker (glukoz veya N-asetil-D-glukoz amin) gruplarına sahiptirler (1, 5, 8, 9).

#### Teikoik Asitlerin Biyosentezi

Teikoik asit prokürsörleri (öncül maddeleri) olan sistidin difosfat gliserol (CDP-gliserol) ve sistidin difosfat ribitol (CDP-ribitol) bazı bakterilerden hazırlanan membran ile uygun nükleotidlerden ribitol fosfat ve gliserol fosfat polimerlerinin sentezinin gösterilmesiyle tesbit edilmiştir (10). Enzim sisteminin varlığında, sistidinderibitolden polimerlerin sentezi membran teikoik asitinin özelliğine bağlı olarak alıcı bir makromolekülün (lipoteikoik asit taşıyıcısı) varlığına gerek gösterir. *Staphylococcus aureus*'ta enzim sistemi yaklaşık 30 ünitenin tekrarlanmasıyla oluşan tek bir zincirin sentez edilmesi esasına dayanılarak, ribitol fosfatın sentezini katalize eder. Sentezlenen ribitol fosfat lipoteikoik asit taşıyıcısına henüz bilinmeyen bir pozisyonda fosfodiester bağı ile bağlanır. Bağlanma üniteleri, peptidoglikanda bir muromik asit molekülü ve ribitol fosfatın fosfat terminal ucu arasına girmiş 3 adet gliserol fosfat grubuna sahip düz bir zincirden oluşmuştur. Ribitol fosfat zinciri lipoteikoik asit taşıyıcısından bağlanma ünitesine transfer edilir ve ribitol fosfat bağlanma ünitesi ile bakteri duvarına bağlanır (11).

Son yıllardaki çalışmalarla, *Staph. aureus*'da sistidin difosfogliserol (CDP-gliserol) ve üridin difosfo-N-asetilglukozamin, duvar materyaline kovalent bağlarla bağ  $\alpha$  - ve  $\beta$ -N-asetilglukozamin ribitol bağlarının enzimatik sentezi için

gerekli olduğu saptanmıştır. Bağlanma zincirinin peptidoglikana birleşmesinden sonra N-asetilglukozamin (G1cNAc)'in üridin difosfat N-asetilglukozamin'den (UDP-G1NAc) poliribitol fosfata transferi yapılır (8).



#### Teikoik Asitlerin Antijenik Özelliği

Gram pozitif bakterilerin duvarlarında bulunan teikoik asitler yüzey antijeni meydana getirirler. İlk olarak, Wieghard ve Julienelle (1935) virulent stafilo-kokların hücre duvarındaki teikoik asitlerin antijenik aktivitesi olduğunu göstermişlerdir. Teikoik asitlerin antijenik özelliği, şeker, amino şeker, kolin ve D-alanin tarafından belirlenir. İlerleyen çalışmalar ile Staph. aureus suşlarında N-asetilglukozamin ribitol ünitesinin serolojik determinantlar olduğu (12, 13) ve glukozaminin atomlarının yerleşimine (konfigürasyonuna) bağlı olarak özgüllük gösterdiği saptanmıştır (1).

Lipoteikoik asit olarak da bilinen membran teikoik asitlerinin immunolojik determinantlarına karşı direk olarak monoklonal antikor oluşturan hibrid hücreler üretilmiştir. Yapısal farklılık gösteren çeşitli lipoteikoik asitlerin, duyarlılaştırılmış koyun eritrositlerini aglutine etme yeteneklerine dayanılarak, monoklonal antikorların çoğunun krosreaksiyon verdikleri gösterilmiştir (6).

#### Teikoik Asitlerin Türlere Özgüllüğü

Staph. aureus hücre duvarları  $\alpha$ - veya  $\beta$ -N-asetilglukozamin rezidülü ribitol teikoik asit içerir ki bu yapı türün karakteristiğidir (14, 15). Staph. aureus'un hayvan orijinli suşlarının Oeding (1978) tarafından duvar teikoik asitlerine göre çeşitlilik gösterdikleri belirtilmiştir. Farklı hayvan türlerinden ve insanlardan Staph. aureus suşlarının sahip oldukları teikoik asitler tablo-1'de gösterilmiştir.

Tabloda görüldüğü gibi

Tablo 1. Farklı hayvan türlerinden ve insanlardan izole edilen Staph. aureus suşlarında bulunan duvar polisakkaridleri (teikoik asitler) (3).

Staph. aureus suşlarının kaynakları	Polisakkaridler			
	Poly A $\alpha$	Poly A $\beta$	Poly C	Poly P
İnsan	+	+	-	-
İnek	-	+	-	-
Koyun	-	+	-	-
Tavuk	-	+	-	-
Domuz	-	+	-	-
At	+	-	-	-
Köpek	-	-	-	+
Güvercin	-	-	+	-
Minek	-	-	+	-

Oeding'e (1978) göre, insan, sığır, tavuk ve domuz orijinli koagülaz pozitif stafilokok suşları, P-N-asetilglukozamin ribitol teikoik asit (Poly A<sub>P</sub>) at orijinli suşlarla insan orijinli suşlar ise α-N-asetilglukozamin ribitol teikoik asit (Poly A) içermektedirler. Faj 187'e duyarlı Staph. aureus suşlarında da duvar teikoik asiti olarak, N-asetilglukozamin yerine N-asetilgalaktozaminin bulunduğu saptanmıştır. Teikoik asitlerdeki bu çeşitlilik de suşa yeni bir özgülük kazandırmaktadır (3). Son zamanlarda bu polisakkaridlerden başka güvercin ve mink kökenli koagülaz pozitif stafilokok suşlarında Poly H, köpek orijinli suşlarda Poly P ve bazı domuz orijinli koagülaz pozitif suşlarda Poly V tesbit edilmiş olup, üçünün de gliserol teikoik asit yapısında oldukları sanılmaktadır. Ancak, yapısı en iyi bilinen Poly H, güvercin ve mink orijinli Staph. aureus suşlarının karakteristik teikoik asiti olarak bildirilmiştir (3).

### Teikoik Asit Tipinin Bakteri Klasifikasyonundaki Önemi ve Biyokimyasal Aktivite ile İlişkisi

Teikoik asitlerin Micrococcaceae familyasının sınıflandırılmasında ve taksonomideki yeri bakımından önemli bir rolü vardır (3). Teikoik asit tiplerinin serolojik olarak idenfikasyonu ile stafilokok türlerinin biyokimyasal klasifikasyonu arasında büyük bir korelasyon saptandığından, bakterilerin sınıflandırılmasında teikoik asit tipi önemli bir karakter olarak tanımlanabilmektedir (16).

Stafilokok suşları, biyokimyasal aktivitelerine bağlı olarak klasik şemaya göre, Staph. aureus, Staph. epidermidis, Staph. saprophyticus olarak sınıflandırılabilir gibi Baird,-Paker (1974)'in şemasına göre de, Staph. aureus/SI, Staph. epidermidis/SII, Staph. saprophyticus/M<sub>3</sub> -, Staph. saprophyticus/M<sub>5</sub> olarak tanımlanan stafilokok suşlarının duvar presipitinojenleri (teikoik asitleri) tablo 2'de gösterilmiştir (16).

Tablo 2. Klasik ve Baird-Paker'in şemasına göre klasifiye edilmiş 113 stafilokok suşunun sahip oldukları duvar presipitinojenleri (16)

Biyokimyasal sınıflandırma	B-P	Presipitinojenleri							
		A <sub>P</sub> / A <sub>α</sub> β		A <sub>α</sub> / A <sub>P</sub> β <sub>α</sub> C			Diğer	TM	
S		Prot. A	A <sub>α</sub> / A <sub>P</sub>	B <sub>α</sub>	A <sub>β</sub>	C			
Staph. aureus / SI	13	9		4	0	0	0	0	0
Staph. epider / SII	32	0		0	25	1	1	2	3
Staph. sapro / M <sub>3</sub>	64	0		1	0	61	0	2	0
Staph. sapro. / M <sub>5</sub>	4	0		0	1	1	1	1	0
		9		5	26	63	2	5	3

TM : Tiplendirilmeyen suşlar

S : Klasik şema

B-P : Baird-Paker'in şeması

Digrones ve Oeding (1975), *Staph. aureus* / SI suşlarının tümünde B- veya - formda bağlanmış amino şeker içeren Poly A duvar presipitinojeni bulunduğunu, ayrıca, birkaç suşta da her iki bağı içeren amino şeker determinantlarının varlığını saptamışlardır. *Staph. epidermidis* / SII'deki teikoik asitlerin Poly B olduğunu ve suşların tümünde teikoik asite glukozun  $\alpha$ -formda bağlı olduğunu göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada *Staph. saprophyticus* /M<sub>3</sub> genellikle Poly A<sub>B</sub>C, nadiren Poly A<sub>B</sub>; *Staph. saprophyticus* /M<sub>5</sub> suşlarının bazısında ise Poly A<sub>B</sub>C'nin bulunduğu saptanmıştır.

Aglutinasyon ve presipitasyon testleri ile hücre duvarında N-asetil-glukozamin gliserol teikoik asitin varlığı belirlenen stafilokok suşlarının *Staph. epidermidis*; hücre duvarında N-asetil glukozamin ribitol teikoik asit içeren suşlar ise *Staph. aureus* olarak tanımlanabilir (16). *Staph. aureus*'un hücre duvarında  $\beta$ -N-asetilglukozamin ribitol teikoik asit ve  $\beta$ -N-asetilglukozamin gliserol teikoik asit olmak üzere iki tip teikoik asitin varlığı bildirilmiştir (16).

#### Teikoik Asitlerin Teşhisi

Teikoik asitlerin antijenik özgülüğü hemaglutinasyon, presipitasyonun inhibisyonu ve hücre duvarının aglutinasyonu testleri ile gösterilebilmektedir (5, 13, 17). *Staph. aureus*'da teik asitlerin immunolojik aktivitelerini göstermek amacıyla kullanılan hücre duvarının aglutinasyonu ve hemaglutinasyon yöntemlerinden başka, agar jel difüzyon (5, 16) testiyle agar üzerinde bandlar şeklinde saptanabilir. Yine, komplement fiksasyon ve immunelektroforezis testleri de teikoik asitlerin teşhisi için duyarlı testler olarak kullanılmaktadır.

*Staph. aureus*'da agar jel difüzyon ile iki presipitasyon bantı oluşur ki bu bantların birinin  $\alpha$ -N-asetilglukozamin molekülüne ait olduğu bildirilmiştir (8). İnsan antiserumu ile yapılan presipitasyon testiyle insanların teikoik asitlere gösterdikleri immunolojik reaksiyonlar saptanmış, teikoik asitlerin intrakutan enjeksiyonuyla insanlarda bunlara karşı antikorların oluştuğu gösterilmiştir. Fenomende, bu antikorların rolü ile stafilokokal enfeksiyonlar arasındaki ilişki ise tam olarak bilinmemektedir (8).

Koagülaz pozitif stafilokokal endokarditis, bakteriyemi, osteomyelitis ve diğer enfeksiyon durumlarında hastalarda, özellikle enfeksiyonun 9. gününden itibaren teikoik asit antikorlarını saptamak mümkün olabilmekte, 1:8 veya daha yüksek olan antikor titresi enfeksiyon yönünden pozitif olarak kabul edilmektedir (17).

Teikoik asitler ve diğer polisakaridler birçok gram pozitif bakteride kros reaksiyona neden olabilmektedir. Koagülaz pozitif stafilokokların yaklaşık % 10-30'unun minor antijenler olarak N-asetil ribitol teikoik asit içerdikleri, ribitol teikoik asitin her iki formuna da ( $\alpha$  ve  $\beta$ ) sahip olan *Laktobacilli* ve *Bacillus pu-*

milis arasında da kros reaksiyonların meydana geldiği saptanmıştır. Bir ribosil-ribitol fosfat polimeri olan Haemophilus influenza tip-b kapsular polisakkaridine karşı presipite edici antikorların oluştuğu stafikokal enfeksiyonlu hastalardan alınan serumlarda gösterilmiştir (17). Staph. mutans'ın gliserol teikoik asit antiserumları, koagülaz pozitif stafilokoklardan ayrılmış antijenler ile reaksiyon verdiği; Grup A streptokok ile kros reaksiyonların grup A karbonhidratların immuno-determinantı olan N-asetilglukozamin'den ileri geldiği; pnömokok C substansının kolin fosfat içeren bir teikoik asit olduğu bildirilmiştir (17).

Teikoik asitlere karşı oluşmuş antikorların seviyesinde antibiyotik tedavisinden kısa bir süre sonra hızlı bir düşme olduğu, yine bu serolojik yöntemlerle saptanmıştır (17).

## TEICHOIC ACIDS

Hatice AYHAN

### SUMMARY

Teichoic acids are the components, found in the wall structures of gram positive microorganisms and composes 30-40 % of its dry weight. It constitutes the surface antigen of the bacteria by binding to NAMA (N, acetyl muromic acid) molecule by phosphodiester bonds in the peptidoglycan skeleton. Teichoic acids contain polymers made up of glycerol phosphate or ribitol phosphate. Their antigenic characteristics are determined by their structural carbohydrates, colin and D-alanin. Since they show species specificity, they can be important in classification of the microorganisms with their immunological properties.

### KAYNAKLAR

- 1- Morse, S.I., Isolation and properties of a group antigen of Staphylococcus albus, J.Exp. Med., 117:19-26, 1963.
- 2- Arda, M., Genel Bakterioloji, A.Ü.Vet.Fak.Yayınları No: 342, Ders Kitapları: 242, A.Ü.Basımevi.
- 3- Oeding, P., Genus Staphylococcus, Methods in Microbiology, Acedemic Press. London.

- 4- Lambert, P.A., Hancock, I.C. and Baddiley, J., Occurrence and function of membrane teichoic acids, *Biochim. Biophys. Acta.* 472:1-12, 1977.
- 5- Oeding, P., Wall teichoic acids in animal *Staphylococcus aureus* strains determined by precipitation, *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect.B.*, 81:327-336, 1973.
- 6- Jackson, D.E., Wong, W., Largen, M.T. and Shockman, G.D., Monoclonal antibodies to immunodeterminants of lipoteichoic acids, *Infect. Immun.* 43:800-803, 1984.
- 7- Van Diriel, D., Wicken, A.J., Dickson, M.R. and Knox, K.W., *J. Ultrastructure Res.*, 43: 483-497, 1973.
- 8- Nathenson, S.G., Ishimoto, N., Anderson, J.S. and Strominger, J.L. (1 Enzymatic synthesis and immunochemistry of  $\alpha$ - and  $\beta$ -N-acetylglucosamylribitol linkages in teichoic acids from several strains of *Staphylococcus aureus*, *J. Biol. Chem.*, 241: 651-658, 1966.
- 9- Endresen, C. and Grov, A., Immunochemical analysis of an unusual cell wall polysaccharide from animal coagulase-positive *Staphylococci*, *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect.B.*, 84:305-308, 1976.
- 10- Burger, M.M. and Gloser, I. *J. Biol. Chem.*, 239:3168-3177, 1964.
- 11- Duchwerth, M., Archibald, A.R. and Baddiley, J., *FEBS. Lett.* 53:176-179, 1975.
- 12- Haukenes, G., Ellwood, D.C., Baddiley, J. and Oeding, P., Serological cross-reactivity between polysaccharide A and teichoic acid *Staph. aureus*, *Biochim. Et Biophysica Acta.*, (3:425-432, 1961).
- 13- Morse, S.I., Studies on the chemistry and immunochemistry of cell walls of *Staph. aureus*, *J. Exp. Med.*, 116-229, 1962.
- 14- Armstrong, J.J., Baddiley, J., Buchanon, J.G., Garss, B. and Greenberg, G.R. Isolation and structure of ribitol phosphate derivatives (teichoic acids) from bacterial cell walls, *J. Chem. Soc.* 1958:4344-4354, 1958.
- 15- Baddiley, J., Buchanon, J.G., Hardy, F.E., Martin, R.O., Raj Bhandary, U.L. and Sanderson, A.R., The structure of the ribitol teichoic acid of *Staph. aureus*. *Biochim. Biophys. Acta (Amst)*, 52:406-407, 1961.
- 16- Digranes, A. and Oeding, P., Characterisation of *Micrococcaceae* from the urinary tract, *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B.* 83: 373-381, 1975.
- 17- Larinkari, U.M., Valtonen, M.V., Sarvas, M. and Valtonen, V.V., Teichoic acid antibody test, *Arch. Intern. Med.*, 137: 1522- 1525, 1977.
- 18- Karakawa, W.W. and Kane, J.A., Immunological analysis of a galactosaminic teichoic acid of *Staphylococcus aureus*, phage type 187, *J. Immun.*, 106:900-906, 1971.



# ASCORBIC ACID VE İMMÜN SİSTEM

Firdevs GURER\*

## ÖZET

Oral yolla ve değişik iki doz halinde verilen C vitamini lenfositler dokularındaki etkisi araştırıldı. Sonuçta, lenfositler dokularındaki lenfosit yapım odaklarını aktive ettiği ve bunu DNA, RNA sentezlerindeki pozitif etkisiyle gerçekleştirdiği gözlemlendi. Ayrıca, bu aktivasyonun dozla birlikte arttığı bulundu.

## GİRİŞ

Bilindiği gibi, askorbik asit diye adlandırılan C vitamini organizmadaki sayısız fonksiyonlarından biri de, vücudun immün sistemini güçlendirmesidir. C vitamini bu etkisini, çeşitli mekanizmalarla gerçekleştirmektedir. Bu mekanizmalardan birisi de, C vitamini DNA ve RNA sentezlerindeki etkisi şeklindedir. C vitamini immünogenezden sorumlu odaklardaki hücrelerde DNA ve RNA sentezini, dolayısıyla sonuçta mitotik aktiviteyi artırarak, bu hücrelerin yapımını arttırmaktadır. Bunun yanısıra normal organizma hücrelerinin DNA-RNA ve protein sentezlerini arttırıcı yönde etkinken; gerek hastalık etkeni virus ve bakterilerin, gerekse çeşitli tümör hücrelerinin DNA ve RNA'larında inhibisyona neden olup organizmaya zarar vermelerini önlemektedir (1, 2, 3, 4).

Böylece C vitamini, DNA-RNA üzerindeki etkisini; organizmanın yararına olan hücrelerde pozitif, zararına olanlarda ise negatif yönde göstererek vücut savunmasında etkili olmaktadır.

C vitamini enfeksiyonlarda ve kanser gibi çeşitli immün sistem zayıflığı olan hastalardaki etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bunlardan bazıları, şu şekildedir :

Vitamin C ve bağışıklık cevabı üzerine yapılan bir çalışmada; farelerin içme suyuna vitamin C ilavesiyle, T-lenfositlerinin concavalin-A'ya cevabının arttığı şekilde hücreler arası immün cevapta dikkate değer bir artış kaydedilmiştir. Bu vitamini bazı viral enfeksiyonlardaki koruyucu etkisinin, interferon artması şeklindeki bir mekanizmayla olduğunu ileri sürmüşlerdir (5).

---

\* Anadolu Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Öğretim Görevlisi, Dr.

Bir başka araştırmada da, vitamin C'nin nötrofil fonksiyonu ve bağışıklık cevabı; antimikrobal aktivitede, interferon üretiminde, hücrel ve humoral bağışıklık cevabındaki rolü dikkatle gözden geçirilerek incelenmiştir. Sonuçta hayvan ve insanlarda nötrofillerin kemotaksik cevabı, vitamin C durumuyla açıkça bağlantılı bulunmuş, tümör büyümesinin vitamin C ile azaldığı görülmüş, dolayısıyla immün cevapta önemli bir rol oynadığı söylenmiştir. Ayrıca lökosit vitamin C konsantrasyonu ile perifer lökosit sayıları arasında ve perifer nötrofil sayıları arasında ters bir ilişki bulunmuş; ağızdan vitamin C alınmasının, T-lenfosit blastogenezisini arttırdığını gözlemişlerdir (6).

Bu konuda çalışan iki araştırmacıda, vitamin C'nin fagositik sisteme etkisiyle ilgili mevcut durumları ve kendi görüşlerini, şöyle belirtmişlerdir: Fagositik etkili hücreler, mikrobial invazyonlara karşı kalabalık savunma mekanizması için bol sayıda gereklidir. Vitamin C'nin nötrofillerin kemotaksis, bakteriyostatik gücü ve oksidatif metabolizmalarına müdahaleleri görülmüştür. Yazarların delillerine göre, vitamin C, normal insan granülositlerindeki kemotaksik cevabı uyarmaktadır. Keza, uzun C vitamini tedavileri, bozulmuş fonksiyonların restorasyonunu teşvik eder (7).

Bütün bu çalışmalar, C vitamininin immün sistemdeki önemli etkisini ortaya koymaktadır. Bu çalışma da, C vitamininin bu fonksiyonunu yerine getirirken; immünogenezisten sorumlu lenf düğümü ve dalak gibi organlarda nasıl bir etki yaptığını ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, değişik iki dozda C vitamininin; söz konusu organlarda bulunan ve bağışıklıkta ileri derecede etkili olan lenfositlerin yapım yerleri lenf follikülleri ve malpighi korpusküllerinde, DNA-RNA sentezlerini etkileyip etkilemediği bulunmaya çalışılmıştır. Çünkü, bu odaklarda C vitamini ile elde edilebilecek DNA-RNA artımı, C vitamininin lenfosit yapımını dolayısıyla bu yolla immün sistemi güçlendirdiğini gösterecekti.

## MATERYAL ve METOD

Bu çalışma için 11'i dişi ve 13'ü erkek olmak üzere 24 köy tavşanı (*Oryctolagus cuniculus*), materyal olarak kullanıldı. Deneye başlamadan önce aynı bakım ve beslenme koşullarında, 20 gün adaptasyonları sağlanan bu tavşanlar 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubu olan 1.grubun 4 tavşanına, 10 gün süreyle sadece serum fizyolojik iştirildi. 2. grubun 10 tavşanına, 10 gün 30 mgr./kg.dozda ve oral yolla C vitamini verilirken; 3.grubun 10 tavşanına ise yine 10 gün süreyle ve 50 mgr./kg. lık daha yüksek dozda C vitamini oral yolla verildi.

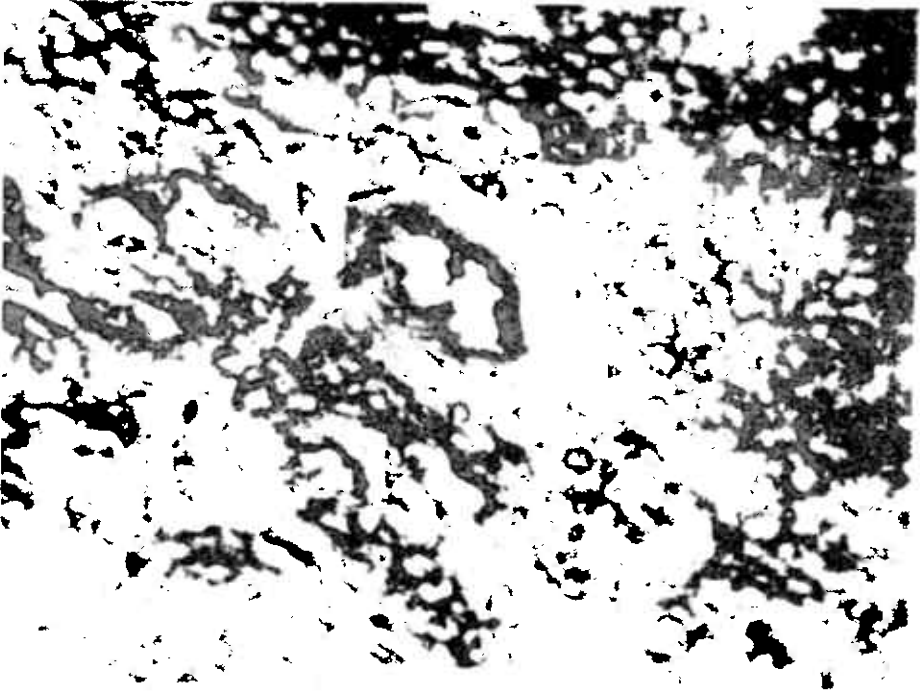
Deney bitiminde, kontrol ve deney gruplarına ait bütün tavşanlar kesilerek otopsileri yapıldı. Otopsi materyali olarak alınan popliteal lenf düğümleri ve dalaklar; Carnoy ve % 10 Formalin solüsyonlarında tesbit edilip, doku takiplerinden sonra parafin inklüzyonları yapılarak kesitler alındı. Kesitler; H.E., Dokuda Geim-

sa, Methyl Green Pyronin, Feulgen ve Rossenbeck'in nükleer reaksiyonu metodlarına göre boyandı. Jena binoküler ışık mikroskobu ile yapılan incelemelerde gözlenen histomikroskopik bulguların, mikrofotoğrafları çekildi.

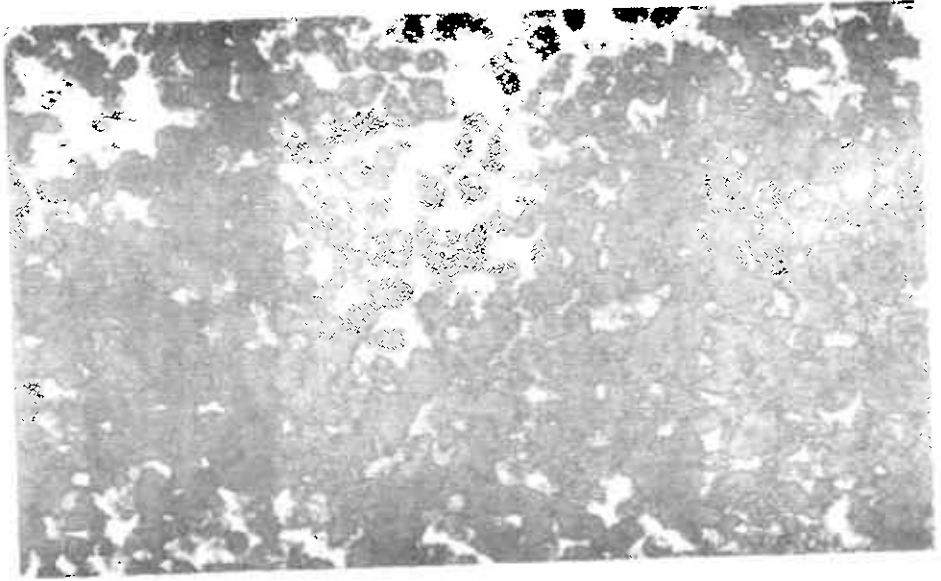
## BULGULAR

Oral yolla ve değişik dozlar halinde verilen C vitamininin, lenföretiküler dokularda nasıl bir etki yaptığını bulmak amacıyla yapılan bu çalışmada; kontrol ve deney gruplarında yapılan histo—mikroskopik çalışmalarda, şu bulgular elde edildi:

Grup-1: C vitamini verilmeyerek kontrol amacıyla incelenen bu grubun lenf düğümleri ve dalaklarından alınan kesitlerin tetkiklerinde, bu organlara has histolojik yapılar dışında başka bir bulguya rastlanılmamıştır (Şekil:1,2).



Şekil-1 Dalakta beyaz pulpa DNA—RNA'ların normal boyanmış görünümüleri (M.G.P. X 252).

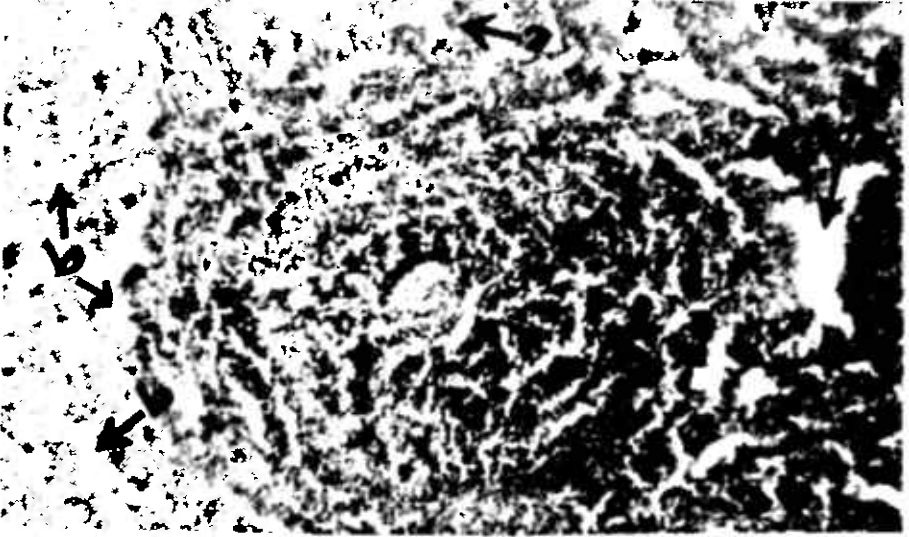


Şekil-2 Dalakta normal DNA miktarının verdiği Feulgen (+)'lik (F.R.N.R. X 252).

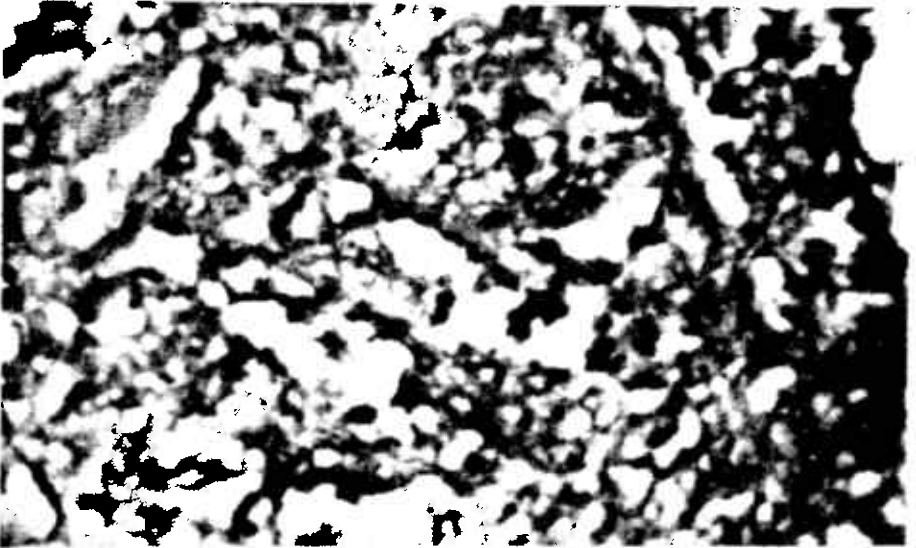
Grup-II: 10 gün süreyle 30 mgr./kg. dozda C vitamini içirilen bu grubun dalak kesitlerinde, genel olarak Malpighi korpusküllerinin sayısında artma olduğu ve hem beyaz hem de kırmızı pulpa hücrelerine ait DNA'ların artımıyla ilgili olarak nükleusların daha koyu mavi boyanıp daha kuvvetli bir Feulgen (+)'lik gösterdiği; RNA artımıyla ilgili olarak stoplazmaların daha koyu pembe boyandıkları görüldü (Şekil 3,4)

Ayrıca, kırmızı pulpadaki sinusoidal kapillerlerdeki depo eritrositlerde kontrollere göre bir miktar artma ile bu sinusoidlerde az bir genişleme görüldü (Şekil 5)

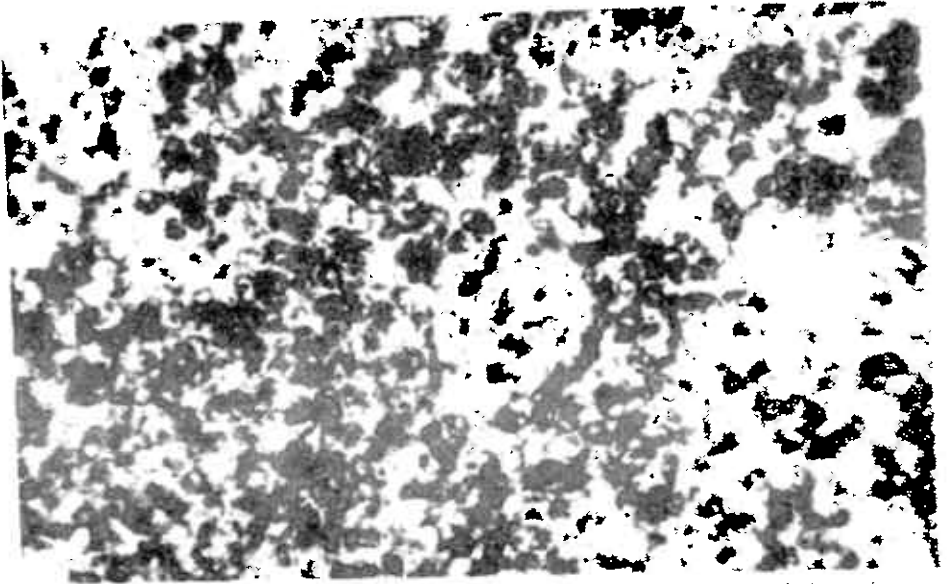
Lenf düğümü kesitlerinde de, lenfosit yapım odakları lenf folliküllerinde sayıca artmalar gözlenip medulla sinuslarının genişlediği; lenfosit ve plazmosit sayılarının, kontrollere göre arttığı tesbit edildi (Şekil: 6,7).



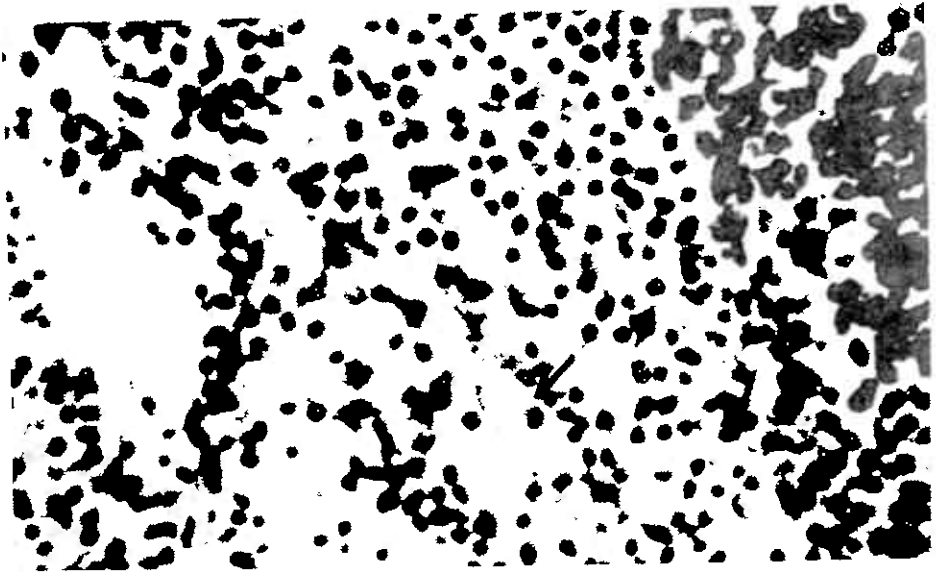
Şekil-3 Grup-II'de a- Dalakta sayıları artmış beyaz pulpalar, b- Biraz genişlemiş sinusoidal kapillerler ve içlerinde az sayıda artmış eritrositler. (H.E. X 63).



Şekil-4 Grup-II dalağında, beyaz ve kırmızı pulpadaki hücrelerin DNA ve RNA' larının daha koyu boyanması (M.G.P. X 252).



Şekil-5 Grup-II dalakta, biraz artmış DNA'nın verdiği Feulgen (+)'lik (F.R. N.R. X 252).

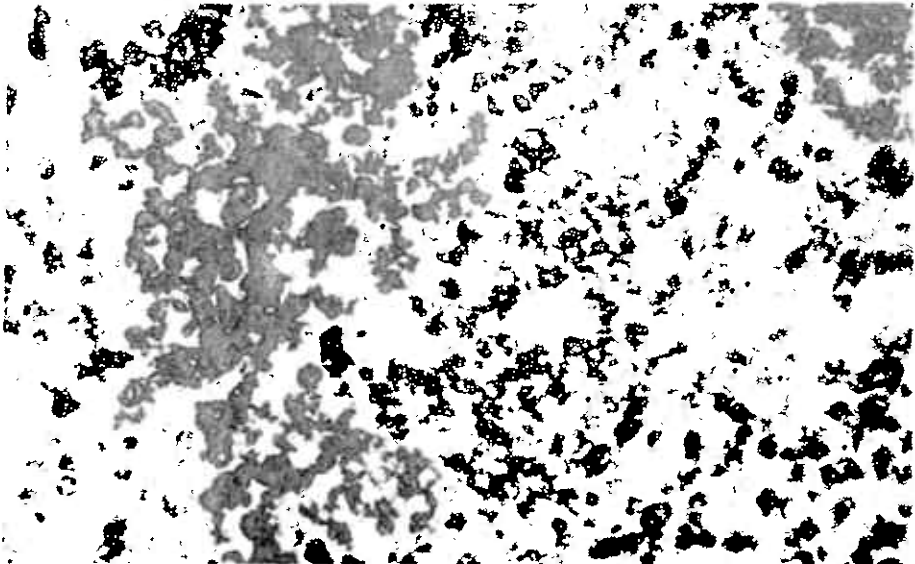


Şekil-6 Grup II Lenf düğümünde, polifere olmuş plazmositler (H.E.X 252).

Yüce DNA artmasıyla ilgili olarak miktenların koyu mavı boyayıp Feulgen (+)'liğin de biraz artmış olduğu gözlemlendi (Şekil:7,8).

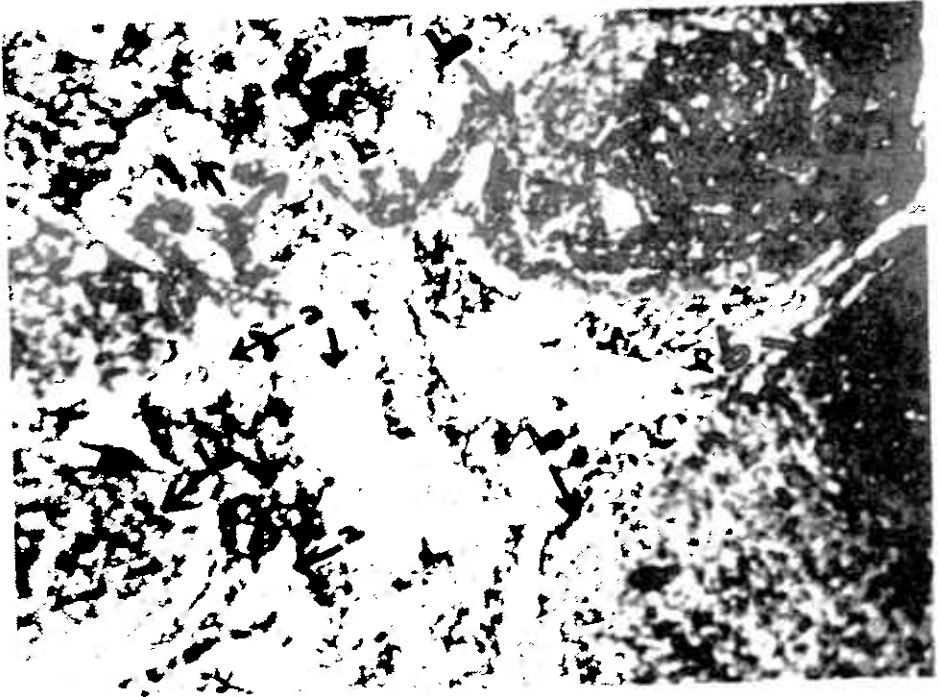


Şekil-7 Grup II Lenf düğümünde, DNA-RNA miktarının biraz arttığını gösteren boyama (M.G.P. X 63).



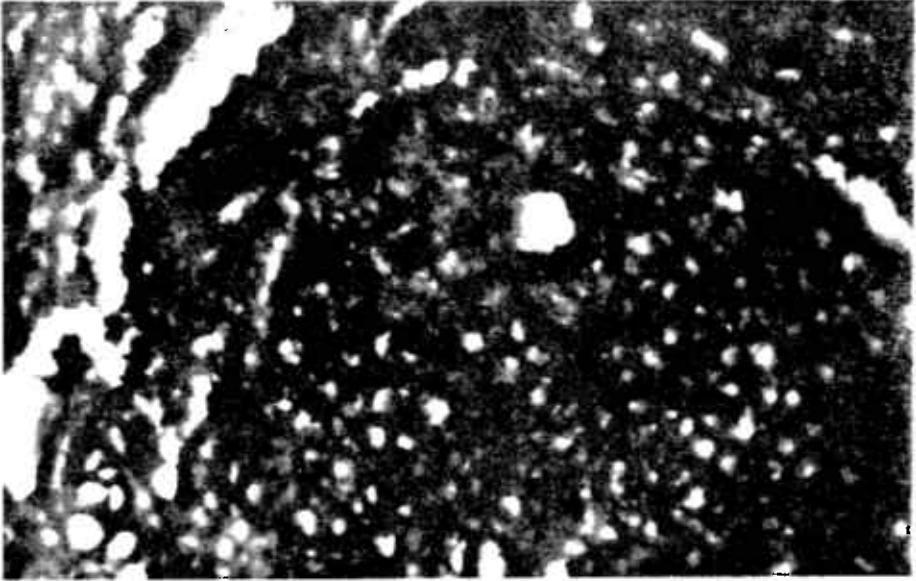
Şekil-8 Grup II Lenf düğümünde, DNA'nın bir miktar artmış olmasıyla ilgili biraz artmış olan Feulgen (+)'lik (F.R.N.R. X 252).

Grup-III: Oral yolla, 10 gün 50 mgr./kg.'lık daha yüksek dozda C vitamini verilen bu grubun dalak kesitlerinde; yine Malpighi korpüsküllerinin artıp kırmızı pulpa sinusoidal kapillerlerinin genişleyerek, buralardaki eritrositlerin çok arttığı gözlemlendi. Gerek Malpighi korpüsküllerindeki, gerekse depo eritrositlerdeki artmalar; daha az dozda vitamin verilen deney grubuna göre, dikkati çekecek derecede fazlaydı (Şekil:9). Ayrıca M.G.P. ile boyanan dalak kesitlerinde; beyaz ve kırmızı pulpa hücrelerinin DNA-RNA'larının ikinci gruba ait aynı hücrelere göre daha fazla artmasına bağlı olarak da, DNA içeren nükleusların laciverte yakın bir mavilikte boyanıp Feulgen (+)'liğin, kontrol ve daha az vitamin verilen gruba göre çok daha belirgin olduğu ve DNA'nın özellikle germinal merkezlerde arttığı gözlemlendi. Yine RNA artımı ile ilgili olarak ta, stoplazmaların kırmızıya boyandıkları; DNA'daki artışın, RNA'ya göre daha fazla olduğu görüldü (Şekil:10, 11).

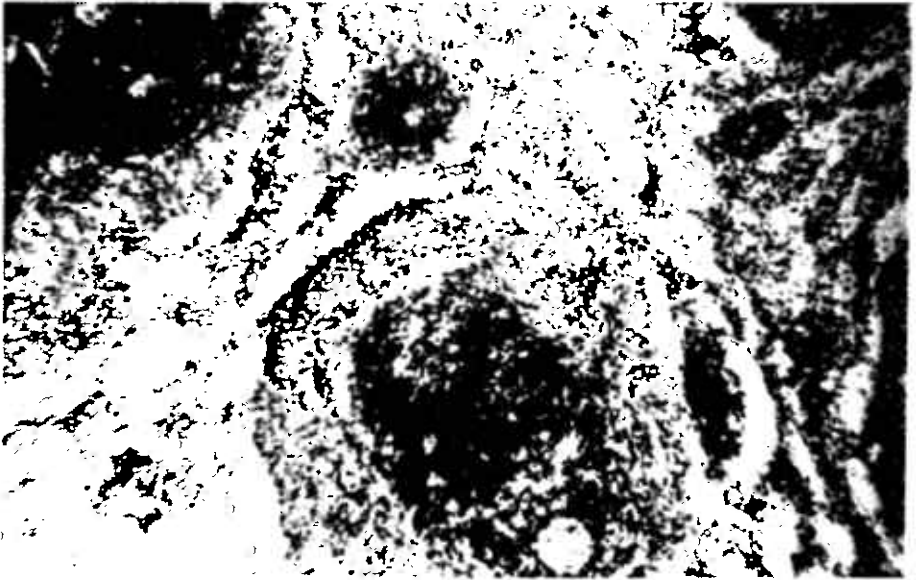


Şekil-9 Grup III dalağında, a- Çok genişlemiş sinusoidal kapillerlerdeki çok artmış depo eritrositler, b- Sayıları artmış Malpighi korpüskülleri (Dokuda Geimsa X 63).



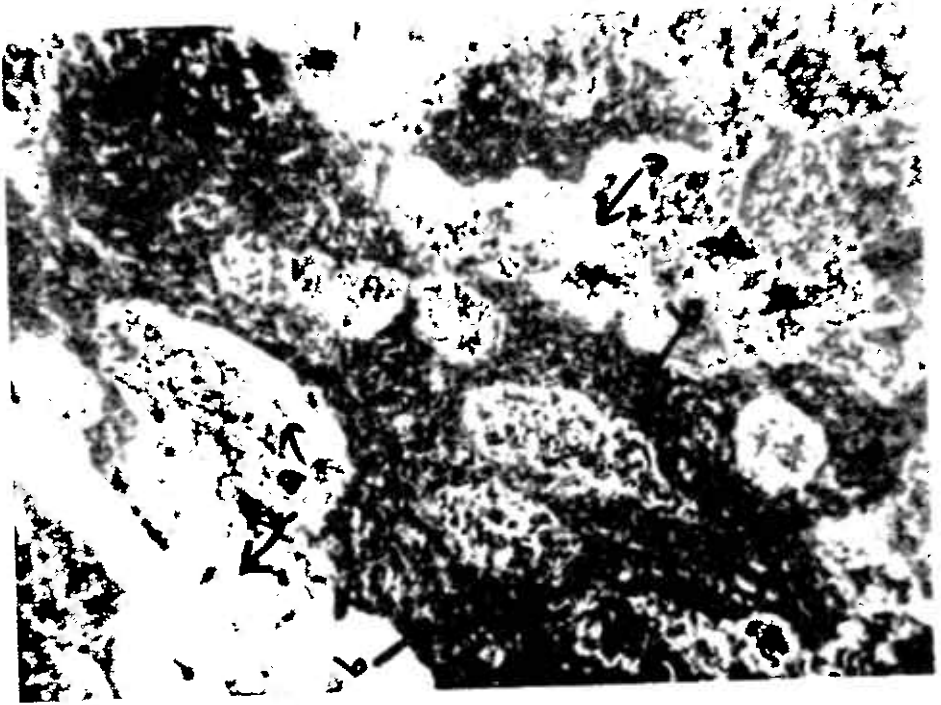


Şekil-10 Grup III dalağında, beyaz ve kırmızı pulpa hücrelerinin DNA-RNA'larının çok artmış olmasına bağlı olarak, daha koyu boyanmaları (M.G.P. X 252).



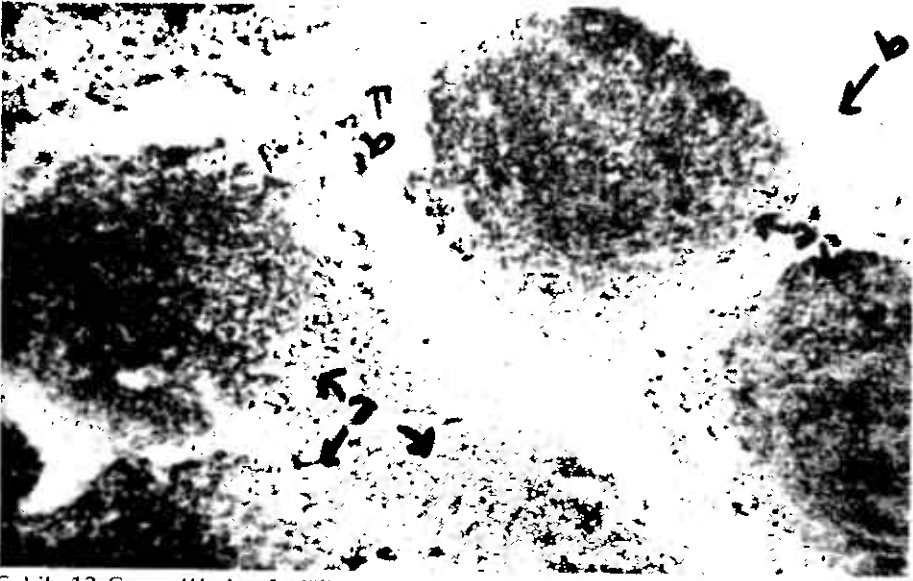
Şekil-11 Grup III Dalakta, çok artmış DNA'nın verdiği feulgen(+)'lik (F.N.R.x63).

Lenf düğümlerinde de lenf folliküllerinin arttığı; subkapsüler, trabeküler ve meduller sinusların genişlediği gözlemlendi. Centrum germinativum'ları belirgin olmayan genç lenf follikülleri dikkati çekiyordu. Ayrıca, artmış olan lenfosit blastogenezisi ile ilgili olarak; gerek medullar kordonlarda, gerekse medullar sinuslarda, lenfosit akümülyasyonu olduğu saptandı (Şekil: 12, 13).

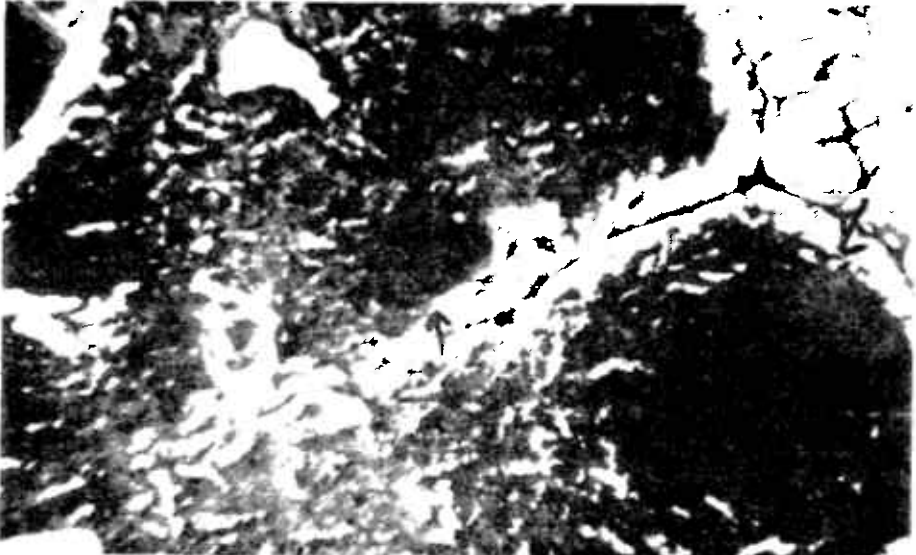


Şekil-12 Grup III Lenf düğümünde; a—Genişlemiş medullar sinuslar, b— Medullar kordonlarda, artmış lenfoblastogenezis (H.E.X 63).

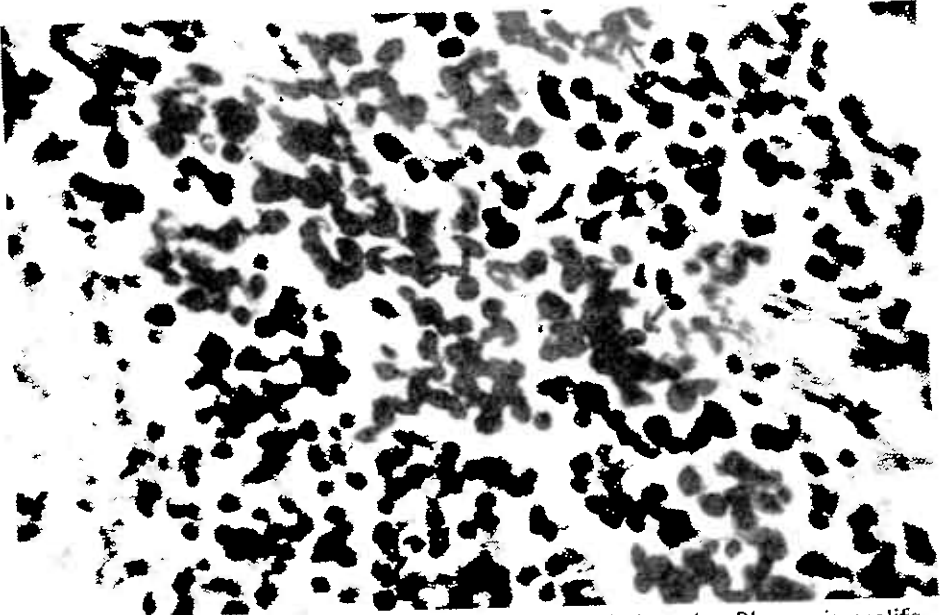
Özellikle centrum germinativum'u oluşturan hücelere ait DNA'ların ikinci gruba ait DNA'lara göre daha fazla artmasına bağlı olarak; nükleusların laciverte yakın mavilikte boyandıkları ve Feulgen (+)'liğin çok arttığı, yani dozla paralel olarak DNA miktarının arttığı bulundu. RNA içeren hücre bölümlerinin ise, kırmızıya boyandıkları görüldü (Şekil: 14, 15, 16). Bunun yanısıra, lenf düğümünde lenfosit ve plazmosit proliferasyonu dikkati çekiyordu (Şekil:15).



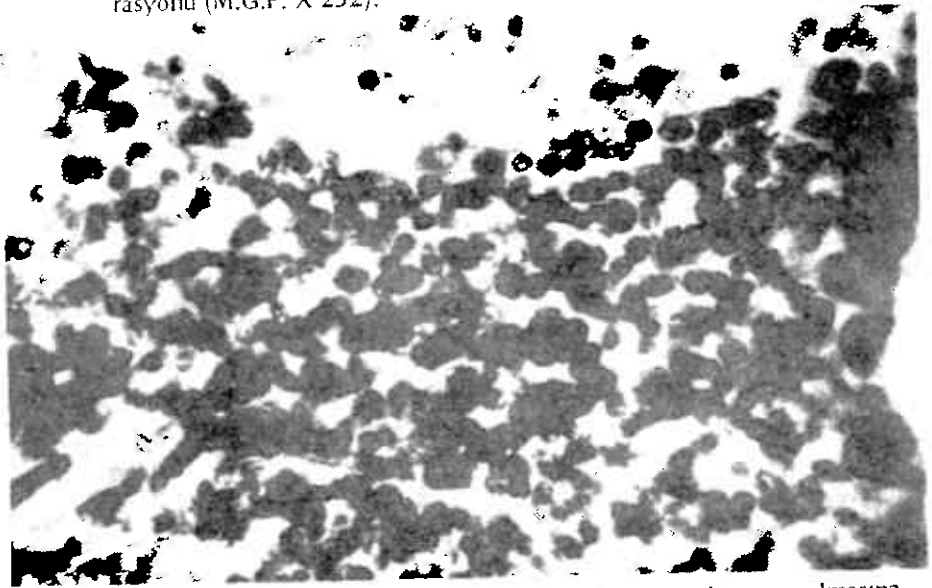
Şekil-13 Grup III Lenf düğümünde; a-Lenf düğümünde sayıları artmış lenf follükülleri, b-Genişlemiş subkapsüler ve trabeküler sinuslar (Dokuda Geimsa X 63).



Şekil-14 Grup III Lenf düğümünde, DNA miktarının çok artmış olduğunu gösteren koyu boyanma ve centrum germinatium'ları belirgin olmayan genç lenf follükülleri (M.G.P. X 63).



Şekil-15 Grup III Lenf düğümünde, artmış a-Lenfosit ve b-Plazmosit proliferasyonu (M.G.P. X 252).



Şekil-16 Grup III Lenf düğümündeki hücrelerin DNA'larının çok artmış olmasına bağlı olarak, çok artmış olan Feulgen (+)'lik (F.R.N.R. X 252).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Hücre bağışıklığına aracılıkla ve fagojit fonksiyonuna özel ilgiyle immünolojik cevapların değişik dönemlerinde rol oynayan askorbik asit veya C vitamini, bu etkisini organizmadaki değişik noktalara etkileyerek gerçekleştirebilir (1-15).

Bu deneysel çalışma ile Vitamin--C'nin lenfotetikler dekada DNA-RNA sentezlerini, dolayısıyla lenfosit blastojenezisini nasıl etkilediği ortaya konmaya çalışıldı. Bu amaçla, değişik iki doz halinde ve oral olarak C vitamini verilen grublarının bulguları, ilave vitamin verilmeyen kontrol grubunun bulgularıyla karşılaştırılarak bir sonuca varılmak istendi.

Kilogram vücut ağırlığına göre günde 30 mgr. şeklinde verildiğinde; dalak ve lenf düğümü hücrelerinin DNA-RNA miktarlarını, kontrol grubunun aynı hücrelerine ait DNA-RNA miktarlarına göre bir miktar arttırdığı tesbit edildi (Şekil: 1, 2, 3, 4, 5).

Kilogram vücut ağırlığına göre günde 50 mgr. şeklinde verilen, daha yüksek dozda C vitamini ise; yine aynı dokulardaki hücrelerde DNA-RNA miktarlarını, 30 mgr.'lık dozdan daha da fazla miktarda arttırmıştı. Ayrıca, DNA'daki artışın RNA'ya göre daha çok olduğu görülüyordu (Şekil: 10, 11, 14, 15, 16).

Bu bulgular, birçok araştırmacının bulgularıyla uygunluk göstermektedir. Gerçekte yapılan çalışmalar, C vitamininin organizma için çok önemli olan bu nükleik asitlerin ve proteinlerin sentezinde büyük etkisi olduğunu ortaya koymaktadır.

C vitamini normal organizma hücrelerinin DNA ve RNA sentezlerinde olumlu etkisiyle immün sistemi güçlendirirken, aynı zamanda gerek enfeksiyon etkenlerinin gerekse kanser hücrelerinin DNA-RNA sentezlerinde bozukluklar yaparak da vücut savunmasında etkili olmaktadır.

C vitamininin bakteriler, bakteriofajlar ve okaryotik hücreler üzerindeki etkisi, son zamanlarda açıkça ortaya konmuştur. Özellikle bakır ile birlikte olduğu zaman C vitamini, hızla bakteri virulansını ve bakteri direncini elemine etmektedir. Örneğin Bacillus pestis, Bubonic plaque'lerde bu etkisini göstermektedir (1).

C vitamini viral ve bakteriyel DNA'nın üzerinde etkili olmakta, kapalı sirküler DNA'nın kovalent bağını açık sirküler DNA moleküllerine çevirmekte ve DNA'da çift taraflı kırıklara neden olmaktadır. Böylelikle örneğin, pneumococcus'un DNA'sının değişme özelliğini önlemekte, bakteriofajların RNA'sını bozmaktadır (3).

C vitamini kanser hücrelerinin DNA'sına da zarar vermekte, terminal kanserli hastaların hayat süresini uzatmaktadır. Ayrıca, büyük dozlarda örneğin kuvvetli mitojenik etkisi olan N -methyl N -nitro- N - nitrosoguanide MNNG'in kimyasal karsinojenlerden olan nitroza parçalarının üretimini, MNNG'yi direkt deaktive ederek engellemekte ve böylece kimyasal karsinogenezisi önlemektedir denmektedir (1, 6).

Yine C vitamini ile melanoma hücrelerinde fazlaca DNA kırılması bulunmuş ve yarı konservatif DNA sentezinin derhal önlendiği, RNA sentezinin ise DNA'ya göre daha az önlendiği bulunmuştur. Melanoma hücrelerindeki bu DNA bozuklukları; DNA sentezinin inhibisyonu, DNA kırılması, mutasyonlar ve kromozom bozulmaları ile DNA onarım sentezi ve nükleotidlerin bozulması şeklindedir (1).

Bunların yanısıra C vitamini, vücudun savunma mekanizmasında gerekli fagositik hücrelerin gerek fonksiyonlarının gerekse sayılarının artırılmasında da etkili bulunmuş olup bozulan fonksiyonları düzelttiği görülmüştür. Bu etkisi nedeniyle inatçı ve yineleyen enfeksiyonlarda primer fagositik fonksiyon azalmaları için özel tedavinin bir simgesi olmuştur (7).

Başka çalışmalarda, Vitamin C'nin bakteriyel komponentlerin oksidatif denatürasyonlarını ilerletmek yoluyla da bakteri öldürme potansiyelini arttırdığı öne sürülmüştür. Ayrıca vitamin C, fagitoz sırasında üretilen oksidanları inaktive etmekte;  $H_2 O_2$ , myeloperoxidase, halide (klor gibi bir tuz) reaksiyonlarını önlemekte ve bu sırada oluşan oksijen kökleri mikroplar için öldürücü olurken bu olaylar sonucu C vitamini, hücre bütünlüğünü koruma fonksiyonu da görmekte denmektedir (8).

Sağlıklı 25 üniversite öğrencisinde, insan immünolojik sisteminin bazı parametreleri üzerine C vitamininin etkileri araştırılmış ve C vitamini ilavesinin; IgA, IgM ve complement component C-3'ün serum seviyelerinde, istatistiki olarak önemli artışlara neden olduğu gösterilmiştir. Vitamin C'nin; ekzokrin sekresyonda en birinci Ig olan IgA, enfeksiyonlarda antijenik uyarımla üretilen birinci Ig olan IgM ve lökositlerin mobilizasyonuna direk etkileyen aynı zamanda yabancı hücreleri fagositozunda artma gösterten C-3'ün seviyelerini artırma yoluyla immünolojik savunma reaksiyonunda arttırıcı bir etkiye sahip olduğunu söylemişlerdir (9).

Vitamin C'nin lenfositlerin mitojen bölünmelerine etkisi üzerine invitro yapılan bir çalışmada; normal ve yüksek dozlarda C vitamini ile, lenfosit aktivasyonunu uyaran mitojen işlemlerindeki erken metabolik olayların stümüle edildiği ileri sürülmüştür. Ayrıca Vitamin C'nin monositlerden çıkan makrofajlar üzerine ve monosit fonksiyonuna iyi etki gösterdiği de bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada, vitamin C'nin, özellikle yüksek dozlar halinde verildiği kanserli hastalarda pozitif etki gösterdiği de belirtilmiştir. Araştırmacılar bu etkinin, C vitamini ile immün sistem aktivitesinde oluşturulan artmaya bağlı olduğunu düşünmektedirler (10).

Bir çalışmada da, C vitamininin insan lenfositlerindeki nucleotid metabolizması siklusuna etkisi araştırılmış ve cGMP'ı birçok katıyla arttırdığı bulunmuştur. Bu durum; fagitoz, kemotaksis, mitogenezis gibi yangısel ve immünolojik olaylarda cGMP konsantrasyonunu arttıran etkiler gibi, tam olarak açıklanmıştır (11).

Askorbik asitin immün sistemdeki arttırıcı etkisi, kanserde faydalı olması, DNA ve RNA sentezlerine olan etkisiyle de ilişkili bulunmuştur ve bunu hücre içi nükleotid seviyelerine etkime yoluyla yaptığı düşünülmüştür (12).

C vitamini, yüksek konsantrasyonlarda diğerk antioksidanlar gibi kanserli dokulara etkimekte ve lösemilerde ilaç olarak verilmektedir. Ayrıca, 5-fluorourasil'e dirençli tümörlere galip gelen bir faktör olarak geleneksel tedavide kullanılmaktadır (13, 14).

Kanser hücrelerinin DNA'larını haraplama, bu arada normal organizma hücrelerinin DNA'larını olumlu etkileme yollarıyla kanserde etkili olan C vitamini; bu etkisini, kanser hücrelerine gösterdiği selektif sitotoksik etkisiyle gerçekleştirmektedir. Özellikle melanoma hücreleri, C vitamini içine alma konusunda selektif bulunmuştur ve yapılan çalışmalar bu vitaminin melanotik hücreler üzerinde toksik olduğunu göstermektedir. Burada da C vitamininin öldürücülüğünde hedef, DNA'dır (1,15).

C vitamini lenfosit yapım odaklarında DNA-RNA miktarını arttırarak, buralarda mitotik aktiviteyi arttırmakta; böylelikle, lenfosit yapımını arttırma yoluyla immü sistemi güçlendirmektedir. Nitekim araştırmacılar, oral C vitamini alınmasının lenfosit blastogenezisini arttırdığını ve lenfositlerin mitojenitesinin, yüksek dozda C vitamini verilmesinden sonra teşvik edildiğini bulmuşlardır (6, 10).

Bu durum, bu çalışmayla elde edilen sonuçlar ile uygunluk göstermektedir. Dalakta Malpighi korpusküllerinin, lenf düğümlerinde lenf follüküllerinin sayısında görülen artışlar; lenfosit yapım yerleri olan bu yapılarda artan lenfosit blastogenezisi ilgili görülmektedir. Ayrıca, doz artımıyla birlikte lenfosit yapımının ve bunların yapım merkezlerinin daha da arttığı gözlenmiştir (Şekil: 3, 6, 9, 12, 13).

C vitamininin nükleik asitlere etkisi sonucunda, aynı mekanizmayla kemik iliğinde eritrosit yapımı da artmaktadır (13).

Nitekim, kontrollerle karşılaştırıldığında; lenf düğümü ve dalak sinusoidal kapillerlerindeki depo eritrositlerde, dozla paralel bir artış kaydedilmiştir (Şekil: 3, 9).

Böylelikle, C vitamininin immünogenezisten sorumlu lenforetiküler dokuyu; dozla paralel bir artışla aktive ettiği ve bunu, DNA-RNA sentezlerini arttırarak gerçekleştirdiği sonucuna varılmıştır.

## ASCORBIC ACID AND THE IMMUNE SYSTEM

Firdevs GÜREER

### SUMMARY

The effect of peroral vitamin C given in two different doses is examined. As a result we found that vitamin C activates the lymphocyte production focuses in the lymphoreticulaer tissues. This effect is obtained by the positif effect of vitamin C on DNA and RNA synthesis. Also this activation increases paralel with the increase in doses.

### KAYNAKLAR

- 1- Brams,S., Froussard, P., Guichard, M. et al, Vitamin C preferential toxicity for malignant melanoma cells,Nature(Lond), 284, 629-631,1980.
- 2- Morgan, A.R., Cone, R.L., Elgert, T.M., The mechanism of DNA strand breakage by Vitamin C and superoxide and protective roles of catalase and superoxide dismutase, Nucleic Acids Res., 3,5, 1139-1149, 1976.
- 3- Stich, H.F., Karim, J., Korepatnick, J.,Lo,L., Mutagenic action of ascorbic acid, Nature, 260, 722-724, 1976.
- 4- Yamafuji, K., Nakamura, Y., Omura, H.,et al, Antitumor potency of ascorbic, Dehydro ascorbic or 2,3-diketogulonic acid and their action on Deoxsiribonucleik acid, Z.Krebsforsch. 76, 1-7,1971.
- 5- Siegel, B.V., Morton, S.I., Vitamin C and the immune response, Experimentia, 33, 393, 395, 1977.
- 6- Leibovitz, B., Siegel, B.V., Ascorbic acid neutrophil function and the immune ponse, Internat. J.Vit.Nutr.Res. 48,2,159-164,1978.
- 7- Patrone, Fi., Dallegri, F., Vitamin C e sistema fagocitarie, Histology Acta Vit. Enzymol., 1,1-6,5-10,1979.
- 8- Nutrition Reviens, Vitamin C and phagocyt function, 183-185,1978.
- 9- Prinz, W., Bortz, R.Bregin, B.,Hersch,M., The effect of ascorbic acid supplementation on some parameters of the human immunological defence system, Interna J.Vit.Nutr.Res., 47,248-257, 1977.
- 10- Ramirez, L., Richie, E.,Wang,Y.M.,Eys,J.V, Effect of ascorbic acid in-vitro onlymphocyt reactivity to mitogens, Histology Nutr.,5,11,2207-2215,1980.
- 11- Atkinson,S.P.,Weiss,A.,Ito,M.,et al, Effect of ascorbic acid and sodium ascorbate on cyclic nucleotide metabolism in human lymphocytes, J,Cyclic Nucleetid Res.107-123,1979.



- 12- Dallegrì, F., Lanzi, G., Patrone, F., Effects of ascorbic acid on neutrophil locomotion, *Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol.*, 61, 40-45, 1980.
- 13- Lohmann, W., Schreiber, J., Strobel, W., Müller, E.C., On the possible involvement of ascorbic acid and Copper proteins in Leukemia IESR in investigations on native blood, erythrocytes, and leucocytes, *Blut.*, 39, 5, 317-326, 1979.
- 14- Shlemkevich, M.P., Effect of ascorbic acid on 5-fluorouracil- $6^3$  H inclusion in to an acid-soluble fraction and RNA of Ehrlich's ascites carcinoma cells susceptible and induction-resistant to 5-fluorouracil, *Biull. Eksp. Biol. Med.* 93, 2, 56-57, 1982.
- 15- Samuni, A., Aronovitch, J., Godinger, D., et al, On the cytotoxicity of vitamin C and metal ions: A site-specific Fenton mechanism, *Biochem.*, 137, 119-124, 1983.



# HAYVAN ÜRÜNLERİNDE ANABOLİK (HORMONAL) REZÜTLER VE ULUSAL YASAL DÜZENLEMELER

Mehmet BOZKURT \*

## İLMİ RAPOR

### ÖZET

Bu rapor, AET İlmî Çalışma Grubu (EEC.Scientific Working Group) ile Dünya Sağlık Teşkilatı IRAC Çalışma Grubunun (World Health Organization International Agency For Research on Cancer Working Group) yayınlarını ve ferdi olarak yayınlanmış anabolik ajanların aksiyonları hakkındaki bilgileri ve pratik sahada ulusların milli yasal düzenlemelerini kapsamaktadır.

Hormonların carcinogenic, mutagenic, embryotoxic ve teratogenic etkileri ve mekanizmaları ile anabolik ajan olarak kullanıldığında genel mekanizmaları incelenmiştir. Üzerlerinde yapılan deneysel araştırmalar tetkik edilmiştir. Özetlenirse:

Diethylstilboestrol ve diğer stilbenlerin kansorejenik oldukları; mutagenik etki göstermedikleri fakat embryotoxic ve foetotoxic oldukları tesbit edilmiştir. Diethylstilboestrol'un oral yolla biyolojik etkisi 100 olarak kabul edildiğinde ethinlaestradiol'un da etkisi 100 fakat, oestradiol-17B'nin 10 oestradiol-17a'nın ve zeranol'un etkileri ise 1'dir. Oestradiol-17B vücutta oestradiol-17a'ya dönüşür. Aynı bunun gibi inaktif formlara dönüşüm oestradiol ve testosterone türevleri için de vardır. Avrupa Ekonomik Topluluğu anabolik hormonların gelişmeyi hızlandırıcı amaçla kullanılmasını 1.1.1988 tarihinden itibaren 81/602/EEC ve 85/649/EEC sayılı talimatlarıyla yasaklamıştır. 1.1.1988 den itibaren yalnız terapötik amaçla oestradiol-17B, testosterone ve progesteronun kullanılmasına müsaade etmektedir. Yine AET İlmî Çalışma Grubunun yaptığı değerlendirmelere göre trenbolone ve zeranol'un de carcinogenic, mutagenic ve teratogenic etkiye sahip oldukları tesbit edilmiştir.

On iki ülkenin anabolik ajanlar üzerinde yaptıkları yasal düzenlemeler incelenmiştir. Yalnız beş ülke, belirli sayıda olmak üzere, hayvan beslenmesinde bu ajanların kullanılmasına izin vermiştir, bu ülkeler: Fransa (testosterone, progesterone, trenbolone ve zeranol), Batı Almanya (oestradiol, testosterone, ve progesterone), Büyük Britanya ile İrlanda (oestradiol, testosterone, progesterone, trenbolone ve zeranol) ve Birleşik Amerika Devletleri (oestra-

---

\* Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Gıda Güvenliği ve Beslenme Araştırma Müdürü, Dr.Uzman Vet.Hek.

diol, testostosterone, progesterone, zeranol ve yemlerde melengestrole acetate). Avusturya, Belçika, Danimarka, Yunanistan, İtalya, Hollanda ve İsviçre Devletleri anabolik ajanların hayvan beslenmesinde kullanılmasına izin vermemiştir.

Fransa, Batı Almanya, Büyük Britanya ve İrlanda anabolik ajanların temin ve uygulamalarını veteriner hekim nezareti ile kısıtlamıştır; Birleşik Amerika Devletlerinde kısıt yoktur. Fransa reçetelerin kaydını yapmakta; diğer on bir devlet ise yapmamaktadır.

Fransa trenbolone ve zeranolun implantasyonundan 60 gün sonra; Batı Almanya izin verdikleri anaboliklerin uygulamasından 90 gün sonra; keza Büyük Britanya ve İrlanda da 90 gün sonra; Birleşik Devletler ise zeranolun implantasyonundan 65 gün sonra hayvanların kesimine müsaade etmektedir.

On iki ülkenin hepsinde etlerdeki rezüt seviyelerini belirtmişlerdir; seviyenin üstünde yapılan tesbitlerin tüketimi yasaklanmıştır ve rezütleri izleme (monitoring) sistemi kurmuşlardır; Uyguladıkları metodlar devletlerin tercihlerine göre RIA (radio-immunoassay), TLC (thin-layer chromatography), HPTLC (high performance thin-layer chromatography), GC (gas chromatography) ve GCMS (gas chromatography ile mass spectrometry) metodlarıdır. Ve bu metodların pozitif örneklerdeki arama (detection) limitlerini de belirtmişlerdir.

Sonuç olarak Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığının yetkili elamanları ile Tarım, Orman ve Köy İşleri Bakanlığının Veteriner Hekimlikle ilgili personellerinden bir ilmi komisyon kurulmalı ve bu komisyon anabolik ajanların kullanılmasını; takip ve kontrolleri; analiz metodları konularında Tüzük veya Yönetmelik seviyesinde düzenlemeler getirmelidir.

## GİRİŞ

31 Temmuz 1981 yılında Avrupa Ekonomik Komitesi Konsülü (the Council of the European Economic Community) benimsediği 81/602/EEC sayılı direktifiyle (1) thyrostatic ve hormonal aksiyonu olan bazı maddelerin—bunlar hayvanların büyüme ve gelişmelerini düzenlerler— yasaklanmasını istiyordu. Bütün üyeler stilben ve derivatlarının ve bunların tuz ve esterlerinin yasaklanması kararına vardılar. Fakat beş maddenin —bunlar tabii olarak oluşan steroid hormonlarından cestradiol— 17B, testostosterone ve progesteron ile iki xenobiotic olan trenbolone ve zeranol— kullanılmaları hakkında bir karara varamadılar.

Komisyon 10 üye ülkenin 22 bilim adamından oluşan Avrupa Ekonomik Topluluğu İlimi Çalışma Grubu (EEC Scientific Working Group) kurdu, İlimi Çalışma Grubundan bu beş madde hakkında ilmi yorumlar getirmesini istedi ve ayrıca İlimi Veteriner Komitesi (Scientific Veterinary Committee), Gıda İlimi Komitesi (Scientific Committee for Food) ve Hayvan Besleme İlimi Komitesinden de (Scien-

tific Committee for Animal Nutrition) hayvan ürünlerinde rezüt olarak bulunan anabolik ajanlar hakkında tavsiyeler alınmasına karar verildi (2). Cevaplarını istediği terimler şunlardır:

Oestradiol-17B, testostereone, progesterone, trenbolone ve zerranol hayvanların semizletilmesinde kullanılabilirler mi ve sağlığı herhangi bir zararı var mıdır?

AET Çalışma Grubu Komisyona bir ara raporu verdi, bu rapor yukarıdaki ikinci paragrafta adı geçen ilmi komitelerin tavsiyelerini de içeriyordu. Bu ara raporun getirdiği hükümler şunlardır:

(1) AET İlmi Çalışma Grubu (EEC.The Scientific Working Group) Oestradiol-17B, testostereone, progesterone ve bunların derivatlarının kullanılmasını tavsiye etmektedir. Belirli şartlar altında büyütülen çiftlik hayvanlarının etlerinin tüketilmesinde tüketicinin sağlığına hiç bir zararlı etkileri olmamaktadır.

(2) Trenbolone ve zerranol hakkındaki verilerin değerlendirilmesi bunların etkisiz seviyedeki (non-effect level) hormonal bileşiklerin ve metabolitlerinin toksikolojik etkilerinin hala belirsiz olduğu görülmektedir.

(3) İlmi Çalışma Grubu (The Scientific Working Group) trenbolone ve zerranol hakkında son bir karar vermeden önce bu konuda ek bilgilere ihtiyaç olduğunu düşünür.

(4) Anabolik ajanların uygulamalarında kontrol ve izleme (monitor) programları gereklidir.

(5) Halihazır kullanılan anabolik ajanların hormon etkisi göstermeyen seviyesinin "no.hormonal effect level" (NHEL) üzerinde ilmi çalışmalara devam edilmektedir (2).

2, 3 ve 5'deki neticelere cevap olarak Komisyon daha fazla veri rica etti. Endüstriyel ve diğer araştırma laboratuvarları tarafından temin edilen bu bilgiler AET (EEC) ve diğer ilgili ilim adamları tarafından elde edilebilir hale getirildi. Sonra alınan bir kararla Avrupa Ekonomik Topluluğu anabolik hormonların gelişmeyi hızlandırıcı amaçla kullanılmasını 1.1.1988 tarihinden itibaren 81/602/EEC ve 85/649/EEC sayılı talimatlarıyla yasaklamıştır. 1.1.1988 den itibaren yalnız terapötik amaçla aestradiol-17B, testostereone ve progesteronun kullanılmasına müsaade etmektedir.

Bu rapor AET İlmi Çalışma Grubu (EEC Scientific Working Group) ile Dünya Sağlık Teşkilatı IARC Çalışma Grubunun (World Health Organization International Agency For Research on Cancer "IARC" Working Group) yayınlarını ve ferdi olarak yayınlanmış anabolik ajanların aksiyonları hakkındaki bilgileri ve pratikte uygulama sahasında ulusların milli yasal düzenlemelerini kapsamaktadır.

## 2. HORMON ve CARCINOGENICITY

Kanserin gelişmesinde hormonların etkilerinin mekanizması anlaşılamamıştır. Pek çok kansorejenler mutejenik aksiyon göstermelerine rağmen hormonların hiç biri (diethylstilboesrol'de dahil) ve ne de metabolitleri mutejenik değildir (3). Buna rağmen Kısa term'li (short-term) testlerin neticelerine göre DNA ile karşılıklı tesir gösteren diethylstilboesrol metabolitlerinin kovelant bağlarına ait raporlar vardır (4). Tümörler zeminde hazırlanırken hormonlar son anda carcinogenesis olarak esansiyel olabilirler. Bu nedenle belirli bir gelişme durumunda olan meme dokularından meme tümörleri doğar, şöyle ki; hormonlar direkt olarak meme bezlerinin gelişimine gerekli maddeleri stimule eder. Endocrin bezlerinin hormonları meme kanserinin gelişimi için esas faktör olarak görülebilir olsa da bu, direkt bir kansorejenik aksiyon ihtiva ediyor olarak düşünülüyor anlamına gelmez.

Laboratuvar faresinde, oestrogen ve prolactin'in her ikisi de meme bezleri üzerindeki aksiyonu ile meme tümörü incidensini artırır. Virgin faresinin bir strain'i prolactin'e maruz bırakıldığında tümör görülmesine sebep olabilir. Oestrogen'in rolü daha komplekstir ve prolactin'in sekresyonunu stimule eder. Oestrogen, prolactin ve progesteron carsinogen'e maruz ratlarda meme tümörlerinin gelişimine sebep olabilir.

Hormonlar zeminde carcinogenesis'i stimule eder, bunu birbirini takip eden kimyasal, fiziksel veya viral ajanlarla birbirini takip eden tumorigenesis için veya diğer bir yolla tümörlerin metaz ve büyümelerini sağlar. Aşağıdaki liste muhtemel bir mekanizmanın listesidir, tamamlanmamıştır ve spekülatif bir kısımdır:

1. Hormonlar kimyasal karsinogenlerin hücrelere bağlantısını arttırabilirler, mesela, metabolik aktivasyon sistemlerine etki ederek.
2. Hormonlar oncogenic virüs produksiyonunu aktive edebilir (mesela.farelerde meme tümörü virüsü).
3. Hormonlar immunosuppressive olabilirler ve bu nedenle tümör oluşumuna ve büyümesine etki edebilir.
4. Hormonların ortama salınmasıyla lesion'da (preneoplastic) hücrelerin anormal büyüme potansiyeli ile hayatlarını devam ettirmeleri için çevre temini neticesini verebilir.
5. Hormonlar preneoplastic ve neoplastic hücrelerin progression hızını etkileyebilir.
6. Hormonlar anormal hücre artışını stimule edebilir.
7. Hormonlar DNA sentezini stimule edebilir ve durumun transfomesinin tesbitine mitosis esansiyeldir.
8. Hormonlar belirli bir sayıda hücre bölünmesiyle normal hücrelerin artışını stimule ederek normal hücre büyümesini sağlayabilirler ve böylece anormal hücrelerin artışı üzerinde inhibâtor etkilerini elemine ederler (5).

9. Hedef organda hormonal dengesizliğin bir neticesi olarak üremede fonksiyonel farklılıklar görülebilir; bunun aksine hedef organlarda hormonal ortamda belirli sentetik ve ifrazi aktiviteler oluşturabilir ve böylece tumorigenic potansiyeli redukte eder.

### 3. HORMONLAR ve MUTAGENICITY

IARC Çalışma Grubu (4) seks hormonları üzerinde mutagenicity çalışmaları not ettiler, bunlar memelilerin germ hücrelerini kullandılar şöyle ki, ccyte, spermatoocyte ve spermatogonia üzerine cytogenetic çalışmalarıdır. Sadece iki ana letal test rapor edildi; birisi mestranol ve lynoestrenol ve diğeri norethisteron acetat üzerinde idi. Yazarlar bunu pozitif varsaydılar. Seks hormonlarının mutagenetik olabilirliği hakkında belirli bir cümle söylemeden önce ilave çalışmalar gereklidir (4).

### 4. HORMONLAR ve EMBRYOTOXICITY ve TERATOGENICITY

Pek çok steroidal seks hormonları antifertility'ye, embryotoxlcity ve foetotoxicity'ye sebep olur ve bunların etkisi alınan dozla ilgilidir. Bazı oestrogenler teratogenic effect'lere neden olurlar ve zürriyetin verimliliğini bozar. Bazı progesterinler, testosteron ve testosterone derivatları foetus üzerinde virilizing effekte sahiptir.

İnsanlarda çeşitli drugların alınmasından sonra foetus'un doğum defektleri müşahade edildi. Sadece belirli sayıdaki durumda, belirli ilaçların kısmi bir düşükliğe neden olduğu görüldü. Eğer ters bir etki hasıl olursa embryogenesis periyunda olmalıdır; bu çalışmaların neticelerini yorumlamada ilacın etkisi uygulanan ilacın şartlarının herhangi bir etkisinden ayrılmalıdır (4).

### 5. DENEYSEL VERİLER

#### 5.1. Diethylstilboestrol

22 erkek fareye 0.125 – 0.75 mg DES (diethylstilboestrol) susam yağı içerisinde oral yolla haftada iki defa verildi. Total doz 4.25 – 14.25 mg idi. Bunların 18'inde meme kanseri gelişti. Ortalama uygulama süresi 24 – 28 hafta idi (6).

Huseby (7) farelere 0.5 mmg/hayvan başına her gün oral yolla DES verildi, neticede meme kanseri gördü. İndüksiyon süresi 10.7 – 14.3 ay idi.

Bir başka çalışmada ratlara subcutan enjeksiyonla hamileliklerinin 13, 16, 18 ve 20'nci günleri 0.015–0.6 mg/kg verildi veya 3 hafta için 0.2–10 mg/kg DES verildi genital tümörler (2 vaginal squamouscell carcinomas, 1 endometrial adenocarcinoma, 1 ovarian adenocarcinoma) 10 dişi hamile rat arasında gözlendi (8).

Diğer bir raporda (9) Suriye golden fareleri ve Avrupa hamsterleri vardı. Bunlara 25 mg DES paletleri subkutan olarak uygulandı. Bu hayvanların böbreklerinde adenomas ve adenocarcinomas gelişti ve adrenal glandlar ile testislerde adenohipofizis ve adenomaslar görüldü. Avrupa hamsterleri daha duyarlı idi, bunlarda karaciğer tümörleri gelişti (adenomas, cholangiocellular carcinomas ve hepato-cellular carcinomas).

#### İnsan Verileri:

IARC Çalışma Grubunun insanlarda carcinogenic kimyasal risk değerlendirmesi üzerine hazırlanan raporda (4) belirtildiğine göre:

"10-30 yaş arasındaki genç kadınlarda hamilelik süresince DES alma vagina-da ve cervical clear-cell'de adenocarcinoma'nın artışına sebep gösterilmektedir. Yaşı 24' ün üstünde bulunan kadınlarda görünme riski 0.14 -- 1.4/1000 mertebesindedir. Genç yaştaki populasyonun risk nedeniyle cancer riskinin, aynı anda daha fazla yorumlanması yapılamamaktadır.

Neoplastic olmayan epitel ve structural değişiklikler hamilelik esnasında diethylstilb. estrol'a maruz tutulan genç kadınlarda sık sık müşahade edildi; bu değişiklikler cervical fibrozus, vaginal septa, vaginal adenosis ve cervical ectropiondur. Malignant olmayan yapısal değişiklikler erkek çocukların reproductive taramalarında rapor edildi; fakat fertillite üzerinde DES'in etkisi eğer bulunmaktaysa bu doğal değildir, bu erkek çocuklar DES'e maruz bırakılan kadınların çocuklarıydı. Müşahade edilen cryptorchidism ve hypoplastic testlerin DES'e maruz bırakılmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir; bu şartlar malignant değişikliklere predispose olabilir, fakat erkekte malignancy'nin artan bir riski demostre edilememiştir.

Diethylstilboestrol ile müdahale edilen Turner sendromunda genç bir kadında endometrial carcinoma görüldü.

Metastatic prostatic carcinoma için DES ile beslenen bir erkekte göğüs kanseri bir kaç kere rapor edildi. DES'e maruz bırakılan anneler üzerinde bir çalışmada göğüs kanserine rastlanmasına rağmen kontrollardaki farklılıklar istatistikî olarak belli değildi.

Kuvvetli kanıtlar gösteriyor ki, climacteric semptomların kontrolü için oestrogenlerin uygulaması endometrial carcinoma olayında bir artışa sebep olmaktadır; DES'in buna nisbetinin diğer oestrogenlerden hiç bir farklılığı olmadığı anlaşılmıştır.

#### Değerlendirme:

Diethylstilboestrol insanlarda kanser oluşumuna sebep olmaktadır. Deney hayvanlarında da carcinogenicity için belirli kanıtlar bulunmaktadır .



### 5.2. Oestradiol-17B ve Esterleri

Oestradiol-17B ve esterleri fındık fareleri (10), rat'lar (11), hamsterlerde (12) subcutan enjeksiyonla test edildiler. Meme, pituitary, uterus, vagina ve servikste büyümeler görüldü.

#### İnsan Verileri:

IRAC Çalışma Grubu şimdiye kadar epidomolojik çalışmalar temin edemedi (4).

#### Değerlendirme:

Deney hayvanlarında Oestradiol-17B'nin carcinogenic etkisi için belirli bir kanıt vardır. İnsanlarda yeterli veri olmadığı için pratik olarak oestradiol-17B'nin kansorejenik riski mevcuttur. Oestradiol-17B'nin diğer oestrogenlerden farklılığını gösteren hiç bir kanıt yoktur.

### 5.3. Progesterone

Progesteron fındık farelerine (13), rat'a (14), tavşan (15) ve köpeğe (16) subkutan ve intramüsküler verildi. Fındık farelerinde ovaryum, uterus ve meme tümörü incidence'nı arttırdı; köpeklerden elde edilen veriler carcinogenicity'i değerlendirmek için yeterli değildi.

#### İnsan Verileri:

Hiç bir durum raporu ve epidemiojik çalışmalar IRAC Çalışma grubuna iletilmedi (4).

#### Değerlendirme:

Deney hayvanlarında cancerogenicity için sınırlı kanıt vardır. Epidemiojik verilerin yokluğundan carcinogenicity değerlendirmeleri insanlar için yapılamadı.

### 5.4. Testosteron ve Esterleri

Testosteron ve esterleri fındık farelerine, rat'lara ve hamsterlere subkutan ve implantation ile verildi. Testosteron propianat subkutan implantede fındık farelerinde cervical-uterus tümörlerini oluşturdu (4) ve metastazik prostatik adenocarcinomalar ortaya çıktı (4).

#### İnsan Verileri:

Hiç bir durum raporu ve testostosterone üzerine epidemiojik çalışmalar IRAC Çalışma grubuna intikal etmedi (4).

#### Değerlendirme:

Deney hayvanlarında testosteronun carcinogenicity'si hakkında yeterli kanıtlar vardır. İnsanlarda yeterli data elde edilememiştir. Bu nedenle pratik olarak insanlarda carcinogenicity risk mevcut bulunmaktadır.

İnsanlarla ilgili veriler sadece androgenic anabolic-steroidlerin long-term etkilerini ilgilendiren verilerdir (4).

#### 5.5. Trenbolone

Androgenik aktiviteli sentetik bir steroiddir. Anabolik ajandır.

Mutagenicity/Carcinogenicity Çalışmaları:

17B-TBOH bakteriyel ve memeliler hücre sistemlerinde potansiyel mutajen olarak test edilmişlerdir. Üç mikrobiyolojik test uygulanmıştır: Bunlar, salmonella typhimurium strain'i kullanılarak yapılan (Ames deneyi) salmonella microsome testi (17), Escherichia coli strain'i kullanılarak yapılan SOS chromotest (18) ve Bacillus subtilis kullanılarak yapılan Rec-assay testleridir (18). Salmonella mikro-zom testi nokta mutasyonları ve parça mutasyonlarını, diğer iki test ise DNA bozulma şekillerini tesbit etmek için yapılmıştır. Bütün testler negatif netice vermiştir.

17B-TBOH ile üç adet memeli hücre mutasyon testi yapılmıştır. Hypoxanthine phosphoribosyl transferaz, iki çin hamster çizgisine uygulanmış, negatif sonuç alınmıştır. Fare lenfoma L5178Y hücrelerindeki TK-loku kullanılarak yapılan ileri mutasyon deneylerinde yaklaşık neticeler alınmıştır (17).

Uzun dönem (The long term) çalışmaları, 17B-TBOH'in karaciğer tümörüne yol açabileceğini göstermiştir. Bunun üzerine 17B-TBOH'in fare ciğerinde Solt Farber metodu kullanılarak ilk aktiviteleri incelenmiş, fakat tümör başlangıcına rastlanmamıştır (2). 17a-TBOH'da yukarıda anlatıldığı şekilde B-isomerleri gibi test edilmiş ve şu neticeler alındı: i) Salmonella microsome deneyi (Ames)-negatif; ii) CHO hücrelerinde hypoxanthine phosphoribosyl transferase testi negatif; iii) İnsan lymphocyte'lerinde, fare kemiği iliğinde ve spermatogonia'da chromosome sapma deneyleri-negatif; iv) İnsan hücrelerinde DNA tamirati-negatif; v) Fare lymphoma L5178Y hücrelerinde ileri mutasyon testi- müphem (18).

#### Değerlendirme:

In-vitro ve in-vivo çalışmalarından elde edilen veriler trenbolone acetate ve metabolitlerinin (17a-TBOH ve 17B-TBOH) belirli bir genotoxic potential göstermediğini kanıtlamaktadır.

### 5.6. Zeranol

Zeranol oestrogenic (female type) aktiviteli non—steroid sentetik anabolik agent'dir.

#### Mutagenicity:

Zeranol ve metabolitleri olan zearalanone ve taleranol (5.5) de özetlenen trenbolone—acetat ve 17a—TBOH ve 17B—TBOH'ların uygulandığı aynı testlere tabi tutuldu ve genotoxicity testleri yapıldı. Şu neticeler elde edildi: i) Salmonella microsome deneyi (Ames) (18, 19, 20)—negatif; i i) B.subtilis Rec—assay'deki bakteriyal DNA bozunması (18) —pozitif; i i i) SOS chromotest (18) —negatif; iv)Fare lymphoma L5178Y hücrelerinde ileriye dönük mutasyon—negatif; v) primary rat hepatocyte kültürlerinde UDS (21) —negatif; vi) V79 hücrelerinde sister chromatid değişimi (18)— negatif; v i i) In vivo chromosome sapmaları (fare kemik iliğinde) (19) —negatif ve v i i i) In vitro DNA bağı (22)— negatif.

Zearalanone şu şekilde test edildi: i) Salmonella microsome deneyi (Ames) (19, 20)— negatif; i i) Fare lymphoma L5178Y hücrelerinde ileri dönük mutasyon (19)—negatif; i i i) Primary rat hepatocyte kültüründe UDS (23)—negatif ve iv)Fare kemik iliğinde chromosome sapması (24)—negatif.

Taleranol şöyle test edildi: i) Salmonella microsome deneyi (Ames) (19, 20) —negatif; i i) Fare lymphoma L5178Y hücrelerinde ileri dönük mutasyon (25) —marjinal artış; i i i) CHO hücrelerinde chromosome sapma (25)—S9 aktivasyonu olmaksızın pozitif, S9 aktivasyonunu takip ederse negatif; iv) Primer rat hepatocyte kültüründe UDS (23)— negatif; v) Fare kemik iliğinde chromosome sapması (24) —negatif ve vi) Hasta hücrelerdeki genotoksik etkileri incelemek için yapılan testlerdeki dominant öldürücü (26)—negatif.

Yukarıdaki veriler zeranol ve zearalanon için in vitro ve in vivo genotoksik potansiyelin olmadığını göstermektedir. Taleranol ise, CHO hücrelerinde görülen chromosom sapmasından ötürü genotüksisite belirtisi göstermektedir. Bununla beraber bu aktivite rat karaciğerine S9 prepratının ilavesi ile yok olmuştur. Bu da taleranol metabolizmasının genotoksisitesini yok ettiğini belirtmektedir. Bu sonuç in vivo deneylerde fare kemik iliği testi ve dominan ölüm deninin genotoksisitesinin olmamasıyla da desteklenmektedir.

Risk değerlendirilmesi: Zeranol ve metabolitlerinin belirgin genotoksik potansiyeli olmadığı ve günlük alım dozunun NHEL'e (No Hormone Effect Level) göre ve enniyet faktörü uygulanarak hesaplandığı belirtilmiştir (27, 28). Farmakokinetik ve toksikolojik profillerin ışığı altında günlük tolera edilebilir alımın hesaplanmasında enniyet faktörü 1000 olarak alınmıştır.

Yaygın olarak kabul edilmiş formüle göre zeranol için tolera edilen günlük alım değeri günde 0.025 mmg/kg vücut ağırlığı; taleranol ve zearalanon için ise günlük

1 mmg/kg vücut ağırlığıdır. Ortalama insan vücut ağırlığı 70 kg olarak düşünülürse, günlük 500 g hayvan dokusu alındığında (300 g et, 100 g karaciğer, 50 g böbrek ve 50 g yağ) zeranol kalıntısı total 1.75 mmg/kg, taleranol ve zearalanon 70 mmg/kg mi aşmadığı takdirde zeranolun kullanımı güvenli sayılır.

Sonuç:

Yenilebilir dokuda bulunan trenbolon, zeranol ve bunların metabolitlerinin seviyeleri hayvan test sistemlerinde hormonal etkili dosların altındadır ve sağlığı aykırı bir etki göstermez (2).

## 6. ANABOLİK AJAN OLARAK HORMONLARIN GENEL MEKANİZMASI

Metabolizmanın inşa etme ve biosentetik fazına anabolizma ve anabolizmayı regüle eden hormonal yapıdaki kimyasal bileşiklere de anabolik ajanlar denilmektedir. Hydrophobic hormonlar ile steroidler plasmada spesifik protein taşıyıcılarına bağlı olarak hareket ederler. Bu nedenle plasmadaki total konsantrasyonları, serbest ve bağlı formlar arasındaki dengeye bağlı olarak saatler ve günler boyunca yavaş yavaş değişir. Bu ajanlar hedef hücredeki spesifik RNA molokülleri birikimini stimüle edecek şekilde hareket eder, böylece spesifik protein moleküllerinin sentezini arttırlar ve bir enzim ya da bir grup enzimin spesifik bir metabolik pathway'ını katalize ettiğine sık sık rastlanır. Steroid hormonlar başlangıçta, cytosoldaki spesifik yüksek afiniteli bir reseptör proteine bağlanarak hareket ederler (29). Meydana gelen kompleks (genellikle reseptör proteinin yapısal transformasyonunu içine alır) hücre çekirdeğine taşınır, ki burada chromatin ile etkileşir. Bu etkileşime ise spesifik proteinlerin yöneten bir model olarak hareket eden spesifik mRNA moleküllerinin birikmesini etkiler. İlave olarak genel RNA sentezi için gerekli RNA polymerase'ı spesifik olarak arttırarak messeger, transfer ve ribosomal RNA ların genel sentezini non-spesifik olarak arttırabilirler (29). Metabolizmadaki değişiklikler bu indirekt yolla meydana gelirler. Hormonun DNA veya RNA ile doğrudan kimyasal reaksiyonu ihtimali yoktur. Bunun yerine, hormonun önce spesifik reseptör protein ile karışması gerektiği ve bu karışımın chromatin üzerine etki yaptığı postule edilmektedir.

Yukarıda açıklandığı şekilde hareket eden hormonlar gen remzini regüle ederek bunu yapıyor olabilirler. Deneysel olarak izotop etiketli hormonların nukleuste lokalize oldukları bulunmuştur. Nükleer hareketin diğer kanıtları ise etiketli precursorların nükleer RNA da bir araya gelmeleri ile ölçülen RNA sentezi artışının sıklıkla demonstrasyonudur. Son olarak, hormon verilmesinden sonra bir enzimin aktivitesindeki artış dactinomycin gibi RNA sentezi inhibitörlerinin verilmesiyle bloke edilebilir, ki bu enzim aktivitesi üzerine hormonal etkinin, beraberindeki RNA sentezine dayandığını gösterir.

Hormonlar ribosomlarda protein oluşturmak üzere messenger RNA tarafından taşınan enformasyonların translasyon oranlarını stimule edebilirler, mesela büyüme hormonu verilen bir hayvanın ribozomlarının normal mRNA düzeyleri mevcudiyetinde protein sentezi için modifiye bir kapasitesi vardır (30).

### 7. GIDA MADDELERİNDE DİKKATE ALINMASI GEREKLİ SEKSUEL HORMON (ANABOLİK AJAN) ETKİLİ KALINTILAR (REZÜTLER)

Vücudun kendi seks hormonlarının kimyasal yapısı steroid yapıdadır. En önemli endogen oestrogenler oestradiol-18B ve oestron'dur. Steroid yapıdaki exogen oestrogenler oestradiolbenzoat ve oestradiolmonopalmitat'tır. Exogen steroid yapıda olmayan oestrogen etkideki maddeler stilbene'lerdir, bunların en iyi temsilcisi diethylstilboestrol (DES), hexoestrol ve dienoestrol'dür. Tablo 1'de çeşitli anaboliklerin etki tarzı ve bileşimleri hakkında bilgi verilmektedir. Sentetik olarak yapılan hormonlarda oral etki ve uzun bir etki süresi amaçlanmıştır, yani oral olarak alınan sentetik anaboliklerin etki süresi daha uzun ve daha etkili oluyor. Bu nedenle drug olarak ilgi çekmektedir.

Endogen ve exogen anabolik bileşiklerin kalıntı verme özellikleri son derecede önemlidir. Steroidler genel olarak organizmada nisbeten daha hızla parçalanırlar. Buna mukabil non-steroidler daha uzun süre vücutta kalırlar.

Tablo 1. Çeşitli seksuel hormon etkili maddeler

Yapısı ve Menşei	Etki tarzı		
	Oestrogen	Androgen	Gestagen
Endogen Steroidler	Oestradiol-17B Oestron	Testosteron	Progesteron
Exogen Steroidler	Oestradiolbenzoat Oestradiolmonopalmitat Ethinyloestradol	Testosteron-propionat Methyltestosteron Trenbolon	Melengestrolacetat
Steroid olmayan exogenler	Diethylstilboestrol (DES) Hexoestrol, Dienoestrol Zeranol		

Protein veya peptit yapıli maddelerde Şu noktai nazardan hareket edilir: bunlar sindirim prosesi esnasında denatüre olurlar ve bu suretle etkisiz hale gelirler. Aynı durum hypothalamus ve hipofiz hormonları için de geçerlidir. Bu nedenle bunlarda kalıntı (rezüt) problemi bahse konu değildir.

Federal Almanya'da 3.8.1977 ve 19.6.1979 yıllarında yürürlüğe konan Farmakolojik Etkili Maddeler hakkındaki yönetmelik oral yolla alındığında kuvvetli etkisi bulunan DES'i ölçü olarak esas alınmıştır. DES çok stabildir, toksik etkisi pratik olarak vücuttan giderilemez, safra üzerinden barsağa salındıktan sonra barsak tarafından değişikliğe uğramaksızın tekrar resorbe olur (31). Enterohepatik dolaşımından dolayı bir kez verilmesinden sonra bile vücutta haftalarca tesbit edilebilir (32). Diethylstilboestrolün (DES) diğer oestrogenlerle olan ilişkisini ve biyolojik etkisini Karg (32) tesbit etmiştir, bu tesbitler Tablo 2'de görölmektedir.

Tablo 2. Çeşitli oestrogenlerin (biyolojik testlerde oral etkisi) Biyolojik etkileri KARG (32)

Bileşik	Oral etki
Diethylstilboestrol (DES)	100
Ethinlaestradial	100
Oestradiol-17B	10
Oestradiol-17a	1
Zeranol	1

Tablo 3. Oral etkilerine göre anaboliklerin sınıflandırılması (Hoffmann (33))

Bileşikler	Oral etkisi	
	Düşük	Yüksek
Oestradiol-17B	X	
Oestradiolbenzoat	X	
Oestradiolmonopalmitat	X	
Zeranol	X	
Oestrogen		
Diethylstilboestrol (DES)		X
Hexoestrol		X
Dienoestrol		X
Ethinoestradial		X
Androgen		
Testosteron	X	
Testosteronpropianat	X	
Trienbolonacetat	X	
Methyltestosteron		X
Gestagen		
Progesteron	X	
Melengestrolacetat (MGA)		X

Bir bileşiğin ağız yoluyla alınmasıyla incorpore miktarı ne kadar düşüğe tüketici riskinin de o kadar küçük olması bir kriter olarak kabul edilmektedir (31).

Bundan dolayı bileşiklerin ağız yolu ile alındıklarında, etkileri kriter olarak kabul edilir. Tablo 2'de görüldüğü gibi diethylstilboestrol ve ethiniloestradiol özel bir öneme sahiptir. Buna karşılık doğal oestrogen oestradiol-17B nisbeten zararsız olarak dikkate alınır. Çünkü bu, testosteronda olduğu gibi hayvan vücudunda geniş ölçüde inaktif oestradiol-17a'ya dönüşür (33). Aynı durum oestradiol veya testosteron türevleri için de geçerlidir, yani bunlar inaktif formlara dönüşürler.

Tablo 3'de seksüel hormon etkisinde çeşitli substansların oral yolla alındıklarında etkileriyle ilgili bir özet verilmiştir (33).

Hayvanlara tatbik edilen seksüel etkili bir prepatın cinsi ve tatbik edilmiş şekli kalıntı (rezüt) durumu için özel bir kalite kriteridir. Kristal suspansiyonlar veya yağlı sulu emülsiyonlar aylar sonra parçalanır. Uzun etki süreli prepatlar (şayet müsaade edilmişlerse) tüketiciye verilmeden çok önce intramüsküler olarak tatbik edilmiş olmalıdır ve bu durum böyle prepatların reddedilme sebepleridir. Farmakolojik Etkili Maddeler hakkındaki yönetmelik bu nedenle orada adı geçen ilaçların sadece deri altına (kulağın dibine) verilmesine müsaade etmektedir. Enjeksiyon yerinden uzaklık büyük bir rol oynamaktadır. Yağlı çözeltilerdeki DES'in bir dananın intramüsküler enjeksiyonundan sonra tesbit edilen kalıntı (rezüt) miktarı tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4— 50 mg DES'in intramüsküler enjeksiyonundan 3 hafta sonra kaslarda tesbit edilen DES rezüdü (32)

Enjeksiyon yerinden uzaklık cm.	diethylstilboestrol (ppb)
5	2080
5-15	195
15-25	8
>-25	< 2

Eksojen olarak verilen hormon etkili maddeler süt'e de geçebilirler. Diethylstilboestrolun 200 mg miktarı oral yolla verildikten 12 saat sonra 1.8 ng; 36 saat sonra 1 ng miktarları bir gr süt kurumadisinde tesbit edilmiştir (31).

Gıda maddelerinin işleme süreçlerinde ihtiva ettikleri anabolik ajanlar inaktive olmazlar. Bunun için ölçü dana eti konservelerinde diethylstilboestrolun tesbitidir. Gıda maddelerinde rezüt olarak bulunan seksüel hormon etkili maddelerin önemi şu şekilde özetlenebilir:

Endojen steroidler hayvansal menşeli gıda maddelerinde doğal komponentlerdir. Bunlar hayvanlarda ve insanlarda biyolojik inaktif metabolitlerine dönüşürler, kontrol edilmiş hayvan denemeleri göstermiştir ki, anabolik etkisi olan dozların uygulanmalarından sonra bu maddelerin kesimle anındaki kalıntı (rezüt) miktarları fizyolojik norm değerleri arasında bulunmuştur (33). Yüksek konsantrasyonlarının implantasyon veya enjeksiyon yerlerinde bulunmaları beklenir.

Fizyolojik şartlar altında oestrogen ve androgenlerin konsantrasyonları değişik miktarlardadır; boğalarda kasta 0.5 ppb, düvelerde 0.09 ppb ve besi danalarında 0.015 ppb testostereone tesbit edilmiştir (31).

## 8. ANABOLİK AJANLARIN KULLANILMALARI ve KONTROLLARI HAKKINDA MİLLİ YASAL DÜZENLEMELER

Michael O'keeffe (34) hayvanların üretiminde anabolik ajanların kullanımları ve kontrolleri üzerinde devletlerin milli yönetmenliklerini gözden geçirmiştir ve konuyu ele alırken Avrupa Ekonomik Topluluğu ülkeleri ile bazı diğer ülkelerin yönetmenliklerini etraflıca dokuman olarak derledi. Bu bölüm Michael O'Keeffe'nin yazısının bir özetidir.

### 8.1. Hayvan üretiminde anabolik ajanların kullanma ruhsatları :

- Avusturya : Hiç bir ajanın kullanımına resmi bir izin verilmemiştir.  
Belçika : Hiç bir ajanın kullanımına resmi bir izin verilmemiştir.  
Danimarka : Hiç bir ajanın kullanımına resmi bir izin verilmemiştir.  
Fransa : Testosteron, progesterone, trenbolone, zeranol'a izin verilmiş; stilbenslere ve oestradiol'a izin verilmemiştir.  
Federal Almanya : Oestradiol, testosteron ve progesterone'a izin verilmiş; diğer anabolik ajanlara izin verilmemiştir.  
Büyük Britanya : Oestradiol, testosteron, progesteron, zeranol ve trenbolone'a izin verilmiş, fakat; diğerlerine verilmemiştir.  
Yunanistan : Bütün anabolik ajanlara izin verilmemiştir.  
İrlanda : Oestradiol, testostereone, progesterone, zeranol ve trenbolone'a müsaade edilmiş; diğerlerine edilmemiştir.  
İtalya : Bütün anabolik ajanlarını kullanımına ruhsat verilmemiştir.  
Hollanda : Bütün anabolik ajanlarını kullanımına ruhsat verilmemiştir.  
İsviçre : Bütün anabolik ajanlarını kullanımına ruhsat verilmemiştir.  
Amerika Bir.Dev. : Oestradiol, testostereone, progesterone, zeranol hayvan üretimi için doğrudan uygulamaya; melengestrol hayvan yemlerine ilave edilmesine ruhsat verilmiştir.

### 8.2. Tatbik edilmek üzere şahıslara izin verilmesi/Anabolik ajanların tanzimi.

- Avusturya : Uygulama yok.  
Danimarka : Uygulama yok.  
Belçika : Uygulama yok.  
Fransa : Anabolik ajanların temini ancak Veteriner Hekim reçetesi ile mümkündür.



**Federal**

Almanya : Anabolik ajanların tanzimi veteriner hekimlerle kısıtlandırılmıştır.

**Büyük**

Britanya : Zeranol hariç diğerleri veteriner hekim reçetesi ile uygulanır.

Yunanistan : Uygulama yok.

İrlanda : Parlamento verilen kanun teklifi anabolik ajanların kullanımını reçete ile kısıtlayacaktır ve aynı zamanda uygulamalarını da veteriner hekim nezaretinde yapılmasını öngörmektedir.

İtalya : Uygulama yok.

Hollanda : Uygulama yok.

İsviçre : Uygulama yok.

**Amerika**

Bir.Dev. : Temini ve tatbiki kısıtlı değil.

**8.3. Anabolik ajanların uygulamalarının kayıt edilmesi.**

Avusturya : Kayıt edilmiyor. (Zaten uygulanma yasaktır).

Belçika : Kayıt edilmiyor. (Zaten uygulanma yasaktır).

Danimarka : Kayıt edilmiyor. (Zaten uygulanma yasaktır).

Fransa : Sadece reçete kayıtları yapılır.

**Federal**

Almanya : Hiç bir kayda gerek görülmemiştir.

**Büyük**

Britanya : Hiç bir kayda gerek görülmemiştir.

Yunanistan : Kayıt yapılmıyor. (Zaten uygulama yasaktır).

İrlanda : Halen hiç bir kayda gerek görülüyor, ancak parlamentoya teklif edilen kanun tasarısında kayıt getirilmektedir.

İtalya : Kayıt edilmiyor. (Zaten uygulama yasaktır).

Hollanda : Kayıt edilmiyor. (Zaten uygulama yasaktır).

İsviçre : Kayıt edilmiyor. (Zaten uygulama yasaktır).

**Amerika**

Bir.Dev. : Hiç bir kayda gerek görülmemiştir.

**8.4. İmplantasyon (uygulama) ile kesim arasında olması gerekli zaman periyodu.**

Avusturya : Anabolik ajan kullanımına müsaade edilmemiştir.

Belçika : Anabolik ajan kullanımına müsaade edilmemiştir.

Danimarka : Anabolik ajan kullanımına müsaade edilmemiştir.

Fransa : Testosterone ve progesteron için özel bir periyod yok.

Trenbolone ve zeranol implantasyondan 60 gün sonra hayvan kesime alınır.

- Federal  
Almanya : Oestradiol, testosterole ve progesterone implantasyondan 90 gün sonra mezbahada kesimine izin verilmektedir.
- Büyük  
Britanya : Gerekli zaman periyodu aşağıdaki gibi tavsiye edilir:  
Oestradiol: sıfır gün; oestradiol artı testosterone: ticari üretime bağlı olarak 0-90 gün zaman periyodu; oestradiol artı progesterole: ticari üretime bağlı olarak 0-90 gün zaman periyodu. Trenbolone: İmplantasyondan 60 gün sonra; zeranol implantasyondan 60 gün sonra mezbahada kesime izin verilir.
- Yunanistan : Anabolik ajan kullanımına müsaade edilmemiştir.  
İrlanda : Elde mevcut mevzuata göre gerekli periyot üreticilere aşağıdaki gibi tavsiye edilir:  
Oestradiol artı testesterone: Ticari üretime bağlı olarak 0-90 gün zaman periyodu; oestradiol artı progesterone: Ticari üretime bağlı olarak 0-90 gün zaman periyodu; trenbolone: 60 gün sonra; zeranol: sığırdada 60 gün koyunda 42 gün implantasyondan sonra kesime izin verilmektedir.
- İtalya : Anabolik ajan kullanımına izin verilmemiştir.  
Hollanda : Anabolik ajan kullanımına izin verilmemiştir.  
İsviçre : Anabolik ajan kullanımına izin verilmemiştir.  
Amerika  
Bir.Dev. : Oestradiol, testosteron ve progesteron için implantasyondan sonra zaman periyoduna gerek duyulmamıştır.  
Zeranol: İmplantasyondan sonra 65 gün; melengesterol acetate (yem ilaveli) 48 saat sonra kesimini şarta bağlamıştır.

#### 8.5. Ette anabolik ajanların müsaade edilebilen rezüid seviyeleri.

- Avusturya : Stilbenler: tayin edilemeyecek kadar eser miktarda; oestradiol, testosterone ve progesterone için özel bir kanunu tolerans seviyesi yok; trenbolone ve zeranol tayin edilemeyecek kadar eser miktarda olmalıdır.
- Belçika : Stilbenler, trenbolone, zeranol ve diğer xenobitlikler tayin edilemeyecek kadar eser miktarda bulunmalıdır.  
Oestradiol, testosteron ve progesterone özel bir kanuni tolerans seviyesi tesbit edilmemiştir.
- Danimarka : Stilbenler tayin edilemeyecek kadar eser miktarda; oestradiol, testosterone ve progesterone fizyolojik normal seviyelerde; trenbolone ve zeranol tayin edilemeyecek kadar eser miktarda bulunmalıdır.

- Fransa : Stilbenler tayin edilemeyecek kadar eser miktarda; oestradiol genç hayvanlarda 0.2 ppb'den yetişkinlerde 10 ppb'den az miktarda olmalıdır.  
Testosterone, progesterone, trenbolone ve zeranol için özel bir tolerans seviyesi statüsü yoktur.
- Federal  
Almanya : Stilbenler tayin edilemeyecek kadar eser miktarda; oestradiol, testosterone ve progesterone için özel bir tolerans seviyesi statüsü yoktur.
- Büyük  
Britanya : Hiç biri için spesifik tolerans seviyesine ait statü yok.  
Yunanistan : Tüketiciye herhangi bir zararı olmayacak seviyede olmalıdır.  
İrlanda : Spesifiye edilmiş tolerans seviyesi statüsü yok.  
İtalya : Spesifiye edilmiş tolerans seviyesini gösteren statüsü yok.  
Hollanda : Stilbenler, zeranol, trenbolone ve diğer xenobiotiklerin rezütleri tayin edilemeyecek kadar eser miktarda olmalıdır.  
Oestradiol, testosterone ve progesterone rezütleri tipik spesifik endogen seviyede olmalıdır.
- İsviçre : Özel bir tolerans seviyesine ait statü yok.
- Amerika  
Bir.Dev. : Stilbensler, zeranol, melengestrol acetate resmi metodlarla analiz edildiğinde rezüt miktarları tayin edilemeyecek kadar eser miktarda olacak. Oestradiol, testosterone, progesterone normal fizyolojik seviyelerde olacak.  
Trenbolone: hiç rezüt bulunmayacak.

#### 8.6. Anabolik ajanların rezütleri için monitoring (izleme) sistemi

Avusturya:

Ajanlar	İzlenecek numune	Deney metodu	Hassasiyet limiti
Stilbenler	kas, faeces, safra (danalarda)	RIA/TIC x	0.2 ppb (kas) 5 ppb (faeces)
oestradiol ve diğer ajanlar	rutin izleme yapılmamaktadır.		

x) Numuneler Eylül 1983'den beri (gaita ve safra) mezbahalardan alınmakta ve TLC ile teyid edildikten sonra RIA ile stilbenler analiz edilmektedir.

Belçika :			Hassasiyet	limiti
<u>Ajanlar</u>	<u>İzlenecek numune</u>	<u>Deney metodu</u>		
Stilbenler	üre, yağ, kas	RIA/TIC	0.5 ppb	
Oestradiol	üre, yağ, kas	TLC	0.5 ppb	
Testosterone	üre, yağ, kas	TLC	0.5 ppb	
Progesterone	üre, yağ, kas	TLC	10 ppb	
Trenbolone	üre, yağ, kas	TLC	0.5 ppb	
Zeranol	ore, yağ, kas	TLC	3 ppb	
<u>Danimarka :</u>				
Stilbenler	faecae	RIA	0.8 ppb	
<u>Fransa :</u>				
Stilbenler	idrâr, kas	RIA/HPTIC	0.5 – 5 ppb	
Oestradiol	idrâr	RIA/HPTLC	0.2 – 2 ppb	
<u>Federal</u>				
<u>Almanya :</u>				
Stilbenler	İdrâr, faecae, kas	RIA/TLC	5 ppb	
Trenbolone	idrâr, faecae	RIA	50 ppb TLC	
			5 ppb	
<u>Büyük</u>				
<u>Britanya :</u>				
Stilbenler	safrâ, kas	RIA	05. ppb (safrâ)	
Trenbolone	Karaciğer	RIA	0.1 ppb (kas)	
Zeranol	Safrâ	RIA	0.3 ppb	
			Deney 1984 için	
			geliştirilmiş.	
<u>Yunanistan :</u>				
Stilbenler	Kas	RIA/Biyolojik	0.2 ppb	
		deney		
<u>İrlanda :</u>				
Stilbenler	Karaciğer/böbrek	GC	0.5 ppb	
Trenbolone	Kas	RIA		
Zeranol	Kas (sığır)	RIA		
	idrâr (koyun)	RIA		

İtalya :

Ajanlar	İzlenecek numune	Deney metodu	Hassasiyet limiti
Stilbenler	doku, faeces	Biyolojik deney/ TLC/TLC-GCMS	20 ppb (biological assay)
Hollanda :			
Stilbenler	İdrar	RIA-GCMS	3 ppb
Oestradiol	İdrar	Flurometry	
Testosterone	İdrar	RIA	
Trenbolone	İdrar	RIA/TLC/GCMS	1 ppb'den küçük
Zeranol	İdrar	TLC/GCMS	1 ppb'den küçük
Nortestosteron	İdrar	TLC/GCMS	1 ppb'den küçük
Methyltestosteron	İdrar	TLC/GCMS	1 ppb'den küçük
İsviçre :			
Stilbenler	doku, idrar	RIA	0.2 ppb
Trenbolone	doku, idrar	RIA	0.2 – 0.5 ppb
Amerika Bir.Dev.			
Stilbenler	Karaciğer/böbrek	GC	0.5 ppb
Zeranol	Doku	GC	20 ppb
Melengestrol acetat	yağ	GC	10 ppb

Not: İsmi yazılı olmayan anabolik ajanların rutin analizler ile izlemeleri yapılmamaktadır.

### 8.7. İthal edilen etler için kontrol sistemi

Avusturya : Stilbensler RIA metodu ile tayin edilir.

Belçika : 8.6'da yazılı metodlar.

Danimarka : RIA kullanılır; pozitif örneğin tayin limiti 0.1 ppd

Fransa : Stilbensler RIA ile; oestrogenik aktive tayinleri biyolojik test metodları ile yapılır.

Federal

Almanya : RIA metodu ile

B.Britanya : 1955 Gıda ve Drug kanununa göre Liman Sağlık Ofislerince incelendi Et ve ürünleri AET'nun direktifleriyle 72/462 ve 77/99 sayılı tedbirleriyle ithal edilmektedir.

Yunanistan : RIA ve biyolojik deney ile

İrlanda : İrlandaya kayda değer et ithali yoktur.

- İtalya : TLC/Biyolojik deneyler  
Hollanda : RIA/GCMS ile tayin edilirler  
Amerika  
Bir.Dev. : Diğer ülkelerde kullanılan kontrol sistemleri U.S. programına eşdeğerdir. Temel bir programda U.S.'e gelen ürünler örneklenir ve analiz edilir.

Yukarıda bahsedilen 12 ülkeden bütün ülkeler stilbenlerin anabolik ajan olarak kullanımlarını yasaklamışlardır; yedi ülke bütün anabolik ajanların kullanımını menetmişler ve diğer beş ülke (Fransa, Almanya, İngiltere, İrlanda ve Birleşik Amerika) sınırlı sayıda anabolik ajan kullanımına müsaade etmişlerdir.

Türkiye ise; 7.6.1973 tarih ve 1734 sayılı YEM KANUNUNUN 4.madde (e) fıkrasında "yemlik prepatlara" hormon ilave edileceği hükmünü amirdir. 5.8.1974 tarih ve 7/8487 sayılı YEM YÖNETMELİĞİN'in 5.madde V. bölümünde "Yemlik prepatlar"ın tarifinde "hormon ihtiva etmesini" öngörmektedir.

Stilbensler için bütün ülkeler bir monitoring sisteme sahiptir.

Stilbensler için bütün ülkeler bir monitoring sisteme sahiptir. Türkiye'nin ise böyle bir sistemi yoktur.

Stilbensler için tayin limitleri çeşitlidir (0.2 ppb ile 20 ppb/kg) numunenin tipine ve kullanılan tekniğe bağlı olarak değişmektedir. Altı ülke trenbolone rezütlerini; beş ülke zeranol rezütlerini; üç ülke oestradiol rezütlerini ve 2 ülke testostereone ve progesterone rezütlerini test eder. Etilerde rezütlerin müsaade edilen seviyeleri eksojen ajanlarda genellikle "tayin edilemez rezüt" şeklindedir. Limitlerin tayini analiz tekniklerine bağlıdır. Tabii olarak bulunan ajan seviyeleri "fizyolojik seviyeler" şeklinde ifade edilmiştir. Fransa bunların seviyesini oestradiol için tarifler.

İthal etler için kontrol sistemleri her ülke için değişiklik göstermektedir. Örnekleme hızları, karar limitleri ve pozitif sonuçların kayıtları konusunda pek bilgi elde edilemedi.

## 9. SONUÇ ve ÖNERİLER

Et üretimi için hayvan besiciliğinde anabolik ajanların kullanılması hakkında Avusturya, Belçika, Danimarka, Fransa, Büyük Britanya, Batı Almanya, Yunanistan, İrlanda, İtalya, Hollanda, İsviçre ve Birleşik Amerika Devletlerinin tavırları vardır; bunlardan Avusturya, Belçika, Danimarka, Yunanistan, İtalya, Hollanda ve İsviçre milli sınırları içerisinde hayvan besiciliğinde anabolik ajanların kullanımını kat'i olarak yasaklamışlardır; Fransa, Batı Almanya, Büyük Britanya, İrlanda ve Amerika Birleşik Devletler mahdut sayıda anabolik ajan kullanılmasına izin vermiştir.

Türkiye ise henüz bir karara varmamıştır, ancak; 1734 sayılı YEM KANUNU'nun 4.madde e fıkrasında "Yemlik prepratlar" tarifinde "antibiyotik, hormon ve vitaminler gibi koruyucu maddeleri ihtiva eden yemlerdir" cümlesi ile besi hayvanlarının yemlerine hormonların ilave edilebileceğini belirtmektedir ve ayrıca 5.8.1974 tarih ve 7/8487 sayılı karar ile çıkarılan YEM YÖNETMELİĞİ'nin V. bölümünde "yemlik prepratlar" için aynı ifadeler kullanılmaktadır ve mezkur yönetmeliğin 49. maddesi "Bu yönetmeliği Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanı yürütür" Demektedir.

Yukarıda birinci paragrafta bahsedilen devletlerden uygulanmasına izin verenler, anabolik ajanların temini, uygulayacak personelin vasıfları ve kayıtları; implantasyondan sonra kesim müddeti arasındaki zaman; etlerde anabolik ajan rezüt seviyeleri; kontrol ve takip sistemleri (Monitoring system) ve ithal edilen etler için kontrol sistemleri kodifiye ettikleri halde Türkiye bu hususlarda yoksun durumdadır. Bu büyük kaosun doldurulması için:

1. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığının yetkili elamanları ile Tarım ve Köy İşleri Bakanlığının Veterinerlikle ilgili personellerinden teşekkül etmiş bir ilmi komisyon kurulmalı. Bu komisyon aşağıdaki konuları müzakere ederek bir karar vermelidir:

a. Anabolik ajanların (hormonların) temini (reçete ile mi temin edilecek veya serbest olarak mı piyasada bulunacak);

b. Ugulayacak personelin vasfı (veteriner hekim nezaretinde mi implantasyon yapılacak, yoksa hayvan sahibi bu konuda serbest mi bırakılacak) hakkında bir kayıt getirilip getirilmeyeceği;

c. Tescil: Implantasyon yapılan hayvanlar bir sicil defterine kaydedilecek mi yoksa reçete verilmele yetinilecek mi? İmplantasyondan sonra kesim arasında bekleme müddeti ne olacak? Batı Almanyada bu müddet 90 gün; Fransada trenbolone ve zeranol için 60; Birleşik Amerika Devletlerinde zeranol için 65 gün, melen-gestrol acetat (yemlerde) için 48 saat; Büyük Britanya ve İrlanda'da trenbolone için 60 gün, zeranol için sığırlarda 65, koyunlarda 42 gündür.

2. Türkiye'de stilbenlerin kullanımı kesin olarak yasaklanmalıdır. Hatta gümrükten girişi belirli kayıtlarla sınırlandırılmalıdır (ilmi araştırmalar için serbest bırakılabilir). Eğer Türkiye'de anabolik ajanların uygulanmasına karar verilecekse bu ajanlar tabii formda olan oestradiol, testosterone ve progesterone hormonlarına inhisar ettirilmelidir; çünkü, bunlar vücutta inaktif formlarına dönüşmektedirler (33). Zeranol ve trenbolone'un şimdiye kadar yapılan araştırmalarda sağlığa aykırılıkları hakkında herhangi bir neşriyat bulunmamasına ve Anglosakon ülkeleri ile Fransanın izin vermelerine rağmen —Ki, Batı Almanya izin vermemiştir— uzun bir müddet daha araştırmaların yapılması beklenilmeli ve şimdilik izin verilmemelidir.

## SCIENTIFIC REPORT HORMONAL ANABOLIC RESIDUES IN ANIMAL PRODUCTION AND NATIONAL REGULATIONS

Mehmet BOZKURT

### SUMMARY

This report covers a summary of EEC, Scientific Working Group and World Health Organization International Agency For Research (IRAC) on Cancer Working Group interim reports and individual reports about anabolic agents actions and practical national regulations.

Carcinogenic, mutagenic, embryotoxic and teratogenic effects of hormones and their mechanism are examined if they are used as anabolic agents. Scientific researches are investigated. If it is summarized: diethylstilboestrol and other stilbens were carcinogenic; they did not have mutagenic effect but they were embryotoxic and foetotoxic. If it is accepted that the biologic effect of diethylstilboestrol with oral administration is 100, ethinlaestradiol effect is 100, but oestradiol-17B effect is 10 and oestradiol-17 a and zeranol's effect is 1. Oestradiol-17B changes to oestradiol-17 a in the body. Same as this changing to inactive forms of oestradiol and testosterone derivatives are also valid. From 1.1.1988, the use of anabolic hormones for growth promotion purposes will be prohibited within the Community by Directives 81/602/EEC and 85/649/EEC. The use after 1 january 1988 of oestradiol-17B, testosterone and progesterone is permitted for a limited range of therapeutic indications. Also according to EEC Working Group, trenbolone, and zeranol not have any carcinogenic, mutagenic and teratogenic effects.

The national regulations about anabolic agents of 12 different nations have been investigated. Only of 5 of them give permission for using these agents for animal feeding; these nations are; France (testosterone, progesterone, trenbolone and zeranol) West Germany (oestradiol, testosterone and progesterone), Great Britain and Ireland (oestradiol, testosterone, progesterone, trenbolone and zeranol) and United States of America (oestradiol, testosterone, progesterone, zeranol and melengestrol acetate-feed additive-). Austria, Belgium, Denmark, Greece, Italy, Netherlands and Switzerland did not give permission of using the anabolic agents for feeding of animals.

In France, Germany, Great Britain and Ireland, assuring and administration of anabolic agents are being done by the supervision of the Veterinary Medicine. In the USA, there is no restriction. France records all recipes and other eleven nations do not have any records.



In France after 60 days from implantation of trenbolone and zeranol, in Germany after 90 days of anabolic administration; in USA after 65 days from implantation of zeranol, it is given permission of cloughtering animals.

All of these 12 countries describe residual agent levels in meat. Using up of these is forbidden if it is above the described level and they construct a monitoring system for anabolic agent residues. According to the preference of the nations, applications methods are RIA (radioimmunoassay), TLC (thin-layer chromatography), HPTLC (high performance thin-layer chromatography), GC (gas chromatography) and GCMS (gas chromatography with mass spectrometry). And they also describe the limits of detection for positive samples.

In conclusion, there should be constructed a scientific committee from the personnel of Ministry of Health and veterinary medicines belonging to the Ministry of Agriculture and the committee should construct analysis and control methods for the using of anabolic agents.

#### KAYNAKLAR

1. ANONYMOUS  
1981  
Directive 81/602/Council of the European Economic Community. Official Journal of the European Communities, L 222 of 7.8.1981,S.32 cited by: Special Report. Scientific report on anabolic agents in animal production. Ed: Scientific Working Group on Anabolic Agents. The Veterinary Record, October 24, 1987 p.389
2. ANONYMOUS  
1987  
(Special Report) Scientific report on anabolic agents in animal production. Ed: Scientific Working Group on Anabolic Agents. The Veterinary Record, October 24, 1987. p.389—392.
3. JOHANNA FINK—  
1986  
GREMMELS und LOTHAR LEISTNER. Toxikologische Bewertung der beiFleisch und Fleischezugnissen möglichen Rückstände. Fleischwirtschaft, 66 (11) 1986.
4. ANONYMOUS  
1979  
IARC (International Agency For Research on Cancer) MONOGRAPHS on the EVALUATION OF CARCINOGENIC RISK OF CHEMICALS TO HUMANS. World Health Organization, Ed: IARC Working Group on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Sex Hormones (II) Vol.21, IARC, Lyon.

5. NANDI, S.  
1987  
Hormonal carcinogenesis: a novel hypothesis for the role of hormones. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, 2, 13-20. Cited by: IRAC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic risk of Chemicals to Humans. Sex Hormones (II), Volum 21, IARC LYON.
6. SHIMKIN, M.B.  
1941  
and GRADY, H.G. Toxic and carcinogenic effects of stilbestrol in strain C3H male mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2, 55-60. In: IRAC MONOGRAPHS Volum 21 p. 185.
7. HUSEBY, R.A.  
1953  
The effect of testicular function upon stilbestrol-induced mammary and pituitary tumors in mice. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 1, 25-26. In: IRAC MONOGRAPHS, Vol. 21 p. 185.
8. VORHERR, H.,  
1979  
MESSER, R.H., VORHERR, U.F., JORDAN, S.W. Teratogenesis and carcinogenesis in rat offspring after transplacental and transmammary exposure to diethylstilbestrol. *Biochem. Pharmacol.*, 28, 1865-1877.
9. REZNIK-SCHULLER, H.  
1979  
Carcinogenic effects of diethylstilbestrol in male Syrian golden hamsters and European hamsters. *J. Natl. Cancer Inst.*, 62, 1083-1088. In: IRAC MONOGRAPHS, Volum 21, p. 185-194.
10. WELSCH, C.W.,  
1977  
ADAMS, C., LAMBRETECHT, L.K., HASSETT, C.C., BROOKS, C.L. 17 $\beta$ -Oestradiol and Enovid mammary tumorigenesis in 2-bromo-a-ergocryptine. *Br. J. Cancer.*, 35, 322-328. In: IRAC MONOGRAPHS, Volume 21, p. 298.
11. HIGHMAN, B.,  
1977  
NORVELL, M.J. and SHELLENBERGER, T.E. Pathological changes in female C3H mice continuously fed diets containing diethylstilbestrol or 17 $\beta$ -oestradiol. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, 1, 1-30. In: IRAC MONOGRAPHS, Volume 21, p. 298.
12. HOOKER, C.W.  
1942  
and PREIFFER, C.A. The morphology and development of testicular tumors in mice of the A strain receiving estrogens. *Cancer Res.*, 2, 759-769. In: IRAC MONOGRAPHS, Volume 21, p. 298.
13. KASLARIS, E.  
1962  
and JULL, J.W. The induction of tumours following the direct implantation of four chemical carcinogens into the uterus of mice and the effect of strain and hormones thereon. *Br. J. Cancer*, 16, 479-483. In: IRAC MONOGRAPHS, Volum 21, P. 499.

14. JABARA,A.G.                      an MARITZ,J.S.  
1973                                      Effects of hypothyroidism and progesterone on mammary tumours induced by 7,12-dimethylbenz (a)- anthracene in Sprague- Dawley rats. Br.J.Cancer, 28, 161-172.
15. ALVIZOURI,M.                      and RAMIREZ DE PITA,V.  
1964                                      Experimental carcinoma of the cervix. Hormonal influences. Am.J.Obstet. Gynecol., 89, 940-945. In: IRAC MONOGRAPHS,Volume 21, P.501.
16. CAPEL-EDWARDS,K.,HALL,D.E., FELLOWES,K.P., VALLANCE,D.K  
1973                                      DAVIES: M.J.,LAMB,D.and ROBERTSON,W.B. Long-term administration of progesterone to the female beagle dog. Toxicol. appl. Pharmacol., 24, 474-488. In: IRAC MONOGRAPHS,Volume 21, p.501.
17. RICHOLD,M.                              Archive für Toxicologie (in press). In: (Special Report) Scientific report on anabolic agents in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
18. SCHEUTWINKEL,M.,HUDE,W.v.D.and BASSLER.A.  
1985                                      Archive für Toxicologie. 58, 59. In: (Special Report) Scientific report on anabolic agents in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
19. PAREKH,C.K., TERRY,M.K. and WILLIAMS,R.D.  
1983                                      Anabolics in Animal Production. Ed: E. Meissonnier OIE,FRANCE.Cited By:Special Report) Scientific report on anabolic agens in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
20. INGEROWSKI,G.H., SCHEUTWINKEL-REICH,M.and STAN,H.J.  
1981                                      Mutation Research 91, 93. In: (Special Report) Scientific report on anabolic agens in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
21. WILLIAMS,G.M.                              Food Additives and Contamianats. Cited by: (Special Report) Scientific report on anabolic agens in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
22. BARRAUD,B., LUGNIER,A. and DURHEIMER,G.  
1984                                      Food Additives and Contaminants 1, 147.Cited by: (Special Report) Scientific report on anaboic agens in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.

23. WILLIAMS,G.M.  
1985      The hepatocyte primary culture/DNA repair assay on zearalanone and taleranol. International Minerals and Chemicals Report July 1985.Cited by (Special Report) Scientific report on anabolic agens in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
24. CIMINO,M.C.  
1983      Mutagenicity evaluation of zearalanone. International Minerals and Chemicals Report January 1983. Cited by:(Special Report) Scientific report on anabolic agens in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
25. CIPONE, M.A.  
1985      Mutagenicity evaluation of taleranol in the mouse lymphoma forward mutation assay. International Minerals and Chemicals Report March 1985.
26. BRUSICK,D.J.  
1986      Evaluation of taleranol In the mouse dominant lethal assay. International Minerals and Chemicals Report April 1986. Cited by:(Scientific report on anabolic agens in animal production. The Vet. Record, October 24 1987).
27. RICO,A.C. and BURGAT—SACAZE,V.  
1985      Veterinary Drugs and Food Safety: A Toxicological Approach. Revue scientifique et technique—Office Internationale des Epizooties, 4 (1); 111—119. Cited by:(Special Report) Scientific report on anabolic agens in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
28. ANONYMOUS  
1987      WHO IPCS Report (1987 Principles for Safety Assessment of Food Additives and Contamlnants in Food.Cited by: (Special Report) Scientific report on anabolic agens in animal production. The Veterinary Record, October 24 1987.
29. BAXTER JD—FORSHAM PH  
1972      Tissue effects of glucocorticoids. Am.J.Med. 53:573. Cited by:Gerold M.Grotsky, PhD General Characteristics of Hormones. In: Harper's Review of Biochemistry. Corpright 1981. All Rights Reserved By Langs Medical Publications., Drawer L. Los Altos, California 94022. Distributed by Maruzen Asia PTE.LTD Paris Panjang P.O.Box 67 Singapore 9111.
30. GEROLD M.GRODSKY,PhD.  
1981      General Characteristics of Hormones. In: Harper's Review of Biochemistry. Corpright 1981. All Rights Reserved By Langs Medical Publications. Drawer L.Los Altos, California 94022.

31. K.SCHULZE, PINNEBERG  
1981  
Ostrogene in Lebensmitteln deren Bedeutung und Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit sowie Nachweisverfahren. "Fleischwirtschaft", 61.Jahrgang, November 1981 p.1-6
32. KARG,H  
1980  
Erlaubte und unerlebte Anabolika in der Kaibermast Kraftfutter 63,426.Cited by:K.Schulze, Pinneberg., Ostrogene in Lebensmitteln deren Bedeutung und Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit sowie Nachweisverfahren. "Fleischwirtschaft", 61. Jahrgang, November 1981.
33. HOFFMANN,B.  
1981  
Aspects on Metabolism, Residue Formation and Toxicology of Growth Promoters. Arch. Lebensmittelhyg 32,65. Cited by:K.Schulze, Pinneberg., Ostrogene in Lebensmitteln deren Bedeutung und Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit sowie Nachweisverfahren. "Fleischwirtschaft", 61. Jahrgang, November 1981.
34. MICHAEL O'KEEFFE  
1984  
Survey of National Regulations on Use Control of Anabolic Agens. Compiled by Michael O'Keeffe Agrucultural Institute Dunsinea Research Center Castleknock, Dublin 15 September, 1984.



# AZOSPERMİLERİN SINIFLANDIRILMASI

Cemal ÇEVİK\*

## ÖZET

Azospermik olan 34 sperm numunesi distile su ile dilüe edilerek 500 nm de absorbansları ölçüldü. Azospermilerin % 26.5'inin 0.5'in üzerinde, % 73.5'inin ise 0.5'in altında bir absorbans değeri gösterdikleri izlendi.

## GİRİŞ

Azospermi semen numunesinde canlı veya ölü sperm bulunmadığıdır (1, 2, 3, 4, 5). Azospermi deyimini bu tanımla ilgili her hangi bir malumat vermemektedir. Seminal sıvının özelliği ne olursa olsun azospermi tanısıyla geçilmektedir. Halbuki sperm taşımayan semen numuneleri çeşitli sebeplerle oluşabilir (1, 2, 3, 4). Bu sebepleri ortaya koymak için seminal sıvı kullanılabilir. Nitekim seminal sıvı analizleri yapılarak obstrüksiyonlar tefrik edilmeye çalışılmıştır (6, 7).

Bu çalışmamızda seminal sıvıları farklı absorbans gösteren sperm numunelerinin etiyolojik farklılık gösterebileceklerini düşünerek gruplandırmaya çalıştık.

## MATERYAL ve METOD

Laboratuvarımıza spermiyogram yaptırmak için müracaat eden hastalardan masturbasyonla sperm numuneleri alındı. Numuneler etüvde 37° C'de bekletildi. Spermilerin sıvılaşması tamamlandıktan sonra distile su ile 1/20 oranında dilüe edildi. Dilüe sperm numunelerinin absorbansları 500 nm de ölçüldü. Spektrofotometre olarak Shimadzu UV-120 kullanıldı.

## BULGULAR

Sperm numunelerinin % 26,5'inin optik dansiteleri 0.5'in üzerinde, % 73.5'inin ise 0.5'in üzerinde idi. İki grubun aritmetik ortalamaları sıra ile 1.433 ve 0.292 idi. % 1 ihtimalli F test tablosu değeri 2.21'dir. Bizim hesapladığımız 11.2 idi. İki grup arasında çok önemli bir fark mevcuttur.

---

\* Gevher Nesibe Sağlık Yük.Ok.Öğr. Görevlisi, Dr.

TABLO 1– Azospermilerin absorbansa göre dağılımı

Absorbansı 0.5'den büyükler	Absorbansı 0.5'den küçük olanlar
1– 0.332	1– 0.324
2– 1.612	2– 0.239
3– 1.844	3– 0.410
4– 1.597	4– 0.192
5– 1.381	5– 0.470
6– 1.638	6– 0.267
7– 1.297	7– 0.211
8– 1.320	8– 0.365
9– 1.377	9– 0.305
	10– 0.378
	11– 0.438
	12– 0.193
	13– 0.208
	14– 0.192
	15– 0.207
	16– 0.254
	17– 0.267
	18– 0.258
	19– 0.254
	20– 0.211
	21– 0.275
	22– 0.290
	23– 0.300
	24– 0.438
	25– 0.378

	% 100	A. 0
O.D si 0.5'den küçük	% 26.5	1.433
O.D si 0.5'den büyük	% 73.5	0.292



## TARTIŞMA

Azospermi deyimini oldukça açık bir deyim olmasına rağmen yeterli değildir. Azospermi deyiminde periferic sperm iletilemediği seminal sıvıda sperm bulunmadığı bilgisi vardır. Azospermilerin birbirleriyle aynı muameleye tutulmaları bu yüzdendir. Azospermileri sınıflandırmak gibi bir çaba seminal plazmanın özelliğine bakarak yapılabilir. Oluştukları sebeblere bağlı olarak azospermilerde bir takım farklar olsa gerektir. Nitekim distile su ile dilüe edildiklerinde bazı semen numuneleri çok az bir bulanıklık oluşturdukları halde bazıları çok fazla bulanıklık göstermektedir. Spektrofotometre ile bulanıklık dereceleri karşılaştırıldığında % 73.5'inin absorbsansının 0.5'den küçük, % 26.5 'inin ise absorbsansı 0.5 den büyüktür (Tablo 1). Bu sonuca göre azospermiler düşük ve yüksek absorbsans gösteren olmak üzere ikiye ayırabiliriz. Bu farklılık etiyojiji farklılığından olabilir. Semiferöz tübüllerden, epididimisten, vesicula seminalisten, veya prostattan salgılanan protein yapısındaki bir maddeden ileri geliyor olabilir. Distile su ile dilüe edilerek dengesi bozulan seminal plazma proteinleri bulanıklık oluşturabilirler. Ancak bu husus ayrı ve detaylı bir araştırma mevzuudur. Çalışmalarda normospermik ve azospermik numunelerin protein miktarları arasında fark bulunmamıştır (6). Ancak bu azospermiler arasında protein miktarı yönünden fark yok demek değildir. Optik dansitesi yüksek olan serilerde normal semen numuneleri kadar protein bulunması bizce beklenen bir husustur. Düşük absorbsanslılarda ise düşük protein bulunabilir.

Sonuçta azospermileri distile su ile dilüe ederek 500 nm de verdikleri absorbsans değerine göre ikiye ayırabiliriz. Bu ayırım bizi azospermiyi oluşturan sebebe götürülebilir. Yüksek absorbsans değerini gösteren azospermilerle düşük absorbsans değerini gösteren spermelerde bu farklılığı oluşturan sebebin tesbiti etiyojiji aydınlatma yönünden önemlidir.

## CLASSIFICATION OF AZOSPERM

Cemal ÇEVİK

## SUMMARY

34 Azospermic semen samples has been diluted in distlle water at rate of 1/20. Their absorbcancy was measured with a spectrophotometre at 500 nm % 26.5 of these azospermic samples had an absorbcancy value over than 0.5, while % 73.5 of them had less than 0.5.

KAYNAKLAR

- 1— Whitfield, H.N., Hendry, W.F., Textbook of genitourinary surgery. Newyork, 1985
- 2— Lavin, N., Manual Endocrinology and metabolism, Toronto. 1986
- 3— Insler, V., Lunenfeld, B., Infertility, Newyork, 1986.
- 4— Hotchkiss, R, S. Fertility in men, Philadelphia, 1944
- 5— Howards, S, S., Lipshultz, L.(1987) Male infertility. The urologic clinics of North America, Vol. 14, No. 3, August, 1987
- 6— Ross, S.L. (1983). Diagnosis and treatment of infertile men. A clinical perspective. Journal of urology, Vol. 130, Nov, 1983
- 7— Baquier et al (1987). Epididimal antigen in human spermatozoa, Fertility and sterility, Vol. 47, No.2 February, 1987.

# KREZOLFTALEİN KOMPLEKSON YÖNTEMİ İLE SERUM KALSİYUM ÖLÇÜMÜ

Duran DEMİRCİ \*

Asuman DEMİRCİ \*\*

Cemal ÇEVİK \*\*\*

## ÖZET

1. Basit ve Kolay bir yöntem olan krezolftalein kompleksyon yöntemi ile serum kalsiyum seviyesi ölçüldü.
2. Krezolftalein kompleksyon yöntemi ölçüm sonuçları, standart bir yöntem olarak kabul edilen atomik absorpsiyon yöntemi ile karşılaştırıldı.
3. Alınan sonuçlara göre krezolftalein kompleksyon yönteminin laboratuvarlara uygulanabilirliğinin kolay olduğu, acil ihtiyaçlara anında cevap verebildiği, kan alma zorluğu çekilen hastalar ve özellikle pediatrik hastalar için oldukça elverişli olduğu görülmüştür.

## GİRİŞ

Günümüzde hastalıklara doğru tanı koyabilmek, hastalıkların ağırlığının kavrayabilmek ve tedavisinin gidişini kontrol altında tutabilmek için çeşitli biyokimyasal testlere gerek duyulur. Söz konusu testlerin doğru yapılması, alınan sonuçların güvenilir olması, hekim ve hasta açısından gerek şart değildir. Zira yapılan testi kısa zamanda sonuçlandırabilmek ve keza zaman kaybetmeden yerine ulaştırabilmekte önemli bir faktördür.

Kalsiyum ve bileşikleri tabiatta yaygın olarak bulunur. Keza canlı organizmaların yapısında önemli yer tutarlar. Bazı kaynaklara göre bu oran 1.0 ile 1.250 kg arasında değişmekte(1,2),diğer bazı kaynaklara göre de 1.0 Kg.dan 2 Kg.a kadar değiştiği ifade edilmektedir 3. Bu miktarı ile vücutta bulunan en büyük elementtir. Özellikle vücut içinde kemik ve dişlerde lokalize olmuş vaziyettedir. Bu oran % 98'lere ulaşmaktadır. Kalan % 2'lik kısmı ise 3 fraksiyon halinde bulunur. Bu fraksiyonlar içerisinde % 50'lik kısmı oluşturan "İyonize kalsiyum" fizyolojik aktiviteye sahiptir. Zira mevcut patolojik olayların sorumlusudur. Öyleki şahsın kalsiyum metabolizmasının fonksiyonel durumunu yansıtmakla kalmayıp, klinik durumu ile de iyi bir korelasyon gösterir(1, 4, 5, 6).Ancak iyonize kalsiyum ölçümü

\* Sami Ulus Çocuk Hastanesi Biyokimya Uzmanı

\*\* GATA Biyokimya A.B.D. Yrd.Doç.i.

\*\*\* Gevher Nesibe Sağ.Yük.Ok.Öğr.Gör. Dr.

zor olduğu kadar pratik yönden de uygun değildir. Bu sebeple total kalsiyum ölçümü yapılarak buradan iyonize kalsiyum hesaplanması cihetine gidilmiştir. Ancak bu hesaplamalar için kişinin sağlıklı olması gerekmektedir. Ayrıca şahsın total protein ve albümin değerlerinin de bilinmesine gereksinim duyulur. Ancak total protein-albümin değerlerinin yüksekliği veya düşüklüğü yanlış hesaplamalara neden olacağı için ölçümlerin çok sağlıklı yapılması gerekmektedir.

İşte bu düşünceden hareketle yaptığımız literatür taramalarında mevcut kalsiyum ölçüm yöntemleri incelendi. Bulunan yöntemlerin oldukça uzun ve zor yöntemler olduğu gözlemlendi. Ancak bu yöntemlerden bir tanesinin-krezolftalein kompleksyon yönteminin bir dakika gibi kısa bir zamanda sonuç verebileceği ve çok az serum örneği ile netice alınabileceği tesbit edildi. Bu durum acil gereksinimlere, pediatrik çalışmalara ve özellikle kan alma zorluğu çekilen ihtiyar - yatalak hastalar için elverişli olabileceği izlenimini verdi. Bu amaçla yaş ve cinsiyet farkı gözetmeksizin rastgele seçim yapılan 50 portörden kan alındı. Serumları ayrıldı. Krezolftalein kompleksyon yöntemi ile kalsiyum seviyeleri tesbit edildi. Yöntemin işlerliğini teyid etmek için standart bir ölçüm yöntemi ile (atomik absorpsiyon ölçüm yöntemi) serum kalsiyum seviyesi ikinci kez ölçüldü. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar birbiri ile kıyaslandı. Yöntemler arasında ( $r=0.76$ ) gibi iyi bir korelasyon gözlemlendi.

## GEREÇ ve YÖNTEM

1987 yılı Ekim-Kasım ayları içerisinde denek grubumuzu oluşturan 50 kişiden alınan kan örnekleri üzerinde serum kalsiyum ölçümü iki ayrı yöntemle çalışıldı. Her iki yöntemden alınan sonuçlar birbiri ile kıyaslandı. Bu amaçla yaş ve cinsiyet farkı gözetmeksizin denek grubumuzu oluşturan 50 kişiden bir gece açlığı takiben 5.şer ml. kan alındı. Kan alımında kullandığımız tüpler vakuteyner olup yalnız bu amaç için ilk kez kullanıldı. Mükerrer kan alımlarında kullanılmadı. Alınan kanların pıhtılaşması beklendikten sonra dekole edilip santrifüjlenerek serumları ayrıldı. Önceden numara verilmiş godelere serumlar pastör pipetleri ile aktarıldı. Godeler parafilmle kapatılarak, çalışma anına dek buzdolabında  $+4^{\circ}\text{C}$  de muhafaza edildi.

## YÖNTEM

1. Atomik Absorpsiyon Ölçüm Yöntemi :(7, 8, 9), Bu amaçla Perkin - Elmer Model 403 kullanıldı.
2. Krezolftalein Komplekson Yöntemi :(10, 11), Total Serum Kalsiyum ölçümünü esas alan yöntemde serbest kalsiyumlara ilaveten serumda mevcut bulunan

albümine bağlı kalsiyum asit yardımı ile serbestleştirilerek krezolftalein ile kompleks oluşturuldu. PH = 10.da renklendirilen kompleksin renk şiddeti spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Reaktifler :

- a) HCL . . . . . 0.8 mol/L.
- b) Krezolftalein Komplekson
- c) Aminometilpropanol (AMP); 1 mol/L.
- d) Kalsiyum standart çözeltisi (5 mEg/L – % 10 mg.)

Reaktiflerin yapımında kullanılan kimyasal maddeler Sigma Firması üretimidir. Sonuçlar Bocsh – Lomb 21 spektrofotometresinde okunmuştur.

### BULGULAR

Yöntem korelasyonuna yönelik 50 donörü kapsayan serum kalsiyum değerleri görülmektedir (Tablo 1).

TABLO–1 Serum kalsiyumunun 2 farklı yöntemle ölçülmesi

No.	Adı Soyadı	A.A. (%mg)	Manuel (Krezolftalein)	No.	Adı Soyadı	A.A.	Manuel (% mg)
1.	A.L.	9.6	9.4	26.	T.K.	9.3	9.0
2.	M.D.	8.3	7.9	27.	H.C.	8.9	8.5
3.	İ.K.	10.1	10.1	28.	H.H.	9.3	8.7
4.	A.B.	9.4	9.6	29.	M.D.	9.1	8.8
5.	Ş.Ş.	10.9	10.6	30.	H.S.	9.8	9.8
6.	R.Ş.	9.9	9.5	31.	K.Ö.	7.9	7.7
7.	R.Ö.	9.7	9.8	32.	N.N.	8.5	8.2
8.	N.K.	9.3	8.7	33.	M.C.	6.8	6.4
9.	E.K.	7.3	7.3	34.	M.L.	10.3	9.9
10.	H.D.	9.7	9.4	35.	H.Z.	9.8	9.3
11.	E.A.	8.8	8.8	36.	Ö.K.	9.8	9.9
12.	S.A.	9.4	9.7	37.	C.V.	7.6	7.6
13.	A.A.	9.2	8.8	38.	İ.B.	10.2	9.6
14.	A.N.	10.1	9.7	39.	Ç.A.	10.4	10.0
15.	B.Ö.	6.8	6.9	40.	S.V.	10.2	9.9
16.	K.D.	9.0	8.7	41.	H.S.	7.7	7.1
17.	K.A.	9.1	8.7	42.	Z.O.	8.6	8.4
18.	S.D.	9.6	9.6	43.	Ö.Ç.	9.7	9.2
19.	A.D.	9.9	9.8	44.	A.A.	9.9	9.4

TABLO-I (Devam)

No.	Adı Soyadı	A.A. (%mg)	Manuel (Krezolftalein)	No.	Adı Soyadı	A.A.	Manuel (% mg)
20.	M.B.	9.7	9.4	45.	M.D.	10.1	9.7
21.	E.M.	7.8	7.8	46.	A.K.	9.6	9.3
22.	E.Ş.	10.3	9.9	47.	B.C.	9.6	9.7
23.	M.Ö.	10.6	10.2	48.	K.K.	9.3	8.7
24.	M.S.	10.4	10.7	49.	A.Z.	10.7	10.7
25.	A.D.	9.7	9.5	50.	M.B.	10.3	10.2

Her iki yöntemle ayrı ayrı çalışan 50 serum örneğine ait kalsiyum değerlerinin istatistiksel bulguları görülmektedir (Tablo-II).

TABLO-II Atomik Absorpsiyon ve Manuel Krezolftalein Komplekson Yöntemi İle Yapılan Çalışmalara Ait Kalsiyum Değerleri

n = 50	Atomik Abs.Yön.	Manuel Yöntem	A	B
$\bar{X}$	9.360 $\mp$ 0.138	9.124 $\mp$ 0.140	0.236	
$\bar{X} \pm 1.S.D.$	9.360 $\mp$ 0.978	9.124 $\mp$ 0.990	0.236 $\pm$ 0.035	
$\bar{X} \pm 2.S.D.$	9.360 $\mp$ 1.956	9.124 $\mp$ 1.980	0.236 $\pm$ 0.070	
En düşük değer	% 6.800	% 6.400	%	0.400
En yüksek değer	% 10.900	% 10.700	%	0.200
% CV	% 1.47	% 1.53	P <	0.01

TABLO-III 31 Donörden Oluşan Norkokalsemik Olguya Ait Kalsiyum Ölçüm Değerlerinin Her İki Yönteme Göre Düzenlenmesi

n = 31	Atomik Abs.Yönt.(A)	Manuel Yöntem (B)	A	B
$\bar{X}$	9.958 $\pm$ 0.072	9.758 $\pm$ 0.075		0.200
$\bar{X} \pm 1.S.D.$	9.958 $\pm$ 0.398	9.758 $\pm$ 0.415		0.250
$\bar{X} \pm 2.S.D.$	9.958 $\pm$ 0.796	9.758 $\pm$ 0.830		0.500
En düşük değer	% 9.300 mg.	% 9.00 mg		%0.300
En yüksek değer	% 10.900	% 10.700 mg.		%0.200
% CV	% 0.72	% 0.76		P<0.01

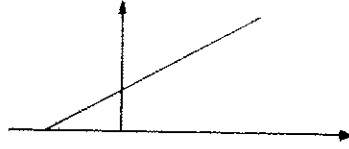
İki farklı yöntem arasındaki doğrusal ilişki  $r = 0.76$  olarak (Şekil-1)de gösterildiği gibidir.

$$r = 0.76$$

$$a = 3.79$$

$$b = 0.57$$

$$y = 3.79 + 0.57 X$$



Şekil-1 : İki yöntem arasındaki doğrusal ilişki.

Her iki yöntemle % 9 mg.ın üzerinde serum kalsiyumu ölçülen 31 donör normokalsemik olarak gösterilmiştir (Tablo - III).

% 9 mg. serum kalsiyumu ölçülen ve hipokalsemik olarak gruplandırılan 19 donörün istatistiksel değerleri (Tablo-IV) de dir.

TABLO-IV 19 Donörden Oluşan Hipokalsemik Olguya Ait Her İki Kalsiyum Ölçüm Değerleri

n = 19	Atom Abs. Yön. A	Manuel Yöntem B	A - B
$\bar{X}$	8.384 $\pm$ 0.195	8.089 $\pm$ 0.171	0.295
$\bar{X} \pm 1.S.D.$	8.384 $\pm$ 0.848	8.089 $\pm$ 0.747	0.295 $\pm$ 0.230
$\bar{X} \pm 2.S.D.$	8.384 $\pm$ 1.696	8.089 $\pm$ 1.554	0.295 $\pm$ 0.460
En düşük değer	% 6.800 mg.	% 6.400	% 0.400
En yüksek değer	% 9.300 mg.	% 8.800	% 0.500
% CV	% 2.32	% 2.11	P < 0.01

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Atomik absorpsiyon yöntemi ile ölçülen serum kalsiyum değerleri genelde manuel krezolftalein yöntemi değerlerine göre daha yüksek bulundu. Nitekim her iki yöntemin kalsiyum ortalama değerleri % 0.236 mg. atomik absorpsiyon yöntemi lehinde daha yüksek olduğu hesaplandı. Varyasyon katsayısı yönünden de atomik absorpsiyon yöntemi üstündür. Nitekim bizde durumun böyle olması gerek-

tiği inancındayız. Amacımız atomik absorpsiyona alternatif bir yöntem geliştirmek değildir, zira atomik absorpsiyonun hala standart bir yöntem olduğu yolundaki düşüncemizi korumaktayız. Ancak atomik absorpsiyon cihazlarının her hastane koşullarında bulunmadığı, bulunsa bile özel aperlere gereksinim göstermesi nedeniyle pahalı bir ölçüm yöntemi olduğu, acil ihtiyaçlara şayet alet hazır değilse en az 30 – 45 dakika sonra cevap verebileceği için uygun bir cihaz olmadığı inancındayız. Bu yüzden manuel krezolftalein kompleksyon yöntemi incelemeyi uygun bulduk. Nitekim alınan sonuçlar, gerek acil ölçümler için ve gerekse rutin uygulamalar için bu yöntemin uygun olacağı yolundadır.

Serum kalsiyum seviyesi % 9 mg.ın üzerinde bulunan 31 serumu normokalsemik olarak kabul edersek bu grupta her iki yöntem arasında farkın 0.200 mg. olduğu, varyasyon katsayılarının 0.72 ve 0.76 gibi birbirine çok yakın rakamlar olduğunu görmekteyiz. Öte yandan serum kalsiyum seviyesi % 9 mg.ın altında bulunan 19 denegi hipokalsemik olarak kabul edersek bu grupta iki yöntem arasındaki farkın 0.295 mg.a çıktığını varyasyon katsayılarının birbirine yakın ama değer olarak büyüdüğünü görmekteyiz.

Öte yandan iki yöntem arasındaki korelasyonun ( $r = 0.76$ ) olduğunu ve doğrusal ilişkinin lineer olduğunu görüyoruz.

Bütün bu veriler belkide yöntemin daha incelenmeye gerek olduğu yolunda bir fikir verebilir. Ancak yukarıda da belirtildiği gibi atomik absorpsiyon ile serum kalsiyum ölçümü;

- a) Her laboratuvarında atomik absorpsiyon cihazının bulunmaması, bulunsa bile özel ve pahalı aperlere gereksinim göstermesi,
- b) Bir dereceye kadar acil ihtiyaçlara cevap verememesi,
- c) 1 ml. gibi büyük hacim seruma ihtiyaç göstermesi özellikle çocuklar ve kan alma zorluğu çekilen hastalar için problem olabilir.
- d) Ölçüm esnasında dilusyona gereksinim göstermesi hataya neden olabileceği gibi zaman kaybına da neden olur. Ancak şunu hemen belirtelimki araştırma çalışmalarını için absorpsiyonun kullanılması kaçınılmazdır.

Buna karşılık krezolftalein kompleksyon yönteminin;

- a) 20 µl. gibi çok az serum örneğine ihtiyaç göstermesi özellikle pediatrik çalışmalar ve damar bulma zorluğu çekilen yatalak hastalar için elverişlidir.
- b) Bir dakika gibi kısa zamanda sonuç vermesi özellikle acil serum kalsiyumu ölçümü için elverişlidir.
- c) Dilusyona ihtiyaç göstermemektedir.
- d) Pahalı bir yöntem olmaması gibi avantajları mevcuttur.



## SERUM CALCIUM MEASUREMENT WITH CREZOLFTALEİN COMPLEXON METHOD

Duran DEMİRCİ

Asuman DEMİRCİ

Cemal ÇEVİK

### SUMMARY

1. Serum calcium concentration was measured with crezolftalein complexon method which is simple and easy.
2. The results of crezolftalein complexon method were compared with the results of Atomic Absorbtion method which is accepted as a standard method.
3. As a result, Crezolftalein Complexon method may be used in simple Laboratories, answer to emergency analisis at any moment and especially useful for pediatric patients because of veinpuncture is diffucult.

### KAYNAKLAR

1. Fraser, D., Jones, G., Kooh, W. and Radde, I.C.: Calcium and Phosphate Metabolism. Texbook of Clinical Chemistry. 1317 - 72, (1986).
2. Wills, E.D.: Plasma Calcium and phosphate: regulation by vitamin-D and parathyroid hormone. Biochemical Basis of medicine. 261-318 (1985).
3. Smith, E.L., Hill, R.L., Lehman, L.R., Lefkowitz, R.J., Mandler, P., White, A.: Bone and the Hormonal Control of Calcium and phosphate Metabolism: Parathroid Hormone, Calcitonin, Vitamin-D. Principles of Biochemistry. 7. Baskı. 441-45, (1983).
4. Crofell, J.A., and Bowers, G.N.: Apparent Blnding of Ionized calcium by Various Buffers. Clin.Chem. 31/2, 267-70, (1985).
5. Gray, C.H., Howorth, P.J.N. and Rinsler, M.G.: Calcium, phosphate and bone. Clin. Chem. Pathology, 113-37, (1985).
6. Tietz, N.W.: Blood Gases and Electrolytes. Fundamentals of Clinical Chemistry. 901-14, (1976).
7. Soner, G.: Aletli Analiz. H.Ü. Matbaası. Ankara, (1976).
8. Stevens, S.C.; White, W.L., Erickson, M.M.: Atomic absorpsion Spectroscopy. Chemistry for the clinical laboratory. 202-11. (1976).
9. White, W.L., Erickson, M.M. Stevens, S.C.: Electrolytes. Chemistry for the Clinical laboratory. 129-35, (1976).

10. Gültepe, M., Kurt, İ., Akman, Ş., Kutluay, T., Karaca, L.: *Biyokimya Dergisi*, Cilt: X, Sayı: 3, Şafak Matbaası Ankara (1985).
11. Moorehead, W., and Biggs, H.G.: 2-amino-2-methyl-1-propanol as the Alkalizing Agent in an Improved Lontinous-Flow Cresolphthalein Complexone Procedure for Calcium in serum. *Clin. Chem.* 20/11, 1458-60, (1974).

# SERUM KALSİYUM SEVİYESİNİN 3 FARKLI HASTA GRUBU ÜZERİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ

Asuman DEMİRCİ \*

Duran DEMİRCİ \*\*

Cemal ÇEVİK\*\*\*

## ÖZET

20 Diabetli, 30 nefritli ve 20 psikiyatrik hastadan oluşan 70 hasta serumu üzerinde kalsiyum, total protein-albümin, açlık kan şekeri değerleri ölçülerek, kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldı.

## GİRİŞ

Doğada yaygın olarak bulunuşu yanında canlı organizmaların yapısında da önemli yer tutan kalsiyum ve bileşiklerini serumda tesbit için çeşitli yöntemler mevcuttur. Biz krezolftalein komplekson yöntemi ile manuel serum kalsiyum seviyesini ölçtük(1, 2).

Bu amaçla öncelikle biyokimyasal ve mikrobiyolojik testlerle sağlıklı olduğu tesbit edilen 20 kişi kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu grubu teşkil eden kişilerden bir gece açlığı takiben 5. er ml. düz kan alındı. Serumları ayrıldıktan sonra kalsiyum, açlık kan şekeri (A.K.Ş.) total protein-albümin ve lityum değerleri ölçüldü.

Serum kalsiyum seviyesi düşük olması beklenen ve 30 hastadan oluşan nefritli grubumuzdan açlık kanı alınarak kontrol grubumuzda çalıştığımız parametreleri çalıştık. Zira bu gruptaki hastalarda serum fosfor düzeyi yüksektir. Bunun sonucu barsakta suda erimeyen  $Ca_3 (PO_4)_2$  tuzları oluşur. Bu çözünmeyen tuz oluşumu kalsiyumun yeterince emilmemesine neden olur.

İnsülin salımı ortamın kalsiyum konsantrasyonuna bağımlıdır. Zira insülin salınımı için kalsiyum gereklidir. Biz bu durumu göz önünde tutarak diabetik hastalardan bir grup oluşturarak kontrol grubumuzdaki aynı parametreleri inceledik.

Öte yandan hipokalsemik olgularda lityum kullanımı sonucu kalsiyumun insülin üzerine yaptığı insülinotropik etkiyi lityum yerine getirir. Bu sayede kalsiyum seviyesinde yükselme beklenir (3). Bu durum bize diabetik hastalar ve nefritler yanında incelenecek 3.üncü bir grubu oluşturdu.

\* Sami Ulus Çocuk Hast.Biyokimya Uzm.

\*\* GATA Biyokimya A.B.D.Yrd.Doç.İ

\*\*\* Gevher Nesibe Yük.Ok.Öğ.Gör. Dr.

Diabetik hastalarda ve özellikle juvenil diabette serum iyonize kalsiyum seviyesi normalin çok altında seyredir. Hele hele şahıs insülin tedavisinde ise kemik mineral metabolizması çok bozular. Bu diabetin ilk yıllarında diğer yıllara göre daha da fazladır. Ancak durum böyleyken bu hastalarda total kalsiyum, fosfor ve PTH normal düzeyde seyredir. Biz çalışmamızda ölçümünün zor olması sebebiyle iyonize kalsiyumu ölçemedik(4, 5, 6) ama total kalsiyum, total protein – albümin düzeylerini dikkatli bir şekilde ölçerek iyonize kalsiyumu hesaplama ci- hetine gittik.

### MATERYAL ve METOD

Çalışma 1987 yılı Ekim–Kasım ayları içerisinde yapıldı. Kontrol grubunu oluşturan kişiler çeşitli askeri birliklerde çaycılık, aşçılık ve posta hizmetlerini yürüten yaş ve cinsiyet benzerliği olan, aynı beslenme şartlarını taşıyan er ve erbaşılar- dan oluştu. Bu kişiler 3 ayda bir biyokimyasal ve mikrobiyolojik testlerden geçen sağlıklı kişilerdir.

Hasta gruplarını oluşturan nefritliler nefroloji kliniğinde, diabetikler dahiliye kliniğinde ve lityum kullanan psikiyatrik hastalar ise hastanemizin psikiyatri kli- niğinde yatmakta olan kişiler arasından seçildi.

### METODLAR

Lityum; Atomik Absorpsiyon cihazında ölçülürken (8–9), açlık kan şekeri Astra–4 (Beckman) cihazında glukoz oksidoz yöntemi ile değerlendirilmeye çalışıldı. Diğerleri ise manuel yöntemlerle Bosch–Lomb 21 spektrofotometresinde ölçüldü. Bu amaçla Kalsiyum; Krezolftalein Komplekson, (11–12) total prote- in(13); Büüret, Albümin; Brom Krezol purple yöntemleri ile ölçüldü.

### BULGULAR

20 kişiden oluşan kontrol grubumuzun biyokimyasal parametreleri (Tablo–1) de gösterilmiştir.

TABLO–1 : Kontrol Grubu

n = 20	Kalsiyum(% mg)	A.K.Ş.(% mg)	T.Protein (% gr)	Albümin (% gr)
$\bar{X}$	9.86 $\pm$ 0.857	78.00 $\pm$ 1.432	7.13 $\pm$ 0.100	4.31 $\pm$ 0.112
$\bar{X} \pm 1.S.D.$	9.86 $\pm$ 0.381	78.00 $\pm$ 6.407	7.13 $\pm$ 0.447	4.31 $\pm$ 0.504
$\bar{X} \pm 2.S.D.$	9.86 $\pm$ 0.762	78.00 $\pm$ 12.814	7.13 $\pm$ 0.894	4.31 $\pm$ 1.008
% $\pm$ CV	% 3.88	% 8.21	% 6.27	% 13.06

Lityum Ölçümleri sıfır bulunduğu için değerlendirilmemiştir.

Lityum tedavisi altında tutulan psikiyatrik hasta grubu (Tablo-II)de gösterilmektedir.

TABLO-II : Lityum Kullanan Psikiyatrik Hastalar

n = 20	Kalsiyum (% mg)	A.K.Ş. (% mg)	Lityum
$\bar{X}$	10.12 $\pm$ 0.11	86.95 $\pm$ 1.35	0.626
$\bar{X} \pm 1.S.D.$	10.12 $\pm$ 0.515	86.95 $\pm$ 6.039	0.626 $\pm$ 0.07
$\bar{X} \pm 2.S.D.$	10.12 $\pm$ 1.030	86.95 $\pm$ 12.078	0.626 $\pm$ 0.14
% CV	% 5.095	% 6.94	% 4.95

Diabetik hastalarımıza ait biyokimyasal veriler (Tablo-III)de gösterilmiştir.

TABLO-III : Diabetik Hastalar Grubu

n = 20	Kalsiyum (% mg)	A. K. Ş (% mg)
$\bar{X}$	9.920 $\pm$ 0.165	167.933 $\pm$ 12.790
$\bar{X} \pm 1.S.D.$	9.920 $\pm$ 0.641	167.933 $\pm$ 49.538
$\bar{X} \pm 2.S.D.$	9.920 $\pm$ 1.281	167.933 $\pm$ 99.078
% CV	% 6.46	% 29.49

Nefritli hastalardan oluşan 3 hasta grubumuz (Tablo-IV)de dir.

TABLO-IV : Böbrek Yetmezlikli Hastalar

n = 30	Kalsiyum	Total Protein	Albümin
$\bar{X} \pm$	8.856 $\pm$ 0.201	6.096 $\pm$ 0.145	3.630 $\pm$ 0.104
$\bar{X} \pm 1.S.D.$	8.856 $\pm$ 1.104	6.096 $\pm$ 0.796	3.630 $\pm$ 0.570
$\bar{X} \pm 2.S.D.$	8.856 $\pm$ 2.208	6.096 $\pm$ 1.592	3.630 $\pm$ 1.040
% CV	% 12.46	% 13.06	% 15.7

Kontrol grubumuzun serum kalsiyum değerleri ortalaması ile 3 hasta grubu serum kalsiyum değerleri karşılaştırılmaları (Tablo-V)de dir.

TABLO-V : Kalsiyum Yönünden Değerlendirme

Ca <sup>++</sup>	Kontrol G. n = 20	Böbrek Hst. n = 30	Lityum Kul. n = 20	Diabetik n = 20
Kontrol Grubu $\bar{X} = 9.86 \pm 0.085$	—	P > 0.01	P < 0.01	P < 0.01
Böbrek hastaları $\bar{X} = 8.85 \pm 0.20$	P > 0.01	—	P > 0.01	P > 0.01
Lityum kul.hastalar $\bar{X} = 10.12 \pm 0.11$	P < 0.01	P > 0.01	—	P > 0.01
Şeker hastaları $\bar{X} = 9.92 \pm 0.16$	P < 0.01	P > 0.01	P > 0.01	—

Kontrol grubumuzun Açlık Kan Şekeri (A.K.Ş.) değeri ile Diabetik ve Psikiyatrik grubun A.K.Ş. değerleri karşılaştırılmaları (Tablo-VI)da dir.

TABLO-VI : Açlık Kan Şekeri Yönünden Değerlendirme

A.K.Ş.	Kontrol Grubu	Diabetik Hastalar	Lityum Kullanan Hastalar
Kontrol Grubu $\bar{X} = 78.00 \pm 1.43$	—	P > 0.01	P < 0.01
Lityum Kullanan Grup $\bar{X} = 86.95 \pm 1.35$	P < 0.01	P > 0.01	—
Diabetik Grup	P > 0.01	—	P < 0.01

TABLO-VII : Total Protein Yönünden Değerlendirme

Total Protein	Kontrol Grubu	Böbrek Yetmezlikli Grup
Kontrol Grubu		
$\bar{X} = 7.13 \pm 0.1$	—	P > 0.01
Böbrek Yetmezlikli Grup		
$\bar{X} = 6.096 \pm 0.145$	P > 0.01	—

TABLO-VIII : Albümin Yönünden Değerlendirme

Albümin	Kontrol Grubu	Böbrek Yetmezlikli Grup
Kontrol Grubu		
$\bar{X} = 4.31 \pm 0.112$	—	P > 0.01
Böbrek Yetmezlikli Grup		
$\bar{X} = 3.630 \pm 0.104$	P > 0.01	—

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Öncelikle sağlam olduğu çeşitli biyokimyasal ve mikrobiyolojik testlerle açıklığa kavuşmuş, yaş ortalaması 21 olan 20 erkekten oluşan bir kontrol grubu teşkil ettik. Kontrol grubumuzla, 3 değişik hasta grubumuz arasında çeşitli parametreleri tartışabilmek amacı ile serum kalsiyum seviyesi yanında serum lityum, total protein-albümin ve açlık kan şekeri değerlerini de ölçmeyi ihmal etmedik.

Bu amaçla;

a- Kontrol grubumuzun serum kalsiyum değerleri ortalaması ile lityum tedavisine tabi tutulan psikiyatrik ve diabetik hastalarımıza ait serum kalsiyum değerlerini istatistiksel yönden karşılaştırdık. Farkın önemli olduğunu ( $P < 0.01$ ) (Tablo-V) gördük. Buna karşılık nefritli grubun serum kalsiyum değerleri ile önemli bir farkın olmadığını ( $P > 0.01$ ) müşahade ettik. Normalde nefritli grupta serum kalsiyum seviyesini düşük bekliyorduk. Nitekim çalıştığımız 4 grup içerisinde en düşük değeri bu grupta bulduk. Ancak istatistiksel yönden bir anlam ifade etmediğini gördük.

b- İkinci çalışma parametremiz ise kontrol grubu açlık kan şekeri değerleri ile hasta grupları açlık kan şekeri değerinin mukayesesidir. Psikiyatrik hastaların şeker değerleri kontrol grubumuza göre anlamlı iken ( $P < 0.01$ ), diabetik grubun değerlerinin anlamsız oluşu ( $P > 0.01$ ) dikkatimizi çekti. Bu durumun dia-

betik grubun kontrol altında tutulması ve insülin tedavisi altında oluşlarından kaynaklandığı izlenimini verdi.

c— Total protein—albümin yönünden karşılaştırmamıza gelince anlamlı olmasına beklediğimiz nefritli grubun kontrol grubuna göre anlamsız olduğunu ( $P > 0.01$ ) görüyoruz.

Bu durum mevcut yöntemlerin fazla duyarlı olmamasından ileri geldiği gibi hastalarımızın kronikleşmeye meyletmiş olmalarından da kaynaklanmış olabileceği intibamı verdi.

d— Lityum yönünden mukayese yapma imkanı elde edemedik. Zira Lityum tedavisinde bulunan hastalarımızın serum lityum değerleri ile mukayese yapacak bir grup bulamadık. Sebebidе serum lityum seviyesini ölçmek istediğimiz 2 hasta ve bir kontrol grubunun serum lityum seviyelerini ölçülemiyecek derece az olmalıdır.

e— Klinik biyokimya analizlerinde varyasyon katsayısının özellikle % 5'den küçük olması istenirken % 10'dan fazla olmamasına da özellikle dikkat edilir. Buna göre yukarıda istatistiksel yönden anlamsız bulduğumuz değerleri bu açıdan ele alırsak olumsuzluk açıkca göze çarpar. Şöyleki ;

1. Kontrol Grubu	: Kalsiyum için V.K.	: % 3.88
Nefritli Grup	: Kalsiyum için V.K.	: % 12.46
2. Kontrol Grubu	: Açlık Kan Şekeri V.K.	: % 8.21
Diabetik Grup	: Açlık Kan Şekeri V.K.	: % 29.43
3. Kontrol Grubu	: Albümin V.K.	: % 3.06
Nefrit Grubu	: Albümin V.K.	: % 15.7'dir.

f— Her ne kadar izlenen grup sayısı rakam yönünden azsada elde edilen sonuçların bu konularda fikir edinilmesi yanında yeni çalışmalara ışık tutması açısından başarılı olacağı umudunu taşımaktayız.

## EVALUATION OF SERUM—CALCIUM LEVEL ON THREE DIFFERENT PATIENT—GROUPS

Asuman DEMİRCİ

Ceval ÇEVİK

Duran DEMİRCİ

### SUMMARY

Calcium, total protein, albumin and foshing glucose concentrations were measured in total 70 patient (20 Diabetic, 30 Nephritis and 20 psychiatric). Results were compared with the control group.



## KAYNAKLAR

1. Animo, J.S.: Calcium, Phosphorus, and Magnesium. Clin. Chem. Principles and procedures. 195-206, (1964).
2. Ateş, S., Yıldırım, C.: Fizyopatoloji. Tem Yayınevi. İstanbul, (1980).
3. Sözen, T.: İnsanlarda lityumun insülin salınımı ve Glukoz Toleransı Üzerine Etkisi. Bu etkide kalsiyumun rolü. Doğa Bilim Dergisi. C:8. 385-96, (1984).
4. Bowers, G.N., Brassard, C., Sena, S.F.: Measurement of Ionized Calcium in Serum with Ionselective Electrodes. Clin. Chem. 32/8, 1437-47, (1986).
5. Crowell, J.A., and Bowers, G.N.: Apparent Binding of Ionized Calcium by Various Buffers. Clin. Chem. 31/2, 267-70, (1985).
6. Devlin, T.M.: Hormone Regulation of Calcium. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. 665-70, (1982).
7. Makino, T.: K, Ca, Mg and Zn in platelets, as Determined by Atomik Absorption Spectrometry with Use of a Sealed Decomposition Bomb and Discrete Nebulization. Clin. Chem. 31/4, 609-612, (1985).
8. Somer, G.: Aletli Analiz. H.Ü. Matbaası. Ankara, (1976).
9. Stevens, S.C., White, W.L., Erickson, M.M.: Atomic absorption spectroscopy. Chemistry for the clinical laboratory. 202-11, (1976).
10. Nixon, D.E., Moyer, T.P., Johnson, P., Mc Call, J.T., Ness, A.B., Fjersstad, W.H., and Wehde, M.B.: Routine Measurement of Calcium, Magnesium, Cepper, Zinc, an Iron in urine and Serum by Inductively Coupled Plasma Emision Spectroscopy. Clin. Chem. 32/9, 1660-65, (1986).
11. Gültepe, M., Kurt, İ., Akman, Ş., Kutluay, T., Karaca.: Biyokimya Dergisi, Cilt: X, Sayı: 3, Şafak Matbaası. Ankara, (1985).
12. Moorehead, W., and Biggs, H.G.: 2-Amino-2-methyl-1-propanol as the Alkazing Agent in an Improved Continuous-Flow Creselphthalein Complexone Procedure for Calcium in Serum. Clin. Chem. 20/11, 1458-60, (1974).
13. Tietz, N.W.: General Clinical Tests. Clinical Guide to Laboratory Tests. 90-94, (1983).

