



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 64 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2007





T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

ISSN 0377-9777

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 64 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2007

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

Sahibi

Refik Saydam Hifzıssıhha Merkezi Başkanlığı adına
Başkan Doç. Dr. Mustafa ERTEK

EDİTÖR

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN

THDBD YAYIN KURULU

EDİTÖR YARDIMCILARI

Canan BAYAR
Selçuk KILIÇ

YAYIN KURULU

Sühendan ADIGÜZEL
Alper AKÇALI
Cahit BABÜR
Bekir ÇELEBİ
Arşun ESMER
Sibel KARACA
Nesrin KARACA
Nilgün OTO GEÇİM
Ayşe PEKER ÖZKAN
Saime ŞAHİNÖZ
Serpil TURHAN
Pınar ÜNAL

TEKNİK KURUL

Murad BAYRAM
Murat DUMAN
Hüseyin GÖL
Zeynep KÖSEOĞLU

ER YAYIN KURULU

EDİTÖR

Ayşegül GÖZALAN

EDİTÖR YARDIMCILARI

Demet KURTOĞLU
Figen SEZEN SEVİMLİ

ER SEKRETERİ

Hülya ÇETİNKAYA

REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI
REFİK SAYDAM NATIONAL HYGIENE PRESIDENCY

ANKARA - TÜRKİYE

Senede üç defa çıkar

The bulletin is issued three times a year

YAYINEVİ

RNA
RESEARCH & NEOMEDIA ACADEMY

Grafik Tasarım
RNA Multimedia
Özlem KAYMAZ

İletişim
Aşağı Öveçler M.
103. S. 10/10
Çankaya/ANKARA
Tel: 0312 482 82 66 (pbx)
Faks: 0312 482 76 29
e-posta: info@masaglik.com.tr

Baskı ve Cilt
Impress Baskı Tesisleri/
ANKARA
Tel: 0312 397 91 40
Faks: 0312 397 41 52
www.impress.com.tr

Yayın Türü
Yerel Süreli Yayın

Basım Tarihi
22/09/2007

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

YAZI İNCELEME KURULU/EDITORIAL BOARD

- Adem KILIÇ, Gebze YTE, Kocaeli
Adil ALLAHVERDİYEV, Yıldız Tek. Üniv., Kimya Fak.,
İstanbul
Ahmet KART, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara
Aşkın YAŞAR, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara
Ayhan FİLAZİ, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara
Aykut ÖZKUL, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara
Ayşen GÜNEL ÖZCAN, Kırıkkale Üniv., Tıp Fak., Kırıkkale
Aziz SANCAR, Univ. North Carolina, Dep Bipchem &
Biophysics, USA
Bahadır GÖNENÇ, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara
Banu ÇAKIR, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara
Berrin ESEN, RSHM, Ankara
Bülent ALTEN, Hacettepe Üniv., Fen Fak., Ankara
Celal GÖKÇAY, ODTÜ, Çevre Müh., Ankara
Cemal ÇEVİK, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara
Cumhur ÇÖKMÜŞ, Ankara Üniv., Fen Fak., Ankara
Çağatay GÜLER, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara
Delia Teresa SPONZA, Dokuz Eylül Üniv., Çevre Müh.,
İzmir
Diler ASLAN, Pamukkale Üniv., Tıp Fak., Denizli
Doğan YÜCEL, Ankara Eğ. & Arş. Hast., Ankara
Dürdal US, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara
Dwight D. BOWMAN, Cornell Univ., USA
Ender YARSA, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara
Fatih KÖKSAL, Çukurova Üniv., Tıp Fak., Adana
Gönül ŞAHİN, Hacettepe Üniv., Eczacılık Fak, Ankara
Hakan LEBLEBİCİOĞLU, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak.,
Samsun
Haluk VAHABOĞLU, Kocaeli Üniv., Tıp Fak., Kocaeli
Hasan AYÇİÇEK, GATA
Hürrem BODUR, Numune Eğ. & Arş. Hast., Ankara
Işıl MARAL, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara
İrfan EROL, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara
Kosta Y. MUMCUOĞLU, Hebrew Univ., Israel
Levent AKIN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara
M.Koray SAKAR, Hacettepe Üniv., Eczacılık Fak., Ankara
Mahinur AKKAYA, ODTÜ, Kimya Müh., Ankara
Mehmet Ali ONUR, Hacettepe Üniv. Fen Fak., Ankara
Metin KORKMAZ, Ege Üniv., Tıp Fak., İzmir
Murat GÜLMEZ, Kafkas Üniv., Vet. Fak., Kars
Murat GÜNAYDIN, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun
Murat ÖZSAN, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara
Mustafa KAVUTÇU, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara
Mükerrem KAYA, Atatürk Üniv., Ziraat Fak., Erzurum
Nazmi ÖZER, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara
Nejat AYDIN, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara
Nur Münevver PINAR, Ankara Üniv., Fen Fak., Ankara
Oğuz GÜRSOY, Ege Üniv., Gıda Müh., İzmir
Orhan YILMAZ, KBB, Dışkapı Eğ. & Arş. Hast., Ankara
Osman GÜNAY, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri
Pinar OKYAY, Adnan Menderes Üniv., Tıp Fak., Aydın
Rahmet ÇAYLAN, Atatürk Eğ. & Arş. Hast., Ankara
Recep AKDUR, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara
Recep ÖZTÜRK, İstanbul Üniv., Cerrahpaşa Tıp Fak., İstanbul
Rıza DURMAZ, İnönü Üniv., Tıp Fak., Malatya
S. Aykut AYTAÇ, Hacettepe Üniv. Gıda Müh., Ankara
Sami AYDOĞAN, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri
Sema BURGAZ, Gazi Üniv., Eczacılık Fak, Ankara
Sercan ULUSOY, Ege Üniv., Tıp Fak, İzmir
Sıraç DİLBER, Karolinska Univ., Medical School, Sweden
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Celal Bayar Üniv., Tıp Fak, Manisa
Takashi AKAMATSU, Prof. Emeritus, Japan
Tevfik PINAR, Kırıkkale Üniv., Tıp Fak, Kırıkkale
Yesim ÖZBAŞ, Hacettepe Üniv. Gıda Müh., Ankara
Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara
Yeşim TUNÇOK, Dokuz Eylül Üniv., Tıp Fak., İzmir
Zafer KARAER, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Bu sayıdaki makalelerin incelenmesinde emeği geçen diğer kurul üyeleri

- Canan BAYAR, RSHM, Ankara
E. Pelin KELİCEN, Hacettepe Üniv, Eczacılık Fak, Ankara
Gönül DÖNMEZ, Ankara Üniv, Fen Fak, Ankara
Işık YILMAZ, RSHM, Ankara
Nuriye ÜNAL, RSHM, Ankara
Selçuk KILIÇ, RSHM, Ankara
Zati VATANSEVER, Ankara Üniv, Veteriner Fak, Ankara

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayınlanmak üzere gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallar aranır:

1- Başlık sayfasında makale başlığı, İngilizce başlık, kısa başlık, yazar adları, çalıştığı kurumlara ait birimler, yazışma işini üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:

- Yazının başlığı kısa olmalı ve büyük harfle yazılmalıdır.
- Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
- Akademik unvan kullanılmadan meslek unvanı belirtilebilir.
- Makale birden fazla yazar tarafından yazılmış ise, aynı üniteye çalışan yazarların soyadları sonuna aynı miktarda yıldız konur.
- Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot olarak belirtilmelidir.
- Makale, kongre/sempozyumda sunulmuşsa mutlaka sunum türü ile birlikte belirtilmelidir.

2-Yazılardaki terimler mümkün olduğunca Türkçe ve Latince olmalı, dilimize yerleşmiş kelimelere yer verilmeli ve Türk Dil Kurumu'nun güncel sözlüğü kullanılmalıdır. Öz Türkçe'ye özen gösterilmeli ve Türkçe kaynak kullanımına önem verilmelidir.

3-Metin içinde geçen Latince mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımda kısaltılarak verilmelidir. Mikroorganizmaların orijinal Latince isimleri italik yazılmalıdır: *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* gibi. Yazıda sadece cins adı geçen cümlelerde stafilokok, streptokok gibi dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir. Antibiyotik isimleri dil bütünlüğü açısından okunduğu gibi yazılmalıdır. Antibiyotik isimleri uluslararası standartlara uygun olarak kısaltılmalıdır.

4-Yazılar bir zorunluluk olmadıkça "miş'li geçmiş" zaman edilgen kip ile yazılmalıdır.

5-A4 kağıtların yalnız bir yüzü kullanılmalı, kenarlardan 3'er cm boşluk bırakılmalıdır. 12 punto Times New Roman yazı karakteri kullanılmalı, 2 satır aralığı (double space) bulunmalıdır.

6-Metinlerin tamamı 3,5" diskete veya CD'ye kopyalanmış olarak ve basılmış üç nüsha ile bir zarf içinde gönderilmelidir. İliştirilen bir üst yazıda metnin tüm yazarlarca okunduğu ve onaylandığı, yazıların yayına kabul edilmesi halinde telif hakkının dergiyeye devredileceği belirtilmelidir.

7-Yayımlanmış gereçleri yeniden basmak veya deney konusu olan insanların fotoğraflarını kullanmak için alınan izinler, insanlar üzerinde ilaç kullanarak yapılan klinik araştırmalarda ilgili "Kurum Etik Kurul Onayı" ve gönüllülerden yazılı bilgilendirme ile olur alındığına dair belgeler birlikte gönderilmelidir.

8-Makale yazımında dikkat edilecek hususlar şunlardır:

a) **Araştırma yazıları;** Türkçe Özet, İngilizce Özet, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular,

Tartışma ve Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır. Bu bölümler, sola yaslanacak şekilde büyük harflerle kalın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde Türkçe Başlık ve Özet bulunmalıdır.

Türkçe Özet: Amaç, Yöntem, Bulgular ve Tartışma alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 100, en fazla 250 sözcük içermelidir.

İngilizce Özet (Abstract): Başlığı İngilizce olmalıdır. Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde yapılandırılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Türkçe ve İngilizce Özetlerin altında verilmelidir. Anahtar kelime sayısı 3-8 arasında olmalı ve Index Medicus Medical Subject Headings'de (MeSH) yer alan sözcükler kullanılmalıdır.

Giriş: Araştırmanın amacı, benzer çalışmalarla ilgili literatür bilgisi kısaca sunulmalı ve iki sayfayı aşmamalıdır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmanın gerçekleştirildiği kuruluş ve tarih belirtilmeli, araştırmada kullanılan araç, gereç ve yöntem açıkça sunulmalıdır.

Bulgular: Sadece elde edilen bulgular açık bir şekilde belirtilmelidir.

Tartışma: Bu bölümde, araştırmanın sonunda elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılmalıdır. Araştırmacı, kendi yorumlarını bu bölümde aktarmalıdır.

Teşekkür Bölümü: Gerekli görülüyorsa Kaynaklar bölümünden hemen önce belirtilmelidir.

Kaynaklar: Metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımları mutlaka aşağıdaki örneklerle uygun olmalıdır:

Kaynak bir dergi ise: Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i (altı veya daha az yazar varsa hepsi yazılmalıdır; yazar sayısı yedi veya daha çoksa yalnız ilk üçünü yazıp et al. "ve arkadaşları" eklenmelidir) Makalenin başlığı, Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi, Yıl; Cilt (Sayı): İlk ve son sayfa numarası.

Standart Dergi makalesi için örnek: Demirci M, Ünlü M, Şahin Ü. A Case of Hydatid Lung Cyst Diagnosed by Kinyoun Staining of Bronco-Alveolar Fluid. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2001; 25 (3): 234-5.

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

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

Kaynak bir kitap ise: Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i. Kitabın Adı. Kaçınıcı basım olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

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

Kaynak kitabın bir bölümü ise: Bölüm yazar(lar)ın Soyadı Adının başharf(ler)i. Bölüm başlığı. In: Editör(ler)in Soyadı Adının başharf(ler)i ed/eds. Kitabın Adı. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı: Bölümün ilk ve son sayfa numarası.

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

Kaynak bir web adresi ise: Web adresi, bilgiye ulaşılan tarih belirtilmelidir.

Şekil ve Tablolar: Her tablo (şekil, grafik, fotoğraf) ayrı bir sayfaya basılmalı, alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara sütun çizgileri içermelidir. Tablolar, "Tablo 1." şeklinde numaralandırılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır. Açıklayıcı bilgiye başlıkta değil dipnotta yer verilmeli, uygun simgeler (*, +, ++, v.b.) kullanılmalıdır. Fotoğraflar "jpeg" formatında olmalıdır. Baskı kalitesinin artırılması için gerekli olduğu durumlarda fotoğrafların orijinal halleri talep edilebilir. Maksimum 127x173 mm ebadında, kaliteli, parlak kağıda basılmış olan fotoğrafların arkasına makale başlığı ve şekil numarası yazılıp ayrı bir zarf içinde yazıya eklenmelidir.

b) Derleme türü yazılarda yazar sayısı ikiden fazla olmamalı ve yazar daha önce bu konuda çalışma ve yayın yapmış olmalıdır. Derlemelerde İngilizce özet, İngilizce ve Türkçe anahtar sözcükler bulunmalıdır.

c) Olgu sunumlarında Türkçe ve İngilizce başlık ve özet, anahtar sözcükler yer almalı, giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır. Olgu sunumlarında metin yedi sayfayı, kaynak sayısı 20'yi aşmamalıdır.

d) Daha önce yayımlanmış yazılara eleştiri getirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin iletilmesi amacıyla yazılan yazılar, Yayıncı Kurulu'nun inceleme ve değerlendirmesinin ardından "Editöre Mektup" bölümünde yayımlanır. Bu yazıların bir sayfayı aşmaması ve en fazla beş kaynakla desteklenmesi gerekmektedir.

9- Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

10- Yazılar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

11- Yazılar aşağıdaki adrese gönderilmeli veya elden teslim edilmelidir.

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

YAYIN İLKELERİ

1) Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı yayın organıdır.

2) Dergide Mikrobiyoloji, İmmünoloji, Farmakoloji, Toksikoloji, Parazitoloji, Entomoloji, Biyokimya, Gıda Güvenliği, Çevre Sağlığı, Halk Sağlığı, Epidemiyoloji, Patoloji, Fizyopatoloji, Moleküler Biyoloji ve Genetik ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu ve derleme türündeki makaleler yayımlanır.

3) Dergi dört ayda bir çıkar ve üç sayıda bir cilt tamamlanır.

4) Dergide, daha önce başka yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan makaleler yayımlanır.

5) Dergi Yayın Kurulu ve Bilimsel Danışma Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili üç Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden ikisinin olumlu görüşü alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.

6) Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir.

7) Dergide yayınlanan yazıların yayın hakkı Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

YAZAR İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

- Makalenin yayınlanması ile ilgili dilekçe yazıldı.
- Bütün yazarlarca isim sırasına göre imzalanmış telif hakkı devir formu eksiksiz olarak dolduruldu.
- Özetler, tablolar, kaynaklar vb. dahil olmak üzere metnin tamamı çift aralıklı yazıldı.
- 12 punto ya da 3 mm boyutunda Times New Roman karakteri ile yazıldı.
- Metin sayfanın yalnız bir yüzüne yazılarak her bir kenardan 3 er cm boşluk bırakıldı.
- Yazar isimleri açık olarak yazıldı.
- Her yazarın bağlı bulunduğu kurum adı, yazar adının yanına numara verilerek başlık sayfasında belirtildi.
- Yazışmalardan sorumlu yazarın adı, adresi, telefon-faks numaraları ve e-posta adresi verildi.
- Türkçe ve İngilizce başlıklar ile kısa başlık yazıldı.
- Türkçe ve İngilizce özetlerin kelime sayısı (<250) kontrol edildi.
- Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler (Mesh'e uygun) verildi.
- Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standart olmayan kısaltmalar düzeltildi.
- Metin içinde geçen orijinal Latince mikroorganizma isimleri italik olarak yazıldı.

- Tablolar yazım kurallarına uygun olarak ve her biri ayrı bir sayfada verildi.
- Kimyasal formüller ve grafikler (siyah-beyaz / pattern) yazım kurallarına uygun olarak ve her biri ayrı bir sayfada olacak şekilde hazırlandı.
- Fotoğraf boyutları maksimum 127x173 mm olup, arkasına makale başlığı ve şekil numaraları yazıldı.
- Kaynaklar cümle sonlarında parantez içinde ve metin içinde kullanım sırasına göre ardışık sıralandı.
- Kaynaklar, makale sonunda metin içinde verildiği sırada listelendi.
- Kaynaklar gözden geçirildi ve tüm yazar adları, ifade ve noktalama yazım kurallarına uygun hale getirildi.
- Makale üç kopya olacak şekilde hazırlandı ve disket / CD'ye kopyalandı.
- Ayrıca aşağıda belirtilen maddeleri dikkate alınız:
 - * Etik kurul onayı alındı.
 - * Bilimsel kuruluş ve/veya fon desteği belirtildi.
 - * Kongre/Sempozyumda sunumu ve sunum türü belirtildi.

YAZARLARIN DİKKATİNE

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi' nin yeniden yapılanması nedeniyle, 2007 yılından itibaren geçerli olmak üzere bazı değişiklikler yapılmıştır. Yazarlarımız için "telif hakkı devir formu" örneği derginin arka sayfasında sunulmuştur. Yazarlarımızın 2007 yılından itibaren makale gönderirken "yeni yazım kuralları ve yayın ilkelerine" göre yazılarını hazırlamaları son derece önemlidir. Her türlü soru, öneri ve şikayetleriniz için Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi İletişim ve Halkla İlişkiler Koordinatörleri ile irtibata geçebilirsiniz ve bilgi alabilirsiniz.

İLETİŞİM

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Cemal Gürsel Caddesi No: 18
06100 Sıhhiye/ANKARA

Tel: +90 0312 458 23 64

Faks: +90 0312 458 24 08

e-posta: turkhijyen@rshm.gov.tr

<http://www.rshm.gov.tr>

İÇİNDEKİLER

■ Editöre Mektup

1. **Atatürk ve Türk Bilim Dili** 1-5
Oktay SİNANOĞLU

■ Araştırma Makalesi

2. **Gastroduedonal Yakınması Olan Hastalarda Stool-Antijen ELISA Yöntemiyle *Helicobacter pylori* Pozitifliğinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi** 6-10
Mehmet Cihan EKMEK, Ali Serkan HEPSERT, Kerametdin YANIK, İbrahim Çağatay ACUNER, Murat GÜNAYDIN, Murat HÖKELEK
3. **İdrar Örneklerinden İzole Edilen *Escherichia coli* İzolatlarında Oral Antibiyotiklere Karşı Direncin Araştırılması** 11-15
Birgül KAÇMAZ, Altan AKSOY, Nedim SULTAN
4. **Hatay İlinde Risk Gruplarında Q Ateşi, Bruselloz ve Toksoplazmoz Seroprevalansının Araştırılması** 16-21
Selçuk KILIÇ, Özkan ASLANTAŞ, Bekir ÇELEBİ, Dilek PINAR, Cahit BABÜR
5. **Fenkonun Letal Doz Düzeyleri İle Antienflamatuvar Aktivitesinin Araştırılması** 22-25
Hanefi ÖZBEK
6. **İhracata Yönelik Hazırlanan Bazı Deniz Ürünlerinin Mikrobiyal Özellikleri** 26-30
Reyhan İRKİN, Mihriban KORUKLUOĞLU, Hakan TAVŞANLI
7. **Kronik Venöz Ülserli Bir Olgunun Maggot Debridman Tedavisi İle Sağaltımı** 31-34
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Kosta Yani MUMCUOĞLU

■ Derleme

8. **Gen Tedavisi ve Biyogüvenlik** 35-50
Ayşen GÜNEL ÖZCAN
9. **Akreplerin Biyolojisi** 51-60
Özcan ÖZKAN, K. Zafer KARAER
10. **Vektör Mücadelesinde Biyopestisitler** 61-70
Ender YARSAN, Alparslan ÇEVİK

■ Tarihi Makale

11. **1936 Yılında Trakya'da Tüla remiye Ait Yapılan Epidemiyolojik ve Bakteriyolojik Araştırmalar** 71-75
Emil GOTSCHLICH, Tahsin BERKİN

CONTENTS

Letter to Editor

1. **Atatürk and Turkish as Scientific Language** 1-5
Oktay SİNANOĞLU

Original Article

2. **Retrospective Evaluation of *Helicobacter pylori* Prevalence by the Stool-antigen ELISA Method in the Patients with Gastroduodenal Complaints** 6-10
Mehmet Cihan EKMEŒ, Ali Serkan HEPSEŒT, Keramettin YANIK, İbrahim aęatay ACUNER, Murat GÜNAYDIN, Murat HÖKELEK
3. **The Investigation of Resistance to Oral Antibiotics in *Escherichia coli* Isolates Obtained from Urine** 11-15
Birgöl KAÇMAZ, Altan AKSOY, Nedim SULTAN
4. **Investigation of Seroprevalences of Q Fever, Brucellosis and Toxoplasmosis in Risk Groups in Hatay** 16-21
Selçuk KILIÇ, Özkan ASLANTAŞ, Bekir ÇELEBİ, Dilek PINAR, Cahit BABÜR
5. **Investigation of Lethal Dose Levels and anti Inflammatory Effect of Fenchone** 22-25
Hanefi ÖZBEK
6. **Microbial Properties of Some Sea Products Intended for Export** 26-30
Reyhan İRKİN, Mihriban KORUKLUOĞLU, Hakan TAVŞANLI
7. **Maggot Debridement Therapy for the Treatment of a Venous Stasis Ulcer** 31-34
Ayşegöl TAYLAN ÖZKAN, Kosta Yani MUMCUOĞLU

Review

8. **Gene Therapy and Biosafety** 35-50
Ayşen GÜNEL ÖZCAN
9. **The Biology of Scorpions** 51-60
Özcan ÖZKAN, K. Zafer KARAER
10. **Biopesticides for Vector Control** 61-70
Ender YARSAN, Alparslan ÇEVİK

Landmark Article

11. **Epidemiological and bacteriological research on tularemia in Trakya Region in 1936** 71-75
Emil GOTSCHLICH, Tahsin BERKİN

ATATÜRK VE TÜRK BİLİM DİLİ*

Atatürk and Turkish as Scientific Language

Prof. Dr. Oktay SİNANOĞLU

İletişim:
Oktay SİNANOĞLU
E-posta:
osinanoglu@yahoo.com

**Bye bye Türkçe
kitabından alınmıştır.*

Atatürk'ün Son Sözü

Atatürk ölüm döşeğindeydi, üç gün komada kalmıştı. Kendine geldi, son nefesinde, “Arkadaşlara selam, dil çalışmalarını sakın gevşetmeyin,” dedi ve kendinden geçti.

Türkiye'nin üzerine eğildiği bütün meseleleri arasında, dünyanın büyük savaş eşiğinde olduğu bir sırada, Atatürk'ün son nefesinde bile üzerinde duracağı bu mesele ne olabilirdi?

Atatürk'ün İkinci Kurtuluş Savaşı

Atatürk Kurtuluş Savaşı'ndan hemen sonra bu sefer de Türk dilinin yabancı boyunduruktan kurtarılması ve nereden gelirse gelsin, yabancı boyunduruklarından kendini koruyabilmesi tedbirleri işine eğildi. Atatürk özellikle 1928 -1938 arası on yılda en büyük enerjisini bu işe verdi. Kendi bir mektubunda yazdığı gibi geceleri dil meseleleri ile uğraşıyor, gündüzleri ise kendi başına iki-üç saatini bu işe ayırıyordu. Neden?

Çünkü, Türk demek; dil demektir. Türklüğün en temel taşı Türkçe'dir. Türk, Türk'üm diyen ve her yönüyle, her şeyden önce Türkçe konuşandır.

Türk dili kalmazsa, Türk dili parçalanırsa Türklük kalır mı? Atatürk kendi sözleriyle bunu defalarca ifade ediyordu:

“Türk demek dil demektir. Millîyetin en bariz vasıflarından biri dildir. Türk her şeyden önce ve mutlaka Türkçe konuşmalıdır.”

2 Eylül 1930 da kendi el yazısı ile, “Millî his ile dil arasındaki bağ çok kuvvetlidir. Dilin millî ve zengin olması, millî hissin gelişmesinde başlıca müessirdir. Türk dili, dillerin en zenginlerindedir, yeter ki bu dil şuurla işlensin. Ülkelerini, yüksek istiklalini korumasını bilen Türk milleti dilini de yabancı diller boyunduruğundan kurtarmalıdır,” diye yazıyordu.

Atatürk, dili millî kurumların en başta geleni sayıyor, millî duygu, düşünce ve yönelişin, millî benlik ve şuurun millî dile bağlı olduğu üzerinde önemle duruyor, uzun vadeli düşünülürse millî bağımsızlığın ancak Türk dili var oldukça, dil bağımsız oldukça mümkün olacağı temelinden yürüyordu.

Osmanlı Devleti'nin son devrinde milletin elinden sade vatani alınmamış, tarihi, dili sanatı, varlığı, hakları, her şeyi inkâr edilmişti. Atatürk, Türklüğün her dalda

dünya uygarlığının en ileri düzeyine çıkmasını, dünya milletleri arasında şerefli yerini almasını, büyük Türk dilini, koca ve köklü geçmişini, Türklük varlığının bir daha haksızca çiğnenemeyecek şekilde ağırlığını ortaya koymasını istiyordu. Bu da ancak Türklüğün kendi şuuruna, kendi benliğine, kendi diline sarılması ile olabilirdi.

En yakın tarih ve bugünkü dünya sahnesi de gösteriyor ki, iktisadi olsun, siyasi olsun, kültürel olsun, bağımsızlıklarını, dünyadaki şerefli yerlerini, ancak kendi benliklerine sahip, kendilerini aşağı görmeyen kendilerine güvenen milletler koruyabiliyor, yapıcı ilerleyici ruha sahip olabiliyorlar.

Yeni Türkiye'nin kalkınması “millî kalkınma”, eğitimi “millî eğitim”, dili “millî dil” olacaktır.

Bilim, teknik bütün dünyaya, insanlığa aittir. Ama bir mühendiste Türklük sevgisi, şuru, ateşi olsun ki edindiği tekniği Türklüğü kalkındırmaya kullansın. Bu her milletin kendisi için doğrudur. Ve milliyet şuru bugün ileri her millette her zamankinden daha kuvvetlidir.

Gene 1933'te Atatürk diyordu ki: “Kati olarak bilinmelidir ki Türk milletinin millî dili ve millî benliği bütün hayatında hâkim ve esas olacaktır.” Bütün hayattan kasıt siyaset, hukuk, din, teknik, bilim, eğitim, sanat, kültür ve edebiyattır, hayatın her yüzüdür.

1000 yıl önce, bilim dili Arapça olsun diye başlanmış, fakat Arapça Farsça oradan başlayıp dilin her tarafına yayılmış, onu içinden sarmış, 1920'lere varıncaya dek yazı dilinde birkaç takıdan başka Türkçe bırakılmamıştı. Öte yandan 1000 yıl önce uygarlığa büyük katkıda bulunan birçok büyük Türk bilginini, Arapça ve Farsça yazdıkları için, Batı dünyası kolayca Araplığa, Farslığa atfetmek cüretini gösterebiliyor. Türk dili, Arapça ve Farsça ile Türk'ün kendi eliyle ezilmiş, nefes alamaz hale gelmiştir. O halde Türk dili önce Osmanlıca'dan ayıklanacak, uygarlık peşinde iyi fakat sakat niyetle Türk'ün diline 1000 yıl önce yaptığı hata düzeltilecek, Türk dili temiz güzellik ve kudretine, kendinde var olan kesinlik ve açıklığına kavuşacaktır.

Atatürk'ün İkinci Kurtuluş Savaşı Başlıyor

Türklüğün 1920'lerde verdiği İkinci Kurtuluş ve Bağımsızlık Savaşı ilk alfabe ile başladı. Arap harfleri, gene iyi niyetle, İslam'a duyulan saygı dolayısıyla alınmıştı. Ama Türkçe'ye uymuyor, onu köstekliyor, Arapça, Farsca sözcüklerin ise kullanılmasını kolaylaştırıyordu. Arap yazısı Arapça da öyle olduğu için sessiz harflere dayanıyor, Türkçe ise sesli harflere dayandığından bu yazı ile yazılması onu boğuyordu: Oysa ki İslam, kalıbı, şekli değil, manayı, niyeti, ifadeyi temel alır. İfadeyi, manayı kolaylaştıracak her değişiklik İslam'ın ruhuna uygundur. Arap harfleri yerine Türkçe'ye tıpatıp uyan yeni Türk harflerinin getirilişi İslam'ın hassasiyetine bir darbe vurup, Frenkçe'ye sarılmak için değil, Türk'ün ifadesini, ruhuna dönüşünü kuvvetlendirebilmesi içindir.

Kısa zamanda ilk zafer kazanıldı. Türkçe, kendisini matematik kadar kesinlikle tespit edebilen ve başka dillerde az görülür derecede kudretli ve verimli bir yazıya, yeni Türk yazısına kavuştu.

İkinci zaferin kazanılması yazı dili ile konuşma dilinin birleşmesi, yazı dilinin Türkçeleşip serpilip güzelleşmesi, için içinden türeyip büyümesi, her dalı, her konuyu, her bilimi, tekniği kapsamı ile oldu. Bu Türkçe, Yunus Emre'nin Türkçesi, Karacaoğlan'ın Türkçesi, nerede olursa olsun Türk'üm diyen her Türk'ün kolayca anlayabileceği, her meslekte kullanabileceği bir Türkçe idi.

Atatürk'ün amacı Arapça'yı Farsca'yı atıp yerine Fransızca, İngilizce doldurmak, 1000 yıl önceki hatayı tekrarlayıp yeni bir Osmanlıca daha ortaya çıkarmak değildi. Türk dilinin Kurtuluş Savaşı'nda, dil tam yeniden gelişip serpilmeye başlarken, onu bu sefer de Batı dillerinden korumak, Türk dilini yeni boyunduruklar altına sokmamak gerekiyordu. Bu da gene Türklük ve Türkçe şuru, Türkçe'nin her dalda, her konuda ve özellikle bilim ve teknik konularında geliştirilmesi, hızla işlenmesi ile olurdu. Atatürk, dil savaşının başından beri, bu konu üzerinde titizlikle durdu.

1932'de bir bildiriye, “Batı dillerinin hiçbirinden

aşağı olmamak üzere, onlardaki kavramları anlatacak keskinliği, açıklığı haiz Türk bilim dili terimleri tespit edilecektir,” diyordu. Felsefe, matematik, gök bilimleri, yer bilimleri, fizik, hayat bilimleri, kimya, ruh bilim, sanatlar, spor ve oyunlar, askerlik ve teknik konuların da dil çalışmaları hızlandı. Türkçe terimlerin tespitine geçildi. Bu kolların bazılarında Atatürk kendisi çalışıyor, bugün, askerlikte olsun, matematikte olsun, kullandığımız birçok terimleri Türkçe'nin derinliklerinden çıkarıp bize armağan ediyordu.

Bütünüyle Türk Dili, Bilim Dili

Türkçe kenarda köşede kalmış, pek az insanın konuştuğu, bu günün gereklerine, tekniğine, bilimine yetmeyecek, iç yapısı zayıf, cılız, önemsiz bir dil midir? Hayır!..

Türkçe bir ana dildir, Hint-Avrupa, Sami-Hami ve Çin anadil grupları gibi, Türk dilleri (Ural-Altay Dilleri) anadil grubunun temel dilidir. Birçok lehçeleri, uzak, yakın akrabaları vardır. Baltık Denizi'nden Çin'e, Sibiry'a'nın tundralarından Hint'e kadar 250 milyon insan tarafından konuşulur.

Sonra Türk dili, öbür dillerde pek az rastlanan bir yapıya sahiptir. Batılı dilcilerin hayranlıkla söyledikleri gibi kuralları, adeta bir matematikçi tarafından düzenlenmiş gibi, kesin ve seçik, kendi kendini içinden türetebilen her yeni konuya yetişebilen her Türk'ün kolayca anlayabileceği yeni türeyen sözleri ile işlendikçe zenginleşen bir dildir.

Fakat dil ve millî kültür bir bütündür. Bugünün kültürünün önemli bir unsuru edebiyat ve sanatın yanında bilimdir. Bilim de edebiyat gibi, en başta bir yaratıcılık işidir. Batı uygarlık ve tekniği Türklüğün yükselmesi için, Türklük şuuru ile yoğrularak alınacaktır. Atatürk'ün Batılılaşma'daki temel ilkesi budur.

Türk dili bir bütündür. Atatürk, matematiği, fiziği İngilizce, mühendisliği Almanca, sokakta konuşulanı Türkçe diye bir dil kabul etmiyordu. 1000 yıl önceki hata tekrarlanmayacak, dilin hiçbir ucu yabancı boyunduruğuna kaptırılmayacak, bu suretle yabancı söz ve kuralların bilimcisinden mühendisine,

mühendisinden işçisine, dilin her yanına sızarak onu içinden kemirmesi önlenecekti. Türkçe bu sefer de bir “Anglomanlıca” haline gelmeyecekti.

O halde Atatürk dilin her dalda, her konuda işlenmesine eğildi.

Dikkate şayandır ki; Atatürk yalnız edebiyat, veya yalnız resmi dil Türkçesi ile uğraşmamıştır. Özellikle temel, müspet bilimleri, tekniği ele almıştır. 1936-1937 kış aylarında Dolmabahçe Sarayı'na çekilerek geometri öğretmenlerine, bu konuda kitap yazacaklara kılavuz olmak üzere, bir geometri kitabı hazırlamıştır. Bu kitap 1937'de yazar adı gösterilmeden Millî Eğitim Bakanlığınca bastırıldı. O devirden beri, Türkiye'de fen derslerinin, matematiğin Türkçesini okuyarak millî eğitim yolundan geçenlerin bildikleri Türkçe birçok geometri terimlerini, ilk bu kitapta bulmak mümkündür.

Bilim ve Teknikle Uğraşanların Yabancı Diller Bilmeleri Şarttır

Atatürk, yeni Türkiye'nin her dalda Batı uygarlığı düzeyine çıkacak gençlerinin önemli birer araç olarak yabancı dilleri de iyi öğrenmeleri gerektiği üzerinde duruyordu. Bu yolda yabancı dil öğretmenin başlı başına yöntemleri vardı, her ülkede kullanılan en ileri yöntemler kullanılmalıydı. Ancak her ülkede olduğu gibi yabancı dil, o ülkenin kendi kültürü, harsı içinde öğretilmeli, Türklüğün teknikte ilerlemesine yardımcı olmalıydı. Yabancı dil öğretimi, yabancı öğretim haline gelmemeli, Türk dilinin yerine geçerek, onu yıkma, eritme, zayıflatma vesilesi olmamalı. Batı uygarlığından faydalanma azmimiz yabancılar tarafından istismar edilmemeli, yabancı dil öğrenmek ancak, gençliğin Türklük şuuru ve benliği içinde teknikte ilerlemesine yardımcı olmalıydı. Bugün her ileri millet önce gençliğini kendi dili, kendi harsının - bilim ve tekniği dahi- bütünüyle yetiştiriyor, yetişmiş her konuyu sağlam kavrayabilen dimağlara bir de yabancı dil anahtarlarını ekliyordu. Ancak kendi milletlerine benliklerine sahip olabilenler, dünya uygarlığına, insanlığa, çeşitli ve değişik

milliyetlerin arası denge içinde katkıda bulunabiliyorlardı.

Türklük amaçlarına uygun bir şekilde yabancı dili de ayrıca öğrenmek yöntemine örnek vermek üzere, Atatürk 1929'da Türk Eğitim Derneği'ni kurdu. O zamanın Meclis üyeleri derneğe yazıldılar. Derneğin amacı örnek özel Türk okulları açmak, "Türk harsı içinde yabancı dil öğretmek" olacaktı. Türk Eğitim Derneği'nin Ankara'da ilk, orta, lise okulu açıldı. Bu okulda, fizik, kimya, matematik gibi bütün dersler, Ankara'nın en kuvvetli öğretmenleri tarafından güzel bir Türkçe ile öğretiliyordu. Ayrıca yabancı dil olarak İngilizce haftada on saat ayrı bir ders şeklinde öğretiliyor, kuvvetli yabancı dil öğretme yöntemleri kullanılıyordu. Türk Eğitim Derneği'nin okulları 1953'e kadar Atatürk'ün bu ilkeleri içinde eğitime devam ettiler. O devirde, bize çok emeği geçen hem bilim ve teknoloji ile bütün Türkçemizi, ayrıca da yabancı dili öğreten, bize hem bilim, hem Türklük aşkını, Atatürk yolunu veren değerli öğretmenlerimizi bu vesile ile burada anmayı manevi bir borç biliriz.

Türk Dili ve Eğitim

Atatürk'ün giriştiği Türk dilinin yabancı boyunduruklardan kurtarılıp korunması savaşı iki kollu bir işti:

a-Türkçe'nin her dalda işlenmesi, kural ve söz zenginliğinden faydalanıp her meslek, her konu için Türkçe terimlerin tespiti.

b-Türkçe'nin bütünü ile, her dalda, okullarda öğrenim aracı olarak yerleşmesi, bilim, edebiyat, teknik, sanat, iktisat, bütün meslek sahiplerince benimsenip kullanılması.

Türk dili ve millî eğitim bu suretle ayrılmaz bir şekilde birbirine bağlıydı. Türk dili ne kadar zenginleşirse zenginleşsin her konuya, her bilime yetecek kudrette olsun, okullarda ilk ve en başta gelen tüm öğretim aracı olmadıkça, bilimi, teknoloji dahil tam bir kültür dili haline gelemezdi. Öbür taraftan bu ilkelere dayanmayan bir eğitim de tam bir millî eğitim olmazdı.

Atatürk daha 1924'te diyordu ki: "Millî eğitimin ne demek olduğunu bilmekte hiçbir tereddüt

kalmamalıdır. Bir de millî eğitim esas olduktan sonra onun lisanını, usulünü, vasıtalarını da millî yapmak zarureti münakaşa edilemez."

Eğitim, millî olacak, bütünüyle millî olacaktır. Türk eğitiminde ikili, üçlü, ayrı ilke ve ülkülere dayanan eğitim düzenleri bulunmayacaktır. Eğitim, dilin, millî kültürün, millî yapı ve düşüncenin besleyicisi, dil ise Türklük temelidir. Türk gençliği ne meslekte olursa olsun, önce kendi dilini, temiz kuvvetli bir Türkçe'yi mesleğinde ve günlük hayatında kullanıp, yazabilecektir.

1938'de ölümünden az önce Atatürk, İkinci Kurtuluş Savaşı'nın eğitim kısmını da tamamlayıp büyük Türk milletine, bilimi ile, teknoloji ile, tüm bir Türk dili, Türk'üm diyen her Türk'ün kolaylıkla ve zevkle, kıvançla kullanabileceği bir Türk dili ve diliyle tümüyle millî bir eğitimi armağan etti. O yıl okullar açılırken, bize son armağanını şöyle müjdeliyordu:

"Türlü bilimlere ait Türkçe terimler tespit edilmiş, bu suretle dilimiz yabancı dillerin tesirinden kurtulma yolunda esaslı adımını atmıştır. Bu yıl okullarımızda tedrisatın Türkçe terimlerle yazılmış kitaplarla başlamış olmasını kültür hayatımız için mühim bir hadise olarak kaydetmek isterim."

Atatürk Yolunda Bugünkü Türkçe

Son otuz yılda, Atatürk'ün Türkiye'si bilimde, teknikte, sanayileşmede, ticarete, uygarlığın her dalında önemli ilerlemeler kaydetti. Atatürk'ün bize kazandırdığı savaş sonucu bugün, yasalarımızı iktisadımızı, sanatlarımızı, bilim ve teknolojiimizi en güzel, zengin, keskin ve açık bir Türkçe ile konuşabiliyoruz. Bu uzak yakın her Türk'ün kolayca anlayabileceği, bütün ve her konuya yeterli bir Türkçe'dir. Atatürk'ün, Türklüğün dil zaferi kazanılmıştır.

Atatürk'ün "Hayatta en hakiki mürşit ilimdir"değişinden ilham alıp Türklük için bilim yoluna atılmış Türk bilimci, eğitimci ve meslek sahipleri, dünyanın her bucağında, en ileri bilim ve teknik dallarında, her milletin yarışmada bulunduğu

alanda, Türk'ün sesini duyurmuş, bu ara Türkçe'nin ne kudretli bir dil olduğunu da yurtlarında yaptıkları bilim konuşmaları, çeşitli bilim yayınları ile defalarca göstermişlerdir. Bugün bilimin hiçbir sınırı yoktur ki Türkçe ile ifade edilememiş olsun...

Bu Türkçe'nin güzelliği için "Fen Dergisi", "Bilim ve Teknik", "Hacettepe Fen Bilimleri Dergisi" gibi dergilerimize bir göz atmak yeter. Bu, Türk öğretmen ve araştırmacısının öğrencisi ile, Türk mühendisinin işçisi ile, Türk devletinin Türk mühendisi ile konuşacağı, yazıacağı bir Türkçe'dir.

Atatürk'ün Vasiyeti

Dil, süre giden bir iştir. Çünkü kavramlar sürekli gelişir durur, değişir, yenileri doğar. Dil de kavramlarla birlikte gelişir, içindeki türetim yeteneğine göre işlenir durur. Ne mutlu ki, Türk dili bu türetim, gelişim, yapı ve kurallarına en çok sahip bir dildir. Türklük ve Atatürk'ün yolunda ilerlemektedir. Her gün yeni kavramlar, Türkçe terimler gökbilimde

olsun, kimyada olsun, dilimize kazandırılmakta, bilimci Türk'ün araştırmacı, yapıcı kafası, düşüncesi kesin, açık bir Türkçe ile yoğrulmaktadır. Türk diline her dalda, her bilimde yeni eserler kazandırılmaktadır.

Türk eğitimcisi, bilimcisi, Atatürk'ün kurtardığı Türk dilini ne yönden gelirse gelsin yabancı boyunduruktan korumasını bilecek, sadece takıları Türkçe ikinci bir Osmanlıca konuşan, Atatürk'ün Türkçesini, bilimiyle, tekniğiyle Türkçesini bilmeyen nesiller yetişmesine yol açacak eğitim düzenlerine yer vermeyecektir. Türk bilimci ve eğitimcisi, Atatürk'ün kendilerine şu vasiyetini hatırlayacaklardır:

"Bakınız arkadaşlar, ben belki çok yaşamam. Fakat siz ölene dek, Türk gençliğini yetiştirecek ve Türkçe'nin bir kültür dili olarak gelişmeye devamı yolunda çalışacaksınız. Çünkü Türkiye ve Türklük, uygarlığa ancak bu yolla kavuşabilir."

GASTRODÜODONAL YAKINMASI OLAN HASTALARDA STOOL-ANTİJEN ELISA YÖNTEMİYLE *Helicobacter pylori* POZİTİFLİĞİNİN RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Retrospective Evaluation of *Helicobacter pylori* Prevalence by the Stool-antigen ELISA Method in the Patients with Gastrointestinal Complaints

Mehmet Cihan EKMEN, Ali Serkan HEPSERT, Keramet YANIK, İbrahim Çağatay ACUNER, Murat GÜNAYDIN, Murat HÖKELEK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji AbD
SAMSUN

İletişim:
M. Cihan EKMEN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji AbD
55139 Kurupelit/SAMSUN
Tel : 0362 312 19 19/2686
Faks: 0362 457 60 41
E-posta: cekmen@omu.edu.tr

ÖZET

Amaç: *Helicobacter pylori*, insan gastrik mukozasında yerleşen spiral, mikroaerofilik, Gram-negatif bir bakteridir. *H. pylori*, gastrit, peptik ülser, mide adenokarsinomu ve B hücre lenfoması ile ilişkilidir.

Yöntem: Bu çalışmada 2003-2004 yılları içerisinde çeşitli polikliniklerden gastrodual yakınması olan ve laboratuvara gönderilen hastaların gaita örneklerinden stool antijen (HpSA) ELISA yöntemi ile *H. pylori* pozitifliği retrospektif olarak araştırılmıştır.

Bulgular: Erişkin grubunda 523 erkek hastanın 410'unda (% 78,4), 856 kadın hastanın 672'sinde (% 78,5) HpSA pozitif olarak saptanmıştır. Pediyatrik grupta ise 815 hastadan 648'inde (% 79,5) pozitiflik belirlenmiştir.

Sonuç: Gastrodual yakınması olan tüm yaş gruplarında *H. pylori* antijen pozitifliğinin birbirine yakın oranda olduğu ve HpSA ELISA testinin, gastrik mukozada *H. pylori*'ye bağlı süregelen aktif enfeksiyonun varlığı veya yokluğunu saptamaya yönelik ucuz ve uygulanabilir bir yöntem olarak kullanılabilmesi düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Helicobacter pylori*, stool antijen, ELISA

ABSTRACT

Objective: *Helicobacter pylori* are microaerophilic gram-negative spiral bacteria that can be isolated from gastric mucosa in humans. *H. pylori* have been associated with gastritis, peptic ulcers, gastric adenocarcinoma and B-cell lymphomas.

Method: In the present work, with the use of ELISA method, seroprevalence of *H. pylori* surface antigen (HpSA) in the stool samples of outpatients with gastrointestinal complaints have been investigated retrospectively for the period of 2003-2004.

Results: In the adult group, 410 out of 523 male patients (78,4 %), and 672 out of 856 female patients (78,5 %) found to be positive in HpSA testing. In the pediatric group, 648 out of 815 patients (79,5 %) tested positive in HpSA testing.

Conclusion: It is concluded that *H. pylori* seroprevalence rate in all investigated age groups with gastrointestinal complaints is similar, and HpSA ELISA is a convenient and inexpensive method to detect the presence or absence of an ongoing active infection caused by *H. pylori* in gastric mucosa.

Key words: *Helicobacter pylori*, the stool-antigen, ELISA method

Bu çalışma IV. Sindirim Yolu ile Bulaşan Hastalıklar Kongresi (16-20 MAYIS 2005, Mersin)' nde sunulmuştur

GİRİŞ

Helicobacter pylori, insan gastrik mukozasında yerleşen spiral, mikroaerofilik, Gram-negatif bir bakteridir. Organizmaya bir defa girdiğinde, sağaltım yapılmazsa yaşam boyu varlığını korumaktadır. Yapılan ilk çalışmalarda bu bakterinin mide flora üyesi olduğu düşünülmüştür. Ancak günümüzde insanlarda ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, bu mikroorganizmanın mide içerisinde varlığı normal flora üyesi olamayacağını, patojen bir mikroorganizma olarak kabul edildiğini göstermiştir (1). *H. pylori* enfeksiyonu gastrit, peptik ülser, gastrik kanser ve gastrik mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması ve ilişkisi tartışmalı olmakla beraber atherosclerosis'den deri hastalıklarına kadar değişen birçok ekstragastrik hastalığın patogeneğinde rol oynayan ve dünyada en sık rastlanan gastrointestinal bir bakteri hastalığıdır (2,3). Gelişmiş ülkelerde yetişkin popülasyonun yaklaşık %40-50'sinin, gelişmekte olan ülkelerde ise %80-90'ının bu bakteri ile enfekte oldu kabul edilmektedir (3). Midenin kronik enfeksiyonunun yanında tedavi edilmediği takdirde yaşam boyu varlığını devam ettirdiği ve gastrik karsinomlar için risk faktörü olduğunun tespit edilmesi tanısının önemini arttırmıştır (1,4). Bu nedenle enfekte olan bireylerin organizmanın eradikasyonu için erken tanımlanması ve tedavi edilmesi gerektiği bildirmiştir (5). Erken yaşlarda edinilen *H. pylori* enfeksiyonunun tanısı için invaziv ve invaziv olmayan pek çok yöntem vardır. Ancak invaziv yöntemlerin bazı dezavantajları invaziv olmayan yöntemlerin daha da geliştirilmesini sağlamıştır (5). *H. pylori*'nin teşhisinde kullanılan invaziv olmayan testler arasında ¹³C-işaretleli üre nefes testi ve polikonal antikorların kullanıldığı *H. pylori* stool antijen (HpSA) ELISA yöntemi çocuk ve adölesanlarda sıklıkla kullanılan güvenilir testlerdir (6-13). Son yıllarda monoklonal antikorların kullanıldığı HpSA ELISA'nın mükemmel test performansına sahip olduğu rapor edilmiştir (9,14,15). ¹³C-işaretleli üre nefes testi ve stool antijen testleri yüksek sensitivite ve spesifiteye sahiptir ve Avrupa *H. pylori* çalışma grubu her iki invaziv

olmayan testi *H. pylori* teşhisinde önermektedir (16,17).

Bu çalışmada, OMÜ Tıp Fakültesi polikliniklerine gastroduedonal yakınmayla başvuran ve gaita örneklerinde ELISA yöntemi ile stool antijen (HpSA) bakılan hastaların *H. pylori* pozitifliği retrospektif olarak araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

2003-2004 yılları içerisinde OMÜ Tıp Fakültesinde çeşitli kliniklerden laboratuvara gönderilen ve gastroduedonal yakınması olan değişik yaş ve cinsiyetlerde hastalardan alınan toplam 2194 gaita örneğinden HpSA ELISA yöntemi ile *H. pylori* antijeni araştırılmış ve HpSA pozitifliği saptanmış hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılımı belirlenmiştir.

BULGULAR

Erişkin hastaların dışkı örneğinde saptanan *H. pylori* antijeni pozitifliğinin dağılımı Tablo.1'de verilmiştir.

Tablo.1: Erişkin grubunda HpSA pozitifliği

	HpSA (+)	HpSA (-)	Toplam
Hasta Sayısı	1082	297	1379
Yüzdesi (%)	%78,46	%21,54	%100

Bu çalışmaya alınan hastaların erişkin grubunda 523 erkek hastanın 410'unda (%78, 40), 856 kadın hastanın 672'sinde (%78,50) HpSA pozitif olarak saptandı (Tablo 2).

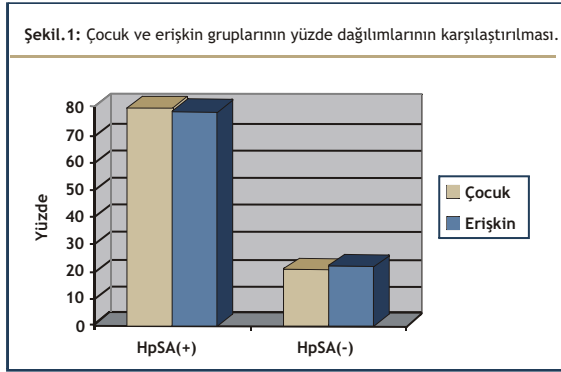
Tablo.2: HpSA pozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı.

	HpSA (+)(%)	HpSA (-)(%)	Toplam
Erkek	410(%78,40)	113(%21,60)	523
Kadın	672(%78,50)	184(%21,50)	856

Pediyatrik grupta ise 815 hastadan 648'inde (%79,50) HpSA pozitifliği belirlendi (Tablo 3)

Tablo.3: Pediyatrik grupta HpSA pozitifliği

	HpSA (+)	HpSA (-)	Toplam
Hasta Sayısı	648	167	815
Yüzdesi (%)	%79,50	%20,50	%100



TARTIŞMA

Yapılan çalışmalarda asemptomatik erişkinlerin %20'sinde, ülseri olmayan dispepsili hastaların %60-90'ında ve gastroduodenal ülserli bireylerin %60-100'ünde *H. pylori* pozitifliği bildirilmiştir (4). Bakteri, yakın temasla kolaylıkla bulaşabilmekte, insandan insana yayılabilmektedir. *H. pylori*'nin kronik enfeksiyon oluşturabildiği ve bazı mide malignensilerinde predispozan rol oynaması nedeniyle tanı ve tedavisi önem taşımaktadır (2,4). Tanıda altın standart *H. pylori*'nin kültürde üretilmesi olarak kabul edilmektedir (1,18). Ancak kültür için materyal elde etmek invaziv bir girişim olduğundan çoğunlukla güvenilirliği yüksek invaziv olmayan testler tercih edilmektedir (18). İnvaziv olmayan tanı testlerinden biri olan ELISA, sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (6,18). Ticari olarak hazırlanmış bu testlerde poliklonal veya monoklonal antikorlar kullanılmakta, duyarlılık ve özgüllükleri değişiklik göstermektedir (7-9). Tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde, tedavi öncesi ve tedavi bitiminden itibaren üç-altı ay sonrasındaki iki titrasyonun karşılaştırılması önerilmektedir. Ancak hiçbir zaman tam negatifleşme olmadığı için tedavi başarısını IgG düzeyi ile belirlemek olası değildir (1). İnvaziv olmayan testlerden olan HpSA ELISA yöntemi ise dışkıda *H. pylori* antijeni aramaya dayanan, özgüllüğü ve duyarlılığı altın standart testlerle kıyaslandığında oldukça yüksek olan bir yöntemdir (10,11). Bu testler rutin tanı laboratuvarlarında sıklıkla uygulanmakta olup (12) laboratuvarımızda da 2001 yılından bu yana kullanılmaktadır. Gispert ve

ark. 43 çalışmanın sonuçlarını değerlendirerek HpSA ELISA yönteminin tedavi görmeyen hastalardaki doğruluğunu araştırmış ve duyarlılığı %92,5, özgüllüğün %91,9 olduğunu saptayarak bu testin iyi bir invaziv olmayan test olduğu sonucunu bildirmişlerdir (10). Vaira ve ark. HpSA ELISA yönteminin duyarlılığını %90 ve özgüllüğünü %95 olarak bulmuşlardır (13). Fanti ve ark. İtalya'da altın standart olan kültür yöntemi ile karşılaştırarak HpSA ELISA yönteminin duyarlılığını saptamak için 55 hastada yaptıkları bir çalışmada sensitivitesini %98,2 spesivitesini %96,4 olarak bulmuşlardır (14). Bizim çalışmamızda kullandığımız testlerin duyarlılığı çeşitli çalışmalara göre %92-98, özgüllüğü %90-99 arasında değişmektedir (15). Tanıda kullanılan bir diğer invaziv olmayan test olan üre nefes testi ise yüksek duyarlılık ve %100'e yaklaşan spesifikliği olan bir test olmasına karşın maliyet yüksekliği, pediatrik ve geriatric hasta gruplarındaki uygulama güçlüğü ve pahalı olması nedeniyle her merkezde uygulanamamaktadır (8,16). HpSA ELISA ise üre nefes testinden daha hızlı, uygulaması kolay ve daha ucuz bir yöntemdir. Bazı çalışmalarda özellikle pediatrik grupta üre nefes testi ile eşdeğer olduğu kaydedilmektedir (17).

Yapılan çalışmalarda dispeptik yakınması olan hastalarda HpSA pozitifliği toplumlara ve yaş popülasyonlarına göre değişiklik göstermektedir. El-Nasr ve ark. tarafından erişkin grubundaki dispeptik hastaların %32'sinde HpSA pozitifliği saptanmıştır (19). Türkiye'de yapılan bir araştırmada ise bu oran dispeptik yakınmalı hastalarda %86 olarak bulunmuştur (20). Çalışmamızda ise erişkin grubundaki 523 erkek hastanın 410'unda (%78,40), 856 kadın hastanın 672'sinde (%78,50) HpSA pozitif olarak tespit edilmiştir.

Pediatrik grupta yapılan bir çalışmada FemtoLab testi kullanılarak %52,6'lık pozitiflik oranı bulunmuştur (21). Bir başka çalışmada ise 302 çocuktan 92'sinde (%30,46) HpSA pozitifliği belirlenmiştir (15). Bizim çalışmamızda, çocuklardaki oran yetişkinlere yakın olarak (%79,5) bulunmuştur. HpSA pozitiflik oranlarının toplumun

sosyoekonomik koşullarıyla ilişkili olarak değişebildiği ancak pediatrik grupta daha düşük oranlar saptandığı bildirilmektedir (22, 23). Buna karşın çalışmamızda gastrointestinal yakınmaları olan her iki grupta da birbirine yakın oranların olduğu görülmüştür (Şekil 1). Çocukluk çağındaki oranların değişkenliği bölgesel beslenme alışkanlıkları, hijyenik koşullar ve temizlik alışkanlıklarındaki farklılıktan kaynaklanabilir. Hasta popülasyonunun Samsun yöresinin kırsalından hastalar içermesi, çevresel altyapının bu bölgelerde uygun olmaması, anneden çocuğa bulaşmanın olması bu hasta grubunda oranın yükselmesi sonucunu doğurmuş olabilir. Çalışmalara bakıldığında gelişmekte olan ülkelerde oranların yüksek olduğu görülmektedir. Nijerya'da yapılan bir araştırmada on yaşın altındaki çocuklarda % 91, bir yaş altı çocuklarda % 58 oranında seropozitiflik saptanmıştır (24). Ayrıca bazı çalışmalarda anne ve çocuk kökenli *H. pylori* suşlarında yapılan DNA analizleriyle, süt çocukluğu döneminde anneden çocuğa bulaşmanın olduğu bildirilmektedir (25).

Sonuç olarak gastroduodenal yakınması olan tüm yaş gruplarında *H. pylori* antijen pozitifliğinin birbirine yakın oranda olduğu ve HpSA ELISA testinin, gastrik mukozada *H. pylori*'ye bağlı süregelen aktif enfeksiyonun varlığı veya yokluğunu saptamaya yönelik ucuz ve uygulanabilir bir yöntem olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR:

1. Yılmaz YA. *H.pylori*: Mikrobiyolojik tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004; 35:182-186.
2. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelmann JH, Orentreich N, and Sibley RK. *H. pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325:1127-1131.
3. Suerbaum S, Michetti P. *H. pylori* infection. *N.Engl. J. Med* 2002; 347:1175-86
4. Parsonnet J, Friedman G D, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelmann J H, Orentreich N, and Sibley R K. *H. pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N. Engl. J. Med* 1991; 325:1127-1131.
5. Altındış M, Özdemir M. *H. pylori* ve tanısı. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2003; 2: 1-12.
6. Taylor D, Parsonnet J. Epidemiology and natural history of *H. pylori* infections. In: Blaser MJ, Smith PF, Ravdin J, Greenberg H, Guerrant RL eds. *Infections of the gastrointestinal tract*. New York: Raven Press, 1995; 551-64.
7. de Carvalho Costa Cardinali L, Rocha GA, Rocha AM, et al. Evaluation of [¹³C] urea breath test and *H. pylori* stool antigen test for diagnosis of *H. pylori* infection in children from a developing country. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3334-5
8. Zambon CF, Basso D, Navaglia F, et al. Non-invasive diagnosis of *H. pylori* infection: simplified 13C-urea breath test, stool antigen testing, or DNA PCR in human feces in a clinical laboratory setting? *Clin Biochem* 2004; 37: 261-7
9. Wu IC, Ke HL, Lo YC, et al. Evaluation of a newly developed office-based stool test for detecting *H. pylori*: an extensive pilot study. *Hepatogastroenterology* 2003; 50:1761-5.
10. Gispert JP, Palares JM: Diagnosis of *H. pylori* infection by stool antigen determination: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 28-29.
11. Van Doorn OJ, Bosman DK, Van't Hoff BW, Taminiu JA, Ten Kate FJ, Van der Ende. *H. pylori* stool antigen test: a reliable non-invasive test for the diagnosis of *H. pylori* infection in children. *Eur J Gastroenterol* 2001; 13: 1061
12. Trevisani L, Sartori S, Rossi RM, Ruina M, Matarese V, Gullini S, Abbasciano, Evaluation of a new rapid immunoassay for the detection of *H. pylori* in faeces: a prospective pilot study, *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 485489.
13. Vaira D, Gatta L, Ricci C, Miglioli M. Review article: diagnosis of *H. pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16 (Suppl 1):16-23.
14. Fanti L, Mezzi G, Cavallero A, Gesu G, Bonato C, Masci E. A new simple immunoassay for detecting *H. pylori* infection: antigen in stool specimens, *Digestion*. 1999; 60(5):456-60
15. Koletzko S, Konstantopoulos N, Bosman D, Feydt-Schmidt A, van der Ende A, Kalach N, Raymond J, Russmann H. Evaluation of a novel monoclonal enzyme immunoassay for detection of *H. pylori* antigen in stool from children. *Gut* 2003; 52(6): 804-6.
16. Erton JC, Spiller RC. The urea breath test for *H. pylori*. *Gut* 1994; 35:723-5
17. Hino B, Eliakim R, Levine A, Sprecher H, Berkowitz D, Hartman C, Eshach-Adiv O, Shamir R. Comparison of invasive and non-invasive tests diagnosis and monitoring of *H. pylori* infection in children. *J Pediatr*

- Gastroenterol Nutr 2004; 39(5): 519-23.
18. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin A P, Jones R, Axon A, Graham D Y, and Tytgat G. Current concepts in the management of *H. pylori* infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment. Pharmacol. Ther. 2002;16:167-180.
 19. El-Nasr MS, Elibiary SA, Bastawi MB, Hassan A, Shahin Y, Hassan L, Hamza MM, Mahfuz M. Evaluation of a new enzyme immunoassay for the detection of *H. pylori* in stool specimens. J Egypt Soc Parasitol. 2003; 33(3): 905-15
 20. Erzin Y, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, Dirican A, Kocazeybek B.
 21. Comparison of two different stool antigen tests for the primary diagnosis of *H. pylori* infection in turkish patients with dyspepsia. Helicobacter. 2004; 9(6): 657-62.
 22. Hino B, Eliakim R, Levine A, Sprecher H, Berkowitz D, Hartman C, Eshach-Adiv O, Shamir R. Comparison of invasive and non-invasive tests diagnosis and monitoring of *H. pylori* infection in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004; 39(5): 519-23.
 23. Suzuki H, Masaoka T, Nomura S, Hoshino Y, Kurabayashi K, Minegishi Y, Suzuki M, Ishii H. Current consensus on the diagnosis and treatment of *H. pylori*-associated gastroduodenal disease. Keio J Med. 2003; 52(3):163-73.
 24. Holcombe C, Tsimiri S, Eldridge J, Jones DM. Prevalence of antibody to Helicobacter pylori in children in northern Nigeria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1993; 87(1):19-21.
 25. Konno M, Fujii N, Yokota S, et al: Five-year follow-up study of mother-to-child transmission of Helicobacter pylori infection detected by a random amplified polymorphic DNA fingerprinting method. J Clin Microbiol 2005; 43(5): 2246-50

İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *Escherichia coli* İZOLATLARINDA ORAL ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENCİN ARAŞTIRILMASI

The Investigation of Resistance to Oral Antibiotics in *Escherichia coli* Isolates Obtained from Urine

Birgül KAÇMAZ¹, Altan AKSOY², Nedim SULTAN³

¹Gazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Merkez Mikrobiyoloji
Laboratuvarı
Beşevler/ANKARA

²Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Abd
KIRIKKALE

³Gazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Abd
Beşevler/ANKARA

İletişim:

Birgül KAÇMAZ
Gazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Merkez Mikrobiyoloji Lab.
06500 Beşevler/ANKARA
Tel: 0312 202 54 76
E-posta:
kacmazbirgul@mynet.com

ÖZET

Amaç: Üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE) toplumda en sık rastlanan bakteri enfeksiyonlarından. Son yıllarda antibiyotiklere karşı direncin giderek artması nedeniyle ÜSE'lerin empirik tedavisinde sorunlar başlamıştır. Bu çalışmada üropatojen *Escherichia coli* izolatlarının tedavi de kullanılan oral antibiyotiklere karşı dirençleri araştırılmıştır.

Yöntem: Orta akım idrar örneklerinden koloni morfolojisi, Gram yöntemiyle boyanma özelliği ve biyokimyasal test sonuçlarıyla *E.coli* olarak izole edilen, 10^5 /ml ve üzeri CFU oluşturan izolatlar değerlendirmeye alınmıştır. İzolatların duyarlılıkları NCCLS kriterlerine uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiş ve kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede ki kare testi kullanılmıştır.

Bulgular: İzolatlarda en düşük direnç oranı nitrofurantoin, fosfomisin trometamol ve sefiksime, en yüksek direnç oranı da ampisilin ve amoksisiline karşı saptanmıştır.

Sonuç: Bölgemizde üriner sistem enfeksiyonları empirik tedavisinde ampisilin, amoksisilin, ampisilin/sulbaktam, amoksisilin/klavulonik asit ve trimetoprim/ sulfometaksazol kullanımı başarısızlığa neden olabilir. Kinolonların yaygın tüketimini ve direnç gelişimini azaltmak için bu grup ilaçların yerine ikinci veya üçüncü kuşak oral sefalosporinlerin kullanılması düşünülebilir. Komplike olmayan ÜSE'lerin tedavisinde nitrofurantoin ve fosfomisin uygun bir seçenek olarak görülmektedir.

Anahtar sözcükler: *Escherichia coli*, antibiyotik direnci

ABSTRACT

Objective: Urinary tract infection is one of the most common bacterial diseases. As a result of the increasing resistance to antibiotics in recent years, some problems have been encountered in empiric treatment of urinary tract infection. The aim of the present study is to assess the resistance of uropathogen *Escherichia coli* isolates to oral antibiotics.

Method: Samples were taken from middle urine and were counted for *E. coli*. Isolates were then prepared from the ones with an *E. coli* count of 10^5 /ml or more. The isolates were analysed by using colonial morphology, gram staining and biochemical test results. The susceptibility of the isolates was evaluated by disc diffusion method in compliance with NCCLS susceptibility testing guidelines. *E.coli* ATCC 25922 was used as the control strain. Results were evaluated by Chi-square test.

Results: The *E. coli* of the isolates were found to have low resistance rates to nitrofurantoin, fosfomisin, trometamol and cefixime; and high resistance rates to ampicillin and amoxicillin.

Conclusion: Based on the results, ampicillin, amoxicillin, ampicillin/sulbaktam, amoxicillin/clavulonic acid and trimetoprim/sulfometaksazol may prove to be ineffective in the empiric treatment of urinary tract infection in our region. In order to reduce the resistance development and the common use of quinolones, second and third generation oral cefalosporins can be used in place of these medicines. NIT and FMT are thought to be suitable alternatives in the treatment of uncomplicated urinary tract infection.

Key words: *Escherichia coli*, antibiotic resistance

GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) en sık rastlanan bakteri enfeksiyonları arasındadır. Enfeksiyonların %75-95'inde etken *Escherichia coli*'dir. Klasik bilgilere göre üriner sistem enfeksiyonlarında ampirik tedavi de ilk tercih olarak geniş spektrumlu antibiyotikler; ampisilin, amoksisilin ve trimetoprim-sulfometoksazol (TMP-SXT) önerilmektedir(1). Ancak yaygın ve uygun olmayan indikasyonlarda bilinçsiz antibiyotik kullanımının direnç gelişmesine yol açmasından dolayı ÜSE'nin ampirik tedavisinde sorunlar başlamıştır(2). Son yıllarda dünyada üropatojen *E.coli* izolatlarında ampisilin ve TMP-SXT'e karşı direncin giderek artmakta olduğu bilinmektedir(3). Infectious Disease Society of America (IDSA) yayınladığı rehberde TMP-SXT direncinin % 20'yi aştığı yerlerde ÜSE'lerinin alternatif tedavisinde ilk seçenek antibiyotikler olarak florokinolonlar, nitrofurantoin ve fosfomisin önermektedir(4). ÜSE'lerin tedavisinde siprofloksasin uzun yıllar başarıyla kullanılmakla birlikte son zamanlarda yüksek oranlarda direnç gelişimi bildirilmektedir(5). Siprofloksasine karşı gelişen direnç aynı zamanda çapraz direnç şeklinde diğer kuşak kinolonlara da aktarılabildiği için önemlidir(6). ÜSE dışında da bu antibiyotik grubunun yaygın kullanımı olduğu için bu grup ilaçların kullanımı izlenmeli, direnç gelişim oranları yakından takip edilmelidir.

Bu çalışma da ÜSE etkeni olarak saptanan *E.coli* izolatlarının oral antibiyotiklere karşı ampisilin, amoksisilin, ampisilin/sulbaktam, amoksisilin/klavulonik asit, trimetoprim/sulfometoksazol, sefuroksim, sefiksim, siprofloksasin, nitrofurantoin ve fosfomisin trometamin duyarlılıkları araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli polikliniklerden idrar kültürü için gönderilen orta akım idrar örneklerinden izole edilen bakteriler çalışmaya alınmıştır. Ekimler standart özeyle kanlı agara ve

eozin-metilen mavisi agara ekilmiştir. Koloni morfolojisi, Gram yöntemiyle boyanma özelliği ve biyokimyasal test sonuçlarıyla *E.coli* olarak tanımlanan ve idrarın ml'sinde 10^5 ve daha fazla colony forming unit (CFU) oluşturan izolatlar değerlendirmeye alınmıştır. Bakterilerin ampisilin (AMP), amoksisilin (AMOX), ampisilin-sulbaktam (SAM), amoksisilin-klavulonik asit (AMC), trimetoprim/sulfometoksazol (TMP-SXT), sefuroksim (CFX), sefiksim (CFM), siprofloksasin (CIP), nitrofurantoin (NIT) ve fosfomisin trometamin (FMT) duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI: formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards) kriterlerine uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir(7).

Kontrol suş olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

İstatistiksel değerlendirmede ki kare testi kullanılmış ve $p \leq 0.05$ bulunduğu aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmada ÜSE etkeni olarak izole edilen toplam 370 *E.coli* değerlendirilmiştir. Tablo 1'de antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin sayıları ve direnç oranları sunulmuştur.

Bakterilerde en düşük direnç oranı NIT, FMT ve CFM'e, en yüksek direnç oranı da AMP ve AMOX'e karşı saptanmıştır.

SAM ve AMC, NIT ve FMT direnç oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir (sırasıyla $p=0.26$, $p=0.083$). İkinci kuşak oral sefalosporin olan sefuroksim direnci ile üçüncü kuşak oral sefalosporin olan sefiksim direnci arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.001$).

TARTIŞMA

Çalışmada AMP ve AMOX direnci aynı oranda (%72) bulunmuştur. NCCLS'e göre *Enterobacteriaceae* üyelerinde ampisilin veya amoksisilin duyarlılığının saptanmasında bunlardan herhangi birinin test edilmesinin yeterli olduğu belirtilmiştir. Bu iki ilaç

birbirlerini uygun şekilde temsil edebilir(7). Bu çalışmada da *E.coli* izolatlarında hem ampisilin hem de amoksisilin diski kullanılmıştır. Sonuçların birbirleriyle uyumlu olduğu gözlenmiştir. Yine NCCLS'e göre *Enterobacteriaceae* sınıfında bakterinin SAM ve AMC'ye karşı duyarlılıklarının saptanmasında SAM veya AMC diskinin herhangi birinin kullanılmasının yeterli olduğu belirtilmiştir(7).

E.coli izolatlarında beta-laktam-beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlarına karşı direnç yaygın olarak rapor edilmiştir. Direncin en önemli nedeni TEM-1 beta-laktamaz enziminin aşırı üretilmesi ve dış membran geçirgenliğinde değişikliktir. Diğer nadir görülen nedenler inhibitörlere dirençli TEM (IRT) enzimi ve/veya kromozomal Amp-C beta-laktamaz enziminin üretimidir. Tüm beta-laktam-beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları bu mekanizmalardan aynı derecede etkilenmezler. Bu antibiyotiklere karşı değişik oranlarda direnç bildirilmiştir(8). Bu çalışmada SAM ve AMC direnci sırasıyla %58-%62 olarak farklı bulunmuştur. Laboratuvarında duyarlılık testlerinin yapılması sırasında bu iki antibiyotikte ayrı olarak çalışılmalı ve duyarlılıklarının değişebileceği bilinmeli, raporlarda ikisinin de duyarlılıkları belirtilmelidir. Yapılan çalışmalarda SAM direnç oranının AMC'e göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir(9). Bu çalışmadaki izolatların SAM direnç oranı AMC'ye göre daha düşük bulunmuştur ama bu farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Bu da dirence neden olan beta-laktamaz enzim tiplerinin bölgesel farklılıklardan ve bakterinin diğer direnç mekanizmalarından farklı oranlarda etkilenmesinden kaynaklanabilir.

Bu çalışmada AMP ve AMOX'e, bunlara beta-laktamaz inhibitör eklenmesiyle oluşturulan kombinasyonlarına, TMP-SXT'e karşı yüksek direnç oranları tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Avrupa'daki (10) gelişmiş ülkelerden rapor edilen oranlara göre yüksek ama Taiwan (11) ve İsrail'den (12) yayımlanan oranlara göre benzer olarak bulunmuştur. Saptanan yüksek direnç nedeniyle bu ilaçların ÜSE'nde ampirik

Tablo 1. Dirençli bakterilerin sayısı (n) ve oranı (%)

Antibiyotikler*	n	%
AMP	266	72
AMOX	266	72
SAM	215	58
AMC	230	62
TMP-SXT	241	65
CFX	55	15
CFM	22	6
CIP	66	18
NIT	7	2
FMT	15	4

AMP: ampisilin, AMOX: amoksisilin, SAM: ampisilin-sulbaktam, AMC: amoksisilin-klavulonik asit, TMP-SXT: trimetoprim/sulfometaksazol, CFX: sefuroksim, CFM: sefiksime, CIP: siprofloksasin, NIT: nitrofurantoin, FMT: fosfomisin trometamin

tedavi de ilk seçenek olarak kullanılmaması uygun olacaktır.

Günümüzde siprofloksasin özellikle polikliniğe başvuran ve basit sistit tanısı konulan kadın hastalarda yaygın olarak kullanılmaktadır(2). Bu çalışmada CIP'e karşı %18 oranında direnç saptanmıştır. Amerika Birleşik Devletlerinde Sürveyans Ağı Veritabanı (The Surveillance Network Database) sistemine kayıtlı mikrobiyoloji laboratuvarlarının 1995-2001 yılları arasındaki verilerinde, ÜSE tanısı alan kadınların idrar örneklerinden üretilen *E.coli* suşlarında 1995'de % 0.7 olarak bulunan siprofloksasin direncinin 2001'de % 2.5 olması araştırmacılar tarafından dikkat çekici olarak gösterilmiştir (13). Kinolon grubu ilaçlar ÜSE dışında da yaygın kullanım alanına sahiptir. Aynı zamanda bu grup ilaçlara karşı direnç gelişimi çapraz direnç şeklinde tüm kinolonlara aktarılabilmektedir(6). Direnç gelişiminin önüne geçebilmek için kinolon kullanımının mümkün olduğunca kısıtlanması uygun olacaktır(5). Bu

yüzden komplike olmayan ÜSE'lerde kinolonların yerine ikinci veya üçüncü kuşak oral sefalosporinlerin kullanılması düşünülebilir. ÜSE'de oral sefalosporinlerin başarıyla kullanıldığını gösteren çalışmalar vardır(14). Bu çalışmada CFM ve CFX direnci sırasıyla %6 ve %18 olarak saptanmıştır ve üçüncü kuşak oral sefalosporin olan CFM'in daha duyarlı olduğu bulunmuştur.

Nitrofurantoin erişkinlerde ortalama 400 mg/gün dozunda dörde bölünerek verilir ve alınan dozun %40'ı vücutta değişmeden böbreklerden atılır. Bu doz ile idrarda oluşturduğu konsantrasyon 200 g/ml dolayındadır ve bu konsantrasyonda duyarlı bakteriler üzerine bakterisid etki yapar. İdrar ve böbrek dışı dokularda ve vücut sıvılarında antibakteriyel etki oluşturacak bir konsantrasyona ulaşmaz (2). Bu çalışmada NIT direnci %4 olarak bulunmuştur. Karlowsky ve ark.ları (13) 1995-2001 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde *E.coli* suşlarında NIT direncini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda NIT direncinin (%0.4-0.8) anlamlı olarak artmadığını ve düşük oranlarda devam ettiğini rapor etmişlerdir. Yaklaşık 50 yıldır kullanılmasına rağmen onun değişik etki mekanizmalarına sahip olması bu değişmeyen ve düşük oranlarda saptanan direnç yüzdesini açıklayabilir aynı zamanda bu ilacın dar kullanım alanına sahip olması da bunda etkili olan bir faktördür. Nitrofurantoinin diğer oral kullanılan AMP, TMP-SXT, SAM, AMC ve CIP gibi ilaçlarla direnç oranları karşılaştırıldığında en düşük direnç oranının NIT'de olduğu saptanmıştır. Üropatojen *E.coli* izolatları için iyi bir seçenek olduğu düşünülebilir. Ancak IDSA'nın yayınlamış olduğu tedavi kılavuzunda NIT ile yedi günlük tedavi etkinliğinin TMP-SXT ile yapılan tedaviye benzer etkinlikte olabileceği veya olmayabileceği bu nedenle bu antibiyotik için kontrollü çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (4).

Fosfomisin bakteri hücre duvarını inhibe ederek bakterisidal etki yapan fosfonik asit türevi bir antibiyotiktir. Fosfomisin trometamin (FMT) (önceden fosfomisin trometamol olarak adlandırılırdı) oral olarak kullanılan formudur,

ağızdan alındığında iyi tolere edilir, tedavi verilen hastaların idrarında ve serumunda yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Tamamına yakın kısmı glomeruler filtrasyonla atılır, yarılanma ömrü serumda 5-8 saattir. Tek doz 3 gr. ağızdan alımını takiben idrardaki konsantrasyonu 128 mg/l seviyesine ulaşır ve 24-48 saat devam eder. Bu özelliklerinden dolayı FMT Avrupa'da komplike olmayan ÜSE'lerin tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır. FMT ile TMP-SXT arasındaki karşılaştırmalı çalışmalarda 3 gr tek doz FMT kullanımının komplike olmayan ÜSE'lerde klinik ve bakteriyolojik başarısının TMP-SXT ile benzer olduğu bulunmuş yalnızca küçük bir grupta tedavi başarısızlığı gözlenmiştir. Bunun içinde FMT'nin birden fazla doz şeklinde verilmesinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır (15).

Bu çalışmada *E.coli* izolatlarının NIT ve FMT'e oldukça duyarlı olduğu gözlenmiştir. Muhtemelen bu yüksek duyarlılık bölgemizde bu ilaçların ÜSE'lerde yaygın biçimde kullanılmamasına bağlı olabilir.

NIT, FMT ve CFM dışında test edilen tüm antibiyotiklere karşı saptanan yüksek direnç bu antibiyotiklerin ÜSE ve diğer enfeksiyonlarda, kontrolsüz ve fazla kullanılması ile açıklanabilir.

Sonuç olarak bölgemizde *E.coli*'nin neden olduğu ÜSE'lerde ampirik tedavide SAM, AMC ve TMP-SXT'nin kullanılmasının uygun olmayacağı saptanmıştır. *E.coli*'lerde SAM ve AMC duyarlılığının farklı olabileceği düşünülmeli, her iki antibiyotikte ayrı ayrı test edilip rapor edilmelidir. Kinolonların kısıtlı ve uygun endikasyonlarda kullanılması ile direnç oranlarının azaltılması hedeflenmelidir. Komplike olmayan ÜSE'lerin tedavisinde NIT ve FMT uygun bir seçenek olarak görülmektedir. Fakat bu konuda yapılacak karşılaştırmalı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR:

1. Sobel JD, Kaye D. Urinary tract infections. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000; 773-805.

2. Ertuğrul MB, Atila-Güleç L, Akal D ve ark. Üropatojen *Escherichia coli* suşlarının tedavide sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları. Klimik Derg 2004; 17(2): 132-6.
3. Chomarat M. Resistance of bacteria in urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents 2000; 16(4): 483-7.
4. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm AE. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Clin Infect Dis 1999; 29: 745-58.
5. Kahlmeter G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. J Antimicrob Chemother 2003; 51:69-76.
6. Gales AC, Sader HS, Jones RN, The SENTRY participants group (Latin America). Urinary tract infections trends in Latin American hospitals: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44:289-99.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard. NCCLS Document M2-A7. Wayne, Pa: NCCLS, 2000.
8. Kaye KS, Gold HS, Schwaber MJ, et al. Variety of β -lactamases produced by amoxicillin-clavulanate-resistant *Escherichia coli* isolated in the Northeastern United States. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 1520-5.
9. Oliver A, Perez-Vazquez M, Martinez-Ferrer M, Baquero F, DE Rafael L, Canton R. Ampicillin- sulbactam and amoxicillin-clavulanate susceptibility testing of *Escherichia coli* isolates with different β -lactam resistance phenotypes. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 862-7.
10. Kahlmeter G. Prevalence and antimicrobial susceptibility of pathogens in uncomplicated cystitis in Europe. The ECO.SENS study. Int J Antimicrob Agents 2003; 22: 49-52.
11. Lau SM, Peng MY, Chang FY. Resistance rates to commonly used antimicrobials among pathogens of both bacteremic and non-bacteremic community-acquired urinary tract infection. J Microbiol Immunol Infect 2004; 37: 185-91.
12. Colodner R, Keness Y, Chazan B, Raz R. Antimicrobial susceptibility of community-acquired uropathogens in northern Israel. Int J Antimicrob Agents 2001; 18: 189-92.
13. Karlowsky JA, Kelly LJ, Thornsberry C, Jones ME, Sahn DF. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 2540-5.
14. Mehnert-Kay SA. Diagnosis and management of uncomplicated urinary tract infections. Am Fam Physician 2005; 72: 451-6.
15. Schito GC. Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated urinary tract infections? Int J Antimicrob Agents 2003; 22: 79-83. Duckworth GJ, Williams JD. A comparison between single-dose fosfomycin trometamol (Monuril) and a 5-day course of trimethoprim in the treatment of uncomplicated lower urinary tract infection in women. Int J Antimicrob Agents 1998; 10: 39-47.

HATAY İLİNDE RİSK GRUPLARINDA Q ATEŞİ, BRUSELLOZ VE TOKSOPLAZMOZ SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI

Investigation of Seroprevalences of Q Fever, Brucellosis and Toxoplasmosis in Risk Groups in Hatay

Selçuk KILIÇ¹, Özkan ASLANTAŞ², Bekir ÇELEBİ¹, Dilek PINAR³, Cahit BABÜR¹

¹Refik Saydam Hıfzısıhha
Merkezi Başkanlığı
Salgın Hastalıklar Arş. Müd.
Parazitoloji Laboratuvarı
ANKARA

²Mustafa Kemal Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Mikrobiyoloji AbD
HATAY

³Mustafa Kemal Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Viroloji AbD
HATAY

İletişim:

Selçuk KILIÇ
Refik Saydam Hıfzısıhha
Merkezi Başkanlığı
Salgın Hastalıklar Arş. Müd.
Parazitoloji Laboratuvarı
Cemal Gürsel Cad. No: 18,
06100 ANKARA
Tel: 0312 458 21 69
Faks: 0312 458 24 08
E-posta:
selcuk.kilic@rshh.gov.tr,
mdskilic2003@yahoo.com

ÖZET

Amaç: Bu çalışma, Hatay ilinde zoonotik enfeksiyonlar için risk grubunu oluşturan veteriner hekimler, veteriner fakültesi öğrencileri ve mezbaha çalışanlarında Q ateşi, Bruselloz ve Toksoplazmoz'un seroprevalansını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: 21'i veteriner hekim, 43'ü veteriner fakültesi öğrencisi ve 43'ü mezbaha işçisinden olmak üzere alınan 107 serum örneği Q ateşi için indirekt floresan antikor testi (IFAT), bruselloz için mikro aglütinasyon testi (MAT) ve toksoplazmoz için Sabin Feldman dye testi (SFDT) ile incelenmiştir.

Bulgular: 43 mezbaha işçisinden 10'u (% 23.3), 21 veteriner hekim'in altısı (% 28.6) ve 43 veteriner fakültesi öğrencisinin altısında (%14) *C. burnetii* IgG antikorları yönünden seropozitif bulunurken, sadece bir mezbaha işçisinde *C. burnetii* IgM antikoruna saptanmıştır. Brucella MAT ile 25 (%23.4) serum örneğinde 1:10-1:160 arasında değişen titrelerde *Brucella* antikorları tespit edilmiştir. Akut enfeksiyon tanı kriteri olarak kabul edilen $\geq 1:160$ titre sadece bir mezbaha işçisinde saptanmıştır. *Toxoplasma gondii* antikorları yönünden mezbaha işçilerinin % 53.5'i, veteriner hekimlerin %42.9'u ve veteriner fakültesi öğrencilerinin ise % 20.9'u seropozitif olarak bulunmuştur.

Sonuç: Hatay ili'nde risk gruplarında Q ateşi ve Toksoplazmoz seroprevalansı yüksek olarak saptanmıştır. Bu nedenle, risk grubunu oluşturan meslek çalışanlarının zoonotik enfeksiyonlar yönünden bilinçlendirilmesi ve bölgede bu enfeksiyonların epidemiyolojik özelliklerinin aydınlatılması için daha ileri araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Risk grubu, Q ateşi, Bruselloz, Toksoplazmoz, Seroprevalans.

ABSTRACT

Objective: This study was carried out to determine seroprevalence of Q fever, Brucellosis and Toxoplasmosis among veterinarians, veterinary students and slaughterhouse workers who are in close contact with animals.

Method: A total of 107 sera consisting of 21 veterinarians, 43 veterinary students and 43 slaughterhouse workers were tested for Q fever by Indirect Fluorescence Antibody Test (IFAT), for Brucellosis by Micro Agglutination Test (MAT), for Toxoplasmosis by Sabin Feldman dye test (SFDT).

Results: Ten (23.3%) of 43 slaughterhouse workers, 6 (28.6%) of 21 veterinarians, and 6 (14%) of veterinary students were positive for the presence of *C. burnetii* IgG antibodies. However, only one slaughterhouse worker was seropositive for *C. burnetii* IgM antibody. Although Brucella antibodies ranging from 1:10 to 1:160 in risk groups were observed in 25 (23.4%) serum samples, an antibody titer of 1:160, which is considered seropositivity criterion for acute Brucellosis, was determined in only one serum sample belong to slaughterhouse workers. SFDT results showed that 53.5 % of slaughterhouse workers, 42.9% of veterinarians and 20.9% of veterinary medicine students were positive.

Conclusion: The high seroprevalence of Q fever and Toxoplasmosis obtained in this study suggests that people, especially those who are close contact with animals, should be warned and informed about zoonotic infections. In addition, further studies should be performed to elucidate epidemiology of mentioned zoonotic infections in this region.

Key Words: Risk group, Q Fever, Brucellosis, Toxoplasmosis, Seroprevalence.

GİRİŞ

Q ateşi, Bruselloz ve Toksoplazmoz hayvanları ve insanları etkileyen önemli zoonotik enfeksiyonlardır. Q ateşi *Coxiella burnetii*'nin insalarda oluşturduğu ve tüm dünyada yaygın olarak görülen sistemik bir enfeksiyon hastalığıdır (1). *Rickettsiaceae* ailesinin bir üyesi olan *C.burnetii*, vahşi ve evcil memeliler, kuşlar ve kene gibi artropotlar olmak üzere geniş bir rezervuara sahiptir (2). Ancak hastalığın insana bulaşmasında en önemli rezervuarlar koyun, keçi ve sığır gibi çiftlik hayvanlarıdır. Etken, çiğ veya pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile sindirim sisteminden, deri ve mukozalardan veya kontamine tozların inhalasyonu ile insana bulaşmaktadır. *C.burnetii*'nin insanlara bulaşmasında en önemli yol inhalasyondur (1, 2). Q ateşi genellikle mesleki bir hastalık olarak kabul edilmektedir ve çiftlik hayvanları ile temastaki kişiler, infekte hayvanlarla çalışan laboratuvar personeli ve veteriner hekimler yüksek riskte olan meslek grupları olarak tanımlanmaktadır (3,4). Türkiye'de farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda insanlarda enfeksiyonun seroprevalansının risk gruplarına göre değişmekle birlikte % 7-80 arasında olduğu bildirilmiştir (5-9).

Bruselloz; ülkemiz koyun ve sığır yetiştiriciliğini olumsuz etkileyen ve insan sağlığı açısından da ciddi tehdit oluşturan zoonotik bir enfeksiyondur. Enfeksiyon insanlara direkt temas, kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi veya inhalasyon ile bulaşmaktadır(10). Hayvanlarla veya hayvansal ürünlerle direkt teması olan veteriner hekim, hayvan yetiştiricisi, kasap, mezbaha işçileri gibi meslek gruplarında enfeksiyon daha sık olarak görülmektedir. Türkiye'de farklı bölgelerde yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda risk gruplarına göre değişmekle birlikte, Bruselloz seroprevalansının % 2.9-% 33 arasında olduğu bildirilmiştir (9, 11-15).

Toksoplazmoz, hücreiçi bir protozoon olan *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu önemli bir zoonozdur. İnsanlar, memeli hayvanlar ve kanatlılar ara konak, kediler ise hem ara hemde son konak olarak rol oynarlar. Etken, insanlara çiğ veya az

pişmiş etlerin tüketilmesi, kedi dışısındaki ookistler ile kontamine olmuş sebze ve meyvelerin yeterince yıkanmadan yenilmesi sonucu bulaşmaktadır (16). Türkiye'de Toksoplazmoz'un risk gruplarında seroprevalansını belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar genellikle mezbaha işçilerine yönelik olup diğer risk gruplarına yönelik yeterli çalışma bulunmamaktadır. Türkiye'de farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda, mezbaha işçilerinde *T. gondii* seroprevalansının % 44.4-48.83 arasında değiştiği bildirilmiştir (17-20).

Hatay yöresinde, risk gruplarında zoonotik enfeksiyonlar yönünden yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada Hatay yöresinde Q ateşi, Bruselloz ve Toksoplazmoz'un risk gruplarındaki seroprevalansının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 21 veteriner hekim, 43 veteriner fakültesi öğrencisi ve 43 mezbaha işçisi olmak üzere toplam 107 kişiden kan örneği alınmıştır.

C. burnetii Faz II'ye karşı oluşan IgG ve IgM antikorlarının saptanmasını amacıyla indirekt fluoresan antikor testi (Vircell SL, Granada, İspanya) kullanılmıştır. Geçirilmiş enfeksiyon veya temas göstergesi olarak IgG antikorları için $\geq 1:16$ titreler pozitif kabul edilmiştir (21). Akut Q ateşi açısından Faz II IgM $\geq 1:24$ ve IgG $\geq 1:64$ titreler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Serum örneklerindeki Brucella antikorları mikroaglutinasyon testi (MAT) ile araştırılmıştır (22). MAT ile ≥ 160 titreler akut enfeksiyon tanısı açısından pozitiflik, $\geq 1/40$ titreler ise Brucella etkenleri ile temasın göstergesi olarak pozitif kabul edilmiştir (23,24).

Serum örneklerindeki anti-*T. gondii* antikorları Sabin Feldman Boya Testi (SFDT) ile çalışılmıştır. SFDT'de; Swiss-Albino tipi üç-dört haftalık sağlıklı beyaz fareler, aktivatör serum olarak *T.gondii* antikorlu olmayan ve magnezyum, properdin, C₂, C₃, C₄ gibi faktörlerden zengin insan serumu ile canlı antijen olarak, *T.gondii* RH suşunun farelerin periton

sıvısından elde edilen 48 saatlik pasajları kullanılmıştır.

Serumlar 56°C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra, serum fizyolojik ile 1/4, 1/16, 1/64, 1/256 ve 1/1024 olarak sulandırılmış ve bu sulandırmalardan 25 ml yan tüplere geçilmiştir. 25 ml aktivatör serum içerisinde canlı *T.gondii* takizoitlerinden X40 objektif ile her mikroskopi sahasında ortalama 25 adet olacak şekilde ayarlanmış antijen, yan tüplerdeki serum sulandırmaları üzerine ilave edilmiştir. Tüpler, 37 °C su banyosunda 50 dakika inkübe edildikten sonra aynı miktar alkali metilen mavisi eklenmiş ve 37 C'deki su banyosunda 10 dakika inkübe edilmiştir. Sonuçlar, ışık mikroskopunda (X40 büyütme ile) *T.gondii* trofozoitlerinin boya alma durumlarına göre değerlendirilmiştir. Bir mikroskop sahasında bulunan takizoitlerden %50'sinden fazlasının boya almadığı sulandırmalar Toksoplazmoz yönünden pozitif olarak değerlendirilmiş ve $\geq 1:16$ titreler pozitif kabul edilmiştir (25).

BULGULAR

İncelenen 107 örneğin 22'inde (%20.6) *C. burnetii* faz II antijenine karşı gelişen IgG saptanmıştır. Çalışma gruplarına göre seropozitiflik incelendiğinde ise; mezbaha işçilerinin 10'u (%23.3), veteriner hekimlerin altısı (%28.6) ve veteriner fakültesi öğrencilerinin altısı (% 14) pozitif olarak bulunmuştur. Bir (% 0.9) mezbaha işçisine ait serum örneğinde 1:24 titrede *C. burnetii* IgM ile 1:256 titrede IgG antikor saptanmış ve akut Q ateşi olarak değerlendirilmiştir (Tablo 1).

Tablo. 1: gruplarında IFAT ile tespit edilen Q ateşi seropozitifliği ve titre dağılımı

	Pozitif		Titreler			
	n	%	1:16	1:64	1:128	1:256
Veteriner Hekim(n:21)	6	28.6	2	3	1	-
Veteriner Fakültesi Öğrencisi (n:43)	6	14	2	2	2	-
Mezbaha İşçisi (n:43)	10	23.3	1	6	1	2
Toplam (n:107)	22	20.6	5	11	4	2

Tablo 2'de görüldüğü gibi *Brucella* MAT ile incelenen 107 örneğin 25'inde (%23.4) 1:10-1:160

arasında değişen titrelerde *Brucella* antikorları saptanmıştır. Veteriner hekimlerde % 19, veteriner fakültesi öğrencilerinde %4.7 ve mezbaha çalışanlarında %4.7 oranında seropozitiflik saptanmıştır. Tüm gruplar dikkate alındığında ise seropozitiflik oranı %7.5 olarak bulunmuştur. Akut enfeksiyon için pozitif olarak kabul edilen ≥ 160 titre ise sadece bir (%0.9) mezbaha işçisinde gözlenmiştir (Tablo 2).

Tablo.2: gruplarında MAT ile tespit edilen Bruselloz antikor titreleri.

Risk Grubu	Titreler				
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
Veteriner Hekim(n:21)	2	2	3	1	-
Veteriner Fakültesi Öğrencisi (n:43)	6	-	-	2	-
Mezbaha İşçisi (n:43)	1	5	1	-	1
Toplam (n:107)	10	7	4	3	1

Risk grubunu oluşturan kişilerden alınan 107 serum örneğinin 41'i (%38.3) Toksoplazmoz yönünden seropozitif bulunmuştur. Meslek gruplarına göre seropozitiflik oranları incelendiğinde; mezbaha işçilerinin %53.5'inde, veteriner hekimlerin %42.9'unda ve veteriner fakültesi öğrencilerinin ise %20.9'unda pozitiflik saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo.3: Risk gruplarında SFDT ile tespit edilen Toksoplazmoz seropozitifliği ve titreleri.

Risk Grubu	Pozitif		Titreler		
	n	%	1:16	1:64	1:256
Veteriner Hekim(n:21)	9	42.9	3	5	1
Veteriner Fakültesi Öğrencisi (n:43)	9	20.9	6	3	-
Mezbaha İşçisi (n:43)	23	53.5	14	7	2
Toplam (n:107)	41	38.3	25	16	3

TARTIŞMA

Zoonotik enfeksiyonlar çeşitli meslek gruplarını etkileyen potansiyel halk sağlığı problemleridir ve hayvancılık açısından önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle, zoonotik enfeksiyonların gerek insanlarda gerekse de hayvanlarda insidans ve prevalansının belirlenmesi önem taşımaktadır.

Dünyada risk gruplarında Q ateşinin prevalansını saptamak amacıyla az sayıda çalışma yapılmıştır. *C. burnetii* faz II'ye karşı gelişen antikorlar veteriner hekimlerde Kanada'da %49, İngiltere'de %20, İsviçre'de %25.7 ve Japonya'da %22.7 olarak bulunmuştur. Mezbaha çalışanlarında ise Kanada'da %35, A.B.D'de et işleme tesislerinde çalışan işçilerde %40, İngiltere'de %30, Japonya'da et işleme tesislerinde çalışan işçilerde %7.5 olarak bulunmuştur (2-4,23,24). Cubuti'de mezbaha çalışanlarında yapılan bir çalışmada ise *C. burnetii* antikorları saptanamamıştır (25). Bu çalışmalarda elde edilen seroprevalans oranlarındaki farklılıklar, coğrafik koşullara, hayvanlardaki prevalansa, mesleki uygulama özelliklerine, kullanılan serolojik yöntem ve tanısal titre değerlerine bağlıdır.

Q ateşinin insan ve hayvanlarda yaygınlığı ülkemizin farklı bölgelerinde değişik zamanlarda yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (5-9). Ergönül ve ark. (9), veteriner hekimlerde Aydın'da %7 ve Tokat'ta %8, Çetinkaya ve ark. (7), Elazığ'da çiftçilerde %12.5, mezbaha işçilerinde %12.1, veteriner hekimlerde %7.7, Özgür ve ark. (5), İstanbul'da veteriner hekimlerde %26, veteriner sağlık teknisyenlerinde %80, mezbaha işçilerinde %75, çiftlik çalışanlarında %72 ve veteriner fakültesi öğrencilerinde %33.3, Seyitoğlu ve ark. (8), Erzurum'da çiftçilerde %19.6 ve Özyer ve ark. (6), Çukurova bölgesinde pnömoni şikayeti olan değişik yaş gruplarındaki insanlarda %35.8 oranında seroprevalans bildirmişlerdir.

Çalışmamızda toplam seropozitiflik oranı %20.5 olarak bulunmuştur. En yüksek seroprevalans oranı ise %28.6 olarak veteriner hekimlerde saptanmıştır. Seropozitif olarak bulunan altı veteriner hekim görev itibarı ile hayvanlarla yakın teması olan kişiler olup; üçü veteriner fakültesinde (öğretim üyesi), ikisi Tarım İl Müdürlüğü Hayvan Sağlığı Şubesi'nde ve biri de Antakya Belediye Mezbahası'nda görev yapmaktadır. Araştırmamızda ikinci sırada yüksek seroprevalans oranı (%18.6) mezbaha işçilerinde tespit edilmiştir. Veteriner fakültesi öğrencilerinin altısı (%13.9) seropozitif bulunmuştur. Seropozitif

bulunan öğrencilerin beşinin evlerinde farklı türden hayvan besledikleri belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen seropozitiflik oranları, Elazığ, Aydın ve Tokat illerinde veteriner hekimler ile mezbaha çalışanlarında elde edilen seroprevalans oranlarından daha yüksektir. Diğer çalışmalarda $\geq 1/64$ ve $\geq 1/80$ gibi hastalık tanısı için kullanılan titrelerin risk grubu için de kullanılması bu çalışmalardan elde edilen seroprevalans değerlerinin daha düşük bulunmasına ve coğrafik koşullara bağlı olarak hayvan yetiştirme koşullarına ve hayvanlardaki prevalans oranlarına bağlı olabilir.

Bruselloz ülkemizin de yer aldığı Akdeniz ülkelerinde görülen endemik seyirli zoonotik bir enfeksiyondur. Ancak, ülkemizde süt ve süt ürünleri hazırlama ve tüketim alışkanlıklarına bağlı olarak brusellozun gerçek prevalansı tam olarak bilinmemektedir. 1987 yılında TÜBİTAK projesi olarak çok merkezli olarak yürütülen bir projede, çeşitli kesimlerden alınan 70009 örnek SPOT, Rose-Bengal ve standart tüp aglütinasyon testleriyle (STA) incelenmiş ve genel populasyonda %1.8, risk gruplarında ise %6 oranında seropozitiflik saptanmıştır (24).

Ülkemizde risk gruplarındaki çalışmalar genellikle hayvancılıkla uğraşanlar, besiciler, mezbaha çalışanları, mandıra çalışanları, kasaplar, celepler ile gıda sektöründe hizmet verenler üzerinde yapılmıştır. Brusellozun seroprevalansını belirlemeye yönelik çalışmalarda farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda, veteriner hekimlerde %20-33, çiftçilerde %6.2-25, mezbaha ve mandıra çalışanlarında %2-5.7 ve kasaplarda %2.9-21 arasında değişen seroprevalans oranları bildirilmiştir (9,11-15, 24-28). Bu çalışmalarda ki seropozitiflik oranları arasındaki büyük farklılıklar, çalışmanın yapıldığı coğrafik bölgeye, çalışmaların değişik meslek gruplarında ve mevsimlerde yapılması ile serolojik testlerde farklı titrelerin pozitif kabul edilmesi gibi faktörlere bağlıdır. Bu çalışmalarda, akut Brusellozlu hastaların saptanması değil, etkenle temasın gösterilmesi amaçlandığı için daha düşük STA titreleri tanısal titre olarak kullanılmalıdır (23,

24).

Araştırmamızda ise, risk gruplarında seropozitiflik oranı %7.2 olarak bulunmuştur. Çalışma gruplarında incelendiğinde, veteriner hekimlerde %19, veteriner fakültesi öğrencilerinde %4.6 ve mezbaha çalışanlarında %4.6 oranında pozitiflik saptanmıştır. Veteriner sağlık teknisyenlerinde ise *Brucella* antikoru tespit edilememiştir. Akut enfeksiyon için pozitif olarak kabul edilen ≥ 160 titre ise sadece bir (%0.9) mezbaha işçisinde gözlenmiştir. Çalışmamızda saptanan seroprevalans oranı ülkemizdeki çalışmalardan elde edilen veriler ile uyumlu olarak bulunmuştur.

Toksoplazmoz, insan sağlığını tehdit eden ve genellikle asemptomatik seyirli zoonotik bir enfeksiyondur (16). Hayvan ve hayvan ürünleri ile ilişkisi olan meslek gruplarında toksoplazmozun yaygınlığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (29). Türkiye'nin değişik bölgelerinde yapılan çalışmalarda mezbaha işçilerinde enfeksiyonun seroprevalansı, Diyarbakır'da %46 (17), Ankara'da %44.4 (18), Kırıkkale'de %44.7 (19), Mersin'de %46 (20) ve Şanlıurfa'da %48.83 (30) olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada, mezbaha işçilerinde saptanan seroprevalans oranı (%53.5) araştırmacıların sonuçlarına paralellik göstermektedir. Yurdumuzda farklı risk gruplarında yapılmış bir çalışma bulunmadığından, çalışmada diğer risk gruplarında elde edilen seroprevalans oranları karşılaştırılmamıştır. Ancak, elde edilen yüksek seroprevalans oranları konunun önemini yeterince bilinmediğini ve gerekli önlemlerin alınmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda, Hatay ilindeki risk gruplarında Q ateşi ve toksoplazmoz seroprevalansı yüksek olarak bulunması nedeniyle, risk grubunu oluşturan meslek çalışanlarının zoonotik enfeksiyonlar yönünden bilinçlendirilmesi ve bölgede zoonotik enfeksiyonların epidemiyolojik özelliklerinin aydınlatılması için daha ileri araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Hatay bölgesinde insanlarda brusellozun önlenmesi için,

hastalığın hayvanlarda kontrol ve eradikasyonuna yönelik tedbirlerin alınması, pastörize edilmemiş ve/veya kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin tüketilmemesi, risk grubunda yer alan kişilerin hayvanlarla temas veya bunlara ait atık materyali sırasında koruyucu önlemlerin alınması gerektiği konusunda bilgilendirilmelidir.

KAYNAKLAR:

1. Maurin M, Raoult D. Q fever. Clin Microbiol Rev 1999;12:518-553.
2. McQuiston JH, Childs JE. Q fever in humans and animals in the United States. Vector Borne and Zoonotic Diseases 2002; 2: 179-191.
3. Behymer, D, Riemann HP. Zoonosis update, *Coxiella burnetii* infection. JAVMA 1989; 194:764-767.
4. Marrie TJ, Fraser J. Prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* among veterinarians and slaughterhouse workers in Nova Scotia. Can Vet J 1985; 26: 181-4.
5. Özgür NY, Hasöksüz M, Yılmaz H, İkiz S, Ilgaz A. Risk grubundaki insanlarda *Coxiella burnetii* antikoru araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1996; 26:109-113.
6. Özyer M, Mirioğlu M, Köksal F. Çukurova bölgesinde yaşayan insan ve hayvanlarda Q-fever enfeksiyonu insidansının komplement fikzasyon testi ile araştırılması. Pendik Hayv Hast Merk Araşt Enst derg 1990;21(2): 28-39.
7. Çetinkaya B, Kalender H, Ertaş HB et al. Seroprevalence of Coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey. Vet Rec 2000; 146: 131-136.
8. Seyitoğlu Ş, Özkurt Z, Dinler U, Okumuş B. The seroprevalence of Coxiellosis in farmers and cattle in Erzurum district in Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2006;30: 71-75.
9. Ergönül Ö, Zeller H, Kılıç S, Kutlu S, Kutlu M, Cavusoglu S, Esen B, Dokuzoğuz B. Zoonotic infections among veterinarians in Turkey: Crimean-Congo hemorrhagic fever and beyond. Int J Infect Dis 2006;10(6):465-69.
10. Wright SG. Brucellosis. In: Strickland GT, ed. Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases. 8th edition. Philadelphia; W.B. Saunders, 2000: 417-425.
11. Çolak H, Usluer G, Karagüven B, Köse Ş, Özgüneş İ. Kırsal kesimde seroepidemiolojik Bruselloz araştırması. İnfek Derg 1991; 5: 83-86.
12. Durmaz R. Malatya'daki kasaplarda inaparan Bruselloz sıklığı. İnfek Derg 1990; 4:231-234.

13. Gürel A. Denizli ve yöresinde insan ve sığır kan serumlarının Brusellozis yönünden serolojik yöntemlerle karşılaştırmalı incelenmesi. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ. 1992.
14. Kalkan A, Felek S, Akbulut A, Papila Ç, Demirdağ K, Kılıç SS. Elazığ yöresinde çeşitli risk gruplarında Bruselloz seroprevalansının belirlenmesi. İnfek Derg 1999;13: 227-230.
15. Kıyan M, Cengiz AT, Göz M, Dolapçı Gİ. Kasapların serumlarında Brucella aglutinin titrelerinin dağılımı. Mikrobiyol Bül 1999;33; 29-36.
16. Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis in animals and man. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1988:1-220.
17. Sarnıç H. *Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. Diyarbakır Üniv Tıp Fak Derg 1976; 5: 565-585.
18. Babür C, Tanyüksel M, Gün H, Tunaoglu M, Güvener E. Ankara Et ve Balık Kurumu mezbaha çalışanlarında Sabin Feldman dye testi (SFDT) ve Vitek Immuno Diagnostic Assay System (VIDAS) tekniği ile anti-toksoplasma antikorlarının araştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg 1995;52: 87-92.
19. Yıldız K, Babür C, Kılıç S, Aydenizöz M, Dalkılıç İ. Kırıkkale Mezbahası'nda kesilen koyun ve sığırlar ile mezbaha çalışanlarında anti-Toxoplasma antikorlarının Araştırılması. T Parazitoloj Derg 2000; 24: 180-185.
20. Öztürk C, Babür C, Aslan G. Mersin yöresinde koyunlarda ve mezbaha çalışanlarında Sabin-Feldman boya testi ile anti-Toxoplasma antikorlarının araştırılması. Genel Tıp Derg 2002;12; 21-24.
21. Htwe KK, Yoshida T, Hayashi S et al. Prevalence of Antibodies to *Coxiella burnetii* in Japan. J Clin Microbiol 1993;31(3): 722-723.
22. Marrodan T, Nenova-Poliakova R, Rubio M et al. Evaluation of three methods to measure anti-Brucella IgM antibodies and interference of IgA in the interpretation of mercaptan-based tests. J Med Microbiol 2001;50(8): 663-666.
23. Young EJ. Serologic diagnosis of human Brucellosis: analyses of 214 cases by agglutination tests and review of literature. Rev Infect Dis 1991;13:359-72.
24. Çetin ET, Çoral B, Bilgiç A ve ark. Türkiye'de insanda Bruselloz insidansının saptanması. Doğa Türk J Med Sci 1990;4:324-34.
25. Sabin AB, Feldman HA. Dyes as microbial indicators of new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science 1948;108: 660:663.
26. Moffat, M. A. J. 1990. Zoonotic implications of Q fever and chlamydial infections in animals and man. Part 1-Q fever. Ir.Vet. J. 43:115-117.
27. Chantal J, Bessiere MH, Le Guenno B, Magnaval JF, Dorchies P. Serologic screening of certain zoonoses in the abattoir personnel in Djibouti Bull Soc Pathol Exot. 1996;89(5):353-7.
28. Özbakkaloğlu B, Tüngör Ö, Dinç G ve ark. Manisa ilinde risk gruplarında Bruselloz seroprevalansı. İnfek Derg 1998;12(4):453-457.
29. Gödekmerdan A, Kalkan A, Kizirgil A, Demirdağ K. Hayvancılıkla ilgili meslek gruplarında anti-Toksoplasma antikorlarının araştırılması. 10. Ulusal Parazitoloji Kongresi. 8-12 Eylül 1997, Ankara.
30. Aslan G, Babür C. Şanlıurfa'da koyun ve sığırlar ile mezbaha çalışanlarında *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2002;32;102-105.

FENKONUN LETAL DOZ DÜZEYLERİ İLE ANTİENFLAMATUVAR AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Investigation of Lethal Dose Levels and Anti-Inflammatory Effect of Fenchone

Hanefi ÖZBEK

Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Farmakoloji AbD
VAN

İletişim:
Hanefi ÖZBEK
Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tıp Fak.
Farmakoloji AbD
65300 VAN
Tel: 0542 477 1575
Faks: 0432 216 83 52
E-posta:
hanefiozbek@hotmail.com

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, fenkonun farelerde letal doz düzeyleri ile sıçanlarda carrageenan'la oluşturulmuş sağ-arka pençe ödemi modelinde antienflamatuvar etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Altı ayrı çalışma grubu (n=6) oluşturularak, buna göre serum fizyolojik kontrol, etil alkol kontrol, indometazin (3 mg/kg) referans grupları ile FN'nin 0.05 ml/kg, 0.10 ml/kg ve 0.20 ml/kg grupları oluşturulmuştur. Sıçanların sağ arka-pençeleri pletismometre aracılığı ile ölçüldükten sonra ilaçlar periton içine, lambda-carrageenan plantar bölgeye derialtı yolla uygulanmıştır. Bu uygulamadan üç saat sonra sağ-arka pençe hacmi tekrar ölçülmüştür. Her iki ölçüm arasındaki fark gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Çalışma sonunda indometazin'in % 95.70, FN 0.05 ml/kg dozunun % 45.87, FN 0.10 ml/kg dozunun % 53.15 ve FN 0.20 ml/kg dozunun ise % 70.60 oranında antienflamatuvar etkinlik gösterdiği saptanmıştır. Her üç dozdaki FN'nin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede antienflamatuvar etkinlik gösterdiği ancak bu etkinliğin indometazin'e göre daha zayıf olduğu tespit edilmiştir. FN'nin medyan etkin doz (ED₅₀) seviyesi 0.133 ml/kg ve medyan letal doz seviyesi (LD₅₀) 0.943 ml/kg olarak hesaplanmıştır.

Sonuç: Rat modeli ile yapılan bu çalışmada FN'nin antienflamatuvar etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Fenkon, carrageenan, sıçan, antienflamatuvar etki, letal doz.

ABSTRACT:

Objective: In this study, it was aimed to determine the median lethal dose (LD₅₀) level of Fenchone (FN) in mice and anti-inflammatory effect in rats by using carrageenan- induced right hind-paw edema model.

Method: The study involved six different groups these are; Serum physiologic, ethyl alcohol, indomethacin (3 mg/kg), FN (0.05 ml/kg) FN (0.10 mg/kg) and FN (0.20 ml/kg). After measuring the volumes of right hind-paws of rats using a plethysmometer, drugs were injected intraperitoneally and lambda-carrageenan were injected subcutaneously into the plantar region. Three hours after the injections the volume measurements of the right hind-paws were repeated and the differences between the groups were statistically compared.

Results: It was found that reduction of the inflammation was 95.70% with indomethacin, 45.87% with 0.05 ml/kg FN, 53.15% with 0.10 ml/kg FN and 70.60% with 0.20 ml/kg FN. All doses of the FN used showed statistically significant anti-inflammatory effect compared to the control groups. The anti-inflammatory effect of all doses of FN were weaker than the effect of indomethacin. The median effective dose (ED₅₀) of FN was determined as 0.133 ml/kg and the median lethal dose (LD₅₀) of FN was determined as 0.943 ml/kg.

Conclusion: It can be assumed that FN has anti-inflammatory effect.

Keywords: Fenchone, carrageenan, rat, anti-inflammatory activity, lethal dose.

Bu çalışma "Türk Farmakoloji Derneği 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi'nde (28 Eylül-1 Ekim 2005)" 116 no'lu poster bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

(1R)-(-)-fenkon ($C_{10}H_{16}$), *Ocimum basilicum*, *Foeniculum vulgare*, *Tetradenia ripari* ve *Thuja orientalis* gibi bir çok bitkinin içeriğinde bulunan terpenik bir bileşiktir (1-4).

Fenkonun (FN) *Plasmodium falciparum*'un iki suşuna karşı orta derecede aktivite gösterdiği (1), Sartorius modelinde Ca, Mg, S ve Zn'nun yanında fenkonun da membranlardan geçtiği (5), *Dermatophagoides spp.*'ya karşı akaridal aktiviteye sahip olduğu (3), kafein ve hidrokortizonun transdermal geçişini artırdığı (6) gösterilmiştir.

Ülkemizde tarımı yapılan *F. vulgare* (rezene) Miller'in uçucu yağ ekstresi ile ilgili olarak yapmış olduğumuz bir dizi fitoterapi çalışmasında, uçucu yağ ekstresinin antienflamatuvar etkisi gösterilmiş olup, gaz kromatografi analiziyle *F. vulgare* uçucu yağ içeriğinin % 74.8 trans-anetol, % 11.1 limonen, % 4.7 metil kavikol, % 2.5 fenkon, % 1.3 alfa-pinen ve % 1.2 Z-(B)-osimen'den oluştuğu saptanmıştır (7, 8).

F.vulgare uçucu yağına ait antienflamatuvar etkinliğin hangi kimyasal bileşik veya bileşiklerden kaynaklandığını araştırmak için planlanan bir dizi çalışmadan biri olan bu araştırmada, (1R)-(-)-fenkon (FN)'un letal doz düzeyleri ve antienflamatuvar etkisi deney hayvanları üzerinde çalışılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Fenkon, indometazin ve lambda-carrageenan Sigma'dan (Steinheim, Germany) sağlanmıştır. Lambda-carrageenan serum fizyolojik (% 0.9'luk NaCl) içerisinde, indometazin ise etil alkolde çözülmüştür.

Bu çalışmada *Mus musculus swiss albino* fareler (24-32 gram) ve *Sprague-Dawley* ırkı (150-200 gram) erkek ve dişi cinsiyette sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanları Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilmiştir. Hayvanlar 12 saat ışık, 12 saat karanlık ritminde ışıklandırılan, 22 ± 2 °C'deki odalarda, çeşme suyu ve standart pelet yem (Van Yem Fabrikası) ile beslenmiş, yem ve su alımı serbest bırakılmıştır. Deney hayvanları standart plastik kafeslerde (Değişim Ltd.,

İstanbul) barındırılmıştır. Çalışma yapılmadan önce Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar sayısı: 2004/05-03).

Her biri altışar adet erkek fare içeren altı adet çalışma grubu oluşturulmuş, birinci gruba sadece 0.1 ml % 0.9'luk serum fizyolojik (SF), diğer gruplara ise sırasıyla 0.4, 0.8, 1.6, 2.4 ve 3.2 ml/kg akut toksisitesi araştırılacak madde uygulanmıştır. Tüm uygulamalar (periton içi) IP yolla yapılmıştır. 72 saat sonra çalışma gruplarındaki ölü hayvanlar sayılmıştır. Probit analiz metodu uygulanarak letal doz düzeyleri (LD_{10} , LD_{50} , LD_{90} ve LD_{99} olacak şekilde) hesaplanmıştır (9, 10).

Winter ve ark.'nın metodu kısmen modifiye edilerek uygulanmıştır (11). FN dozları LD_{10} düzeyinin altında kalacak şekilde ayarlanmış ve çalışma grupları aşağıdaki gibi düzenlenmiştir:

Grup 1: Serum fizyolojik, 0.1 ml,

Grup 2: Etil alkol, 0.1 ml,

Grup 3: İndometazin (3 mg/kg) (12),

Grup 4: FN (0.05 ml/kg),

Grup 5: FN (0.10 ml/kg),

Grup 6: FN (0.20 ml/kg).

Sağ arka pençe, ilaç uygulamasından önce pletismometre (Ugo Basile 7140, İtalya) ile ölçülmüştür. İlaç uygulamasından sonra pençenin sub-plantar bölgesine 0.05 ml lambda carrageenan çözeltisi (antienflamatuvar madde) verilmiştir. Lambda carrageenan uygulamasından üç saat sonra pençe pletismometre ile tekrar ölçülmüştür. Enflamatuvar reaksiyonun yüzde cinsinden inhibisyonu, her bir hayvan için kontrol grubuyla karşılaştırılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (9):

$$\%I = [(1 - (dt/dc))] \times 100$$

dt : İlaç uygulanan grubun pençesindeki hacim farkı.

dc : Kontrol grubunun pençesindeki hacim farkı.

Gruplara ait veriler ortalama \pm standart hata ortalaması olarak ifade edilmiş, istatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. Gruplar arasındaki farklılığı göstermek için post-hoc

LSD (least significant difference) testi kullanılmıştır. Letal doz seviyesinin saptanmasında probit analizi yöntemi, medyan etkin dozun hesaplanmasında ise non-lineer regresyon analizi yöntemi kullanılmıştır. Hesaplamalar Sigmaplot 9.0 ve MS Office XP (Excel) paket programlarında yapılmıştır.

BULGULAR

Fenkona ait letal doz seviyeleri Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre FN'nin LD₅₀ dozu 0.943 ml/kg olarak saptanmıştır.

Çalışma gruplarının antienflamatuvar etkinlik yönünden pençe ödemi hacmi ve % inhibisyon değerleri Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre lambda carrageenan'la oluşturulmuş enflamasyonu indometazin'in % 95.70, FN (0.05 ml/kg) grubunun % 45.87, FN (0.10 ml/kg) grubunun % 53.15 ve FN (0.20 ml/kg) grubunun ise % 70.60 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir. İndometazin ve FN gruplarının gösterdiği antienflamatuvar aktivite kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). FN grupları ile indometazin grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış, bu durum indometazinin tüm FN gruplarına göre daha güçlü bir antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğu şeklinde yorumlanmıştır. FN'nin 0.05 ml/kg dozu FN grupları içerisinde en zayıf antienflamatuvar etkinliğe, FN 0.20 ml/kg dozu ise en güçlü antienflamatuvar etkinliğe sahip olarak tespit

edilmiştir. FN 0.05 ml/kg grubu ile FN 0.20 ml/kg grubu arasındaki fark da anlamlı bulunmuştur.

Tablo 1. Fenkon molekülünün probit analizi sonuçları.

	Letal Doz Düzeyleri(ml/kg)		
	Ortalama doz	%95 güven aralığı sınırları	
		Alt Sınır	Üst sınır
LD ₁	0.201	0.025	0.391
LD ₁₀	0.403	0.111	0.649
LD ₅₀	0.943	0.560	1.508
LD ₉₀	2.209	1.407	7.052
LD ₉₉	4.419	2.358	31.337

TARTIŞMA

Carrageenan'la oluşturulmuş akut enflamasyon modeli sıçan veya farelerin plevra (10) veya sağ arka pençesinde (13, 14) çalışılan ve yaygın olarak kullanılan bir antienflamatuvar aktivite araştırma yöntemidir. Bu yöntemde göre aktivitesi saptanan etkin maddenin bilinen bir antienflamatuvar ilaçla (referans ilaç) karşılaştırılması için genellikle indometazin (13) veya Fenilbutazon gibi bir antienflamatuvar ilaç kullanılmaktadır (15). Bu çalışmada yöntem olarak sıçanlarda carrageenan'la oluşturulmuş sağ-arka pençe ödemi yöntemi, referans ilaç olarak da indometazin seçilmiştir.

Bu çalışma ile fenkon molekülünün sıçanlarda lambda-carrageenan'la oluşturulmuş akut sağ pençe

Tablo 2. Grupların pençe ödemi ve % inhibisyon değerleri.

Gruplar	Doz	Pençe ödemi(%ml)	İnhibisyon(%)
Kontrol (SF)	0.1 ml	1.043 ± 0.127	-
Kontrol (etil alkol)	0.1 ml	0.988 ± 0.112	-
İndometazin	3 mg/kg	^{ab} 0.024 ± 0.006	95.70
FN	0.05 ml/kg	^{abc} 0.565 ± 0.056	45.87
FN	0.10 ml/kg	^{abc} 0.489 ± 0.075	53.15
FN	0.20 ml/kg	^{abcd} 0.307 ± 0.040	70.60
<i>F değeri / p değeri</i>		26.592 / 0.000	

FN için ED50: 0.133 ml/kg

Post-hoc LSD testi:

a: $p < 0.05$ kontrol-grubu ile (SF) karşılaştırma,

b: $p < 0.05$ kontrol-grubu ile (etil alkol) karşılaştırma,

c: $p < 0.05$ indometazin grubu ile karşılaştırma.

d: $p < 0.05$ FN (0.05 ml/kg) grubu ile karşılaştırma.

enflamasyonu modelinde, doza bağımlı olarak artan bir antienflamatuvar etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. *F. vulgare* Miller uçucu yağının 0.20 ml/kg (ip) dozunda carrageenan'la oluşturulmuş pençe ödemi % 56.78 oranında geriletliği Özbek tarafından bildirilmiştir (7). *F. vulgare* Miller uçucu yağının bir bileşiği olan fenkon molekülünün, bu çalışmada gösterilen antienflamatuvar etkisi, Özbek'in çalışması ile paralellik göstermektedir. Fenkonun tek başına % 70.60 oranında yaptığı inhibisyona karşılık, *F. vulgare* uçucu yağı ekstresinin % 56.78 oranında inhibisyon yapması, *F. vulgare* uçucu yağı içerisindeki diğer bileşiklerin (alfa-pinen, limonen, trans-anetol vs. gibi) birbirlerinin etkisini kısıtladığı yönünde yorumlanabilir.

F. vulgare Miller ve fenkonun antienflamatuvar etkinliği ile ilgili başka bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Farklı merkezlerde bu konuda yapılacak başka çalışmalar da aynı sonucu verdiği takdirde fenkon molekülünün antienflamatuvar etkili bir ilaç adayı olarak farmakolojik ve toksikolojik yönden faz çalışmalarına başlanıp ülkemiz adına yeni bir antienflamatuvar ilacın piyasaya sürülmesi umut edilebilir.

Sonuç olarak (1R)-(-)-fenkonun LD₅₀ dozunun 0.943 ml/kg olduğu, indometazinden daha zayıf olmakla birlikte anlamlı seviyede antienflamatuvar etkinliğe sahip olduğu (ED₅₀=0.133 ml/kg) söylenebilir.

KAYNAKLAR:

1. Campbell WE, Gammon DW, Smith P, Abrahams M, Purves TD. Composition and antimalarial activity in vitro of the essential oil of *Tetradenia riparia*. *Planta Med* 1997; 63(3): 270-2.
2. Chiang LC, Ng LT, Cheng PW, Chiang W, Lin CC. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005; 32(10): 811-6.
3. Lee HS. Acaricidal activity of constituents identified in *Foeniculum vulgare* fruit oil against Dermatophagoides spp. (Acari: Pyroglyphidae). *J Agric Food Chem* 2004; 52(10): 2887-9.
4. Chizzola R, Hochsteiner W, Hajek S. GC analysis of essential oils in the rumen fluid after incubation of *Thuja orientalis* twigs in the Rusitec system. *Research on Veterinary Science* 2004; 76: 77-82.
5. Lado C, Hajdu M, Farkas E, Then M, Taba G, Szentmihalyi K. Study on the transfer of components of *Aetheroleum carvi* and *Aetheroleum foeniculi* oils. *Fitoterapia* 2005; 76(2): 166-72.
6. Godwin DA, Michniak BB. Influence of drug lipophilicity on terpenes as transdermal penetration enhancers. *Drug Dev Ind Pharm* 1999; 25(8): 905-15.
7. Özbek H. The anti-inflammatory activity of the *Foeniculum vulgare* Mill. essential oil and investigation of its median lethal dose in rats and mice. *Int J Pharmacol* 2005; 1(4): 329-31.
8. Özbek H, Uğraş S, Bayram İ et al. Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil: A carbon-tetrachloride induced liver fibrosis model in rats. *Scand J Lab Anim Sci* 2004; 31(1): 9-17.
9. Kouadio F, Kanko C, Juge M et al. Analgesic and antienflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast. *Phytother Res* 2000; 14: 635-7.
10. Litchfield JT, Wilcoxon FWJ. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmac Exp Ther* 1949; 96: 99-113.
11. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rats as an assay for antienflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; 111: 544-7.
12. Rimbau V, Cerdan C, Vila R. Antienflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of North-African countries (II). *Phytother Res* 1999; 13: 128-32.
13. Süleyman H, Demirezer LÖ, Kuruüzüm A et al. Antienflammatory effect of the aqueous extract from *Rumex patientia* L. Roots. *J Ethnopharmacol* 1999; 65: 141-8.
14. Vijayakumar CS, Viswanathan S, Reddy MK, Parvathavarthini S, Kundu AB, Sukumar E. Anti-inflammatory activity of (+)-usnic acid. *Fitoterapia* 2000; 71: 564-6.
15. Narayanan N, Thirugnanasambantham P, Viswanathan S, Vijayasekaran V, Sukumar E. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of ethanol extract of *Clerodendron serratum* roots in experimental animals. *J Ethnopharmacol* 1999; 65: 237-41.

İHRACATA YÖNELİK HAZIRLANAN BAZI DENİZ ÜRÜNLERİNİN MİKROBİYAL ÖZELLİKLERİ

Microbial Properties Of Some Sea Products Intended for Export

Reyhan İRKİN¹, Mihriban KORUKLUOĞLU², Hakan TAVŞANLI¹

¹Balıkesir Üniversitesi
Susurluk Meslek Yüksekokulu
Susurluk/BALIKESİR

²Uludağ Üniversitesi
Ziraat Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü
Görükle/BURSA

İletişim:
Reyhan İRKİN
Balıkesir Üniversitesi
Susurluk Meslek Yüksekokulu
10600 Susurluk/BALIKESİR
Tel: 0266 865 71 53
Faks: 0266 865 71 55
E-posta: reyhan@balikesir.edu.tr

ÖZET

Amaç: Günümüzde kum midyesi, deniz salyangozu, et karides, dondurulmuş sardalye türü deniz ürünleri İtalya, İspanya, Japonya ve Çin gibi ülkelere ihracatlarına bağlı olarak ekonomik yönden büyük önem kazanmışlardır.

Yöntem: Bu çalışmada Bandırma ve Balıkesir’de ihracata yönelik deniz ürünleri işleyen bir firmaya ait kum midyesi, deniz salyangozu, et karides, taze dondurulmuş “kafa-kuyruk kısımları ayrılmış sardalye” ve iç organları çıkarılmış “sardalye fileto” ürünlerine ait patojen mikroorganizma (*Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* ve toplam koliform) sayısı araştırılmıştır.

Bulgular: Deniz salyangozu, kum midyesi ile kafa ve kuyruk kısımları ayrılmış sardalye gibi ürünlerin mikrobiyal kalitesinin düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Deniz ürünlerinin sağlıklı olarak işlenmesi için hijyen koşullarının yanı sıra ürünlerin yetiştiği denizin kirliliği de önemli bir rol oynamaktadır. Gerekli önlemlerin alınması halinde deniz ürünlerinde dış ticaretimiz olumlu yönde gelişecektir.

Anahtar Kelimeler: Kum midyesi, deniz salyangozu, et karides, sardalye, mikrobiyal kalite

ABSTRACT

Objective: Nowadays, sea products, especially, mussel (*Rapana thomasiana crosse*), shrimps and frozen sardine products exported to Italy, Spain, Japan and China have an important economical value.

Method: In this study, microbial quality of some sea products (intended for export) were investigated to determine if they carry health risks regarding to the pathogen microorganism loads (total coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*) of mussel (*Rapana thomasiana crosse*), shrimps and frozen sardine (head and tail parts were separated in process), sardine fillets (internal-organs were separated in process) at a locally exporting firm in Bandırma, Balıkesir region.

Results: It was determined that mussel (*Rapana thomasiana crosse*) and tail-head separated frozen sardine have very low microbial quality.

Conclusion: Microbial condition of sea is also very important beside of hygienic properties of the firms. Prevention of sea pollution and improvement of conditions will end up with healthy sea products and improve the trade to abroad.

Key Words: Mussel (*Rapana thomasiana crosse*), shrimp, sardine, microbial quality.

GİRİŞ

Deniz ürünleri tüm dünyada beslenme açısından önem taşımakta ve son yirmi yıl içinde balıkçılıkta önemli bir artış göze çarpmaktadır. Su ürünleri sektörünün % 90'lık kısmını Asya Ülkeleri karşılamaktadır. Su ürünlerindeki gıda güvenliği konusu bölgesel olarak çevre koşullarına ve üretim yöntemlerine bağlıdır. Deniz ürünlerinin mikrobiyal kalitesi en çok çevresel koşullar, suyun mikrobiyal kalitesi, su sıcaklığı, tuzluluk oranı, kirliliğin olduğu yerleşim bölgelerine olan mesafe, sudaki doğal bakteriyel flora, balıklar tarafından tüketilen yiyecekler, avlama yöntemleri ve soğutma koşullarına bağlı olarak büyük değişiklikler göstermektedir (1-4).

İtalya'da yetiştiriciliği de yapılan beyaz kum midyesi özellikle 1988'den sonra ülkemiz için önemli bir ihracat ürünü haline gelmiştir. Beyaz kum midyesi (*Chamelea gallina*), ilk olarak Marmara Denizi'nde avlanmaya başlanmış olup, 7.150 ton/yıl üretim değeri ile su ürünleri üretimimizin % 1.43'ünü oluşturmaktadır. Türkiye; dünyada midye üreten 46 ülke arasında yirmi sekizinci, Akdeniz ve Karadeniz'de ise 13 ülke arasında dördüncü sırada bulunmaktadır. Besin değeri olarak incelendiğinde midyenin; tarak, mavi yengeç, yılan, uskumru, kefal, turna, som, ton, hamsi, sazan, yayın balıkları, istiridye, tatlı su levreği, karides, köpek balığı, alabalık ve kalamar arasında % 59.62' lik protein değeri, % 0.27 kalsiyum ve % 0.13 fosfor oranları açısından da değerli bir ürün olduğu tespit edilmiştir. Midye etinin bileşiminin balık ve sıcak kanlı hayvan etleri ile kıyaslandığında besin değeri açısından büyük benzerlik gösterdiği de ifade edilmektedir (5,6).

Deniz salyangozu (*Rapana thomasiana crosse*), ülkemizde tüketim alışkanlığı olmayan deniz ürünlerinden birisidir. Avlanan deniz salyangozları işlenerek Japonya ve bazı Avrupa Ülkelerine gönderilmektedir. Protein oranı ortalama % 12.95 ve fosfor içeriği 0.65 mg/kg olarak besin değeri açısından değerli bir üründür.(2).

Karidesin % 23.2 oranında ham proteine sahip,

besleyici değeri ile balık türlerine çok yakın bir ürün olduğu ifade edilmektedir (5).

Balık dünyada protein ihtiyacının % 4-5'ini sağlayan, fosfor açısından da zengin bir kaynaktır (3). İhracat edilen balık türleri arasında denizlerimizde çok avlanan sardalye balığı (*Sardina spp.*) ilk sırada yer almaktadır. Türkiye'de 2000 yılında Ege denizinde avlanan sardalye balığı 16,500 ton'dur ve taze, konserve veya tuzlanmış olarak tüketime sunulmaktadır (7). "Kafa ve kuyruğu ayrılmış sardalye balığı" ile "temizlenmiş fileto sardalye balığı" arasında bir işlem basamağı yönünden farklılık bulunmaktadır. Bütün olarak dondurulmuş sardalye balığı, hammadde kalite kontrolünden sonra ön yıkamadan geçirilir, kalibrasyon işleminden sonra soğutulur (4 °C), yıkama işlemi uygulanır ve ambalajlama ile tartım yapılarak -45 °C'de depolanır. Temizlenmiş balığın işlenmesinde ise kalibrasyondan sonra iç organlar ve deriler ayrılmaktadır.

Kum midyesi işletmede kalite kontrolden geçirildikten sonra hammadde kalibrasyonu yapılarak 120 °C'de 3 dakika pişirilmektedir. Bu aşamada ortaya çıkan pişirme suyu tekrar pastörize edilerek ürün ile birlikte paketlenmektedir. Separatörlerde et, kabuk ayrılması ve kumun çökertilmesi işlemlerinden sonra yıkama suyuna 0.5 ppm klor ve sitrik asit ilave edilerek havalı yıkama, 5-10 dakika dinlendirme ve musluk suyu ile yıkama uygulanmaktadır. Et ve midye suyu dolumdan sonra paketlenerek, -45 °C'de şoklanıp, depolanmaktadır (8).

Deniz salyangozunun üretiminde; hammaddenin kalite kontrolünden sonra pişirme işlemi (buharla pişirme 100 °C'de /10 dakika), kabuk ayrılması ve iç organlar alınarak soğutma (4 °C) ve yıkama işlemleri uygulanmaktadır. Kalibrasyon işlemlerinden sonra dinlendirilmekte, dolum ve tartım uygulanarak, paketlenmiş halde şoklanıp (-45 °C), depolanmaktadır (8).

Et karidesin işlenmesinde, hammaddenin kalite kontrolünden sonra, ön yıkama uygulanarak, soğutulmakta (4 °C), yıkamadan sonra kalibre edilerek, et-kabuk ayrılarak ve tekrar kalibrasyona

alınmaktadır. Yıkayıp dinlendirilen ürün, tavalara dizildikten sonra paketlenerek, şoklanmakta (- 45 °C) ve depolanmaktadır(8).

Sardalye balığı, hammadde kalite kontrolünden sonra ön yıkamadan geçirilmekte, kalibrasyon işleminden sonra soğutulurak (4 °C), yıkama işlemi uygulanıp, ambalajlama ile tartım yapılarak depolanmaktadır. Fileto sardalye balığının işlenmesinde ise kalibrasyondan sonra temizleme işleminde iç organlar ve deriler ayrılmaktadır(8).

Bu çalışmada tümüyle ihracata yönelik su ürünlerimizin işlendiği bir firmaya ait et karides, deniz salyangozu, kum midyesi ve dondurulmuş “kafa- kuyruğu ayrılmış sardalye” ve temizlenmiş “fileto sardalye” balıklarının mikrobiyel kalitesi araştırılmıştır. Ürünler özellikle patojen mikroorganizmalar (*Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi* ve *Staphylococcus aureus*) ve toplam koliform bakteri, *Escherichia coli* sayıları *kob/g* olarak tespit edilmiştir. Deniz ürünleri ile insan sağlığını tehdit edebilecek patojen mikroorganizmaların bulaşabilme riskleri ve alınabilecek önlemler tartışılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bir gıda ürünleri işletmesinden 1 Eylül 2005 ve 1 Mayıs 2006 tarihleri arasında işlenen ürünlerden 80 günlük aralıklarla 4 kez ve her seferinde 3'er adet alınan şoklanmış numuneler, 4 °C'de aseptik koşullarda laboratuvara getirilerek analizleri yapılmıştır. Alınan numuneler ve avlandıkları denizler şunlardır; kum midyesi (Karadeniz), deniz salyangozu (Marmara), karides (Marmara ve Ege), sardalye (Karadeniz ve Marmara).

Numuneler periyodik olarak üretimin olduğu sırada alınarak, 3'er kez analizleri tekrarlanmış ve analizlerin ortalama değerleri tespit edilmiştir.

Kafa-kuyruk koparılmış sardalyenin iç organları, 225 ml steril tamponlanmış peptonlu su (Merck) içerisinde ayrıldıktan sonra tümüyle parçalanarak 25 gr tartılmıştır. Sardalye fileto, midye, salyangoz ve karides işlenmiş ürünlerden aseptik olarak 25 gr alınarak ayrı ayrı parçalanmış ve homojenize

edilmişlerdir. Numuneler % 0.1'lik peptonlu su içerisinde 35-37 °C'de 16-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra gerekli 10'luk dilüsyonlar hazırlanarak bulunması istenen mikroorganizma için uygun besiyerlerine ekimler yapılmıştır.

V.cholerae tespiti için Thiosulfate Citrate Bile Sucrose agar (TCBS, Merck) kullanılmış, 35 °C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası sonuçlar tespit edilmiştir. *S.typhi*'nin analizinde Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD, Merck) kullanılarak, 37 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra tipik kolonilere Triple Sugar Iron (TSI, Merck) kullanılarak tanımlama testi uygulanmıştır (9). Koliform bakteri tespiti Mac Conkey Broth kullanılarak (Merck) 37 °C'de, 48 saat sonra *Kuvvetle Muhtemel Sayı (Most Probable Number-MPN)* yöntemine göre koliform bakteri sayısına ulaşılmıştır. *E.coli*, Violet Red Bile Agar (Merck) ile 37 °C'de 24 saat sonra incelenmiştir (10). *S.aureus* sayımı Baird-Parker Agar'da (BPA, Merck) 37 °C'de 48 saat sonra yapılmıştır (11).

BULGULAR

Ürünlerde rastlanılan patojenler Tablo 1'de gösterilmiştir. Deniz salyangozu, kuyruk-kafa ayrılmış sardalye ve kum midyesinde toplam koliform ve *E.coli* bakterileri yüksek oranda bulunmuştur. Ayrıca kum midyesinde *S.aureus*'a rastlanmıştır. Et karides, sardalye fileto ürünlerinde ise koliform ve patojen mikroorganizmaya rastlanılmamıştır.

TARTIŞMA

Midyelerin kirliliğinin çok olduğu bölgelerde yetişmesinden ötürü pek çok patojen mikroorganizmayı içerdiği, çiğ olmasının yanı sıra az pişmiş olarak tüketilmesinin çok büyük sağlık riskleri ortaya çıkardığı tespit edilmiştir. Avustralya, Yeni Zelanda, İngiltere, İspanya, İtalya, Fransa, Danimarka, Kanada ve Türkiye'deki midyelerde enterik patojenlerin azaltılabilmesi için iyi bir arıtmadan geçirilmesi gerekliliği ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmalarda midyelerde, bir çok virüs ve *Vibrio*'nun arıtmaya rağmen kalabildiği

Tablo 1. Ürünlerin Mikrobiyal Analiz Sonuçlarının Ortalama Değerleri

ÜRÜN	Toplam koliform (kob/g)	<i>E. coli</i> (kob/25g)	<i>S. aureus</i> (kob/25g)	<i>V. cholerae</i> (kob/25g)
DENİZ SALYANGOZU	4.6x10 ³ ±416	3.7x10 ³ ±529	-	-
ET KARİDES	-	-	-	-
KUYRUK-KAFA AYRILMIŞ SARDALYE	4x10 ² ±23	1.4x10 ³ ±193	-	-
SARDALYE FİLETO	-	-	-	-
KUM MİDYESİ	2.0x10 ² ±30	1.2x10 ³ ±83	17±5.6	-

- ; Tespit edilmemiştir anlamına gelmektedir.

de belirtilmektedir. Son yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Çin'de yetersiz pişirilmiş midyelerin tüketilmesi sonucu viral hastalıklar (hepatit), kolera ve gıda zehirlenmelerinin ortaya çıktığı tespit edilmiştir (12).

Patojen mikroorganizmaların çoğu ılık sulara bulunmaktadır, özellikle mezofilik vibriolar olan *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* ve *V. cholerae* tropik sulara çok sık rastlanılan mikroorganizmalardır (13). Yaptığımız çalışmada, Marmara, Ege ve Karadeniz sularından avlanan ürünlerde *Vibrio spp*'ye rastlanılmadığı görülmektedir. Aydın ve Soyutemiz (2002), Bursa'daki balık marketlerinden satın alınan 46 deniz balığı örneğinin hiçbirinde *V. parahaemolyticus*'a rastlamasına karşın kum midyelerinde % 14.3 oranında rastladıklarını belirtmişlerdir (13).

Yılmaz ve ark.(2005)'nin yaptığı çalışmada, Marmara Denizi'nden avlanan kum midyelerinde bulunan patojen mikroorganizmalar araştırılmış; 8.2x10³ kob/g koliform mikroorganizma, 2.5x10² kob/g *E.coli*, 1.1x10³ kob/g *S.aureus* tespit edilmiştir (14). Midyelere ait olarak bulunan sonuçlarda çalışmamızda da koliform mikroorganizma ve *S.aureus* sayılarının daha az, *E.coli* sayısının ise daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu bulgu midyelerde depolama koşullarına ve

tüketilmeden önce pişirme işlemine dikkat edilmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Deniz ürünleri ile ilgili yapılan çalışmalarda ılık deniz sularında yetişen balıklarda *Salmonella* ve *E.coli*' e % 16-22 oranında rastlanıldığı, ılık sulara yaşayan karideslerde de bu bakterilerle bulaşma oranının yüksek olduğu belirtilmektedir. Ürünlerin işlenmesi sırasında kötü hijyen koşullarının yanı sıra bu ürünlerin yetiştirildiği deniz ortamının da çok önemli olduğu açıklanmaktadır (12).

Bhaskar ve Sachindra (2006)'nın yaptığı çalışmada karidesin *Salmonella*, *Vibrio spp.* ve *Listeria spp.* gibi mikroorganizmaları oldukça yüksek oranda barındıran bir ürün olduğu ve çapraz bulaşmayı önlemek için diğer ürünlerden ayrı olarak işlenmesi gerektiği belirtilmiştir (15). Anand ve ark.(2002)'nin Hindistan'da yaptıkları araştırmada aralarında karidesinde bulunduğu deniz ürünlerinin mikrobiyel kalitesi incelenmiş; MPN fekal koliform bakteri sayısının 4-11x10² kob/g, *E.coli* sayısının 0-102 kob/g ve *S.aureus* sayısının 0-106 kob/g olarak değiştiği; tüm patojenleri içeren ürünlerden biri olan karidesin uluslararası standartlara uygun hale getirilmesinin gerekli olduğu belirtilmiştir (16). Yaptığımız çalışmada ise et karides ürününe herhangi bir koliform mikroorganizma ve patojene rastlanılmaması dikkati çekici bulunmuştur.

Feldhusen (2000)'in yaptığı çalışmada Türkiye'de dondurulmuş karides, balık, tuna balığı ve deniz salyangozlarında *S.aureus*, *V.cholerae*, *Salmonella spp.*, *E.coli* ve *L. monocytogenes*'e rastlanıldığı belirtilmektedir (4). Çalışmamızda kuyruk-kafa kısımları ayrılmış sardalye balıklarında koliform ve *E.coli* mikroorganizmalarının yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durumun suların kirliliği ve balıkların yetiştirme koşulları yanı sıra kuyruk ile kafanın ayrılması sırasındaki parçalanma sonucu iç organlardaki mikroorganizmalarla bulaşa bağlı olduğu düşünülmektedir. İşletmede sardalye fileto ürününe iç organların ayrılmasından sonra iyi bir yıkama ile arındırma işlemlerinin uygulanması halinde koliform ve *E.coli* mikroorganizmalarının üründe bulunmasının engellenebileceği

düşünülmektedir. Ayrıca deniz ürünlerindeki patojen mikroorganizmaların yok edilmesinde değişik arındırma yöntemleri kullanılmasına rağmen bunun çoğu kez yetersiz kalabileceği ve bu konuda “yüksek basınç uygulaması” veya klor dioksit içeren antimikrobiyel buz ile depolama gibi, değişik işlemlere ihtiyaç duyulabileceği belirtilmektedir (17,18).

Tüm dünyada deniz ürünleri ile patojenik mikroorganizmaların insanlara bulaşmasına oldukça yaygın olarak rastlanılmaktadır. Bu nedenle deniz ürünleri yetiştiriciliğinin, işlenmesinin ve pazarlanmasının oldukça bilinçli yapılması ayrıca tüketicilerin eğitimi de gerekli görünmektedir. Bu ürünlerin işlendiği işletmelerde Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları Sistemi (HACCP) tanımlanması da önem taşımaktadır (1,4). Deniz ürünleri ile ortaya çıkan mikrobiyal riskler, mikrobiyal kirlilik şekilleri, deniz ürünlerinde bozulmalara yol açan mikroorganizmaların neler olduğu hakkında daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR:

1. Garrett E. S., Jahncke M.L., Tnnyson J. M. Microbiological hazards and emerging food-safety issues associated with sea foods. J.of Food Protection.1997 ; 60 (11);1409-1415.
2. Kolsarıcı N. ve Ertuş A. H. Karadenizde avlanan deniz salyangozu (*Rapana thomasiensis*) nun kimyasal bileşimi üzerine bir araştırma. Gıda 1989;14(2): 67-69.
3. Küçüköner E. ve Küçüköner Z. Balık Mikroflorası ve balıklarda meydana gelen mikrobiyal değişimler. Gıda 1990;15 (6) : 339-341.
4. Feldhusen F. The role of seafood in bacterial food borne diseases. Microbes and Infection 2000; 2 (13):1651-1660.
5. Ölmez M., Atar H. H., Bekcan S. Akdeniz midyesinin (*Mytilus galloprovincialis* Lam.1819) et verimi ve besin madde içeriği üzerine bir araştırma. Gıda 2002; 27 (4): 259-263.
6. Ölmez M., Atar H. H., Seçer S. Beyaz kum midyesinin (*Chamelea gallina* L.,1758) et verimi ve besin madde içeriği üzerine bir araştırma. Gıda 2003; 28 (2):169-173.
7. Kılınç B. ve Çaklı Ş. Determination of the shelf life of sardine (*Sardina pilchardus*) marinades in tomato sauce stored at 4°C. Food Control 2005; 16 (7): 639-644.
8. Perama Gıda Ürünleri San.ve Tic. A.Ş., Balıkesir (2005) (Sözlü Görüşme).
9. Halkman K. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. 1.Baskı, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd.Şti., Ankara, 2005, 358 s.
10. Mikrobiyoloji - *Escherichia coli* sayımında genel teknikler, MPN tekniği standardı. Türk Standartları Enstitüsü.1996. TSE 6063, Ankara.
11. *Staphylococcus aureus* sayımı için mikrobiyolojide genel yöntemler, koloni sayma teknikleri standardı. Türk Standartları Enstitüsü. 1989. TSE 6582, Ankara.
12. Gram L ve Huss H. H. Fresh and processed fish and shellfish. The Microbiological Safety and Quality of Food.Vol. I. (edt. Lund B. M.Baird-Parker,T. C. and Gould, G.W.) 475-497.
13. Aydın A. ve Soyutemiz E. Bazı balık türlerinden ve kum midyelerinden (*Venus gallina*) *Vibrio parahaemolyticus* izolasyonu ve identifikasyonu. Türk J. Vet. Anim. Sci. 2002 (26):1249-1253.
14. Yılmaz I., Bilgin B., Öktem B. Occurrence of vibrio and other pathogenic bacteria in *Mytilus galloprovincialis* and *Venus gallina* harvested from the Marmara sea. Turkish J of Vet. Anim Sci. 2005; 29 (2): 409-415.
15. Bhaskar N. ve Sachindra N. M. Bacteria of public health significance associated with cultured tropical shrimp and related safety issues: A review. J of Food Science and Tech. 2006; 43 (3): 228-238.
16. Anand C., Jeyasekaran G., Jeya Shakila R. Edwin S. Bacteriological quality of seafoods landed in Tuticorin fishing harbour of Tamil Nadu, India. J.of Food Sci. and Tech.2002;39(6):694-697.
17. Shin J.H., Chang S., Kang D.H. Application of antimicrobial ice for reduction of foodborne pathogens (*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*) on the surface of fish. J of Applied Mic. 2004; 97(5):916-922.
18. Murchie L.W., Cruz-Romero M., Kerry J.P. et al. High pressure processing of shellfish: A review of microbiological and other quality aspects. Inn. Food Sci and Emerg. Techn. 2005; 6(3):257-270.

KRONİK VENÖZ ÜLSERLİ BİR OLGUNUN MAGGOT DEBRİDMAN TEDAVİSİ İLE SAĞALTIMI

Maggot Debridement Therapy for the Treatment of a Venous Stasis Ulcer

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Kosta Yani MUMCUOĞLU

¹Department of Parasitology,
Hebrew University
Hadassah Medical School
Jerusalem/ISRAEL

İletişim:

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN
Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı
Salgın Hastalıklar Arş. Müd
Parazitoloji Laboratuvarı
Cemal Gürsel Cad. No:18
06100 Sıhhiye/ANKARA
Tel: 0312 435 56 80/1228
Faks: 0312 431 28 85
E-posta:
aysegultaylan@hotmail.com
aysegul.taylanozkan@rshm.gov.tr

ÖZET

Yetmişbeş yaşında, 10 yıldır kronik venöz yetmezliği bulunan bir kadın hastanın (Z.G.) bir yıl önce ülsere olan sağ ayak ikinci parmağındaki enfeksiyon 11 ay boyunca değişik yöntemlerle tedavi edilmiş, yanıt alınamaması nedeniyle ampute edilmiştir. Bir ay içinde operasyon bölgesinin tekrar enfekte olması ve ülserin bitişikteki parmağa da yayılması nedeniyle, takip eden hekiminin önerisi ve hastanın da bu tedaviyi kabul etmesi üzerine yaraya maggot tedavisi uygulanmıştır. Günde bir olmak üzere üç gün boyunca uygulanan maggot tedavisi ile ülserin nekrotik ve süpüratif dokudan tamamen temizlendiği saptanmış ve yaranın üzerine otolog deri nakli yapılmıştır. Maggotların uygulanması sırasında hastanın ağrısının artması haricinde önemli bir şikayeti olmamıştır. Klasik tedavi yöntemlerine cevap vermeyen kronik kutanöz ülserli hastalarda maggot debridman tedavisi ekonomik, uygulaması kolay, çabuk sonuç veren ve yan etkileri az olan alternatif bir tedavi seçeneği olarak görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Maggot, yara tedavisi, *Lucilia sericata*

ABSTRACT

Z.G., a 75-year-old female has been suffering from venous stasis for about 10 years. A year ago, the second toe of her right leg become infected and the patient was treated for 11 months with conventional therapy. One month before her toe was amputated and soon thereafter the wound become infected and the ulcer spread to the adjacent toes. The wound was treated three times, each for 24 hrs with sterile maggots. During the treatment the patient complained of increased pain and was treated with analgesics. Three days after the beginning of the therapy the ulcer had completely resolved. Thereafter, an autologous skin transplant was applied on the wound. Maggot debridement therapy has been proven to be an effective method for cleaning chronic wounds and initiating granulation. It is a simple, efficient, well tolerated and cost-effective tool for the treatment of wounds and ulcers, which do not respond to conventional treatment and surgical intervention.

Key words: Maggots, wound treatment, *Lucilia sericata*

GİRİŞ

Süpüratif deri enfeksiyonlarının sinek larvaları ile tedavisi olarak bilinen maggot tedavisi (MT) ilk olarak 1931 yılında Baer tarafından bildirilmiştir (1). Bu yöntemin 1930'lar ve 1940'lı yılların başında, yalnızca Amerika Birleşik Devletler (ABD)'inde 300'ün üzerinde hastanede kullanıldığı belirtilmiştir (2). Yaraların tedavisinde antibiyotiklerin ve cerrahi debridmanın kullanılmaya başlanması bu yöntemin terk edilmesine neden olmuştur.

Maggot tedavisi, 1989 yılında Amerika'da, 1990'ların ortalarında da İngiltere, İsrail, İsveç, İsviçre ve Almanya'da inatçı yaraların tedavisinde yeniden kullanılmaya başlamıştır. Günümüzde 30'dan fazla ülkede uygulanmakta olan bu tedavi modeli son 20 yılda, 2 000 tedavi kurumunda, 20 000'den fazla hastanın iyileşmesini sağlamış ve ABD, İngiltere, Almanya, Avusturya ve İsrail'de ulusal sağlık otoritelerinden onay almıştır (3,4). Bu yöntem 2005 yılından itibaren Türkiye'de de kullanılmaya başlanmıştır (5).



Şekil 1: 75 yaşında venöz stazı olan bir bayan hastanın sağ ayağı. Bir ay önce ayak parmağı ampute edilmiş ve hemen akabinde yara enfekte hale gelmiş ve ülser yandaki parmaklara yayılmış.

OLGU

Z.G., 75 yaşında, kadın hastanın yaklaşık 10 yıldır etiolojisi bilinmeyen venöz stazı bulunmaktadır. Uzun süredir diyabet, kalp yetmezliği şikayetleri ile izlenen hastanın bir yıl önce, küçük bir yaralanma sonrası, sağ ayağının ikinci parmağı enfekte olmuş ve 11 ay antibiyotik, cerrahi debridman ve hidrokolloid pansuman uygulanması gibi klasik yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılmıştır. Kudüs'te bulunan Hadassah Hastanesi'ne gelmeden önce bu parmağı ampute edilmiş, ancak amputasyon bölgesi kapanmamış ve üçüncü parmakta da ülser gelişmiştir (Şekil 1). Klasik tedavi yöntemleriyle enfeksiyonu kontrol edilemeyen ülserinin sağaltımı için, hastaya MT önerilmiştir. Fizik muayenesi ile genel durumunda ve laboratuvar bulgularında herhangi bir sorun saptanmayan hasta tarafından bu önerinin kabul edilmesi üzerine uygulamaya başlanmıştır.

Hastanın ülseri serum fizyolojik ile temizlenmiş ve sıvı geçirmeyen bir ajan ile (Granuflex İpari és Kereskedelmi Kft., Macaristan) çerçeveleştirilmiştir. Steril ince bir parça naylon ağ yaradan büyük ancak yaranın çevresinde bulunan Granuflex'den küçük olacak şekilde kesilmiştir. Bu ağ altta bulunan Granuflex çerçeveye bantla tutturulmuş, üst kenarı maggotların konulabileceği kadar açık bırakılmıştır. Hebrew Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Bilim Dalı Entomoloji Laboratuvarlarında hazırlanmış (4, 6) olan steril maggotlar ağın açık kalan ucundan yaranın üzerine konulmuştur. Ağın bu kısmı da kapatıldıktan sonra, üzerine yaradan sızan eksudanın emilmesini sağlamak amacıyla petler konulmuş ve sargı bezi ve bantlarla sarılmıştır (4, 6)

Hastaya 3 gün süre ile maggot tedavisi uygulanmış ve 24-48 saatlik maggotlar (*Lucilia sericata*) günde bir defa (sırasıyla 400, 200 ve 100 adet) olmak üzere yaraya konulmuştur. Hastanın tedavi sırasında ağrısının artmasından başka yakınması olmamış, bu yakınması da analjezik ilaçlarla kontrol edilmiştir.

Tedavinin başlangıcından üç gün sonra ülserin tamamen nekrotik doku ve süpürasyondan arındığı saptanmıştır (Şekil 2). Hastaya aynı hastanenin

Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Bilim Dalı Servisinde otolog deri nakli yapılmıştır.

TARTIŞMA

1940'lı yıllarda kullanımı çok yaygın olan maggot tedavisi antibiyotiklerin bulunmasıyla önemini kaybetmiştir. Ancak, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* gibi antibiyotik dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlara daha sık rastlanması, günümüzde mevcut olan cerrahi ve farmasötik ajanların etkisiz kaldığı durumların bulunması, hastanelerin kapılarını yeniden maggotlara açmalarına neden olmuştur. Antibiyotik tedavisi, cerrahi debridman, drenaj gibi uygulamaların doku kaybını engelleyemediği durumlarda MT metodunun kullanılmasıyla özellikle diyabetik ayak, bası ülserlerinde başarılı sonuçlar alındığı ayrıca abse, yanık, sellulit, gangren, ülser, osteomyelit ve mastoidit tedavisinde de kullanıldığı yayınlanmıştır (7-12). Sherman ve ark. venöz staza bağlı ülserlerde maggot tedavisinin başarıyla uygulandığını bildirmişlerdir (13).

İnatçı yaraların tedavisiyle ilgili çalışmalar, nekrotik yaraların çoğunun MT ile bir hafta içinde tamamen ölü dokulardan temizlendiğini ve bu sonucun diğer cerrahi olmayan tedavilere kıyasla çok daha kısa sürede elde edildiğini göstermiştir. MT ile tedavi edilen hastaların yaralarının iyileşme süresi de yalnızca klasik pansuman tedavisi gören hastalardan daha hızlıdır. MT olmayan 14 yaradan sekizinin ameliyat sonrası enfekte olurken, MT ile tedavi edilen 5 yaranın hiçbirinde enfeksiyon görülmediği saptanmıştır (14).

İsrail'de diyabetik ayak ülseri olan 22 diyabet hastası cerrahi ve cerrahi olmayan tedavilere yanıt alınmaması üzerine MT uygulanmış, 22 hastada bulunan 27 diyabetik ayak ülserinden 18'inde (%66.7) tam, altısında (%22.2) önemli derecede, ikisinde de (%7.4) kısmi debridman sağlanmış, bir yarada değişme olmadığı gözlenmiştir. Son üç olgunun yaralarının ayak altında bulunması ve hastaların ayakta tedavi olmasının larvaların ezilmesine yol açtığı ve tedavinin bu nedenle başarılı olamadığı

düşünülmüştür. Bu hastalardan beşinin tedaviden önce septisemi tehdidi altında olduğu ancak MT sonrası bunun ortadan kalktığı belirtilmiştir (9).

Yine İsrail'de yapılan bir çalışmada kronik ve tedaviye yanıt vermeyen yaraları nedeniyle amputasyon önerilen ama kabul etmeyen beş hastanın ayağının maggot tedavisi ile kurtarıldığı yayınlanmıştır (4).

Maggot tedavisinde karşılaşılabilecek en önemli problemler; uygun bandajlama yapılmaması nedeniyle larvaların kaçması, yarada gezinen maggotların yarattığı gıdıklanma hissi ve bazı yüzeysel ve ağırlı yarası olan hastalarda ağrılarının arttığı bildirilmiştir. Maggotların uygulanması nedeniyle estetik ve psikolojik etkiler de kaçınılmazdır. Teorik olarak larvaların salgıları nedeniyle (proteolitik enzimler, antibakteriel maddeler, amonyak, üre) alerjik reaksiyonlarla karşılaşılması riski de mevcut olmakla birlikte, şimdye kadar bildirilen bir olgu bulunmamaktadır (6).



Resim 2: Aynı hastanın üç kez 24 saatlik maggot tedavisi uygulandıktan sonraki görünümü. Ülser tamamen temizlenmiş ve granülasyon izleniyor.

Venöz yetmezlik nedeniyle, sağ ayak ikinci parmağı ampute edilen, amputasyon yeri ve ardışık parmakta da ülser ve enfeksiyon gelişen olgumuza 11 ay klasik tedavi yöntemleri denenmiş ancak yanıt alınamamıştır. Diğer parmakların da ampute edilmesi riski göz önüne alınarak maggot tedavisi başlanmasına karar verilmiştir. Kudüs'te bulunan Hadassah Hastanesinde yatarak tedavi gören olgumuz maggot tedavisine üç gün gibi kısa bir sürede cevap vermiş ve yara bölgesinde tam debridman sağlanmış, böylelikle otolog deri nakli yapılması için uygun koşullar yaratılmıştır. Hastanın ağrısında artma olması haricinde başka bir yakınması olmamış ve uygun bir analjezik verilerek bu yakınması giderilmiştir.

Maggotların yaranın nekrotik doku bulunan her köşesine girebildikleri, çok küçük alanları bile temizledikleri ve bu esnada sağlıklı dokuyu etkileyerek adeta mikro cerrahi yaptıkları ve bunun klasik cerrahi yöntemlerle yapılmasının oldukça zor olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, maggot tedavisinin klasik tedavi yöntemlerine ve cerrahi girişimlere yanıt vermeyen kutanöz yara ve ülserlerin tedavisinde ekonomik, çabuk sonuç veren ve uygulaması kolay bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR:

1. Baer WS. The treatment of chronic osteomyelitis with the maggot (larva of the blow fly). *J Bone Joint Surg* 1931; 13: 438-475.
2. Robinson W, Norwood VH. The role of surgical maggots in the disinfection of osteomyelitis and other infected wounds. *J Bone Joint Surg* 1933; 15: 409-412.
3. Sherman RA, Pechter EA. Maggot therapy: a review of the therapeutic application of fly larvae in human medicine, especially for treating osteomyelitis. *Med Vet Entomol* 1988; 2: 225-230.
4. Mumcuoglu KY, Ingber A, Gilead L, Stessman J, Friedmann R, Schulman H, et al. Maggot therapy for the treatment of intractable wounds. *Int J Dermatol* 1999; 38: 623-627.
5. Tanyuksel M, Araz E, Dundar K, Uzun G, Gumus T, Alten B, Saylam F, Taylan-Ozkan A, Mumcuoglu KY. Maggot debridement therapy in the treatment of chronic wounds in a military hospital setup in Turkey. *Dermatology* 2005; 210: 115-118.
6. Mumcuoglu KY. Clinical applications for maggots in wound care. *Am J Dermatol* 2001; 2: 219-227.
7. Horn KL, Cobb AH, Gates GA. Maggot therapy for subacute mastoiditis. *Arch Otolaryngol* 1976; 102: 377-379.
8. Stoddard SR, Sherman RM, Mason BA, Pelsang DJ. Maggot debridement therapy: An alternative treatment for nonhealing ulcers. *J Amer Podiatr Med Ass* 1995; 85: 218-221.
9. Mumcuoglu KY, Ingber A, Gilead L et al. Maggot therapy for the treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Care* 1998; 21: 2030-2031.
10. Teich S, Myers RAM. Maggot therapy for severe skin infections. *South Med J* 1986; 79: 1153-1155.
11. Sherman RA, Wyle F, Vulpe M. Maggot therapy for treating pressure ulcers in spinal cord injury patients. *J Spinal Cord Med* 1996; 18: 71-74.
12. Mumcuoglu KY, Lipo M, Ioffe-Uspensky I, Miller J, Galun R. Maggot therapy for gangrene and osteomyelitis (in Hebrew). *Harefuah* 1997; 132: 323-325.
13. Sherman RA, My-Tien Tran J, Sullivan, R. Maggot therapy for venous stasis ulcers. *Arch Dermatol* 1996; 132: 254-256.
14. Sherman RA, Wyle F, Vulpe M, et al. The utility of maggot therapy for treating chronic wounds. *Am J Trop Med Hyg suppl.* 1993; 49: 266.

GEN TEDAVİSİ VE BİYOGÜVENLİK

Gene Therapy and Biosafety

Ayşen GÜNEL ÖZCAN

Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Abd
KIRIKKALE

İletişim:
Ayşen GÜNEL ÖZCAN
Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Abd
71100 KIRIKKALE
Tel: 0318 357 35 71/1019
E-posta: agozcan@yahoo.com

ÖZET

Gen tedavisi hastalıkları tedavi etmek veya önlemek amacıyla bir kişinin genlerinin ekspresyonunun değiştirilmesi olarak tanımlanabilir. Akademik ve ticari laboratuvarların zorlu çalışmaları ile 2006 yılı verilerine göre 1273 gen tedavisi klinik deneme protokolü etik çevrelerce onaylanmıştır. Ancak henüz sadece baş-boyun kanserleri için geliştirilen bir gen tedavisi ürünü rutin kullanım için Çin'de lisans alabilmiştir. Gen tedavisi denemelerindeki başarısızlıklar terapötik genlerin yetersizliğinden kaynaklanmamaktadır. Başarılı gen tedavisinin önündeki en önemli engel toksik olmayan gen aktarım sistemlerinin olmayışdır. Gen tedavisinde viral ve viral olmayan çeşitli vektör sistemleri kullanılmaktadır ve her biri kendine özgü avantaj ve dezavantajlara sahiptir. Günümüzde en etkili gen aktarım araçları, genlerini hedef hücreye aktarma özellikleri nedeniyle, virüslerdir. Gen tedavisi kalıtsal tek gen hastalıkları ve kardiyovasküler hastalıkları da içine alan bir dizi hastalığın tedavisi amacıyla geliştirilmekteyse de özellikle kanser tedavisi daha öne çıkmaktadır. Gen tedavisinin pratikte yaygın uygulama alanı bulabilmesi tedavi genlerinin hücrelere yeterli dozlarda aktarılabilmesine, genin hastalıklı hücreleri hedefleyebilmesine ve aktarılan yeni genlerin vücut tarafından sıkı kontrol altında tutulabilme yollarının geliştirilmesine ve dolayısıyla da biyogüvenlik problemlerinin aşılmasına bağlıdır. Bu derlemede gen tedavisinde kullanılan vektör sistemleri anlatılacak ve biyogüvenlik açısından değerlendirme kriterleri tartışılacaktır.

Anahtar Sözcükler: Gen tedavisi, biyogüvenlik, viral vektörler, non-viral vektörler

ABSTRACT

Gene therapy can be described as the approach to change gene expression of an individual to treat a disease. According to the annual gene therapy records in 2006, hard work of both academic and industrial laboratories resulted 1273 gene therapy clinical protocols that have been approved by ethical committees. In spite of all these attempts there is only one licence so far and that has recently been given by China for the routine use of head and neck cancer treatment. A major obstacle to the successful application of gene therapy trials is not a insufficient amount of therapeutic genes, but the lack of nontoxic gene delivery systems. A variety of viral and non-viral systems are used for gene therapy and each system owns its specific advantages and disadvantages. In the current

status, the most effective gene delivery tools are viruses because of their natural ability to transfer genes to target cells. Gene therapy is being developed for a range of diseases including inherited monogenic disorders and cardiovascular diseases, but this approach has been most evident for cancer. In order that gene therapy can be used in clinical practice, delivery of therapeutic genes to cells at efficient doses, gene-targetting to the disease cells and tight-control of the delivered genes should be improved, by another means, biosafety problems needs to be solved. In this review, vector systems used in gene therapy will be explained and evaluation criterias for their biosafety will be discussed.

Key words: Gene therapy, biosafety, viral vectors, non-viral vectors

GİRİŞ

Gen tedavisi hastalıkları tedavi etmek veya önlemek amacıyla bir kişinin genlerinin ekspresyonunun değiştirilmesine denir. Gen tedavisi değişikliğe uğrayan hücrelerin tipine ve değişikliğin şekline göre sınıflandırılmaktadır (1).

Gen tedavileri hücre tipine göre, germ hücrelerine ve somatik hücrelerine yapılan tedaviler olarak sınıflandırılabilir:

Germ hücre serisi gen tedavisinde yapılan değişiklik soylar boyu aktarılabilecek şekilde kalıcıdır. Gamet, zigot veya erken dönem embriyoda yapılan değişiklik ile mümkündür. Çoğu ülkede etik olarak gelecek kuşakları etkileme yetisi nedeniyle germ hücre serisi tedavisi yasaklanmıştır. Ancak, mitokondriyal hastalıklar için çekirdek gen transferi etik açıdan “kabul edilebilir” bulunmaktadır. Mitokondri DNA'sı sitoplazmada bulunduğundan dolayı *in vitro* fertilizasyonu takiben (dört hücre aşamasında) tüm hücrelerin çekirdekleri izole edilir ve çekirdeği çıkarılmış donörün yumurta hücrelerine verilir. Çekirdek transferi olan bu yöntem aslında teknik anlamda klonlamadır.

Somatik hücre serisi gen tedavisinde ise amaç bir hastanın belli hücreleri veya dokularında ilgili hastalığı düzelterek şekilde genetik değişiklik yapmaktır. Somatik gen tedavisinde kişinin genomu değişikliğe uğramakta ancak bu değişim gelecek kuşaklara aktarılmamaktadır. Günümüzdeki tüm gen tedavisi denemeleri ve protokolleri somatik hücre serisi tedavileri içindir.

Somatik hücreler çeşitli yollarla değişikliğe uğratılabilir. Bu gen tedavisi yaklaşımlarını dört grup altında toplayabiliriz: gen ilavesi, gen değişimi, gen ifadesinin (ekspresyonunun) inhibisyonu, özgün hücrelerin öldürülmesi:

Gen ilavesinde bozuk genin işlevsel kopyasının verilmesi amaçlanır. Hücrede mutant gen kalmakta ancak buna fonksiyonel gen ilave edilmektedir. Fonksiyon kaybına yol açan genetik hastalıkların düzeltilmesinde faydalıdır. Örneğin kistik fibrozis gen ilavesi için uygun bir hastalıktır. Ancak kalıcı hasarların meydana gelmiş olduğu durumlarda bu

yaklaşım sonuç vermeyecektir. Kanser tedavisinde tümöre karşı immün cevabı artırmanın veya kusurlu tümör baskılayıcı genin işlevsel kopyasının ilavesinin amaçlandığı durumlarda da bu yöntem uygundur. Gen ilavesi, hipertansiyon kontrolünde damarları korumak (ör. endotel nitrik oksid sentetaz gen aktarımı) veya koroner arter hastalarında vasküler büyümeyi uyarmak (ör. VEGF gen aktarımı) amacıyla da denenmektedir.

Gen değişimi ise çok daha zor ve karmaşıktır. Amaç, mutant geni fonksiyonel kopyası ile değiştirmek veya mutasyonu *in situ* düzeltmektir. Mutant gen ürününün hücreye zarar verdiği işlevin geri kazanımı sonucu düzelebilecek genetik hastalıklarda tercih edilecek bir yöntemdir.

Gen ifadesinin baskılanması özellikle enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir yaklaşımdır. Bu yöntemde hedef patojenin fonksiyonunun baskılanması amaçlanır. Ayrıca bu yaklaşım kanserde aktif hale geçmiş onkogenlerin sessizleştirilmesinde, otoimmün hastalıklarda ve belki fonksiyon kazanımına bağlı genetik hastalıklarda kullanılabilir.

Spesifik hücrelerin öldürülmesi yöntemi ise özellikle kanser tedavisinde yer bulmaktadır. Bu amaçla toksik kemoterapötik ajan, toksik olmayan ön ilaç (prodrug) formunda vücuda verilirken, bu ön ilaçı aktifleyen enzimi kodlayan gen de kanser hücrelerine aktarılmaktadır. Bu yaklaşıma *gen güdümlü enzim prodrug tedavisi (gene directed enzyme prodrug therapy-GDEPT)* veya *intihar gen tedavisi* denilmektedir. Uygulamada, aktif ön ilaç hedeflenmemiş komşu hücrelere de yayıldığından güçlü bir ilave (*bystander*) etki oluşturmaktadır.

GEN TEDAVİSİNDE KULLANILAN GEN AKTARIMARAÇLARI

Genlerin alıcı hücreye aktarılması laboratuvar ortamında (*ex vivo*) veya hastanın vücudunda (*in vivo*) gerçekleştirilebilir:

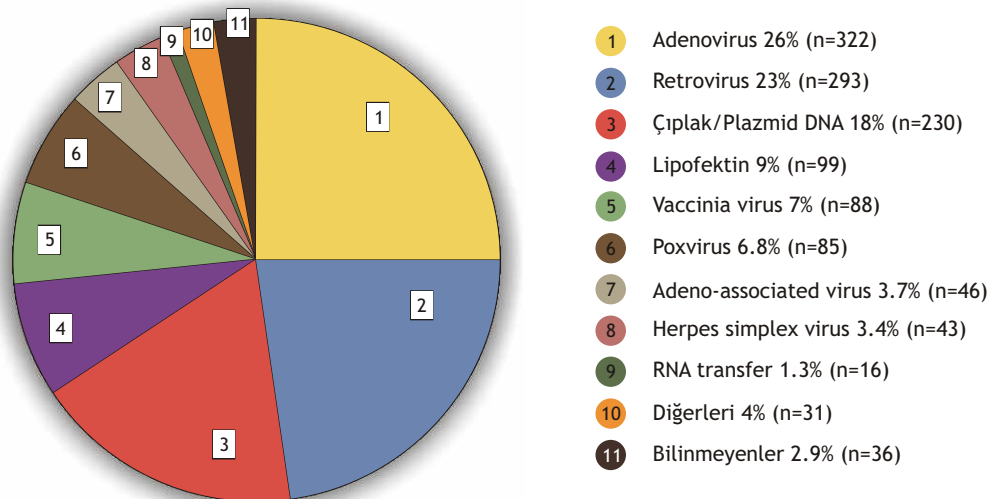
Ex vivo gen tedavisinde, hücreler hastadan alınır ve hücre kültürü ortamında çoğaltılarak klonlanan gen aktarılır. Gen aktarımının

gerçekleştiği hücreler seçilerek hücre kültüründe *in vitro* olarak çoğaltılır ve hastaya verilir. Hastanın bağışıklık sistemi tarafından bu hücrelerin red edilmemesi için mümkün olduğunca hastanın kendi hücreleri (otolog hücreler) tercih edilir. Ancak bu yöntem, hastadan alınabilecek hücrelere (Hematopoetik sistem hücreleri, deri hücreleri vs.), hücrelerin engraft indüklenebilmesi ve hastaya tekrar verildikten sonra uzun süre yaşayabilmesi ile sınırlıdır.

In vivo gen tedavisi ise, alıcı hücrelerin *in vitro* kültürünün yetersiz olduğu (ör. beyin hücreleri) veya kültürü yapılan hücrelerin hastaya re-implantının etkili bir şekilde yapılamadığı durumlarda tek seçenektir. Doku hedeflemesi bu yöntemde önemli bir sorundur. Transfer edilen gen doğrudan hedef dokuya veya genel dolaşıma verilebilir ancak aktarım için kullanılan vektör sadece hedeflenen hücreler tarafından alınacak şekilde veya sadece hedeflenen hücrelerde gen ifadesi olacak şekilde tasarlanmış olmalıdır. Bu yöntemde geni almış veya ifade eden hücreleri çoğaltma ve seçme imkanı olmadığından *in vivo gen tedavisinin* başarısı gen aktarımı ve ifadesinin (ekspresyonunun) etkinliğine bağlıdır.

Aktarılacak gen, alıcı hücrenin kromozomuna girecek ya da epizom olarak kalacak şekilde tasarlanabilir. Uzun süreli gen ifadesinin sağlanabilmesi için yabancı genin alıcı hücrenin kromozomuna entegre olması (özellikle kök hücrelerde) tercih edilebilir. Böylelikle hücre döngüsünde hücre bölündükçe gen de çoğalacaktır. Ancak kromozoma entegrasyon bazı sorunlar taşımaktadır. Çoğu genin kromozoma entegrasyonu rasgele olmaktadır ve bu entegrasyon hastanın değişik hücrelerinde farklı şekilde gerçekleşir. Entegre olan genin ekspresyonu kromozomdaki yerleşimine bağlı olarak beklenmeyen etkiler ortaya çıkartabileceği gibi, gen ekspresyonunun tamamen durması da söz konusudur. Genin düşük düzeyde eksprese edilebilmesi veya kısa süreli ifade edilip tamamen sessizleşmesi de mümkündür. Daha da kötüsü endojen genlerin ekspresyonunu değiştirebilir. En büyük endişe ise yüksek düzeyde ifade edilen bir genin kromozoma entegre olduğu bölgedeki bir onkogeni uyarmasıdır. Şiddetli kombine immün yetmezlik (SCID; Severe Combined Immune Deficiency) için tedavi edilen üç hastada terapötik geni taşıyan retroviral vektörün

Şekil 1. Gen tedavisinde kullanılan vektörler (www.wiley.co.uk/genmed/clinical)



Tablo 1. Gen tedavisinde kullanılan vektörlerin karşılaştırması

Vektör	Aktarılan gen büyüklüğü (kB)	Titre (cfu.ml ¹)	Genoma entegrasyon	In vivo transfeksiyon etkinliği	Dezavantajları	Avantajları
RV	5-7	10 ⁶⁻⁷	+	↑	Sadece bölünen hücrelere transfeksiyon ±RCV*	Bölünen hücrelere kararlı transfeksiyon
AV	8-30	10 ¹¹⁻¹²	-	↑	↑İmmünojenite + RCV Geçici ekspresyon	Hem bölünen hem bölünmeyen hücrelere transfeksiyon
AAV	2-4	10 ⁶⁻⁹	+(?)	↑	Küçük klonlama bölgesi	Kararlı transfeksiyon
HSV	< 30	10 ⁸⁻¹⁰	-	↓	↑İmmünojenite + RCV	Büyük klonlama bölgesi, nöron özgünlüğü
HSV	< 25	Veri yok	-	↑	Çiçek aşısıyla aşılınmamış immün yetmezliği olmayan kişilerle sınırlı	Çok çeşitli hücreyi etkin olarak enfekte edebilme
Vaccinia	~ 8	10 ⁶⁻⁷	+	↑	Sadece bölünen hücrelere transfeksiyon ±RCV*	Bölünen hücrelere kararlı transfeksiyon
Lipozom	> 20	Veri yok	-	Değişken	Geçici ekspresyon Bazı hücrelere toksisite	Geniş klonlama kapasitesi
Çıplak DNA	> 20	Veri yok	-	↓	Geçici ekspresyon	Geniş klonlama kapasitesi, sadece kasda ekspresyon sürekliliği

*RCV: replikasyon komponenti virüs

kromozoma entegrasyonu sonucunda 10⁶ modifiye T hücresinden birinde LMO2 onkogeni aktive olmuş ve lösemi gelişmiştir (2, 3). Tedavi sonrası, hastaların T hücrelerinde 50 farklı insersiyon bölgesi saptanmış, ancak bu klonlardan bir tanesi diğerlerinden daha fazla çoğalarak T-hücre lösemisine yol açmıştır. Bu olumsuz gelişmeler, kromozoma rastgele entegre olan vektörleri gen tedavisi aracı olarak kullanan klinik protokollerin reddine yol açmış ve tüm dünyada retroviral transdüksiyonu yapılmış geniş lenfosit havuzlarının kullanımı yasaklanmıştır. Tüm bu nedenlerden dolayı, 2006 yılı verilerine göre onay almış 1273 gen tedavisi klinik deneme protokollerinin %23'ü retroviral kaynaklı olmasına rağmen, ekstrakromozomal olarak kalan (epizomlar halinde) vektörler gen tedavisinin ana aracı olarak görülmektedir (Şekil 1). Epizomal vektörlerin dezavantajı gen tedavisinin sınırlı bir süre

sürdürülebilmesidir. Eğer hedef hücreler aktif olarak bölünüyorsa hücre popülasyonu genişledikçe epizomlar seyrecektir. Dolayısı ile kalıcı bir tedavi imkansızlaşacak ve tedavinin tekrarlanmasını gerektirecektir. Bazı durumlarda, örneğin kanser hücrelerinin öldürülmesi veya akut bir enfeksiyonun tedavisi amaçlandığında, bu yöntem problem teşkil etmez çünkü tedavi amaçlı aktarılan genin uzun süreli ifadesine gerek yoktur. Genin epizomal ekspresyonu sınırlı olması istenmeyen ve beklenmedik durumların ortaya çıktığı durumlarda ise avantaj sağlamaktadır.

İdeal bir gen transferi yöntemi henüz mevcut değildir. Herbirinin farklı avantaj ve dezavantajları vardır (Tablo 1). İnsan hücrelerine transdüksiyon etkinliğinin yüksek olması nedeni ile memeli virüsleri gen transferinde en çok kullanılan vektörlerdir. Onaylanmış gen tedavisi klinik deneme

protokollerinin %70'i viral vektörleri kullanmaktadır (**Şekil 1**) ve bu virüslerin başlıcaları retrovirüsler (RV), adenovirüsler (AV), adenoasosiy virüsler (AAV), herpes simpleks virüs (HSV), ve vaccinia virüs'dür. Seçilecek virüs, hedef hücreye ve geçici veya uzun süreli gen ekspresyonu ihtiyacına göre belirlenmektedir. Geliştirilen çeşitli vektör sistemleri aşağıda özetlenmiştir (4).

1. VİRAL SİSTEMLER:

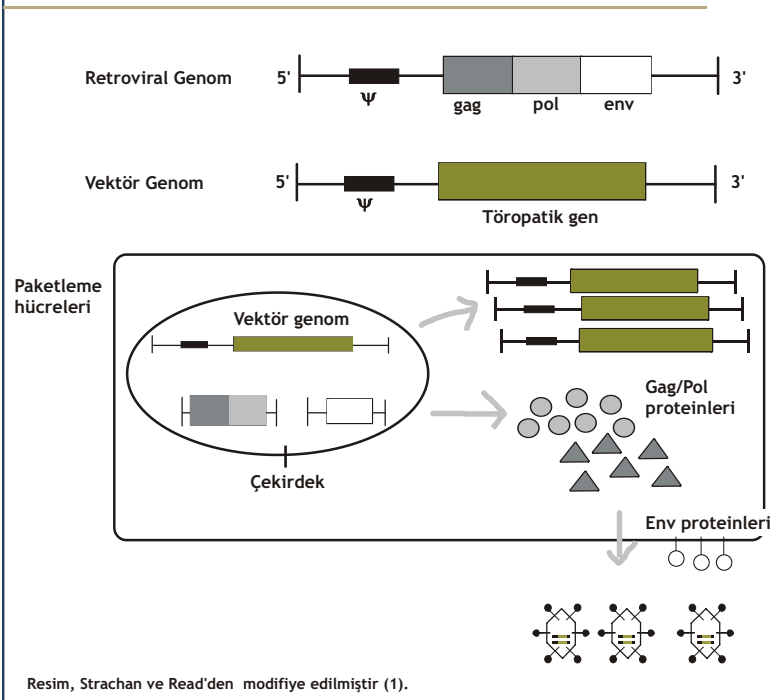
a. Retroviral vektörler:

Çoğunlukla Moloney fare lösemi virüsü (MoMLV) kaynaklı vektörlerdir(5). Retrovirüsler RNA virüsleridir ve taşıdıkları reverz transkriptaz sayesinde genomlarından cDNA sentezleyebilirler. Retrovirüsler, enfekte ettikleri hücrelerin sitoplazmalarına nükleoprotein kompleksi (preintegrasyon kompleksi) taşırlar. Bu kompleks viral RNA genomunun reverz-transkripsiyonunu ve oluşan cDNA'nın konakçı hücrenin kromozomunda herhangi bir yere rastgele girmesini sağlar. Konakçı kromozomuna ulaşabilmesi için retroviral cDNA gereklidir ve erişim sadece hücre bölünmesi esnasında çekirdek membranı kaybolduğunda gerçekleşebilir. Bu nedenle retrovirüsler sadece bölünen hücreleri enfekte edebilirler. Bu durum retroviral vektörlerin kullanımını sınırlamaktadır. Ancak sadece çoğalan hücrelere gen aktarılabilir potansiyeli olması kanser tedavisinde avantaj yaratmaktadır. Örneğin beyin tümörlerinde kullanımı (çoğalmayan normal beyin hücreleri arasında aktif olarak çoğalan kanser hücrelerine terapötik geni seçici olarak aktarabileceğinden dolayı) oldukça güvenlidir.

Doğal retrovirüslerin hücreleri transformasyona uğratma

yeteneğinden dolayı bu olasılığı ortadan kaldırmak için gen tedavisinde kullanılan retrovirüsler genetik olarak değiştirilmiştir. Retrovirüslerin normalde üç transkripsiyon ünitesi vardır. Bunlar; *gag*, *pol* ve *env*'dir. *sis*-etkili RNA elemanı ise viral proteinlerin RNA'yı paketleyebilmesi için gerekli olan RNA tanıma bölgesidir. Vektörde *gag*, *pol* ve *env* genleri çıkarılmıştır ve bu bölgeye terapötik gen klonlanır. Retroviral vektörlerin klonlama kapasitesi 8 kb'dir. Terapötik geni taşıyan vektörün paketlenmesi *gag*, *pol* ve *env* fonksiyonu olan ama bütün retroviral genomu içermeyen özel bir hücre ile sağlanır (**Şekil 2**). Homolog rekombinasyon ile vektörün bu hücrelerden viral proteinleri kodlayan genleri tekrar kazanmaması, yani replikasyon komponenti virüs (RCV) oluşumunu önlemek için, bu genlerin hücrede lokalizasyonu tek bir ekspresyon vektörü üzerinde bulundurulmamaktadır. Her bir gen farklı ekspresyon vektörü üzerinde bulunacak şekilde hücre tasarımı yapılmaktadır. Böylelikle gen tedavisinde kullanılan retroviral vektörün doğal virüs formuna dönüşme olasılığı çok

Şekil 2. Retroviral vektörler ve paketlenme hücre serileri



Resim, Strachan ve Read'den modifiye edilmiştir (1).

azaltılabilmektedir. *Gag* ve *pol*'un bir vektörde, *env*'nin diğer vektör üzerinde bulunduğu hücre serilerinde (rekombinasyon olasılığının 1/10 000 olduğu göz önüne alındığında) retroviral vektörün patojenite kazanma olasılığı 10^{-8} olacaktır. Retroviral vektörlerin üretildiği paketleme hücrelerinin (*virus producer cells-VPC*) fare kaynaklı olması insanlarda antikor oluşumu ve kompleman aktivasyonuna bağlı olarak gen tedavisi etkinliğinin düşük olmasına yol açabilmektedir (6). Bu nedenle insan hücresi kaynaklı paketleme hücre serileri geliştirilmeye ve klinik deneme protokolleri oluşturulmaya çalışılmaktadır (7). Retroviral vektörlerin uzun uç tekrarları (5'-LTR) bölgesindeki promotor bölgeleri dokuya özgü promotorlar ile değiştirilerek gen tedavisinde doku hedeflemesi de sağlanabilmektedir (8).

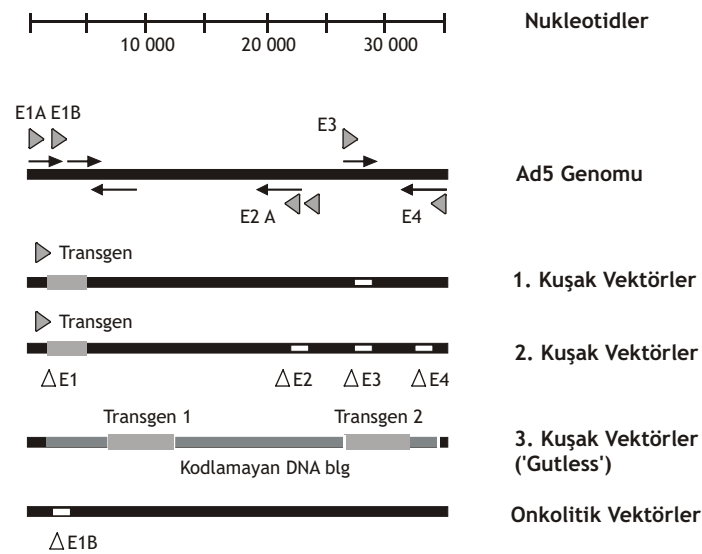
Retroviral vektörlerin hücrelere DNA aktarım etkinliği yüksektir ve erken dönem gen tedavisi

denemelerinin çoğunluğunda kullanılmışlardır. Ancak, insersiyonal mutasyon riski nedeni ile aşağıda anlatılan diğer vektörlere yönelinmiştir.

b. Adenoviral vektörler:

Adenovirüsler (Ad) insanlarda üst solunum yolu enfeksiyonu yapan zarfsız çift iplikli DNA virüsleridir. Şimdiye kadar 51 farklı insan adenovirüs serotipi bilinmektedir. Gen tedavisi vektörleri genellikle Ad2 ve Ad5 virüs kaynaklıdır. Ad virüsler, yüksek nükleer transfer etkinliği, geniş doku tropizmi ve düşük patojenite özellikleri nedeniyle vektör geliştirilmesinde tercih sebebi olmuşlardır. Adenoviral vektörler yüksek titrelerde (retrovirallerden çok daha fazla) üretilebilmektedir ve hem çoğalan hem de çoğalmayan hücrelere etkin gen transferi yapabilmektedirler. Lineer çift-sarmal DNA'sı hücre nükleusunda konakçı genomuna entegre olmadan epizomal kalmaktadır. Yukarıda

Şekil 3. Adenoviral Vektörler



Adenoviral vektörlerin 1. kuşağında E1(+/- E3)-delesyonları, 2. kuşağında E1(+/- E3) ve E2/4 delesyonları vardır. 3. kuşakta viral genomun kodlayan kısmının büyük bölümü çıkarılmıştır. Onkolitik vektörler ise E1B geni dışında tüm viral genomu taşımaktadır. Resim, Volpers ve Kochanek'in makalesinden modifiye edilmiştir (9). E1; Erken fonksiyonları düzenler. Virüs replikasyonu için gerekli, E2; Replikasyonda rol oynayan proteinler ve DNA polimerazı kodlar, E3; Patojenitede önemli: Enfekte olmuş hücrelerin yüzeyine MHC I'in gelmesini engeller, enfekte hücrelerin lizisini önler, E4; Gen ekspresyonunu düzenleyen genleri kodlar.

anlatıldığı üzere, bu özellik biyogüvenlik açısından avantaj, uzun süreli ekspresyon sağlayamadığından dezavantaj oluşturmaktadır. Retroviral vektörler de olduğu gibi adenoviral vektörlerin de üretilebilmesi için yardımcı hücrelere ihtiyaç vardır. Adenoviral vektörlerin genomu (26-45 kb; ör. Ad5 35 kb'dır) büyük olduğundan dolayı başlangıçta farklı defektif gen bölgeleri içeren çeşitli vektörler üretilebilmiştir (9). Birinci kuşak vektörlerde DNA sentezini ve geç viral ekspresyonu kodlayan E1 bölgesi çıkarılmıştır. İkinci kuşak vektörler de ise E1'e ilaveten E2 ve E4 bölgeleri çıkarılmıştır (Şekil 3). Ancak bunların adenoviral proteinlere bağlı immünojenitesi yüksek olduğundan dolayı, daha sonra tüm viral genlerin çıkarıldığı ve replikasyon orijin bölgesinde olan ITR ('tersdönmüş uç tekrarlar-inverted terminal repeats' ve paketleme sinyalinin (Ψ) bırakıldığı

'gutless' veya yardımcı-bağımlı vektörler geliştirilmiştir (9). 'Gutless' vektörler 35 kb'lık terapötik DNA'yı taşıyabilmektedir. Viral gen ekspresyonunun olmaması bu vektörlerin toksisitesini ve immünojenitesinin çok azaltmıştır. 'Gutless' Ad vektörler karaciğer hücrelerinde transgen ekspresyonunu bir yıldan fazla sağlayabilmektedir. Ancak, 'gutless' vektörlerin üretilebilmesi için viral gen fonksiyonlarının sağlandığı yardımcı hücrelere ihtiyaç vardır. Düzenleyici ve yapısal viral proteinlerin hepsini gerektiği zamanda ve miktarda üretebilen hücre serileri henüz istenilen düzeyde geliştirilebilmiş değildir. Bu nedenle, 'gutless' vektörleri üretmek halihazırda çok zordur.

Ad2 ve 5 serotipinin, birçok hücrede bulunan Coxsackie ve adenovirüs reseptörleri ile primer olarak hücreye tutunması ve α_v integrinler ile de hücreye girmesi geniş doku tropizmi sağlamaktadır (10, 11). Dolayısı ile hedeflenmeyen dokularda da gen ekspresyonuna yol açacağından sistemik kullanımları sakınca oluşturmaktadır. En büyük problem ise yüksek immünojeniteleridir. 1999 yılında Faz I ornitin transkarbamilaz (OTC) yetmezliği gen tedavisi denemesi esnasında Jesse Gelsinger 6×10^{13} ikinci kuşak rekombinant adenoviral partikülünü intra-hepatik enjeksiyon ile aldıktan iki gün sonra kuvvetle muhtemel Ad vektörün tetiklediği sitokin salınımın yol açtığı yaygın intravasküler koagülasyon, akut pulmoner ve multiorgan yetmezliği nedeniyle ölmüştür (12). Diğer denemelerdeki hastalar daha az ama belirgin bir inflamatuvar cevap geliştirmiştir. Adenoviral vektörlerin diğer bir dezavantajı ise kısa süreli ekspresyon sağlayabilmeleridir. Birinci kuşak rekombinant adenoviral vektörlerin kullanıldığı kistik fibrozis gen tedavisi denemelerinde transgen ekspresyonu ikinci hafta sonunda azalmaya başlamış, dördüncü haftada ise kaybolmuştur. Sürekli ekspresyon için tekrarlayan uygulamalar gerekmektedir ve bu da immün cevabı şiddetlendirmektedir. Ad vektör partiküllerine karşı tipe özgü nötralizan antikörlerin gelişmesi vektörün tekrarlayan uygulamalarını sınırlayabilmektedir. Bu sorunu çözmek için gen transferi esnasında geçici

immün supresyon yapılması yanı sıra tekrarlayan uygulamalarda farklı serotip veya hayvan adenovirüs kaynaklı vektör alternatifleri üzerinde çalışılmaktadır (13, 14).

Belki de adenoviral vektörler gerçek kullanım yerini yüksek fakat geçici transgen ekspresyonunun istendiği durumlarda bulacaklardır (örneğin kanser hücrelerinin öldürülmesi için). Bu amaçla, Ad virüslerin onkolitik vektör olarak tasarlanan formlarında, virüsün sadece replikasyon orijininde modifikasyon vardır. Kondisyonel replikatif vektör olarak da isimlendiren bu vektörler herhangi bir transgen taşımaz (Şekil 3). Ad vektörlerin replikasyon bölgeleri bazı hücre döngüsü düzenleyici proteinlerine bağlanmaktadır. Örneğin Ad-E1A replikasyon bölgesi pRB'e bağlanır. E1A, S-fazına girişi uyarır ve viral enfeksiyon için kritik olan viral ve hücre genleri trans-aktif eder. E1A bölgesi defektif virüsler (dl922-947) pRB'e bağlanmadığından E2F'i (hücreyi S fazına geçiren faktör) pRB'den kurtaramaz ve dolayısı ile virüs çoğalması gerçekleşemez. Bu nedenle normal hücrelerde Ad-E1A virüsleri çoğalamaz, ancak pRB yolağı anormallikleri olan tümörlerde çoğalarak tümör hücrelerini lizise uğratmaktadır. Ad-E1B ise p53'e bağlanarak virüsün çoğaldığı hücrelerin apoptozise gitmesini önler. E1B bölümü defektif adenoviral virüsler (ONYX-015 veya dl1520) normal hücrelerde p53 blokajı yapamayacağından apoptozis ve büyüme tutuklanması nedeniyle çoğalamayacaktır, p53 mutasyonu ile giden kanser hücrelerinde ise virüsler çoğalarak hücreleri lizise uğratacaktır. ONYX-015, baş-boyun kanserlerinde faz II klinik denemelerde kemoterapi ile birlikte kullanılmaktadır (15). Diğer bir yaklaşım ise E1A ve E1B gen ekspresyonunu tümör veya doku tipine özgü promotörlerin kontrolünde sağlamaktır. Onkolitik adenovirüsler ile elde edilen sınırlı klinik denemeler bu ajanların güvenli olduğunu, ancak kombine tedaviler ile yeterli klinik cevaplar alınabildiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle, intihar (GDEPT) gen veya immün-modulator gen eksprese eden rekombinant onkolitik vektörler geliştirilmeye

çalışılmaktadır (16).

c. Adeno-asosiyal viral vektörler:

Adeno-asosiyal virüsler (AAV) zarfsız, tek-iplikli DNA virüsleridir. Parvovirüs ailesine ait olan AAV'lerin replikasyonları için adeno- veya herpes virüslerin yardımına ihtiyaçları vardır. Çoğu AAV-kaynaklı vektörlerde AAV serotip 2 kullanılmıştır. AAV-2'nin primer reseptörleri heparin sülfat proteoglikanlar, yardımcı reseptörleri ise fibroblast büyüme faktör 1 reseptörü ve $\alpha_v\beta_5$ integrinler'dir ve yaygın doku tropizmleri vardır. Retina ve havayolu epitel hücreleri tropizmi olan AAV-5, iskelet kaslarına gen aktarımı çok etkin olan AAV-6, karaciğer tropizmi gösteren AAV-8 serotipleri sırası ile kistik fibroz, kas distrofileri ve hemofili gen tedavileri için geliştirilmektedir (16). Patojenik olmayan modifiye edilmemiş AAV 2, insan hücrelerinde 19. kromozomun q13.3-qter bölgesinde özgün bir bölgeye entegre olarak latent enfeksiyona yol açar. Bu özelliği sayesinde, risk oluşturmadan uzun süreli transgen ekspresyonu yapabilmektedir. Ancak, spesifik entegrasyonu sağlayan virüsün *rep* proteinidir ve *rep* geni gen tedavisi vektörlerinden çıkarılmıştır. AAV vektörlerinde *rep* geni yanı sıra *cap* geni de olmak üzere AAV genomunun %96'sı çıkarılmıştır. Vektörde virüsten sadece uçlardaki ters dönmüş tekrarları kalmıştır. Diğer sistemlerde olduğu gibi virüs partiküllerinin üretilmesi için gerekli genler (*rep* ve *cap* AAV genleri, *E2a*, *E4 adenoviral genleri dahil*) paketleme hücreleri (HEK 293) tarafından sağlanmaktadır. Paketleme hücrelerinde eksik olan ise AAV'nin ters dönmüş uç tekrarlarıdır. Rekombinant vektör hiç viral gen içermediğinden yüksek düzeyde güvenlik sağlar. Ancak, AAV genomu çok küçük olduğundan sadece 4.5 kb uzunluğunda DNA taşıyabilir. Nispeten kısa DNA dizileri taşıyabilmesi ve yüksek titrelerde üretilmemesi bu vektörün de kullanım alanını sınırlamaktadır (17). AAV vektörler ile kistik fibrozis faz I klinik denemelerinde cesaret verici sonuçlar alınmış ve hücrel immün cevabın gözlenmemiş olması AAV vektörlerin gen tedavisinde etkili bir sistem olabileceği konusunda umut ışığı olmuştur. Ancak Hemofili B deneme protokolü intrahepatik artere

uygulanması nedeniyle karaciğer hasarı ve vektöre karşı immün cevap geliştirme potansiyeli taşımaktadır. AAV vektörler için diğer bir sorun da, çok sayıda nötralizan antikorların bulunmasıdır. Değişik serotiplerin kullanılması bu sorun için bir çözüm olabilir (16).

d. Herpes simplex virüs (HSV) vektörleri:

HSV vektörleri santral sinir sistemi için tropizm gösterir. 152 kb'lık çift-iplikli DNA genomu ve en az 80 gen içermesi ile kompleks bir virüstür. Kromozoma entegre olmaz ancak duysal ganglionlarda yaşam boyu süren latent enfeksiyon oluşturabilirler. Latent kalma mekanizması ile transgenin uzun süreli ekspresyonunu sağlayabilme potansiyeli mevcuttur. Parkinson hastalığı ve santral sinir sistemi tümörleri gibi durumlarda nöronlara gen transferi ana uygulama alanı olabilecektir ancak pratikte kullanım için henüz erken dönemde olan vektörlerdir (18). Gen taşıma kapasitesinin en az 30 kb olması en önemli avantajıdır. Ayrıca sistemik toksisite çıktığı taktirde asiklovir gibi antiherpetik ilaçlar ile viral replikasyonun durdurulma avantajına sahiptir. Ancak latent duruma geçince HSV'nin, vektöre takılan terapötik gen dahil tüm genlerin ekspresyonunu susturması dezavantaj oluşturmaktadır. Latent dönemde sadece HSV'nin LAT bölgesi aktif kalmaktadır. LAT bölgesi LATP1 ve LATP2 promotörlerinin kontrolü altındadır ve latent süreçle ilişkili transkriptleri oluşturmaktadır. Terapötik genin LAT bölgesine klonlanması belki de bu problemi çözebilecektir (19). HSV I genleri de modifiye edilerek onkolitik özellik kazandırılmaktadır. Onkolitik HSV I vektörleri ve klinik denemeleri ile ilgili daha ayrıntılı bilgi Young ve ark. tarafından yayınlanan derlemede bulunabilir (16).

e. Poxvirus/Vaccinia virüs vektörleri:

Çiçek hastalığının eradikasyonundan önce aşı suşu olarak kullanılan Poxvirüs kaynaklı Vaccinia virüsü günümüzde gen tedavisi aracı olarak tekrar gündeme gelmiştir. 200 kb büyüklüğünde genoma sahip Vaccinia virüsünün klonlama kapasitesi yüksektir (25 kb) ve konakçı genomuna entegre

olmaz. Çoğu memeli hücrelerini enfekte edebilir. Ancak tüm virüs genlerini bünyesinde bulundurması ve replikasyon özelliği olması nedeniyle immün cevap gibi yan etkiler oluşturabilir. Tümör hücreleri söz konusu olduğunda bağışık yanıt avantaj olabilmektedir. Vaccinia ile melanomada immünoterapinin Faz III klinik deneme verileri açıklanmıştır (20).

f. Diğer:

Klinik deneme protokolleri oluşturulmuş yukarıdaki vektörlere ilaveten laboratuvarlarda birçok farklı virüs grubundan da vektör geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bunların başlıcaları ise Alfavirüs ve Lentiviral vektörlerdir. Alfavirüsler, Togaviridae ailesinin bir üyesidir ve tek-iplikli RNA virüsüdür. Vektör olarak benzer özelliklere sahip üç değişik virüs kullanılmaktadır. Bunlar: *Semliki forest virüs (SFV)*, *Sindbis virüs (SIN)*, ve *Venezuelan equine encephalitis virüs (VEE)*'dir. Gen aktarım aracı olarak kullanılan çoğu alfavirüs vektörü replikasyon yapamaz ve replikasyonu için gerekli genler yardımcı hücrelerden sağlanır. Ancak intratümöral gen aktarımında kullanılmak için replikasyon özelliği olan vektörler de yapılmıştır. Bu vektörler doğal alfavirüsün tüm genlerini taşımaktadır. Alfavirüslerin hücre toksitesi yüksek ve hücre tropizmi geniş olduğundan birçok tümörün gen tedavisi için uygundur. Rekombinant alfavirüslerin intratümöral enjeksiyonu tümör hücrelerinde apoptozisi tetiklemektedir (21). Lentiviral virüsler ise bölünmeyen hücreleri de enfekte edebilen özelleşmiş diploid retrovirüslerdir (22). İmmün sistemi tetiklememeleri ve yüksek düzeyde gen ekspresyonu sağlamaları diğer önemli avantajlarıdır. Çoğu lentiviral vektörlerin kaynağı insan HIV (*human immunodeficiency virüs*) virüsüdür. Diğer retrovirüsler gibi genoma rastgele entegre olması nedeniyle benzer güvenlik sorunları taşımaktadır. HIV genomu standard retrovirüslerin genomundan çok daha karmaşıktır. Standard retrovirüslerde bulunan transkripsiyon ünitelerine ilaveten *tat* ve *rev* genleri vardır. Gereksiz genlerin çıkarılması, güvenli paketleme hücre serilerinin oluşturulması ve bunları yaparken vektörün

bölünmeyen hücrelere transdüksiyon kabiliyetinin korunması için çok çaba harcanmıştır. Güvenliği artırmak amacıyla kendini inaktive eden vektörler geliştirilmeye çalışılmaktadır (23). Rekombinasyon komponenti virüslerin oluşma potansiyeli nedeniyle domestik kedilerde HIV benzeri tabloya yol açan FIV (*feline immunodeficiency virüs*) ve atlarda anemiye yol açan bir lentivirüs olan EIAV (*equine infectious anemia virus*) virüs tabanlı vektör sistemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Lentiviral vektörleri kullanan sınırlı sayıda klinik deneme protokolü onaylanmış bulunmaktadır.

2. VİRÜS HARİCİ VEKTÖR SİSTEMLERİ :

Virüs haricindeki vektör sistemlerinin üretimi kolay ve göreceli olarak ucuzdur, paketleme kapasiteleri büyüktür ve herşeyden önemlisi biyogüvenirliliği yüksektir. Laboratuvarında yabancı DNA'yı hücre içine aktarma görece olarak kolaydır ve viral sistemlerin güvenlik problemlerinin kontrol altına alınmadığı durumlarda bu yöntemlerin bazılarının gen tedavisinde kullanılma potansiyeli vardır. Ancak günümüzde tüm bu yöntemlerin, düşük gen transfer etkinliği ve kısa süreli ekspresyon oluşturabilme problemleri vardır.

a. Lipozomlar:

Lipozomlar, memeli hücrelerinin membran yapısı model alınarak yapay olarak belli lipidlerin sıvı ortamda karıştırılması ile oluşturulan sentetik araçlardır. Lipozomlar, virozomlar, katyonik lipidler, lipopolilizinler, polikasyon konjugatlar gibi çeşitli formları vardır. Örneğin fosfolipidler, biyolojik membranların yapısını taklit eden çift tabakalı araç oluşturur. Fosfolipidlerin oluşturduğu araçta hidrofilik fosfat grupları dış tarafta, hidrofobik lipid kuyrukları iç tarafta bulunur. Aktarılabilecek DNA in vitro lipozom ile paketlenir ve in vivo hedef dokuya doğrudan gen transferi için kullanılır. Lipozom-DNA kompleksi lipopleks, polimer-DNA kompleksi ise polipleks olarak adlandırılır. Katyonik lipozomların pozitif yüzey yükü olduğundan DNA ile doğal olarak kompleks oluşturur. Ancak anyonik ve nötral lipozomların DNA ile kompleks oluşturabilmesi için

DNA'nın başka araçların içine konulması gerekir. DNA'nın lipid kılıf ile sarılması DNA'nın in vivo ortamda parçalanmasını önler ve hücre içine endositoz ile alınmasını sağlar. Katyonik lipozomların gen aktarım etkinliği daha iyi olduğundan (negatif yüklü membranlara kolaylıkla penetre olur) ve hücre içinde aktarılan DNA'yı yıkımdan etkin bir şekilde koruyabildiğinden, gen aktarım deneylerinde en fazla tercih edilen formdur (24). Viral vektörlerden farklı olarak DNA-lipid kompleksini hazırlamak kolaydır ve aktarılan genin büyüklüğünü sınırlayan bir durum yoktur. Ancak, gen aktarım etkinliği viral vektörlerden 10 000 kez düşüktür ve aktarılan DNA kromozomal DNA içine entegre olacak şekilde tasarlanmamıştır. Özellikle çoğalan hücrelerde gen yoğunluğunun düşmesi önemli bir problemdir ve transgen ekspresyonunun kısa süreli olmasına yol açmaktadır.

b. Elektroporasyon:

Çıplak DNA, bazı durumlarda hedef dokuya, örneğin kasa, enjeksiyon ile doğrudan uygulanabilir. Direkt uygulamada diğer bir seçenek ise elektroporasyondur. Bu metod, kısa elektrik uyarıları vererek transmembran potansiyelinin indüklenmesine ve hücre zarında küçük aralıklar açılmasını sağlar. Oluşan bu aralıklardan DNA hücreye daha kolay girer. Her doku özgün ve kendine has özellikleri olduğundan dolayı etkin bir transfeksiyon için optimal elektroporasyon koşulları yoktur. Transfeksiyon etkinliği hem elektrik akımının amplitüd ve süresine hem de DNA yoğunluğuna bağlıdır. İn vitro koşullarda birkaç kilovoltluk voltaj ve birkaç mikrosaniyelik akım süresi optimal olabilirken, in vivo koşullarda onlar hatta yüzlerce kilovolt ve milisaniyelik akım gereklidir (25). Elektroporasyonun in vivo uygulaması hedef dokuya in situ elektrodlar takılarak uygulanmaktadır. Kas, beyin, deri, karaciğer ve tümör dokularına elektroporasyonla başarılı gen aktarımları yapılmıştır.

c. Doğrudan enjeksiyon veya partikül bombardımanı:

Elektroporasyona benzer diğer bir yöntem

partikül bombardımanı (biyolistik veya 'gene gun') tekniğidir. Metal (altın) parçacıklarının üzerine kaplanan DNA özel bir tabancadan hücreye yüksek basınç ve hız altında (sıkıştırılmış helyum yardımı ile) ateşlenir. Bu basit ve nispeten güvenli yöntemle bazı dokulara başarılı gen aktarımı yapılmıştır. Ancak bu enjeksiyon yöntemiyle de gen aktarım etkinliği düşüktür ve enjekte edilen DNA hücre genomuna kararlı bir şekilde entegre olamamaktadır. Kas gibi düzenli olarak çoğalmayan dokularda DNA dayanıklılığı çok önemli olmayabileceğinden ve aylarca enjekte edildiği kasta ekspresyonuna devam edebileceğinden dolayı, bu yöntemin ilk uygulamaları 'Duchenne muscular dystrophy' fare modelinde (*mdx fareleri*) distrofin geninin aktarımı şeklinde olmuştur (26). Distrofin geninin büyüklüğü nedeni ile bir minigen kullanılmıştır. Minigen, distrofin cDNA ve buna takılı yüksek düzeyde ekspresyonu güvence altına alan düzenleyici bir dizi (örneğin *kuvvetli bir viral promotor*) içermiştir ve kasa doğrudan intramüsküler enjeksiyon ile uygulanmıştır.

d. Reseptör aracılı endositoz:

Bu yöntemde aktarılacak DNA, özgün hücre yüzey reseptörüne bağlanabilen ve dolayısı ile endositozu indükleyip DNA'nın hücre içine alınmasını sağlayabilecek hedefleyici bir moleküle takılır. Örneğin; hepatositler serumu asialoglikoproteinlerden yüzeylerindeki reseptörler sayesinde temizleyebilirler. Polilizine (pozitif yüklü) kovalan bağla bağlı asialoglikoproteinler DNA'ya (negatif yüklü) elektrostatik etkileşimler ile dönüşebilir nitelikte bağlanır. Eğer bu kompleksin karaciğere infüzyonu safra yolu veya vasküler olarak gerçekleştirilirse hepatositler tarafından seçici alınır. Daha genel bir yaklaşım ise, bir çok hücrede eksprese edilen ancak proliferen olan hücrelerde ve hematopoetik hücrelerde daha fazla olan transferrin reseptörünü kullanmaktır.

Bu şekilde alınan maddeler genelde lizozoma yönlendirilir ve DNA'nın hücre çekirdeğine ulaşabilmesi için bazı kaçış mekanizmaları olması gerekir. Özellikle taşıdığı DNA'yı sitoplazmaya

bırakamayan bazı polipeksler endozom-litik ajanlar ile birlikte kullanılmalıdır. Bir seçenek adenovirüs veya adenovirüs proteinlerini birlikte vermektir. Bu erken endozomu yıkar ve içeriğinin kaçmasını sağlar (17). Gen transfer etkinliği yüksektir ancak bu metod transfer edilen genin hücrenin genomuna entegrasyonuna izin vermez.

e. Bakteri aracılı gen transferi:

Bakteri aracılı DNA aktarımı son yıllarda çalışılan yeni bir gen aktarımı yaklaşımıdır. Saklama ve üretme koşullarının kolaylığı, taşıyabilecekleri ve aktarabilecekleri DNA miktarının büyük olması, hücreden hücreye yayılabilme özelliği ile non-replik vektörlerin ulaşamayacağı yerlere gidebilmesi nedeniyle gerek in vitro gerekse in vivo transgen uygulamaları için umut vermektedir. Bakteri aracılı gen transferinde aktarılacak gen öncelikle ökaryotik ekspresyon vektörüne takılır. Bakteriyel sistemler enfeksiyon hastalıklarında heterolog antijen taşıyarak aşılama için kullanılabilirdiği gibi onkolojide immünotedavi, onkolitik ve tümör hedefleme yetisi vardır. Bu amaçla kullanılan bakteriler arasında zayıflatılmış *S. typhimurium* suşları başta olmak üzere *L. monocytogenes*, *Shigella*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* ve *invaziv E. coli* sayılabilir (27). *Bifidobacteria* ve *Clostridia* zorunlu anaerobik bakteri olmalarından dolayı nekrotik/hipoksik merkezli büyük tümörlerin lizisini sağlayabilmekte ancak küçük metastatik lezyonlarda etkisiz kalmaktadırlar. 1960'lı yıllarda insan klinik denemelerinde kullanılan toksin oluşturmeyen *Clostridia* sporları tümör kitleleri içinde abse oluşturmaya rağmen tümör gerilemesini sağlayamamıştır (28). Klinik etkinliğin saptanamamasından dolayı klinik denemelere devam edilmemiştir. Son zamanlarda *Clostridium*'un tümör hedefleme özelliği pro-drug aktive eden enzimlerin selektif aktarımı için denemeye başlamıştır ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. *Clostridia*'nin daha güvenli alternatifi nonpatojen ve spor oluşturmeyen *Bifidobacteria*'dır. Endostatin genini kodlayan plazmidi taşıyan *Bifidobacterium adolescentis* deneysel karaciğer tümörlerinde anjiogenezi ve

tümör büyümesini baskılamıştır (29). Fakültatif anaerobik olan *Salmonella*'nın ise onkolitik potansiyeli hipoksik merkezli büyük tümörlerin yanısıra oksijenlenen küçük metastatik lezyonlarda da vardır. İmmünomodulator sitokin (TGF-1, IL-10) genlerini taşıyan *invaziv E. coli* ve *Lactococcus lactis* suşları ise enflamatuar barsak hastalıklarında denenmektedir.

Bu yöntemin aktarım etkinliği yüksek olmasına rağmen bizim (henüz yayınlanmamış bulgularımızda) ve diğer birçok çalışma grubunun gözlemlediği önemli bir problem, plazmid kararsızlığı ve bunun sonucunda plazmidin hücrede kaybolması ve kararsız ekspresyon göstermesidir (30). Bu problemlerin en önemli sebeplerinden birisi yüksek kopya sayılı plazmidler kullanılmasıdır. Rekombinant proteinlerin üretiminde tercih edilen yüksek kopya sayılı plazmidler yüksek gen dozajına bağlı yüksek ekspresyon düzeyi sağlamaktadır. Ancak bazı durumlarda kopya sayısının artması gen ürününün artışını sağlayamaz. Bu muhtemelen hücrenin sınırlı transkripsiyon ve translasyon kapasitesinden dolayıdır. Plazmid replikasyonu ve rekombinant gen ekspresyonundan kaynaklanan metabolik yük büyüme hızını yavaşlatarak ürün oluşumunu düşmesine yol açabilir. Protein ekspresyonu sadece plazmid kopya sayısına değil, aynı zamanda promotör gücüne, mRNA kararlılığına, proteolize, ve protein katlanmasına da bağlıdır. Tüm bu faktörler plazmid kararlılığını etkilemektedir. Çeşitli araştırma merkezleri daha kararlı düşük kopya sayılı plazmidler geliştirmeye çalışırken diğer yandan da aktarılan plazmidin hücre içindeki kaderini belirleyen olayları aydınlatmaya çalışmaktadır (30, 31). Regülasyon veya replikasyon proteinlerini kodlayan yapısal genlerdeki delesyon, insersiyon veya nokta mutasyonları kopya sayısını değiştirebilir. Plazmid üzerindeki ters dönmüş tekrarlar veya özgün ikincil yapılar DNA onarım sistemlerinin hedefi haline gelmekte, UV onarım sistemi ve SOS sistemi tarafından plazmid DNA'sını parçalara ayırabilmektedir. İlgili DNA onarım genlerini taşımayan üretim suşları plazmid

kararlılığını artırmaktadır.

Töropatik geni taşımak üzere kullanılan plazmidlerin hücre bölünmesi esnasında dağılımı eşit olmamakta ve bazı hücreler birden fazla plazmid içerirken bazıları ise hiç plazmid içermemekte, dolayısı ile bir süre sonra ortama rekombinant plazmidi içermeyen hücreler hakim olmaktadır. Bu nedenle bakteri aracılı gen tedavisinde plazmid kararlılığı için selektif ortamlar kullanılmaktadır. Rekombinant protein üretiminde en yaygın kullanılan selektif sistemler antibiyotiklerdir. Ancak, bakteri aracılı gen tedavisinde kullanılan plazmidler antibiyotik geni taşımamalıdır çünkü dirençlilik genleri horizontal gen transferi ile patojenik mikroorganizmalara aktarılabilir. Ayrıca allerjik problemler ortaya çıkabilmektedir. Amerikan Besin ve İlaç Yönetimi FDA tarafından onaylanan tek antibiyotik ise insanlarda az kullanılmaları nedeni ile kanamisinidir (www.cfsan.fda.gov/~dms/opa-armg.html). Plazmidlere direnç geni eklemekten ama yine antibiyotikli ortamda kararlılığı sağlanabilen bir yöntem Williams ve arkadaşlarının geliştirdiği represör titrasyon metodudur (32). Bu yöntemde dirençlilik geni plazmidi taşıyan suşun kromozomuna örneğin lac promotörünün aşağısına entegre edilir. Lac represör geni de kromozoma lokalizedir. Normal koşullarda dirençlilik geni ekspresyonu represör protein nedeniyle baskılanmış durumdadır ve kanamisinli ortamda üremez. Bir veya birden fazla lac promotör taşıyan yüksek kopya sayılı plazmid hücreye aktarıncaya represör yetersiz kalacağından hücreler kanamisinli ortamda üreyebilir. Bunun yanı sıra antibiyotiksiz seleksiyon sistemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bunlardan pCOR sistemi klinik denemelere girmiştir. pCOR plazmidi supresör tRNA geni taşımaktadır ve bunun protein ürünü antibiyotik yerine seleksiyonda kullanılmaktadır. Çoğaltıldığı E.coli hücresinde ise argE geninde amber mutasyon vardır. Yani arginin için 'auxotrophic'tir. argE arginin sentezinde önemli olan N-asetil ornitinazı kodlar. Supresör tRNA ise amber mutant bölgeyi okuyup protein sentezinin devamını sağlayabilir. Böylelikle ancak plazmidi taşıyan hücreler çoğalabilmektedir

(33). Segregasyon sonrası plazmidsiz hücrelerin eleyen diğer bir sistem ise Hok/sok stabilizasyon sistemidir (34). Hok gen ürünü öldürücüdür. Hok geni bakteri kromozomu üzerinde zayıf konstitüf promotör altındadır fakat mRNA'sı kararlıdır. Katil Hok genini baskılayan Sok geni ise plazmid üzerine takılıdır. Sok geni Hok mRNA'sına komplementer 'antisense' RNA kodlar ve plazmid üzerinde güçlü konstitüf promotör altındadır fakat mRNA'sı kararsızdır. Dolayısı ile hücre bölünmesi sonrası plazmid içermeyen bakteriler kontrolsüz kalan Hok protein ürünü nedeniyle eleneceklerdir.

Daha kararlı plazmid sistemlerinin geliştirilmesi üretilme ve kontrol kolaylığı olan bakteri aracılı gen transferinin daha etkin bir hale getirilmesini sağlayabilecektir.

3. HİBRİD VEKTÖR SİSTEMLERİ:

Her vektör sisteminin kendine özgü avantaj ve dezavantajları bulunduğu vektörlerin kombine olarak kullanılmaları dezavantajlarını aşabilmenin bir yolu olabilir. Çeşitli hibrid vektörler bilinmekte olup bunların başlıcaları virozomlardır (17, 24). Virozomların bazı formları, Lipopleks (DNA-lipozom kompleksi) ve inaktive HVJ virüs (Japon hemaglutinasyon virüsü) veya influenza virüsü kombinasyonu ile oluşturulmuşlardır. Solunum yoluna gen transferi potansiyeli yalnız başına katyonik lipozomlar veya viral vektörleri uygulayan yöntemlere göre daha yüksektir. İmmünolojik olarak iyi tolere edildiklerinden tekrarlayan uygulamaların transfer etkinliği ve güvenliği üzerinde olumsuz etkisi yoktur. Katyonik lipozomlar veya polimerler basitçe adenoviral vektörler ile karıştırılıp uygulanır. Bu yöntem özellikle viral reseptörü olmayan hücrelere gen aktarımında faydalıdır. Ayrıca, inaktif adenovirüsler katyonik lipozomların veya polimerlerin transfer etkinliğini artırmaktadır. Virüs-virüs kombinasyonları diğer bir hibrid sistemdir. Böylelikle, her bir viral vektörün avantajlarından faydalanılır. Örneğin adenovirüs ile Epstein-Barr virüsünün (EBV) hibridleri yüksek titrelerde elde edilebilir (adenovirüs sayesinde) ve

hücrede epizom olarak uzun süreli kalabilir (EBV'in EBNA1 geni vektörün nükleusa transferini güvence altına alarak gen dilüsyonunu önler).

GEN TEDAVİSİ VEKTÖRLERİNİN GÜVENİRLİLİĞİ

Gen tedavisinin pratikte yaygın uygulama alanı bulabilmesi tedavi genlerinin hücrelere yeterli yüksek dozlarda aktarılabilmesine, genin hastalıklı hücreleri hedefleyebilmesine ve aktarılan yeni genlerin vücut tarafından sıkı kontrol altında tutabilme yollarının geliştirilmesine ve dolayısı ile biyogüvenlik problemlerinin aşılmasına bağlıdır. Diğer biyoteknoloji ürünlerinde olduğu gibi prelinik hayvan modellerini kullanarak güvenilirlik değerlendirmesinde iki nokta göz önünde bulundurulur: 1) hayvan türünün ve fizyolojik/hasta durumun seçimi ve; 2) doz, uygulama yolu ve tedavi rejimini (sıklığı ve süresi) kapsayacak şekilde aktarım yolunun değerlendirilmesi. Biyogüvenlik için değerlendirme terapötik genin üretiminden verilmiş sonrasına kadar (aktarılan genin güvenilirliği, vektörün güvenilirliği, patojenite, etrafa yayılma, genom içine girme, konakçıdaki viral gen dizileri ile rekombinasyon, paketleme hücre serilerinin güvenilirliği, yardımcı hücre kontaminasyonu, *ex vivo* çoğaltılan alıcı hücrelerin güvenilirliği ve aktarılan DNA'nın gen ekspresyonunun düzenlenmesi olmak üzere) birçok aşamada yapılması gerekmektedir. Gen ürününde değişikliğe yol açan genetik dizi modifikasyonlarının yapılması, veya alternatif promotör/enhancer dizilerinin kullanılmış olması hayvan çalışmalarında ilave güvenilirlik değerlendirmelerini gerektirebilir. Bu tip yaklaşımlar için bilimsel gereklilik ortaya konmak zorundadır. Terapötik gen ürününün immünomodulatör aktivitesi varsa bağışıklık sisteminin aşırı uyarımına bağlı gelişebilecek otoimmünite potansiyeli de göz önünde bulundurularak güvenilirliği değerlendirilmelidir. İstenmeyen yan etkiler eksprese olan terapötik genin istenmeyen bölgelerde ve/veya istenmeyen miktarlarda, örneğin, reseptör/iyon kanallarının normalde eksprese olmayan yerlerde ekspresyonu,

enzimlerin fazla ekspresyonu, veya büyüme faktörleri veya büyüme faktör reseptörlerinin uzun süreli ekspresyonu sonucu ortaya çıkabilmektedir. Dolayısı ile aktarılan genin yeri, dağılımı ve istenmeyen ekspresyon düzeyleri de değerlendirmeye alınmaktadır. Genin *ex vivo* transdüksiyonu yapılarak, genetik modifikasyona uğramış terapötik hücrelerde meydana gelen değişiklikler (morfoloji, fonksiyon ve proliferasyon, ölümsüzlük gibi davranışlar veya malign-transforme fenotip indüksiyonu) incelenmelidir. Ayrıca transdüksiyon, hücrelerin *in vivo* trafiğini ve dağılımını etkileyebileceğinden hayvan deneyleri ile terapötik hücrelerin etkinliği saptanmalıdır.

Gen tedavisi vektörlerinin güvenilirliğinin değerlendirilmesi için 1999 yılında Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü, *NIH*, tarafından detaylı bir yol haritası çizilmiştir. Buna göre gen tedavisi vektörlerinin güvenilirliği, aktarım sistemi, gen transferi ve ekspresyonu, retrovirüs aktarım sistemleri, retrovirüs harici aktarım/ekspresyon sistemleri olmak üzere dört ana sınıfta incelenmektedir (35):

1. AKTARIM SİSTEMLERİ:

a. Rekombinant DNA'nın hedeflendiği hücreler nedir? Hangi hedef hücreler *ex vivo* olarak işlem gerektir ve bu hücrelerin işlemde önce ve sonra karakterizasyonları nasıl yapılacaktır?

b. Aktarım sistemi etkin midir? Hücrelerin yüzde kaç aktarılan DNA'ları içermektedir?

c. Aktarılan DNA dizisinin yapısı nasıl monitorize edilecektir ve analizin duyarlılığı nedir?

d. Aktarılan DNA ekstrakromozomal mıdır yoksa kromozoma entegre olacak mıdır? Aktarılan DNA tekrar düzenlenmiş midir?

e. Hücre başına aktarılan DNA kopya sayısı nedir? Eklenen DNA'nın hücrede gerek kalımlılığı ve gerekse yapısı kararlı mıdır?

2. GEN TRANSFERİ VE EKSPRESYONU

a. Laboratuvar çalışmalarında gen transfer sisteminin *in vivo* ve *in vitro* etkinliğini belirlemek

için hangi hayvan ve hücre kültürü modelleri kullanılmıştır? Bu sistemlerin insan tedavisi ile ne gibi benzerlik ve farklılıkları bulunmaktadır?

b. İnsanda başarılı olabilmesi için ilgili gen transfer protokolünde tahmin edilen gen transfer ve/veya ekspresyonunun minimal düzeyi nedir? Bu düzey nasıl saptanmıştır?

c. Gen transfer ve ekspresyonunun minimum gerekli düzeyini elde edebilmek için kullanılan aktarım sisteminin etkinliğini değerlendiren hayvan ve hücre kültürü model deneylerine ait tüm sonuçları detaylı açıklanmış mıdır?

d. Ekspresyonun ne kadarı sadece istenen gendendir (ve ne kadarı etraftaki diğer DNA'dandır)? Gen insersiyonu diğer genlerin ekspresyonunu ne düzeyde değiştirmektedir?

e. Aktarılan DNA'dan ekspresyon, hücrelerin yüzde kaçında gerçekleşmektedir? Normal aktivitenin yüzde kaç eklenen genden kaynaklanmaktadır?

f. Gen, hedef hücreler dışında da ekspresyon olmakta mıdır? Eğer oluyorsa, hangi düzeydedir?

3. RETROVİRÜS AKTARIM SİTEMLERİ

a. Retroviral vektör hazırlanması aşamasında hangi hücre tipleri enfekte olmuştur? Eğer varsa, hangi hücreler enfeksiyöz partikülleri üretmektedir?

b. Retroviral vektörün ve oluşan provirüsün (kayıp, yeniden düzenlenme, rekombinasyon, veya mutasyon açısından değerlendirildiğinde) kararlılığı nedir? Hastanın hücrelerinde aktarılan genin endojen veya diğer viral DNA dizileri ile yeniden düzenlenme veya rekombinasyona ne düzeyde maruz kalacağı hakkında mevcut bilgi nedir? Karasızlık veya varyasyonu azaltmak için vektör tasarımında hangi önlemler alınmıştır? Kararlılığı test etmek için hangi laboratuvar çalışmaları yapılmıştır, ve analizlerin duyarlılığı nedir?

c. Transfer sonucu oluşacak potansiyel zararlı etkiler (ör. neoplazi gelişimi, zararlı mutasyonlar, enfeksiyöz partiküllerin yeniden oluşması veya immün reaksiyon) hakkında laboratuvar verileri nelerdir? Patojeniteyi azaltmak için vektör tasarımında hangi önlemler alınmıştır? Patojeniteyi

test etmek için hangi laboratuvar çalışmaları yapılmıştır ve analizlerin duyarlılığı nedir?

d. Hayvan çalışmalarında vektör DNA'nın tedavi edilmeyen hücrelere, özellikle germ hücre serisine girişi ile ilgili bir bulgu mevcut mu? Bu amaçla yapılan analizlerin duyarlılığı nedir?

e. Klinik deneme için önerilen protokolün insan dışı primatlar ve/veya diğer hayvanlarda yapılmış benzerleri mevcut mu? Sonuçlar nelerdir? Özellikle retroviral vektörün herhangi bir endojen veya diğer viral DNA dizileri rekombine olduğuna dair hayvan deneylerinde bulgu var mı?

4. RETROVİRÜS HARİCİ AKTARIM/ EKSPRESYON SİTEMLERİ

a. İnsana uygulanacak retrovirüs harici aktarım sistemlerinin de güvenilirlik değerlendirilmesi titizlikle yapılmalıdır. Nükleik asitler örneğin lipozomlar ile kompleks haldeyse ve inhalasyon yolu ile uygulanacaksa kompleks halde olmayan lipozomlardan farklılık gösterebileceği göz önünde bulundurulmalı ve klinik çalışma için önerilen lipozom /DNA kompleksinin güvenilirlik değerlendirilmesi kompleks olmayan lipozomlardan bağımsız olarak değerlendirilmelidir. Ekspresyon olacak geni taşıyan plazmidin tamamının tasarlanması promotör, diğer transkripsiyonel elemanların ve homolog rekombinasyonu tetikleyebilecek herhangi bir dizinin seçim nedenini de kapsayacak şekilde açıklanmalıdır. Aktarım sisteminin patolojik ve istenmeyen etkileri olup olmadığına yönelik (DNA'nın tedavi edilen hücreler dışındaki hücrelere özellikle germ hücre serisi hücrelerine girip girmediğini de saptar şekilde) yapılan hayvan çalışmaları, tedaviden sonra hayvanların ne kadar süre boyunca incelendiği ve hangi güvenlik çalışmalarının yürütüldüğü, bu analizlerin duyarlılık düzeyleri ile ilgili verilerle birlikte bildirilmelidir.

Bir gen tedavisi protokolü onay almadan önce yukarıdaki sorulara ilaveten halk sağlığı açısından da aşağıdaki kaygıları gidermelidir:

a. Aktarılan DNA'nın hastadan diğer kişilere veya

çevreye yayılması ile ilgili belirgin bir olasılık söz konusu mu?

b. Böyle bir yayılım durumunda hangi önlemler alınacaktır (ör. aynı odayı paylaşan hastalar, sağlık görevlileri veya aile bireyleri için)?

c. Halk sağlığına riskler varsa bunu hafifletmek için hangi önlemler alınacaktır?

d. Yenidoğanların maruz kalabileceği olası riskleri, dikey aktarım da dahil, önlemek amacıyla hastalara doğum kontrol önlemleri önerilecek mi? Benzer kaygılar sağlık personeli için de geçerli midir?

SONUÇ

Gen tedavisi klinik denemelerine günümüze kadar tüm dünyada binlerce hasta katılmış olmasına rağmen başarılı sonuçlar henüz çok azdır. OTC yetmezliği olan bir hastanın hepatik artere terapötik geni taşıyan adenoviral vektörlerin enjeksiyonu sonucu ölümü ve retroviral aracılı gen tedavisi alan 17 SCID hastasından 3'ünde retroviral insersiyon sonucu lösemi gelişmesi viral vektörlerin toksisiteyi ile ilgili kaygıları artırmıştır. Tüm bu süreç içinde **baş-boyun** kanserleri için geliştirilen ve p53 tümör baskılayıcı geni taşıyan rekombinant adenoviral vektör (Gendicine) rutin kullanım için Çin'de lisans almıştır ve hepatoselüler kanserlerde kullanılmaya başlanmıştır (36, 37). İnsan gen-transfer ürünlerinin ve protokollerinin değerlendirilmesi bu makalenin içeriğinden anlaşılacağı üzere oldukça karmaşıktır ve buna uygun yapılanmayı gerektirmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) Amerika Birleşik Devletlerindeki gen tedavisi çalışmalarının denetimini yapmaktadır. ABD'de klinik denemelere girecek bir gen tedavisi ürünü önce FDA'dan onay almalıdır (www.fda.gov/cber/infosheets/genezn.htm). Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH-National Institute of Health) gen tedavisi araştırmalarının güvenliğinde rol oynayan diğer önemli bir kuruluştur. NIH araştırmacılar ve enstitüler için gen tedavisi klinik denemelerinde izlenecek kılavuzları sağlamaktadır. Klinik deneme protokolleri veya planları öncelikle NIH Biyoteknoloji Aktiviteleri Ofisine kaydı yapılmakta, daha sonra NIH

Rekombinant DNA Danışma Komitesi (RAC-*The Recombinant DNA Advisory Committee*) tarafından tıbbi, etik ve biyogüvenlik açısından değerlendirilmektedir. Her bir gen tedavisi klinik denemesine başlanmadan önce ise enstitünün IRB (*Institutional Review Board*) ve IRC (*Independent Review Consulting*) kuruluşları tarafından onaylanmak zorundadır. Geleceğin tedavi metodlarına hazırlıklı olabilmek ve bu alanda ülkemizde de güvenli araştırmaların yürütülebilmesini güvence altına almak için benzer yapılanmalara ihtiyaç vardır ve en kısa zamanda gerekli alt yapı kurulmalıdır.

KAYNAKLAR:

1. Strachan T, Read AP. Chapter twenty one: New approaches to treating disease. New York: Garland Science, 2004.
2. Hacein-Bey-Abina S, von Kalle C, Schmidt M, ve ark. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science*, 2003; 302: 415-19.
3. Cavazzana-Calvo M, Lagresle D, Hacein-Bey-Abina S, ve ark. Gene therapy for severe combined immunodeficiency. *Annu Rev Med*, 2005; 56: 585-602.
4. Kay M, Glorioso JC, Naldini L. Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nature Med*, 2001; 7: 33-40.
5. Pages JC, Bru T. Toolbox for retrovectorologist. *J Gene Med*, 2004; 6: 67-82.
6. Takeuchi Y, Porter CD, Strahan KM, ve ark. Sensitization of cells and retroviruses to human serum by (alpha 1-3) galactosyltransferase. *Nature*, 1996; 379: 85-88.
7. Cosset F, Takeuchi Y, Battini JL, ve ark. High-titer packaging cells producing recombinant retroviruses resistant to human serum. *J Virol*, 1995; 69: 7430-36.
8. Diaz R, Eisen T, Hart IR, ve ark. Exchange of viral promoter/enhancer elements with heterologous regulatory sequences generates targeted hybrid long terminal repeat vectors for gene therapy of melanoma. *J Virol*, 1998; 72: 789-95.
9. Volpers C, Kochanek S. Adenoviral vectors for gene transfer and therapy. *J Gene Med*, 2004; 6: 164-71.
10. Bergelson J, Cunningham JA, Droguett G, ve ark. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science*, 1997; 275: 1320-23.
11. Wickham T, Mathias P, Cheresch DA, ve ark. Integrin-

- alpha-V-beta-3 and integrin-alpha-V-beta-5 promote adenovirus internalization but not virus attachment. *Cell*, 1993; 73: 309-19.
12. Report of the National, Institutes of Health Recombinant DNA Advisory Committee. NIH Report. Assessment of adenoviral vector safety and toxicity. *Hum Gene Ther*, 2002; 13: 3-13.
 13. Havenga M, Lemckert AAC, Ophorst O, ve ark. Exploiting the natural diversity in adenovirus tropism for therapy and prevention of disease. *J Virol*, 2002; 76: 4612-20.
 14. Roy S, Gao GP, Lu Y, ve ark. Characterization of a family of chimpanzee adenoviruses and development of molecular clones for gene transfer vectors. *Hum Gene Ther*, 2004; 15: 519-30.
 15. Kirn D, Niculescu-Duvaz I, Hallden G, ve ark. The emerging fields of suicide gene therapy and virotherapy. *Trends Mol. Med*, 2002; 8: S68-S73.
 16. Young L, Searle PF, Onion D, ve ark. Viral gene therapy strategies: from basic science to clinical application. *J Pathol*, 2006; 208: 299-318.
 17. Gardlik R, Palffy R, Hodosy J, ve ark. Vectors and delivery systems in gene therapy. *Med Sci Monit*, 2005; 11: RA110-21.
 18. Fink D, Glorioso JC. Engineering herpes simplex virus vectors for gene transfer to neurons. *Nature Med*, 1997; 3: 357-59.
 19. Carpenter D, Stevens JG. Long-term expression of a foreign gene from a unique position in the latent herpes simplex virus genome. *Hum Gene Ther*, 1996; 7: 1447-54.
 20. Wallack M, Sivanandham M, Balch CM, ve ark. Surgical adjuvant active specific immunotherapy for patients with stage III melanoma: the final analysis of data from a phase III. randomized, double-blind, multicenter vaccinia melanoma oncolysate trial. *J Am Coll Surg*, 1998; 187: 69-77.
 21. Lundstrom K. Alphavirus vectors as tools in cancer gene therapy. *Technol Cancer Res Treat*, 2002; 1: 83-8.
 22. Vigna L, Naldini L. Lentiviral vectors: excellent tools for experimental gene transfer and promising candidates for gene therapy. *J Gene Med*, 2000; 5: 308-16.
 23. Miyoshi H, Blomer U, Takahashi M, ve ark. Development of a self-inactivating lentivirus vector. *J Virol*, 1998; 72: 8150-57.
 24. Schmidt-Wolf GaS-WI. Non-viral and hybrid vectors in human gene therapy: an update. *Trends Mol Med*, 2003; 9: 67-72.
 25. Gehl J. Electroporation: theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research. *Gene Ther*, 2003; 177: 437-47.
 26. Acsadi G, Dickson G, Love DR, ve ark. Human dystrophin expression in mdx mice after intramuscular injection of DNA constructs. *Nature*, 1991; 352: 815-18.
 27. Vassaux G, Nitcheu J, Jezzard S, ve ark. Bacterial gene therapy strategies. *J Pathol*, 2006; 208: 290-98.
 28. Carey R, van Zijl P, Foz ME, ve ark. Clostridial oncolysis in man. *Eur J Cancer*, 1967; 3: 37-46.
 29. Li X, Fu GF, Fan YR, ve ark. Bifidobacterium longum as an oral delivery system of endostatin for gene therapy on solid liver cancer. *Cancer Gene Ther*, 2003; 10: 105-11.
 30. Bauer H, Darji A, Chakraborty, T, ve ark. Salmonella-mediated oral DNA vaccination using stabilized eukaryotic expression plasmids. *Gene Ther*, 2005; 12: 364-372.
 31. Zelmer A, Krusch S, Koschinski A, ve ark. Functional transfer of eukaryotic _expression plasmids to mammalian cells by Listeria monocytogenes: a mechanistic approach. *J Gene Med*, 2005; 7: 1097-112.
 32. Williams SG, Cranenburgh RM, Weiss AME, ve ark. Repressor Titration: A Novel System for Selection and Stable Maintenance of Recombinant Plasmids. *Nucleic Acids Research*, 1998; 26 (9): 2120-24.
 33. Soubrier F, Cameron B, Manse B, ve ark. pCOR: a new design of plasmid vectors for nonviral gene therapy. *Gene Ther*. 1999; 6(8): 1482-8.
 34. Gerdes K, Thisted T, Martinusse J. Mechanism of post-segregational killing by the hok/sok system of plasmid R1: sok antisense RNA regulates formation of a hok mRNA species correlated with killing of plasmid-free cells. *Mol Microbiol*, 1990; 4(11): 1807-18.
 35. Doblhoff-Dier O, Collins CH. Biosafety: future priorities for research in health care. *J Biotechnology*, 2001; 85: 227-39.
 36. Peng Z. Current status of gendicine in China: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers. *Human Gene Ther*, 2005; 16: 1013-24.
 37. Guan YS, Liu Y, Zhou XP, ve ark. p53 gene (Gendicine) and embolisation overcame recurrent hepatocellular carcinoma. *Gut*, 2006; 55(11): 1684

AKREPLERİN BİYOLOJİSİ

The Biology of Scorpions

Özcan ÖZKAN¹, K. Zafer KARAER²

¹Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkez Başkanlığı
ANKARA

²Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Protozooloji ve Entomoloji
Bilim Dalı
ANKARA

İletişim:
Özcan ÖZKAN
Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkez Başkanlığı
Zehir Araştırmaları Müdürlüğü
Sıhhiye/ANKARA
Tel: 0312 435 56 80/1511
E-posta:
ozcanozkan_62@hotmail.com

ÖZET

Akrepler, son 420 milyon yıldır şekillerini çok az değiştirdiğinden yaşan fosiller olarak tanımlanabilir. Akrepler, bütün artropodlar içerisinde en düşük metabolik orana sahiptir. Bu nedenle zamanlarının çoğunu geçen avını pusuda bekleyerek harcar. Akrepler vivipardır. 7-12 aylık gebelik periyodundan sonra 34-110 canlı yavru doğar. Türlerin çoğunda, dişi, doğumda yeni doğanları birinci ya da birinci ve ikinci çift bacakları ile yakalar ve annenin bacaklarından sırtına tırmanır burada birinci gömlek değişimi olur. Akrepler, ergin olmadan önce 1-3 yılda, 6-9 defa gömlek değiştirir. Akrep kontrolünde ilk aşama sanitasyondur. Mesken yakınındaki alanlarda bulunan dağınık tahtalar, kayalar, odun yığınları ve yıkıntıları ortadan kaldırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Akrep, biology

ABSTRACT

Scorpions can be referred to as living fossils because they have changed their form so little in the last 420 million years. They have the slowest metabolic rate of all the arthropods. Therefore they spend most of their time in a retreat waiting to ambush passing prey. Scorpions are viviparous. After a 7 to 12 months gestation period, 34-110 live young are born. The female, in most species, forms a basket with her first or first and second pairs of legs to catch the newborn at birth. They then climb up her legs onto her back where they molt for the first time. Scorpions molt 6-9 times before maturity and that varies from 12 months to 3 years. Sanitation is the first step in scorpion control. Loose boards, woodpiles, rocks, and debris should be eliminated from areas about homes.

Key words: Scorpion, biology

Akrelerin yeryüzündeki varlığının 420 milyon yıl öncesine dayandığı fosillerden anlaşılmaktadır. Bu dönemlerde yaşamış akreplerin, yengeç görünümünde, boyu yaklaşık iki metre olan deniz hayvanı Merostomata'dan köken aldığı ve karaya çıkışlarının Silurian döneminde olduğu bilinmektedir (1,2).

Çok eski akrepler ile bunların yaşayışları ve beslenmeleri hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. Akreplerin, karada veya denizde yaşadıkları hakkında büyük tartışmalar vardır. Yaklaşık 300 milyon yıl önce Karbonifer dönemin sonunda ilk görülen akrep, modern akrep neslidir. Bu nesilde günümüze kadar pek az değişiklik olmuştur (1-5). Birbirlerine benzerlik gösteren 16 akrep ailesi içinde yaklaşık 1500 kadar türün günümüze kadar nesillerini devam ettirdikleri bilinmektedir (6-9).

YAŞAMA BİÇİMLERİ

Doğal Ortamları

Akrepler, ılık ve nemli yerlerde yaşarlar. Ekvatora doğru inildikçe hem çeşitleri, hem de vücut büyüklükleri artmaktadır. Akrepler yaşadıkları doğal ortamlarına göre, iki gruba ayrılmıştır (1, 3, 10, 11).

1-Ağaç yarıklerinde, ağaç kabuklarının ve taşların altında yaşayan akrepler:

Genellikle ılık ve nemli ortamları seçtikleri için daha çok muz, palmye, şeker kamışı gibi bitkilerin diplerinde bulunurlar. Ağaç kazan tür olarak bilinen *Liocheles australiensis*, Avustralya 'da *Araucoria huntsteini* çam ağacının 40 m üstünde yaşadığı kaydedilmiştir (1, 10-12).

2-Toprakta, oyuk veya yarıklarda yaşayan yer akrepleri:

Çok kurak bölgelerde yerin derinliklerine inerler. Derinlere inmekteki amaçları, nemli ortam aramaktır. *Alacran tartarus* türüne, yerin 812 m derinliğinde rastlanmıştır (10, 12).

Akrepler buldukları çevreye uygun şekilde

gelişim gösterir. Geniş tarsal tırnaklar ile birçok sert uzun kıl (macro setae) taşıyan Psammofilik (kum seven) akrepler yumuşak kumlu ortamlarda yaşarlar. *Uroplectes*, *Opisthoptalmus* ve *Parabuthus* soylarına ait türler bu kategoridedir. Fossorial (kazmaya yatkın) akreplerde yengeç benzeri geniş çela^a bulunur. Bu türler kısa-sert ve kuvvetli bacaklara sahiptir. *Cheloctonus*, *Karasbergia* ve *Lisposoma* soyuna ait türler kazmaya yatkındır. Litofilik akrepler, kaya yarıklarda yaşarlar. Arboreal akrepler, ağaç oyuklarında ve ağaç kabukları altında yaşamaya uyum sağlamışlardır (13).

Bazı akrep türleri de olağan üstü adaptasyon yeteneğine sahiptir. Sorroca Yarımadası'nda (Kaliforniya) bulunan *Vaejovis janssi*, bütün doğal ortamlarda yaşamaktadır. Bu tür, balta girmemiş ormanlarda, ağaçlarda, bitkili ve bitkisiz toprakta, kumda, taşların arasında ve deniz kıyısında görülmüştür. *Scorpio maurus* türünün, İsrail'de deniz seviyesinin 3 m altında ve Atlas Dağı'nda yaşadığı tespit edilmiştir (12).

Vejovidae ve *Chactidae* familyasına ait bazı türler, donmaya karşı dayanıklıdır. Bu özelliklerinden dolayı 2000 metre kadar yükseklerde bulunabilirler. *Oroborthriuris crassimanus* türü 5500 m yükseklikte kaydedilmiştir (12).

Akrepler de diğer eklem bacaklılar gibi insanların yaşamlarını sürdürdükleri ortamlarda bulunabilirler: Evlerin içinde daha çok mutfak ve tuvaletleri tercih ederler. Eldiven, ayakkabı gibi eşyaların içinde, perde arkalarında, halı ve kilim atlarında da bulunabilirler (6, 11, 14, 15).

Beslenmeleri

Akrepler, en zor ortamlarda hayatta kalma konusunda uzmandır. Aylarca hatta iki yıl kadar uzun bir süre açlığa dayanabildikleri bildirilmektedir. Soğukkanlı hayvanlar arasında metabolik hızları en düşük hayvanlardır. Bu nedenle az yiyecek yetinebilir ve uzun süre aç kalabilirler. Besinlerden

^a Çela: İnsanlarda ele karşılık gelen ilk çift ayak gibi görünen kıskacın dördüncü ve beşinci segmenti, makas formunda görünen organel.

aldıkları sıvı sebebiyle uzun süre susuz da yaşayabilirler (10, 14, 16).

Akrepler fazla sıcaklığa duyarlı ve neme bağımlı olduklarından her zaman ılık ve ıslak bölgeleri tercih ederler. Bu nedenle kısıkaçlarını kullanarak çukur kazarlar ve gerekli nemli ortamı sağlarlar. Ayrıca kazdıkları bu çukurları tuzak olarak da kullanırlar. Zamanlarının çoğunu yemeğe ihtiyaç duymadan bu çukurlarda saklanarak geçirirler (6, 13). Gün içinde çoğunlukla loş ve karanlık yerlerde gizlenen akreplerin özel kamuflajları yoktur. Çoğunlukla geceleri aktif olmalarına karşı yağmur ormanlarında yaşayan bazı türler, ormanın karanlık olan kısımlarında gündüzleri de aktif olabilirler (15, 17).

Dokunma duyuları çok iyi gelişmiş olan akrepler, fiziksel etkenlere karşı da son derece dirençlidirler. Yırtıcı ve yağmacı tabiatlı olmakla birlikte, avlanmada uzmanlaşmamış ve yemek konusunda titiz olmayan hayvanlardır. Hava ve yerden gelen titreşimlerle algıladıkları avlarını, peşine düşmek yerine, sabırlı bir şekilde pusuda bekleyerek avlarlar. Başlıca besinleri, böcekler, örümcekler ve kırkayaklardır. Öte yandan büyük akrepler, küçük yılanları, kertenkele ve fareleri dahi yiyebilir. Yamyamlık, akreplerde sıklıkla görülmektedir (1, 6, 13, 17, 18).

Avlarını kısıkaçlarıyla yakalayarak sıkı ve kemer şeklindeki kuyruğunu avına uzatarak sokan akrep, venomu ile böcekleri hemen öldürür. Akrepler, ne kadar venom enjekte edeceklerini avlarına göre belirleyebilir. Büyük kısıkaçlara sahip akrepler, küçük avlarını güçlü kısıkaçlarını kullanarak öldürürken, ince ve zayıf kısıkaçlı akrepler avlarını yakalar, çok etkili venomlarını kullanarak avı sokar ve felç ederek öldürür. Birinci bacakların altındaki boşlukta bulunan keliserini^b avına tamamen yerleştirir. Tükürük ve sindirim enzimleri salgılayarak dokuları sıvılaştırıncaya kadar bekler ve oluşan sıvıyı emer (Şekil 1) (5, 12-14, 19)

İnsanları ve büyük hayvanları beslemek amacıyla değil, ancak rastgele dokunuldukları veya

üzerlerine basıldığında, kendilerini tehlikede hissettikleri zamanlarda sokarlar. Daha hareketli oldukları geceleri ve sıcakta, sokmaya daha çok isteklidirler (6-9,13).

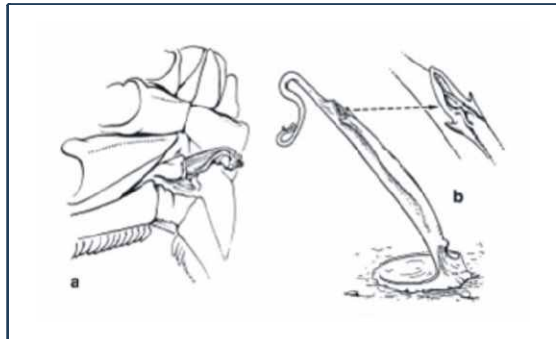


Şekil 1. Avını yakalamış akrep.

Üremeleri

Akreplerin üremeleri ile ilgili iki görüş bulunmaktadır: Çiftleşmek amacıyla erkek ve dişiler bir araya gelmezler. Ancak ilkbaharda çok kısa bir dönemde erkekler, dişileri arayarak dölemeye çalışırlar. Sperm bir kese içerisinde oluşur; genellikle eşey deliğinden dışarı çıkmış vaziyettedirler (Şekil 2-a) (13, 20, 21).

Bu kese içerisindeki sperm kısıkaçları ile alır ve bir dişiyi gördüğü anda onu oyalayarak veya ansızın yakalayarak, kısıkaçları ile taşıdığı sperm

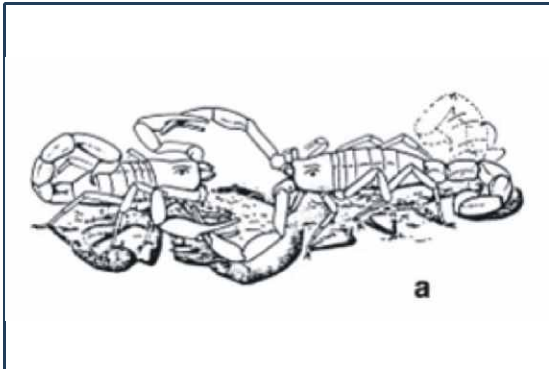


Şekil 2. Erkek akrepte genital operculumdan (a) dışarı çıkan sperm kesesi (b) (spermatophore) (Lorurenco; 2000)

^b Keliser: Akreplerin avlarını emmek için kullandıkları ağız organeti.

kesesini dişinin eşey deliğine yapıştırır. Bu olayı gerçekleştirdikten sonra hemen kaçar. Aksi halde ölümden kurtulamaz. Zira dişi onu parçalar (11, 18, 20, 21).

Çiftleşme ile ilgili diğer bir görüş de şöyledir: Erkek ve dişi akrepler birbirlerini feromon sayesinde bulur. Bunun için pektinlerini^c kullanırlar. İlk hareketi erkek yapar. Erkek akrep, karmaşık bir kur yaparak kendini dişiye gösterir. Çiftleşme sırasında, üreme organları karşılaşmaz. Çoğunlukla erkek, dişinin kısıkaçlarını yakalar, karşılıklı olarak şiddetli bir şekilde birbirlerini çekerler (1, 21-24). Birleşme sırasında kısıkaçlarını birbirine geçiren erkek ve dişi akrepler dönmeye başlarlar. Bu olay çoğu zaman insanların yaptığı dansa benzer (*Promenade a deux*) (Şekil 3) (18, 23).



Şekil 3. Akrelerin (a: dişi) çiftleşme sırasında yaptıkları dans (*Promenade a deux*), (Lorurencio; 2000)

Dans sırasında erkek abdomenini bükerek kuyruğunu olabildiğince ön tarafa doğru uzatır. Kuyruk ucundaki iğnesini kullanarak dişinin abdomen segmentleri arasındaki yumuşak membranı kaşırçasına araştıtır (sexuel sting) (Şekil 4) (12, 25).

Ağız kısımlarını sık sık karşılıklı getirirler (Şekil 5) bu davranış, keliser masajı ya da öpüşme olarak adlandırılmıştır (11, 25).

Erkek akrep vücudunun alt tarafındaki bu tarağımsı yapıyı çiftleşmenin başından sonuna kadar



Şekil 4. Sexuel sting.

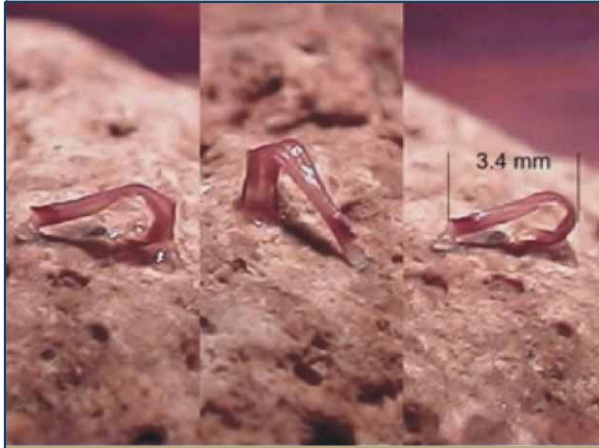
titretir ve dönme hareketlerinin sayesinde 15-40 cm²'lik bir alan temizlenmiş olur. Dans sırasında erkek, içerdği yapışkan sayesinde kese tarzındaki sperm paketini yere bırakır (Şekil 6) (6, 11).

Bu arada erkek, dişiye yerdeki spermilerin üzerine bazı manevralar yaptırarak çekmeye çalışır. Bu çekme mücadelesi sırasında dişinin genital deliği yerdeki spermilere değer. Spermiler yapışkan olduğu için dişinin genital deliğine yapışır ve yine mücadele sürdüğü için sperm keseciği patlar, spermiler genital



Şekil 5. Keliser masajı (Bookman; 2006)

^c Pektin: Eşeyssel açıklığın gerisinde tarak formunda bir çift duyu organı.



Şekil 6. Erkek akrep tarafından çiftleşme sırasında bırakılan spermatophore (Sperm kesesi) (Bookman; 2006)

delikten içeri girme şansını bulur. Sonra erkek ve dişi can acıtacak şekilde ayrılırlar. Çiftleşmeleri yaklaşık 45 dakika sürer. Küçük erkek akrepler hızlıca kaçarlardı fakat çoğu zaman bu kaçışlar başarılı olmaz. Erkek akrep, dişi tarafından öldürülür (15, 21, 25).

Çiftleşmelerin daha çok geceleri ve yeni ayda veya ayın olmadığı dönemlerde olduğu belirtilmektedir. Yeni doğum yapmış dişi akrepler tekrar çiftleşebilirler. Erkek akrepler de birden daha fazla sayıda çiftleşme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle erkek akrep çok kısa sürede yeni sperm keseciği üretebilir (18, 23).

Embriyolojik Gelişim ve Gebelikleri

Dişiler, bazen yumurtaları dölleninceye kadar spermleri depolayabilirler. *Isometrus maculatus* gibi bazı türler spermleri depolar ve tek çiftleşme ile birkaç doğum yapabilir. Dişi akrebin vücudunun içindeki kuluçka odasında, döllenmiş yumurtalar içinde embriyolar gelişir (12,26). Akrelerde embriyolojik gelişim iki farklı yolla olmaktadır. Apoikogenikal gelişimde ovum ve kese bulunur ve yavru kapalı membran içinde doğar. Katoikogenikal gelişimde ise kese bulunmaz ve yavru membransız doğar. *Centruroides* gibi apoikogenikal gelişim gösteren türlerde bile ova keseden beslense dahi

gelişen embriyo bazı besinleri direkt olarak annenin sisteminden alır. Embriyonun, ovariuterus ile direkt temasta olduğu apoikogenik gelişimden farklı olarak katoikogenik gelişimde, gelişen embriyo dişi ovariuterusundan kaynaklanan özel bir divertikül aracılığıyla tüm besinleri alır (23). Bazı yerlerde apoikogenikal gelişim gösteren akrepler ovovivipar^d olarak kabul edilmesine karşın apoikogenik embriyoların bazı besinleri; anne sisteminden alması nedeniyle, tüm akrepler vivipar^e olarak düşünülmektedir (23).

Ovaryum (yumurtalık) içinde gelişmenin ilk safhasında, sekiz segmentli olan preabdomenin ilk yedi segmentinde, sonradan kaybolan ekstremite taslakları meydana gelir. Gebelikleri oldukça uzundur: Birkaç ay sürebildiği gibi bir yıldan fazla süren gebelikler de görülebilir (Şekil 7) (1, 13, 23, 26).

Doğumları

Yavrular, annelerinin vücudunda yaklaşık 7-12 ay kalarak gelişir ve genellikle ilkbahar/yaz aylarında dünyaya gelirler. Ancak tropikal iklimlerde türe bağlı olarak yıl içerisinde tercih ettikleri aylarda doğururlar (23, 24, 27).

Dişi akrepler doğum başlangıcından birkaç saat önce kendilerini doğum yapacakları duruş şekline

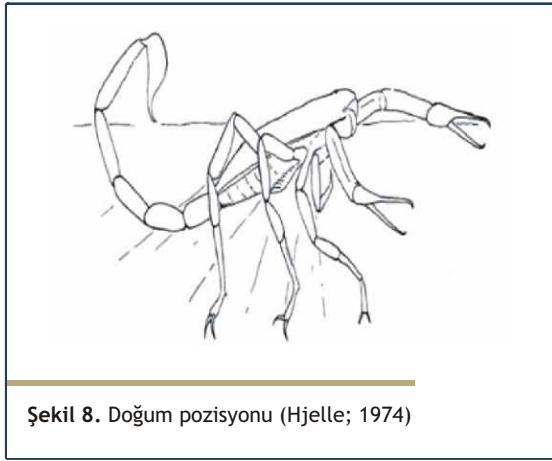


Şekil 7. Gebe *Androctonus australis*' in yandan görünüşü (Gaban; 2006)

^d **Ovoviviparous:** Yumurtalar vücut içinde gelişir, ancak yavru annenin kan dolaşımı ile beslenmez. Yavru bir kese içinde veya canlı doğarsa bu tür üreyen hayvanlara ovovivipar denir. (*Ovum*: yumurta, *vivus*: canlı, *pario*: meydana getirmek).

^e **Viviparous:** Yumurtalar vücut içinde gelişir, yavru göbekbağına benzeyen bir tür organ vasıtasıyla beslenir. Yavru canlı doğarsa bu tür üreyen hayvanlara vivipar denir. (*Vivus*: canlı, *pario*: meydana getirmek).

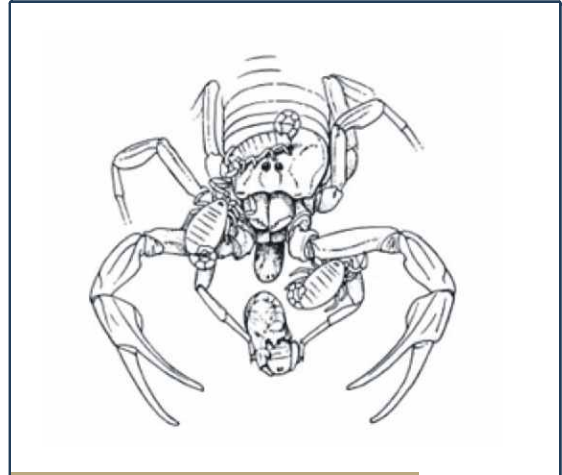
(doğum pozisyonu) hazırlarlar. Bu duruş şekli, türlere göre değişiklik göstermekle birlikte genellikle son iki çift bacaklar üzerinde karın ve vücudun ön kısmı yerden olabildiğince yükseltilerek sağlanır. İlk iki çift bacaklar havada serbest olarak bulunur. Kıskaçlar, vücuttan uzak ve bükük vaziyettedir (Şekil 8). Doğum süresince yürüme hareketleri gerekse bile bu pozisyonu korurlar (22).



Şekil 8. Doğum pozisyonu (Hjelle; 1974)

Doğum süresi yavru sayısına, büyüklüğüne ve türlere göre değişiklik göstermekle birlikte saatlerce hatta günlerce sürebilmektedir. Doğum sepeti (birth basket) içerisinde bulunan yavrular, genital operkulumun (eşeyssel açıklık) açılmasıyla birer birer dışarı çıkarlar. Doğan yavrular bir zarla kaplıdır. Doğumdan hemen sonra ya yavrular tarafından ya da annelerin yardımıyla bu zardan kurtulurlar. Zarda ayrılan yavrular doğum pozisyonunu devam ettiren dişi akrebin birinci çift bacaklarını kullanarak hemen annelerinin sırtına çıkarlar (Şekil 9) (18, 22, 23, 27).

Doğum sepetinden yavrular baş önde, kuyruk önde, sağ yan geliş veya sol yan geliş gibi pozisyonlarda doğabilmektedir. Ancak genellikle yavrular baş önde, kuyruk önde ya da sağ yan geliş pozisyonunda doğarlar. Türe bağlı olarak 34 yavrudan 110 yavruya kadar değişiklik gösterebilmektedir. Yavrular bir batında doğdukları için cinsiyet oranları genellikle 1:1 olur. Ancak bazı türlerde cinsiyet oranı 3:1 ya da 4:1 (dişi: erkek)



Şekil 9. Doğum gerçekleştiren akrebin yavrularını sırtına alışı davranışı (Lourenço; 2000)

oranında da olabilmektedir (6, 13, 18, 22, 23, 27).

Yavruların Gelişimi

Doğan yavrular, annelerinin bacakları yardımıyla sırtlarına tırmanır. Neonatal veya birinci instar akrep yavruları, doğdukları an akrepten ziyade, toplu beyaz cisimcikler gibidirler. İnce kıskaçlı, bacaklı ve bir kuyruklu büyük sinek kurtçukları gibi görünürler (Şekil 10). Bu dönem içerisinde annelerinin sırtından düşen yavrular tekrar annelerinin sırtına çıkmadıklarından su kaybı sonucu ölürlar (12, 23, 25). Yavruların gelişimleri pro-juvenil ve juvenil olarak iki döneme ayrılmıştır. Anne sırtında bulunan yavrular ilk gömlek değişimini burada yaparlar ve bu dönem pro-juvenil dönemdir. Bu dönemdeki yavrularda yeme ve sokma özelliği bulunmaz (23).

Birinci gömlek değişimini tamamlayan yavrular juvenil olarak kabul edilir. Yenilenen kabukları ile pembe renkli görülen ikinci instar yavruları, ergin akreplerin minik versiyonları gibidirler. Ancak birkaç gün sonra renkleri giderek grimsi kahverengine dönüşür (Şekil 11) ve annelerinin sırtında kalmaya devam ederler (23).

Birkaç hafta içerisinde yavrular buldukları çevreyi keşfetmek için annelerinden ayrılarak kısa geziler yaparlar. Bu gezi sonunda dönen yavru akrepler annelerin pedipalpleri ile çevrelediği



Şekil 10. *Serradigitus wupatkiensis* (Stahnke) türünün uzunlamasına yerleşim gösteren birinci instar akrep yavruları (Savary; 1996).



Şekil 11. İkinci instar dönemini tamamlamış (Juvenil) akrep yavrusu (Özkan, 2005)

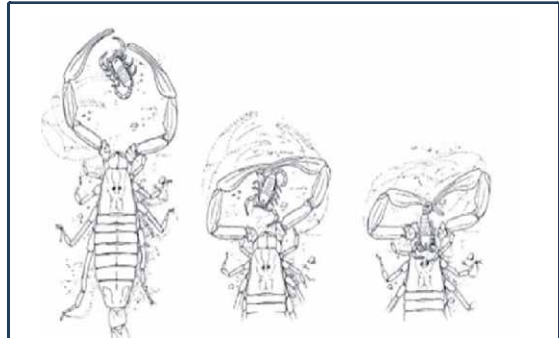
alandan tekrar annelerinin sırtına çıkarlar (Şekil 12) (6, 23, 28).

Yapılan bu geziler zamanla uzar ve en sonunda yavru akrepler, zamanlarının çoğunu annelerinden uzakta geçirirler. Anne akrepler yavrularını kokuları ile tanırlar. Bazı dişi ve erkek akrepler yavrulara karşı yırtıcı davranırlar bile, *Scorpio maurus palmatus* türü akrepler, başka yavrulara da birkaç ay annelik yapabilir (11, 12).

Yavruların Oryantasyonu

Türlere göre annelerin sırtlarına rastgele, uzunlamasına ve çapraz olarak üç şekilde yerleşirler (29):

Rastgele yerleşim gösteren yavrular; annelerinin sırtında bir veya daha fazla kat olacak şekilde yığılırlar (Şekil 13). Bu yığın grupsuz ve düzensiz şekildedir. *Buthidae* familyasına ait *Centruroides*



Şekil 12. Anne akrebin yavrularını sırtına çıkartma davranışı (Lourenço; 2000)

exilicauda (Wood), *Centruroides gracilis* (Laterielle), *Centruroides insulanus* (Thorell), *Isometrus maculatus* (DeGeer), *Parabuthus hunteri* (Herbst) ve Euscorpiidae familyası içerisinde *E. carpathicus* (Linnaeus), *E. flavicaudus* (DeGeer), *E. italicus* (Herbst) ve *Megacornuus gertachi* (Diaz), *Ischuridae* familyası *Hadogenes* cinsine ait türlerin yavruları rastgele yerleşim gösterir (29).

Çapraz yerleşim gösteren yavrular; iki, üç veya daha fazla kat oluşturacak şekilde yerleşmiştir. Yavrular, annelerinin sırtının uzun eksenine düzgün açılarla yerleşir. Yavruların yüzleri orta kısma bakar, bu kısım derin bir boşluk şeklinde görülür. Örneğin, *Diplocentridae* ailesine ait *Diplocentrus whitei* (Gervais) türünün yavruları çapraz yerleşim gösterir (29).



Şekil 13. *M. gibbosus* (Brullé, 1832) türü, rastgele yerleşim gösteren juvenil akrep yavruları (Özkan; 2005)

*Uzunlamasına yerleşim gösteren yavrular; tek sıra halinde annenin vücudunun uzun eksenine paralel olacak şekilde dizilmiştir (Şekil 10). Yavrular annelerinin sırtı ile direk temas halinde ve yüzleri ön tarafa bakacak şekildedir. Örneğin, *Vaejovidae* familyasına ait türlerin yavrularında da bu tür bir yerleşim görülür (29).*

Gömlek Değişimi

Anne sırtından inen yavrular, 67 ay kadar annelerinin arkasında dolaşırlar. Akrelerin çoğu 13 yılda eşeyssel erginliğe ulaşır; ergin olarak da 13 yıl daha yaşarlar. Böylece ömür uzunlukları 26 yıl arasında değişir. Bu süre içerisinde 69 kez gömlek değiştirirler (Şekil 14, 15). Olası akrep ölümlerinin çoğu bu gömlek değiştirme sırasında meydana gelmektedir (1, 11, 12, 15).

Partenogenezis (Eşeysiz çoğalma):

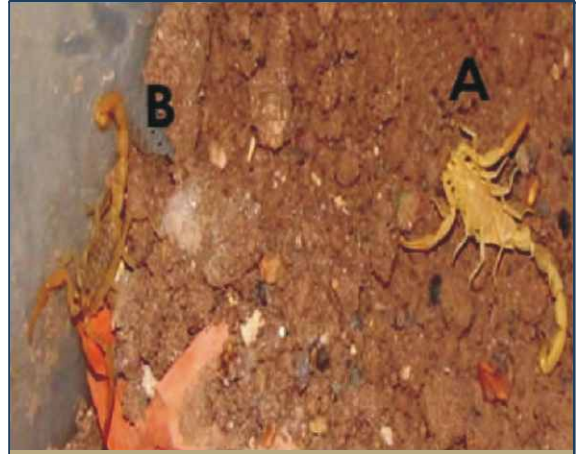
Döllenmemiş yumurta ile yani partenogenezis şeklinde üreme ilk *Tityus serrulatus* türünde görülmüştür. Yaklaşık 1500 akrep türü arasında *T.uruguayensis*, *T.columbianus* (Thorell), *T.trivittatus*, *T.metuendus*, *Liochelis australaiase* (Fabricius), *Hottentota hottentota* (Fabricius) ve *Ananteris coineai* türlerinin partenogenezis üreme ile çoğaldığı bilinmektedir (23, 24, 27).

Bu çoğalma şeklinde iki ayrı üreme tipi bulunur. *Arrhenotoky*; döllenmemiş yumurtadan sadece erkek yavruların meydana geldiği üreme şeklidir. *Thelytoky*; döllenmemiş yumurtalardan sadece dişi yavrular meydana gelir (23, 24, 27).

MÜCADELE VE KORUNMA

Bu biyolojik döngü içerisinde akrelerde diğer zehirli hayvanlar gibi insanlardan uzakta yaşamlarını sürdürürler. Ancak akrep sokması sonucu oluşan zehirlenmelerde; akrebin türü, akrebin beslenme durumu, enjekte ettiği zehir miktarı ve içeriği, sokma sayısı, hastanın duyarlılığı, yaşı, kilosunu, sağlık durumu, bölgenin iklimi ve uygulanan ilk yardım gibi faktörlere bağlı olarak lokal ve sistemik tablolar oluşabilmektedir (7, 30).

Bu nedenle, akrelerden korunmak ve onlarla



Şekil 14. Gömlek değişimini (A) tamamlamış *M. gibbosus* (B), (Özkan; 2005).



Şekil 15. *M. gibbosus* türüne ait gömlek (Özkan; 2005).

mücadelede stratejisi geliştirmek için, akrelerin yaşam döngülerini ve yaşadığı çevreyi çok iyi tanımak ve bilmek gerekmektedir.

Akrelerle mücadelede, konut etrafında barınmalarını sağlayan ağaç, tahta, ağaç kabukları, taş, kaya parçaları gibi bulanabilecekleri ortamlar uzaklaştırılmalıdır. Duvarlarda bulanabilecek çatlak ve yarıklar kapatılmalıdır. Akrelerin uzaklaştırılmasında çağdaş insektisitler kullanılabilir. Kullanılan insektisitlerle akrelerin hem kendisi hem de beslenme kaynakları elimine edilmektedir (13, 30).

Evde ve dışarıda (özellikle duvarlardaki çatlak ve

yanıklarda) sentetik piretroid grubu insektisitler kullanılabilir. Uygulamalar tekrarlanan dozlar şeklinde ve gerektiğinde olası direnci kırmak amacıyla değiştirilerek kullanılmalıdır. İlaçlama işleminde, ev ve dış ortamın birlikte ilaçlanması gerekmektedir. Ayrıca, piyasada fare veya böcekler için satılan yapışkan (silikajel'li) tuzaklar evin özellikle nemli yerlerinde ve kapı girişlerinde kullanılabilir. Tuzağa yakalanan akrepler öldürülerek maşa benzeri bir gereç yardımıyla uzaklaştırılır. Akrepler, dikey duran ve pürüzsüz eşyalara tırmanamazlar. Bunun için evlerin sıvası iyi olmalıdır. Güneşten ve kuraklıktan etkilendikleri için evin bol güneş alması da ayrıca önleyici bir faktördür (11, 13, 30).

Akreplerin yaygın olduğu yerlerde, korunmak için ayakkabı ve elbiseler silkelendikten sonra giyilmelidir. Yataklar kontrol edilmeli, çıplak ayakla dolaşılmalı ve özellikle taşlar elle kaldırılmamalıdır.

KAYNAKLAR:

1. Demirsoy A, Durmuş Y, Akbulut A. Türkiye scorpiones (akrep) faunasının sistematik ve biyolojik yönden incelenmesi. Proje No : 1998 K 1001 40. Çevre Bakanlığı Çevre Koruma Genel Müdürlüğü Hayvanları Koruma Dairesi Başkanlığı. Ankara. 2001; 118.
2. Bayar TC. *Mesobuthus gibbosus* (BUTHIDAE) akrep venomunun saflaştırılması ve bazı fizyolojik etkilerinin belirlenmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Biyoloji ABD. Doktora Tezi. Ankara, 2004; 109.
3. Dunlop JA, Webster M. Fossil evidence, terrestrialization and Archnid phylogeny. The journal of Arachnology. 1999; 27: 8693.
4. Farley RD. Ventral mesosomal changes in embryos from three scorpion families: Luridae, Buthidae and Vaejovidae. The journal of Arachnology. 1999; 27: 123128.
5. Özkan Ö, Karaer Z. Akreplerin Vücut Yapısı. Türk Parazitoloji Dergisi. 2004; 28 (1): 5458.
6. Özkan Ö, Yaman N. Akrep, Ankara Bölgesi Veteriner

Hekimler Odası Bülteni. Kasım, 2004; 1518.

7. Özkan O, Kat I. *Mesobuthus eupeus* scorpionism in Sanliurfa region of Turkey. Journal of Venomous Animals and Toxins. 2005; 11(4): 479491.
8. Özkan Ö, Yakıştıran S, Adıgüzel S, Olcay E, Karaer Z. Şanlıurfa İlinde Skorpionizm Olgularının Epidemiyolojik ve Klinik Değerlendirilmesi (Poster). XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi. İzmir. 18-25 Eylül 2005.
9. Özkan Ö, Kat I, Olcay E, Karaer Z. Şanlıurfa İlinde *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807) Skorpionizm Olgularının Epidemiyolojik ve Klinik Değerlendirilmesi (Poster). Hayvan ısırmaları-sokmaları ve Karbon Monoksit zehirlenmeleri. Klinik Toksikoloji Kongresi. Bursa. 2022 Mayıs 2004.
10. Wright R. Scorpions. Division of Agricultural Sciences and Natural resources. Oklahoma State University. <http://www.osuextra.com> Erişim tarihi; 2006.
11. Yaman N. Akrepler ve Tıbbi Önemleri A.Ü Sağlık Bilimleri Enst. Entomoloji ve Protozooloji Bilim Dalı. Seminer. 1996.
12. Gordon's Scorpion Page <http://www.earthlife.net/insects/scorpionidae.html>. Erişim Tarihi, 18.11.2002.
13. Jackman L. Scorpions, Texas Agricultural Extension Service, The Texas A&M University System 2002.
14. Alexander JO. Arthropods and human skin. Springer-Verlag. New York. 1984; 197 207.
15. Özcel A, Daldal N. Arthropod Hastalıkları ve Vektörler, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 13 İzmir, 1997.
16. Garry R, Mullen and Stockwell SA. Medical and Veterinary Entomology. Scorpions (Scorpiones) In: Mullen G, Durden G. (eds.), 2002; 20: 411442.
17. Hubert H, Evi W, Thierry G. The relative abundance of *Brotheas amazonicus* (Chactidae, scorpiones) in different habitat types of a central Amazon rainforest. The journal of Arachnology. 1996; 24: 3438.
18. Polis GA, Farley RD. Behavior and ecology of mating in the cannibalistic scorpion, *Paruroctonus mesaensis* sathanke (Scorpionida: Vaejovidae). The journal of Arachnology. 1979; 7: 3346.
19. Altıntaş K. Tıbbi Parazitoloji, MN Medikal Nobel. 2002; 365367.
20. Merdivenci A. Medical entomoloji. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi yayınları, Rektörlük No:2811, Dekanlık No:74 İstanbul 1981; 284 289.
21. Bücherl W. Classification, biology and venom extraction of scorpion In: Bücherl W, Buckley E. Eds., Venomous Animals and their Venoms. Vol. III, Venomous

- Invertebrates. New York: Academic Express. 1971, 3, 317347.
- 22.Hjelle JT. Observation on the birth and post-birth behavior of *Syntropis macrura* Kraepelin (Scorpionida;Vaejovidae). The journal of Arachnology. 1974; 1: 117221.
- 23.Lourenço WR. European Arachnology (Toft S., Scharff N. Eds.), Reproduction in scorpions, with special reference to parthenogenesis. Aarhus University Press, Aarhus, 2002; 7185.
- 24.Lourenço WR, Cuellar O. A new all-female scorpion and the first probable case of arrhenotoky in scorpion. The journal of Arachnology. 1999; 27: 149153.
- 25.Bullington WS. Natural history and captive care of flat rock scorpion *Hadogenes troglodytes* (Peters), Vivarium. 1996; 7 (5): 1821.
- 26.Çağlar M. Omurgasız Hayvanlar, Anatomi-sistematik II. Kısım. İ.Ü Tıp Fakültesi yayınları. İstanbul Sayısı: 712 Yayın No: 20, 1957; 231 236.
- 27.Lourenço WR, Cuellar O. Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. Journal of Venomous Animals and Toxins. 1995; 1(2): 5162.
- 28.Benton TG. The life history of *Euscorpis flavicaudis* (Scorpiones, chactidae). The journal of Arachnology. 1991; 19: 105110.
- 29.Savary WE. Lavral orientation in scorpion: phylogenetic patterns and ecological speculation, Presented as a Poster at The American Arachnological Society Meeting, August, Tuscon, Arizona. 1996. http://pw1.netcom.com/~wsavary/figs3_4.html Erişim Tarihi; 2005.
- 30.Özkan Ö, Yaman N. Akrep sokmalarında tıbbi yaklaşım, mücadele ve korunma. Ankara Bölgesi Veteriner Hekimler Odası Bülteni. 2004.

VEKTÖR MÜCADELESİNDE BİYOPESTİSİTLER

Biopesticides for Vector Control

Ender YARSAN, Alparslan ÇEVİK

Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Farmakoloji-Toksikoloji Abd
ANKARA

İletişim:
Ender YARSAN
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Farmakoloji-Toksikoloji Abd
ANKARA
E-posta:
ender.yarsan@veterinary.
ankara.edu.tr

ÖZET

Biyopestisitler; hayvanlar, bitkiler, bakteriler ve çeşitli mineraller şeklinde özetlenebilecek bir çok doğal maddeden elde edilen ve vektörle mücadelede bu yöntemlerin kullanılması esasına dayanan pestisit çeşitleridir. Biyopestisitler üç ana grupta toplanabilir; mikrobiyolojik pestisitler, bitki pestisitleri ve biyokimyasal pestisitler. Biyopestisit kullanımının bazı avantajları söz konusudur. Geleneksel pestisitlere göre daha az zararlı bileşiklerdir. Bunlar doğrudan hedef zararlıyı ve yakın benzerliği olan canlıları etkilerlerken; geleneksel pestisitler kuşlar, böcekler ve memelileri de kapsayacak şekilde daha geniş bir grubu etkiler. Az miktarlarıyla etkilidirler ve çevreye zararları daha azdır. Bu makale kapsamında biyopestisit kavramı, özellikle vektör mücadelesinde etkili biyolojik kontrol yöntemleri (bakteriler, bazı sivrisinek türleri, böcekler, balıklar ve diğerleri) geniş şekilde değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyopestisit, vektör kontrol.

SUMMARY

Biopesticides are certain types of pesticides derived from such natural materials as animals, plants, bacteria, and certain minerals. Biopesticides fall into three major classes; microbial pesticides, plant pesticides, and biochemical pesticides. There are several advantages of using biopesticides. Biopesticides are usefully inherently less harmful than conventional pesticides. Biopesticides generally affect only the target pest and closely related organisms as directly, in contrast to broad spectrum of conventional pesticides those may affect organisms as different as birds, insects, and mammals. Biopesticides are often effective in small quantities and often decompose quickly, thereby resulting in lower exposures and largely avoiding the pollution problems caused by conventional pesticides. In this review biopesticides subject, and biological control methods (bacteria, mosquitoes, dragonflies, fishes and others) especially for vector and pest were evaluated.

Key words: Biopesticide, vector control.

GİRİŞ

Pestisit terimi kısaca pest (zararlı, haşarat) adı verilen zararlı canlıları öldürmek için kullanılan madde anlamına gelir. Genel bir ifade ile insan ve hayvan vücudu ile bitki ve cansız cisimler üzerinde ya da çevresinde bulunan veya yaşayan ayrıca, besin maddelerinin üretimi, hazırlanması, depolanması ve tüketimi sırasında onların besin değerini azaltan veya hasara uğratan zararlıları (böcek, kemirici, yabancı ot, toprak kurdu vb.) öldürmek için kullanılan maddelerdir (1-6).

Tarih öncesi dönemlerden beri kullanılan pestisitlerin ilk uygulananları pretrin ve rotenon gibi bitkisel kaynaklı olanlardır. Nikotin dışındaki bitkisel kaynaklı pestisitler sıcakkanlı hayvanlar için son derece güvenli maddelerdir. 1940'lı yılların başından itibaren kullanılmaya başlanan DDT ve benzeri organik klorlu pestisitler, kalıcı etkileri dışında evcil hayvanlar için fazla zehirli değildir. İkinci dünya savaşı yıllarında bulunup önce savaşta sinir gazı ve daha sonra da pestisit olarak kullanılmaya başlanan organik fosforlu bileşiklerin çoğu ise hayvanlarda kullanılmayacak kadar zehirlidir; ama bunlardan bazıları veteriner hekimlikte oldukça güvenli insektisit ve antelmantik olarak kullanılırlar (1-3,7,8).

Doğrudan çevreye, tarım alanları ve bitki örtüsüne, hayvanların üzeri ve çevresine uygulanan pestisitler, kullanıma amaçlarının bir gereği olmasa da, insan ve hayvanlar ile arı, balık ve bazı yararlı böcekler (ipek böceği gibi) için bireysel ve toplu halde akut, subakut ve kronik nitelikli zehirlenmeler ile mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etki tehlikesi taşımasının yanı sıra lipid peroksidasyona, kas ve sinirlerde dejenerasyona, çeşitli doku ve organlarda hasar ve bozukluklara yol açarlar (1,5,6,9,10).

Çevreyle ilgili endişelerin giderek artması ve geleneksel pestisitlerin zararlı etkileri konusunda yükselen bilincin sonucunda doğal pest kontrol metodlarına yönelik hızlanmaktadır. Biyopestisit ve antifungalları içeren fermentasyon çıkışlı ürünler gün geçtikçe artan oranda kimyasal nitelikli

pestisitlerin yerini almaktadır (11).

BİYOPESTİSİTİN TANIMI

Biyopestisitler hayvanlar, bitkiler, bakteriler ve çeşitli mineraller gibi birçok doğal maddeden elde edilen ve zararlılarla mücadelede kullanılan ürünlerdir (12,13).

Biyopestisitler; mikroorganizma, yararlı böcekler, yabancı ot patojenleri ve endopatojenik nematodların kullanılması esasına dayanan maddelerdir (14). Bunlar; patojen mantarlar, bakteriler, virüsler ve protozoaları ihtiva ederler. Biyopestisit olarak yukarıda sıralanan gruplarda olacak şekilde bugüne kadar çok sayıda ürün ruhsat almıştır. 1998 sonunda yaklaşık 185 biyopestisit aktif bileşeni ve 700 ürün tescil edilmiştir (13,15). Bu sayı zamanla artmış, 1999-2002 yılları arasında yaklaşık 131 ürün Çevre Koruma Ajansı (EPA -Environmental Protection Agency) tarafından ruhsatlandırılmıştır.

BİYOPESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI

Biyopestisitler üç grupta toplanmaktadır;

a. Mikrobiyal Pestisitler: Mikroorganizmalar (bakteri, mantar, virüs ve protozoa gibi) içerdikleri aktif bileşenlerinden dolayı pestisital etki göstermektedir. Bu maddeler birçok zararlı çeşidini yok etmektedir. Örneğin; yabancı otların kontrolünde ve hamamböceklerinin yok edilmesinde kullanılan mantarlar ve bunun yanı sıra bitki hastalıklarının kontrolünde etkili bakteriler bulunmaktadır. En çok kullanılan mikrobiyal pestisit türü *Bacillus thuringiensis*'dir. Bu mikroorganizma özellikle lahana, patates ve diğer bitkilerdeki haşaratı kontrol edebilmektedir. *B. thuringiensis*'in farklı suşları sivrisinekleri de seçkin şekilde öldürür, etkisini insekt larvalarına karşı özel etkili olan proteinler üreterek göstermektedir (12).

b. Bitki Pestisitleri: Bitkilere ilave edilen genetik materyaller sonucunda ve buna bağlı olarak bitkilerin ürettiği pestisital substratlardır. Örneğin; *B. thuringiensis*'in pestisital etkinlik gösteren geni alınarak, bitkinin genetik materyaline aktarılabileceği ileri sürülmektedir. Bunun

sonucunda şekillenecek ürünün zararlılarla mücadelede etkili olabileceği belirtilmektedir. Bu durum kısmen biyoteknoloji kapsamında da değerlendirilir. Son yıllarda bu bilim dalındaki önemli gelişmeler biyoteknolojinin vektör mücadelesinde kullanımını da gündeme getirmiştir. Bu düşünceyle vektörlerin yaşam sikluslarındaki kritik dönemlere müdahale edebilme konusu üzerinde durulmuştur. Böcekler larva aşamasından sonra belirli dönemlerde gömlek değiştirirler ki bu durum, canlının sahip olduğu çeşitli hormonlar aracılığıyla sağlanır. Yapılan değerlendirmeler bu genlerin etkilenmesi ile bu periyotlara etki edilip edilemeyeceği üzerinde durulmuştur. Bu amaçla *Choristoneuma fumiferana*'nın bu yöndeki etkisi çalışılmış ve etkili birkaç gen grubu tespit edilmiştir (12).

c. Biyokimyasal Pestisitler: Bunlar doğal olarak bulunan pestisitlerdir. Toksik olmayan mekanizmalar ile zararlıları kontrol ederler. Geleneksel pestisitler ve sentetik materyaller zararlıyı genelde doğrudan öldüren ya da inaktif hale getiren sentetik materyallerdir. Biyokimyasal pestisitler ise feromon gibi içerdiği maddelerle zararlının büyümesine veya çoğalmasına engel olurlar (12). Bu madde karınca, hamamböcekleri ve balarısı gibi birçok böcek çeşidinde bulunmaktadır. Feromonlar önceleri hormonlara eş tutulan bir madde idi. Ancak vücut dışına salınmaları bu maddeyi hormonlardan ayrı kılmaktadır. Kimyasal olarak aldehit, ester, alkol gibi gruplardan bir ya da bir kaçını taşıyabilmektedir. Böceklerin iletişimini ve yön tayinini sağlayan bu maddenin kokusu 78 km'ye kadar etkisini göstermektedir. Bu kimyasal madde, özel tuzaklar içerisinde hazırlanmakta ve tarım ürünlerine zarar veren böceklere etki edecek şekilde çeşitli yerlere konulmaktadır (15).

VEKTÖR MÜCADELESİNDE KULLANILAN BİYOPESTİSİTLER

Sivrisinekler başta olmak üzere diğer zararlılarla mücadelede biyolojik kontrol uygulamaları tek başına değerlendirilebileceği gibi diğer yöntemlerle kombine edilerek de uygulanabilir. Biyolojik kontrol

programında bazı organizmalar doğrudan vektör mücadelesinde kullanılırlar. Bunların en önemlileri (16-20);

- Balıklar (Larvivorous balıklar, *Gambusia*); sivrisinek larvalarıyla mücadelede,
- Toxorhynchites cinsine ait sivrisinekler,
- Dragonfiles, (yusufcuk, tayyare böceği)
- Küçük crustasealar (cyclopoid copepod), sivrisinek larvalarına hücum ederek etkiler,
- Nematotlar, sivrisinek larvaları için parazit etkilidir,
- Mantarlar, sivrisinek larvalarında gelişir ve büyürler,
- Bakteriyel larvasitler, *Bacillus thuringiensis* ve *Bacillus sphaericus* gibi,
- Neem yağı, neem ağacından (*Azadirachta indica*) elde edilir,
- Azolla; suda serbestçe yüzen ve yüzeyi tamamen kapatarak sivrisineklerin gelişmesini önleyen eğreltiotu benzeri bitki.

Bu sıralanan metotlardan sadece ikisi yaygın şekilde kullanım alanı bulur; Bunlar larvivorous balıklar ve bakteriyel larvasitlerdir (16).

Bakteriyel Larvasitler

***Bacillus thuringiensis*:** Fakültatif, anaerob, gram pozitif bir bakteridir. Genel özellikleriyle *Bacillus cereus*'tan ayırt edilemez; tek fark *B. thuringiensis*'in spor formuna dönüşürken kristalize inklüzyonlar sentezleyebilmesidir. Sentezlenen bu maddeler özellikle *Coleoptera*, *Diptera* ve *Lepidoptera* sınıfı omurgasızlara karşı zehirleyici etki gösterir. Bu inklüzyonlar farklı şekillere (protein kompozisyonuna bağlı olarak piramidal, kübik, yuvarlak) sahip kristalize proteinlerdir (16,17).

B. thuringiensis için yapılan fenotipik sınıflandırma bakterinin flagella antijenlerine göredir; ve ilk kez 1960'lı yıllarda bu yönde sınıflandırma yapılmıştır. 1998 yılında yapılan değerlendirmede 67 alt tipinin olduğu belirlenmiştir (16,17). *B. thuringiensis* ağız yoluyla alındıktan sonra sivrisinek ve karasinek larvalarında son derece etkili olabilen öldürücü bir toksin salgılar. Tercihen

kimyasal maddelere karşı direnç gelişmiş popülasyonlarda kullanılabilir. Çevrede kolaylıkla parçalanabilir, bu nedenle periyodik olarak kullanımı uygundur. Beta endotoksin *B.thuringiensis*'lerce üretilen ısıya dayanıklı bir nükleotittir (adenin, guanin ve allaric asitten oluşur). Beta endotoksinin etkinliği mide ortamındaki çözünürlüğüne bağlıdır, proteolitik enzimler aracılığıyla ön toksin şeklinde alınan madde etkinlik kazanarak toksik forma dönüşür. Epitel hücrelerde yıkımlanmaya neden olur, aynı zamanda dolaşıma geçerek septisemiye yol açar. Etki birbirini takip edecek şekilde farklı aşamalarla gelişir; sporlanmış *B.thuringiensis* insekt larvası tarafından alınır; kristalize yapı midede çözünür; proteazlar tarafından etkin forma dönüştürülür; toksin mide epitel hücresinde özel reseptörlere bağlanır; Hücre zarını geçer buna bağlı olarak epitelde delik ve kanallar açar, sonuçta epitel hücresi yıkımlanır; diğer taraftan dolaşıma geçen toksin septisemiye neden olur ki bu durum ölüm riskini de artırır (16).

Hedef canlı dışında *B.thuringiensis* çeşitli laboratuvar hayvanları ve diğer memelilere farklı uygulama yollarıyla verilmiş ve sonuçta zehirleyici ya da patojenik etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Laboratuvar ve saha çalışmalarında balık ve kuşlar üzerinde de olumsuz etkisi görülmemiştir. Aynı şekilde *B.thuringiensis*'in birkaç istisna dışında insanlar için de zehirleyici olmadığı nadiren göz ve deri irkiltisine yol açabileceği bildirilmiştir. *B.thuringiensis* beta endotoksin dışında farklı bazı maddeler de salgılayabilir; antibiyotik, enzim, metabolit ve toksin gibi söz konusu bu maddeler de hedef ve hedef olmayan canlılarda etki oluşturabilir (17).

B.thuringiensis genellikle suda eriyebilir toz ya da granüller şeklinde kullanılır. Özellikle katı formülasyonları uygulandıkları suyun yüzeyinde kalır ve yaklaşık 30 gün süreyle etken madde salınır. Çevresel şartlardan (yağış, sıcak gibi) fazlaca etkilenmez ve bu nedenle bu tarz formülasyonlar değişen ve sabit çevreler için de uygundur. Bu uygulama şekli küçük ölçekli işletmelerde de

uygulanabilir niteliktedir, aynı şekilde ulaşımı zor yerler için de uygundur. Açık alanlarda rüzgârın etkisi; su yüzeyinden ürünün uzaklaştırılmasına ve dolayısıyla etki kaybına yol açar. Diğer taraftan katı şeklindeki bu ürünler suda çözülme formülasyonlardır, kirli sulardan etkilendiğinden etkisinde azalma oluşur, bu nedenle sadece temiz sularda kullanılabilir (16,17).

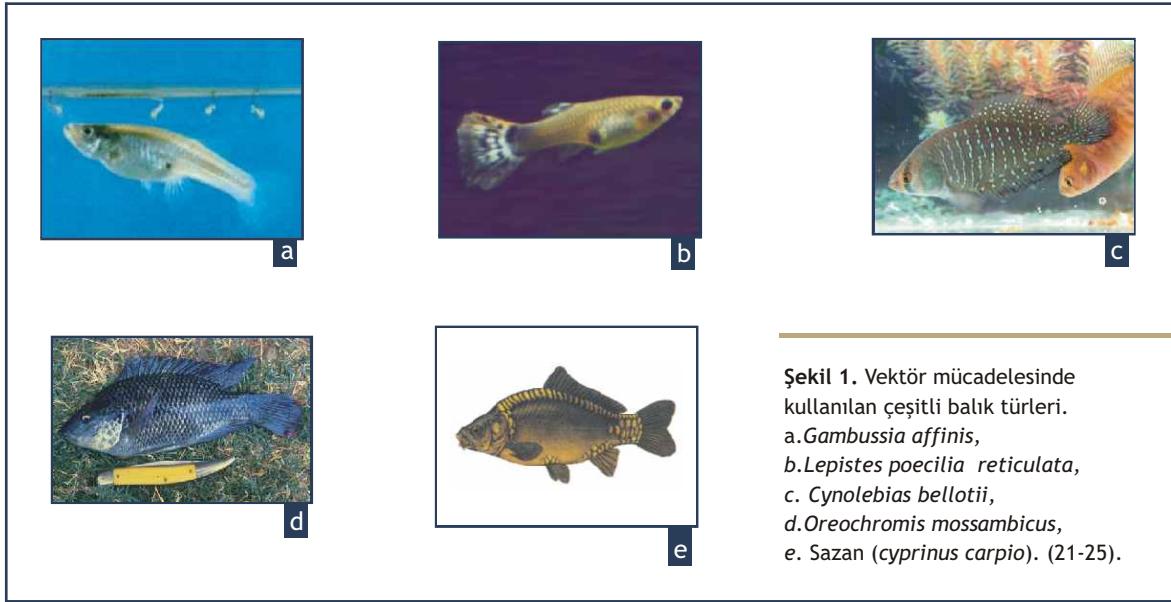
Bacillus sphaericus: Bir başka bakteri de *Bacillus sphaericus*'tur; aynı şekilde toksin üretir. Karakteristik yapısı *B.thuringiensis*'e benzer ancak bu bakteri kirli sularda daha etkili olmasına karşın *B.thuringiensis* temiz sularda daha etkindir. Karasineklerle ya da Aedeslere karşı etkisizdir. *B.sphaericus* genellikle *B.thuringiensis*'den daha uzun etkilidir. *Culex* cinsi sivrisineklerin bulunduğu kirli sular için uygun bir madde olarak düşünülür. Bazı ortamlarda kalıntı riski daha azdır. Bu durum direnç yönüyle ve hedef olmayan canlılara etkisinin az olması yönüyle bir avantajdır. Bu bakteri ile ilgili araştırmalar devam etmekle birlikte bazı ürünler kullanıma da sunulmuştur. Saha denemelerinde pelet ve katı biçimindeki formülasyonlarının sivrisinek larvalarına karşı sekiz hafta üzerinde koruyucu etki sağladığı belirlenmiştir. Granül, suda ıslanabilir toz ve eriyebilir konsantre formülasyonları da vardır (16).

Larva yiyen balıklar

Bunlar sivrisinek larvası yiyerek beslenirler. Dünyada, özellikle sıtmanın kontrolünde ve diğer sivrisinek aracılı hastalıkların önlenmesi ile sivrisinek tehdidinde karşı geniş ölçekte kullanılırlar.

Uygun bir balıkta bulunacak özellikler şu şekildedir;

- Su yüzeyindeki gıdalara oranla sivrisinek larvalarını daha çok tercih etmeli,
- Küçük yapılı olmalı (Bu özellik balıkların suyun sığ kısımlarına ve bitki topluluklarının olduğu kısımlara girişini kolaylaştırır),
- Küçük su ortamlarında bile yüksek üreme kapasitesi olmalı,
- Kirlilik, tuzluluk ısı dalgalanmalarına karşı tolerans gösterebilmelidir.



Şekil 1. Vektör mücadelesinde kullanılan çeşitli balık türleri.
 a. *Gambusia affinis*,
 b. *Lepistes poecilia reticulata*,
 c. *Cynolebias bellotii*,
 d. *Oreochromis mossambicus*,
 e. Sazan (*cyprinus carpio*). (21-25).

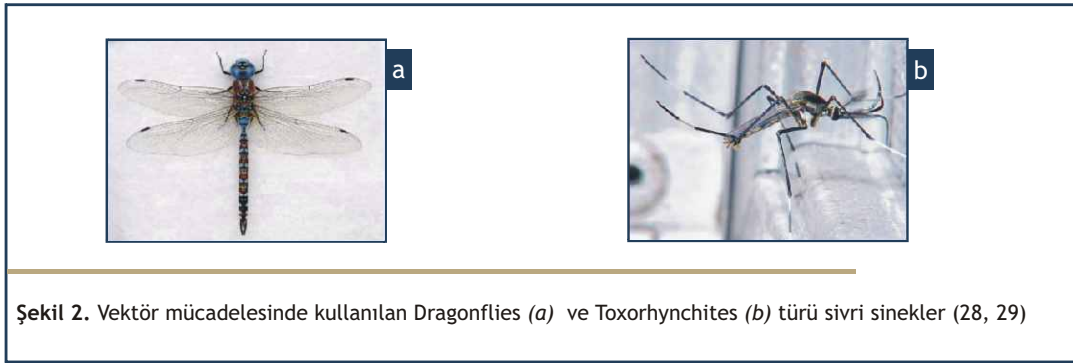
Yerel olarak toplanan balıkların öncelikle sivrisineklere karşı etkinlikleri test edilerek değerlendirilir. Bu tür balıkların büyük çoğunluğu *Poeciliidae* ve *Cyprinodontidae* cinsi dişli sazan balıklarıdır; küçük olanları ise akvaryum balığı niteliğindedir. Farklı ülkelerde olacak şekilde en fazla etkinlik gösteren yararlı balıklar; golyan balığı, sivrisinek balığı (*Gambusia affinis*) ve lepisteslerdir (*Poecilia reticulata*). *Gambusia* temiz sularda, *Poecilia* ise organik olarak kirli sularda başarılı şekilde etkili olabilir. *Poecilia* yüksek sıcaklıkları gambussialara göre daha iyi tolere edebilirken özellikle sıcak alanlarda ve piriç sahalarında daha etkilidir. Buna karşın *Gambusia*'dan farklı olarak sıcaklık 10°C'nin altına indiğinde *Poecilia* yaşamını devam ettiremez. Diğer taraftan *Cynolebias*, *Nothobranchius* ve *Aphyosemion* cinsi balıklar ise kurak alanlarda etkili şekilde uygulanabilir. Kendi doğal ortamlarında etkili olan balıklar seçilmelidir. Başka bölgelerden getirilen balıklarda zaman zaman uyum bozukluğu ve getirildikleri çevre için zararlı etkiler oluşabilir.

Özellikle bataklık ve havuz gibi yoğun bitki topluluğunun bulunabileceği ortamlarda bu tür balıkların etkinlikleri hedef canlıyı bulma güçlüğü nedeniyle daha sınırlıdır. Sazan (*Cyprinus carpio*), dev gurami (*Osphronemus goramy*) ve tilapia (tilapia

yada *Oreochromis mossambicus*) gibi büyük balıkların bu ortamlardaki etkinlikleri ise son derece zayıftır. Büyük balıklar yerel popülasyonlar için besin kaynağı olarak da değerlendirilebilir. Bazı ülkeler bu balıkları hem besin maddesi hem de sivrisinekle mücadele için yetiştirmektedir. Örneğin; *O. mossambicus*, *Oniloticus* ve *Ospiluru* gibi balıklar Endonezya, Malezya, Somali ve Sudan gibi ülkelerde bu amaçla değerlendirilirler. Yaygın şekilde bulunan sazan, *Cyprinus carpio* ve *Ctenophoryngadon idollo* Güney Hindistan ve Çin'de bu amaçla yetiştirilir (16). Vektörle mücadelede yararlanılan balık türleri Şekil 1'de verilmiştir.

Toxorhynchites cinsi etçil sivrisinekler

Sivrisinekle mücadele programları içerisinde değerlendirilen biyolojik kontrol yöntemlerinden biridir (Şekil 2). *Toxorhynchites* cinsi sivrisinekler larva döneminde iken bu etkinliği gösterirler, buna karşın erişkinler bitki nektarları ve diğer doğal kaynaklar ile beslenirler. Aynı şekilde bu canlıların erişkinleri kan emmezler ve bu nedenle hastalıkların taşınmasında vektör olarak da değerlendirilmezler. *Toxorhynchites*'ler doğada özellikle sivrisineklerin yaygın şekilde barındığı alanlarda, ağaçlarda, bambu toplulukları ve su yüzeyinde bulunurlar. Dünya üzerinde özellikle tropikal bölgelerde olacak şekilde yaklaşık 71 tür *Toxorhynchites* bulunduğu tespit



Şekil 2. Vektör mücadelesinde kullanılan Dragonflies (a) ve Toxorhynchites (b) türü sivri sinekler (28, 29)

edilmiştir. Bunlar genellikle alışılmışın dışında büyük sivrisineklerdir; kanat uzunluğu 12 mm ve vücut uzunluğu da 7 mm'den fazladır. Erişkinleri sedef rengi bir örtü ile kapatılmıştır; larvalar ise genellikle kahverengi ya da kırmızımsı görünüştedir ve karın bölgesinde belirgin tüyler bulunur. Baş kapsülası oldukça kalındır ve güçlü çene yapısına sahiptirler (16).

Erişkinler bitki nektarları ile beslenirler ki bu madde çoğu türde yumurta gelişimi için gereklidir. Birkaç türde ise erişkinler etçil özellik gösterir. Üreme döneminde kullanılan protein çoğunlukla larva dönemindeki beslenme sırasında vücuda alınır; buna karşın bitki nektarlarından da bazı amino asitler alınabilir.

Etkili bir metot olarak görünmekle birlikte bu sivrisinek cinsi kullanılarak yapılan vektör mücadelesi istenilen başarıyı sağlamamıştır;. Bunun nedenlerinden biri pest nitelikli sivrisineklere göre *Toxorhynchites*'lerde gelişme, çoğalma süresi popülasyon artışı oranı çok daha uzun sürede olmaktadır (diğerlerinin yaklaşık 3 katı sürede). Bir diğer neden *Toxorhynchites* cinsi sivrisinekler diğerlerine göre daha farklı aquatik sistemlerde yerleşirler. Bu olumsuz etkilere karşın dişi sivrisineklerin suyun derin kısımlarına yumurtlaması, kimyasal maddelerle erişilemeyecek böyle yerlerle mücadele için önemlidir.

Dünyanın farklı bölgelerinde *Toxorhynchites*'ler ile yapılan mücadele yöntemlerini görmek mümkündür. Biyolojik kontrol yöntemi olarak *Toxorhynchites* cinsi sivrisinekler ilk kez Pasifik adalarında, Hawai'de 1929 yılında uygulanmıştır.

Bunu takiben *T.brevipalpis*, 1950 yılında Afrika'da, *T.theobaldi* 1953 yılında Panama'da ve *T.amboinensis* 1953 yılında Manila'da uygulanmıştır. Bunların dışında diğer *Toxorhynchites* türleri olara; *T.splendens*, *T.brevipalpis conradi*, *T.kaimosa*, *T.rutilus rutilus*, *T.moctezuma*, *T.towadensis*, *T.haemorrhoidalis*'tir. *Toxorhynchites* türleri kullanılarak yapılan mücadelede en başarılı sonuçlar Japonya, Güneydoğu Asya, Karayip Adaları ve Amerika'da alınmıştır.

Toxorhynchites cinsi sivrisineklerle yapılan entegre vektör mücadelesi (Integrated Pest Management) içerisinde değerlendirilen bir metottur ve özellikle *Bacillus* toksinleri ve geleneksel kimyasal maddeler ile yapılan mücadeleyle kombine şekilde değerlendirildiğinde başarılı sonuçlar alınabilir. Bununla birlikte eğer *B.thuringiensis* ve *Bacillus sphaericus* ile birlikte uygulama söz konusu ise her iki maddenin yüksek miktarları *Toxorhynchites*'ler üzerinde de öldürücü etki oluşturabilir. *T.amboinensis* ile birlikte düşük hacimli malatyon uygulamasının kombine edildiği bir çalışmada(26) *A.aegypti* yoğunluğu %96 oranında azaltılabilmıştır; buna karşın malatyon tek başına uygulandığında bu oran %29 oranında kalmıştır. Organik fosforlu insektisitlerden temefos da kombinasyon için uygundur (27).

Dragonflies (yusufcuk, tayyare böceği)

Bu grup böcekler en yaygın böcek türünü oluşturur (Şekil 2). Dünya üzerinde 6000'den fazla türü olduğu bilinmektedir. Dragonflies'ler su ortamında yaşayan canlılardır; Odonata sınıfındadırlar. Üç alt grupta incelenirler;

Anisoptera, Zygoptera ve bazı bölgelerde lokalize olan (Japonya ve Nepal'de) Anisozygoptera. Avrupa'da 128 Odonata türü vardır ki bunlardan 45'i Zygoptera ve 83'ü de Anisoptera türüne aittir. Avrupa'daki en küçük tür *Sympetrum danae*'dir, 32 mm'dir. Buna karşın en uzun tür ise *Cordulegaster heros*'tur; 97 mm.

Yaşam siklusları uzun süreli bir larva dönemi (8-10 hafta) ve kısa süreli (46 hafta) erişkin fazı içerir. Yumurtalarını su bitkileri ya da su yüzeyine bırakırlar. Avrupa'da rastlanan birkaç tür dışında diğer bütün türler gelişme dönemlerini su ortamlarında geçirirler. *Odonata*'larda pupa aşaması yoktur. Tüm *Odonata* türlerinde larva ve erişkinler etçil canlılardır ve küçük omurgasızlarla beslenirler. Gelişme aşamasında deri üzerinde bölünmeler oluşur; önce baş, sonra gövde, ayaklar ve son olarak da kanatlar belirginleşir. Bu süre yaklaşık 2 saat içinde gerçekleşir.

Dragonflies'ler insanlarda pest olarak yerleşen birçok sivrisinek ve sinek türüne karşı etkilidir. Özellikle manevra yeteneklerin fazla olması onları iyi bir avcı olarak nitelendirir. Aynı zamanda mükemmel bir görüş yeteneğine de sahiptirler (18-20).

Eklembacaklılar (Cyclopoïd copepod)

Biyolojik kontrol programı içerisinde değerlendirilen eklembacaklılar bazı ülkelerde *Aedes* larvalarına karşı etkin şekilde kullanılırlar. Eklem bacaklılar içerisinde 3 tür özellikle önemlidir; *Macrocyclops albidus*, *Mesocyclops aspericornis* ve *Mesocyclops longisetus*. Bunlar etçil nitelikteki canlılardır. Tek başlarına kullanılabilecekleri gibi vektör mücadelesi programı içerisinde diğer yöntemlerle kombine de edilebilirler. *M. longisetus*, *B. thuringiensis* ve *Bacillus sphaericus* ve metoprenin kombine edildiği bir çalışmada hedef canlıda %90'ın üzerinde azalma sağlanmıştır (30,31).

Parazitler

Vektör mücadelesinde çeşitli parazitler de kullanılabilir. Bu amaçla özellikle Microsporidia'lardan yararlanır. Bu tür protozoonlar *Aedes camptorhynchus* larvalarını enfekte ederek bu

dönemde sivrisinekler üzerinde etkili olur ve bunları öldürürler. Bu dönemde larvaların vücudunda yaygın nitelikli bir renklenme görülür. *Mikromonosporidae* ile enfekte edilen bir başka vektör *Culex sitiens*'lerdir. Parazit enfeksiyon sonucunda karın bölgesinde beyaz renkte şişkinlik oluşur ve buna bağlı olarak ölüm görülür (18,19).

Diğerleri

Vektör mücadelesinde yararlanılan diflubenzuran, metopren gibi insekt gelişme düzenleyicileri bazı kaynaklarda biyolojik kontrol programları içerisinde de değerlendirilmektedir.

Biyolojik kontrol programında değerlendirilen bir başka grup omurgalı canlılar içerisinde kurbağalardır. Porto-Rico, Hawaii, Filipinler ve Pasifik adalarında bazı kurbağa türleri *Bufo marinus* (dev kurbağa) ve *Bufo bufo* (yer kurbağası) bahçelerde ve yetiştirme evlerinde üretilmektedir. Bunlar balıklara karşı etkili olmakla birlikte köpek ve diğer evcil hayvanlara karşı zehirli bir madde de salgırlar.

Yılan ve kertenkele türleri de çoğunlukla böcek tüketirler bu amaçla Kıbrıs'ta Afrika ülkelerinden getirilen zehirsiz bir yılan türü biyolojik kontrol amacıyla kullanılmıştır. Özellikle ormanlık alanlarda zararlı böceklerin erginleri, pupaları, larva ve yumurtalarını yiyen ve bu şekilde doğal dengenin sağlanmasında etkili kuş türleri de bulunmaktadır. Bu türler arasında Baştankaralar (*Parus spp*), Sıvacı kuşu (*Sitta emopaca*), Sığırcık (*Sturnus vulgaris*) sayılabilir. Yapılan araştırmalarda bir kuşun kendi ağırlığının birkaç misli kadar böcek tükettiği ortaya konmuştur. Dolayısıyla bu durum kuşların vektör mücadelesinde kullanımı yönüyle bir avantaj sağlamaktadır (32).

BİYOPESTİSİT KULLANIMININ AVANTAJLARI

Biyopestisitler, geleneksel pestisit risklerini azaltabilen doğal pestisit grubudur. Biyopestisitler genellikle dar bir etki alanına ve çok özel bir hareket şekline sahiptirler. Yavaş hareket ederler, nispeten kritik uygulama zamanları vardır, kalıntı problemleri yoktur, zararlı popülasyonu elimine etmekten çok

Tablo 1. Ülkemizde kullanılmakta olan ruhsatlı biyopestisitler (37)

İsmi	Cinsi
Altosid Liquid Larvasit	<i>Methopren 5</i>
Aquabac xt	<i>Bacillus thuringiensis 1.2</i>
Bactoculicide	<i>Bacillus thuringiensis 1.2</i>
Bio-Quito	<i>Bacillus thuringiensis 1.2</i>
Diflox tablet	<i>Diflubenzuron 1</i>
Du-Dim 25 G	<i>Diflubenzuron 4</i>
Du-Dim 25 WP	<i>Diflubenzuron 25</i>
Skeletal	<i>Bacillus thuringiensis 0.6</i>
Teknar G	<i>Bacillus thuringiensis 1.7</i>
Teknar HP-D Sıvı	<i>Bacillus thuringiensis 1.2</i>
Vectobac G	<i>Bacillus thuringiensis 0.2</i>
Vectobac 12 AS	<i>Bacillus thuringiensis 1.2</i>

zararlı etkilerini engellerler, sınırlı dirençlilik durumu ve kısa raf ömürleri vardır, geleneksel pestisitlere göre insanlar ve çevre için daha emniyetlidirler. Biyopestisitler genellikle sadece hedeflenen zararlıyı ve yakın ilişkili organizmaları etkilerler. Buna karşın geleneksel pestisitler daha geniş spektrumludurlar; ki bu şekliyle kuşlar, balıklar ve memeliler gibi diğer organizmaları da etkilerler (33).

Özellikle gelişmekte olan ülkelerde kimyasal pestisitlerin uygun olmayan kullanımı çevre ve insan sağlığı için bir tehdit olmaya devam etmektedir. Son yıllarda bu pestisit türlerinin kullanımında yoğun bir artış meydana gelmiştir; kullanımının artması ve sık sık yanlış kullanımı insektisitlere karşı direnç problemlerine de neden olmaktadır. Buna ilave olarak yararlı böceklerin ve diğer hedef olmayan organizmaların yok olması tarımsal ürünlerde toksik kalıntıların oluşması, elden çıkarılması gerekli olan çok büyük miktardaki depolanmış ve kullanılmayan pestisit riski ile insanlardaki zehirlenme problemleri de geleneksel pestisitlerin olumsuz sayılabilecek etkilerindedir (34,35).

Biyopestisitler üretildikleri, formüle edildikleri ve kullanıldıkları taktirde pestlere karşı ekolojik ve etkili, güvenli çözümler sağlayabilirler. Biyopestisitlerin, kimyasal pestisitlere karşı direnç geliştirmiş olan zararlıların kontrolünde de etkili oldukları çok az veya hiç toksik kalıntı bırakmadıkları ve genellikle yararlı böceklerle ve diğer hedef olmayan organizmalara karşı zararsız oldukları gözlemlenmiştir. Biyopestisitlerin asıl yararları insanlar tarafından kullanılmalarının emniyetli olması; bununla birlikte elden çıkarılmaları, ambalajlanmaları ve kullanılmaları konularında kimyasal pestisitlerden daha az zararlı olmalarıdır (36).

Biyopestisit kullanımının en avantajlı yönlerinden birisi de kimyasal pestisitlere nazaran daha az masraflı olmalarıdır (37).

ÜLKEMİZDE KULLANILAN BİYOPESTİSİTLER

Biyolojik kontrol amacıyla ülkemizde *Bacillus thuringiensis* ile hazırlanan müstahzarlar öncelikle ruhsat almış ve kullanıma sunulmuştur. Farklı firmalar tarafından vektör mücadelesi amacıyla kullanılan bu ürünler Tablo 1'de verilmiştir (37). Bazı kaynaklarda böcek gelişme düzenleyicilerinin de biyolojik kontrol yöntemleri içerisinde değerlendirilmesi nedeniyle diflubenzuron, metopren de bu listeye katılarak sunulmuştur.

SONUÇ

Bu derleme kapsamında, vektör mücadelesinde yararlanılan metotlardan birisi olan biyopestisitlere ilişkin ayrıntılı bir değerlendirme yapılmıştır. Geleneksel pestisitlerin olumsuz etkilerine karşın söz konusu bu uygulamaların çevre ve diğer canlılar yönüyle daha güvenli olduğu söylenebilir. Ancak ekolojik dengenin bir türün lehine olacak şekilde değiştirilmesi beraberinde bazı olumsuzlukları da getirecektir. Dolayısıyla bu türden bir uygulamadan yararlanırken bu kar zarar ilişkisinin göz önüne alınması son derece önemlidir.

KAYNAKLAR:

1. Kaya, S. Pestisitler. Alınmıştır: S. Kaya, İ.Pirinççi, A. Bilgili (Ed). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi: 35. Ankara. 1998; 211-339.
2. Kaya, S., Bilgili, A. Dış parazitleri etkileyen ilaçlar. Alınmıştır. S.Kaya, İ.Pirinççi, A.Bilgili (Ed). Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Medisan Yayın Serisi: 42. Ankara. 2000; 507-608.
3. Murphy, S.D. Pesticides, In: Doull J, Klassen C.D., Amdur M.O., Casseret and Doull's Toxicology, Macmillan publishing Co., Inc, New York. 1980; 357-408.
4. Roberson, E.L., Nolan, M.P. External parasite control. In: Booth, N.H., McDonald L.E., (ed) Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 6th edition, Iowa State Universty Press, Ames. 1988; 892-925.
5. Şanlı, Y. Türkiye'de pestisit kullanımından kaynaklanan çevre ve besin kirlenmesi sorunları. Türkiye'de Veteriner ilaçları üretimi, pazarlanması, güvenli kullanımı ve kalıntı sorunları sempozyumu. 13-14 Ekim 1994, Ankara. 1994.
6. Şanlı, Y. Veteriner Klinik Toksikoloji. Medipres Yayıncılık. Malatya. 2002; 351-486.
7. Brander, G.C. Pestisitler. In: Brander G.G., Pugh D.M., Bywater R.J. (Ed). Veterinary Applied pharmacology and Therapeutics. 4th edition. Bailliere Tindall, London. 1982; 457-469.
8. Matsumara, F. Toxicology of insecticides. 2nd Ed. Planum Press, New York. 1985.
9. Dikshith, T.S.S. Toxicology of pesticides in animals. Crc Press, Boca Raton, Boston. 1991.
10. Yarsan, E., Tanyüksel, M., Çelik, S., Aydın, A. Effects of Aldicarb and Malathion on lipid peroxidation. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. 1999; 63:575-581.
11. Mycoferm. Erişim : (http://www.mycoferm.com/mkt_pest.html). Erişim Tarihi: 21.06.2001.
12. EPA. Erişim: (http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/what_are_biopesticides) Erişim Tarihi: 26.10.2000.
13. Sesan, E.T., Oprea, M. Invitro action of fungicides and insecto-fungicides on the antagonistic fungi used as biocontrol agents. *Bulletin of the Academy of Sciences*. 1999; 47(2-4):183-195.
14. Biopesticide. Erişim: (<http://www.biopesticide.org/Regulatory/Links.htm>). Erişim Tarihi: 21.06.2001.
15. Özer, Z. Feromonlar. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi*. 1996; 345:44-47
16. Rozendaal, J.A. Vector Control. Methods for Use by Individuals and Communities. 1997; 122-137. WHO. Geneva.
17. WHO. Environmental Health Criteria 217. Microbial Pest Control Agent. *Bacillus Thuringiensis*. Geneva. 1999.
18. Rose, R.I. Pesticides and Public Health. *Integrated Methods of Mosquito Management. Emerging Infectious Disases*. 2001; 7(1):17-23.
19. Collins, L.E. ve Blackwell, A. The Biology of toxorhynchites mosquitoes and their potential as biocontrol agents. Erişim: (<http://pest.cabweb.org/journals/BNI/BHI27-4/Bniaps.asb>.) Erişim Tarihi: 20.12.2002.
20. Nelso, B., Thomson, R. ve Morrow, C. Intruduction to dragonflies. Erişim: (<http://www.ulstermuseum.org.uk/dragonflyireland>) Erişim Tarihi: 20.12.2002.
21. Anon. Erişim: <http://www.salonhogar.com/ciencias/animales/peces/gambussiaaffinis.html>. Erişim tarihi: 9.06.2007.
22. Anon. Erişim: <http://www.aquarist.gen.tr/lepistes.htm>. Erişim tarihi: 9.06.2007.
23. Anon. Erişim: <http://www.elacuarista.com/atlas/A/austrolebiasbellottii.htm>. Erişim tarihi: 9.06.2007.
24. Anon. Erişim: <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/tilapia/tilapia.htm>. Erişim tarihi: 9.06.2007.
25. Anon. Erişim: http://www.kkgm.gov.tr/birim/su_urn/icsu1/aynali_sazan.html. Erişim tarihi: 9.06.2007.
26. Focks, D.A., Sackett, S.R., Kloter, K.D., Carmichael, G.T. The integrated use of Toxorhynchites amboinensis and ground level ULV insecticide application to suppress Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*. 1986; 23:513-519.
27. Jones, C. ve Shreber, E. The carnivores, Toxorhynchites. Erişim: (<http://pherec.org/EntGuide3.PDF>.) Erişim Tarihi: 20.12.2002
28. Anon. Erişim: <http://www.dragonflies.org/>. Erişim tarihi: 9.06.2007.
29. Anon. Erişim: <http://www.arbovirus.health.nsw.gov.au/areas/arbovirus/mosquit/photos/mosquitphotos.htm>. Erişim tarihi: 9.06.2007.
30. Thietze, N.S., Hester, P.G.; Olson, M.A., Shaffer, K.R., Prescott, S.J., ve Gaffeny, M.J. Pesticide Environmental Impact Section Annual Report, 1993. Erişim: (<http://www.geocities.com/Paris/Gaclery/9542/PEIS93.html>). Erişim Tarihi: 23.12.2002.
31. Santos, L.U., Andrea, C.F., Carvalho, G.A. Biological control of Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) Larvae in Trap tyres by Mesocyclops Longisetus (Copepoda: Cyclopidae) in Two Field Trials. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz On-line*. 1996; 91(2):161-162.

32. Oğurlu, İ. Biyolojik mücadele. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 8, Orman Fakültesi Yayın No:1. Isparta. 2000.
33. Berlinger, R.G. Organic Pesticides and Biopesticides. Erişim: (<http://hgic.clemson.edu/fachtsheets/HGIC2756.htm>). Erişim Tarihi: 23.08.2001.
34. Harris, J., Dent, D. Priorities in biopesticide R&D in Developing Countries. Erişim: (<http://www.biopesticide.org>). Erişim Tarihi: 03.10.2002.
35. Jeyaratnam, J. World Health Statistich Quarterly No:43. WHO. Erişim : (<http://www.biopesticide.org>). Erişim Tarihi: 03.10.2001.
36. Lisansky, S. Microbial Biopesticides. Erişim : (<http://www.biopesticide.org>). Erişim Tarihi: 03.10.2001.
37. Sağlık. Erişim: (<http://www.tcsaglik.gov.tr>) Erişim tarihi: 22.06.2002.

1936 YILINDA TRAKYADA TÜLAREMİYE AİT YAPILAN EPİDEMİYOLOJİK VE BAKTERİYOLOJİK ARAŞTIRMALAR*

Emil GOTSCHLICH¹, Tahsin BERKİN²

¹Birinci Direktör,
T. C. Merkez Hıfzıssıhha
Müessesesi

²Bakteriyoloji Mühassısı,
T. C. Merkez Hıfzıssıhha
Müessesesi

Türkiyede tülaremi ilk defa 1936 senesi yazında müşahede edilmiştir. Trakyada Lüleburgaz askerî garnizonunda bu hastalığın epidemik bir şekil alması ve buraya mücavir Silivri, Çatalca ve Tekirdağ köylerinde sivil halk arasında da münferit üç vak'anın görülmesi üzerine sıhhat ve İctimaî Muavenet Vekâleti bu salgın hakkında epidemiyolojik anket ve bakteriyolojik tetkikat yapmak üzere bizleri memur ederek aynı yıl eylülünün son on beş gününü Lüleburgazda garnizonun bulunduğu mntıka ile hastaların nakledildikleri Çorlu ve İstanbul askerî hastahanelerinde geçirdik.

Tülaremi hastalığının Türkiyede ilk teşhisi şarefi Türk meslekdaşlarımızdan Çorlu askerî hastahanesi etibbasından binbaşı Dr. Ömer Bican, Ön Yzb. Dr. İrfan Titiz, Ön yzb. Dr. Mustafa Fevzi Kurtaran ile İstanbul Gülhane hastahanesi bakteriyoloji ve intaniye muallimi Prof. Dr. Kemal Hüseyin'e aittir. Bu meslektaşlar birçok güçlüklerle ve noksanlara rağmen Trakyada klinik, bakteriyolojik ve epidemiyolojik bakımdan tülaremi üzerine bir çok araştırmalar yapmışlar ve aldıkları neticeleri ve yaptıkları ilmî ve laboratuvar araştırmalarını bize göstermek ve bırakmak lütfünde buldukları gibi ayrıca da neşretmişlerdir. İsmi geçen arkadaşlara Zeytin Burnu hastahanesi doktorlarına, Çorlu Kızılay hastahanesi ve İstanbul Vilâyet bakteriyoloji laboratuvarı doktorlarına, ve Lüleburgaz Garnizonunda tetkikat yapmamıza müsaade eden ve çalışmalarımızı kolaylaştıran General Şemsettin'e ve maiyeti zabitan ve askerî etibbaya burada teşekkürü borç biliriz.

Trakyadaki tülaremi araştırmaları hakkında Sıhhat Vekâleti sayın müsteşarı Bay Dr. Asım Arar tarafından 1937 senesi eylülünde cemiyeti akvam hıfzıssıhha şubesine bir rapor verilmiştir

1936 senesi eylülünün ortalarında Trakyaya vardığımız zaman hastalık artık geçmek üzere idi. Tarafımızdan tetkik edilen (133 ü asker, 17 si Lüleburgaz Turgut Bey köyünden sivil halk) 150 vak'a arasında yalnız bir tek yeni vak'aya rastlanmış ve bu hastanın ukdelerinden alınan maddeyi maraziye kobay ve beyaz farelere zerkedilerek hayvanlarla serirî olarak müsbet tezahürat görülmüş ise de amili marazinin üretilmesi kabil olamamıştır. Bununla beraber elimizde mevcut Gülhane ve Çorlu suşlarından yaptığımız serolojik teamüllerle laboratuvar araştırmaları

*Türk Hıfzıssıhha ve Tecrübi Biyoloji Mecmuası 1938 yılı 1. Cildi 1. Sayısından, orijinaline sadık kalınarak alınmıştır.

vak'aların tülaremi olduğunu aşikâr bir surette isbat ettiği gibi bilâhara laboratuvar mesaisi esnasında gözüne kültür sıçıyan ve hastalığa yakalanan müessesemiz mütehassıslarından Dr. Sait Bilal Golem' den müessesemiz ikinci direktörü Prof. Dr. Server Kamil Tokgöz bakteriyi tecrit etmiştir.

Şu halde Türkiyede tülaremi hastalığı klinik, bakteriyolojik ve serolojik yollarla itiraz kabul etmeyecek şekilde katî surette tesbit ve teşhis edilmiştir 1936 senesinde yaptığımız hususî araştırmalarda elde ettiğimiz neticeleri hülâsatan aşağıya yazıyoruz:

I-Burada yalnız hastalığın patojeni ve epidemiyolojisini alâkadar eden klinik tezahüratından kısaca bahsedeceğiz. Serirî tafsilât için Çorlu ve İstanbuldaki arkadaşların neşrettikleri 2. 3. 4. ve 5 numaralı neşriyatına müracaat edilmelidir. Hastalığın şekil ve lokalizasyonu hastalığın giriş yolu hakkında bizi tenvir edeceğinden hıfzıssıhha bakımından ehemmiyetlidir. Gördüğümüz 150 vak'anın % 59'u saf gangliyoner şeklinde olup giriş noktası tesbit edilememiştir. % 32'si âmili maraziyenin gözden girmesi suretile Ocule-gangliyoner şekli ve geri kalan % 9 adet de giriş cilt yoluyla olup ukde şişliklerle birlikte ciltde yaralar görülen ulcero-gangliyoner şekli idi. Tifo şekline tesadüf edilmemiştir.

Bu vak'alar arasında yalnız bir ölüm görülmüştür ki nisbet 0,67 % dir! Edebiyatı tıbbiyede zikredilen yüzde 4 - 5 vefiyata nazaran pek azdır. bu hastaların genç ve iyi beslenmiş askerler arasında olmasından ileri gelmektedir. Hastalık ve nekahat ekseriya asgarî iki ay sürmüştür. İki hastada nüks görülmüştür. Ukde şişkinliklerinin nahiyelere göre taksiminde boyun ukdelerinde 94, 6 %, koltuktaki ukdelerin de 0, 7 %, fahız ve mağbeni ukdelerde 4, 7 %, nisbetinde görülmüştür. Binaenaleyh intanın en ziyade alınma mahalli yüzdür. Bu hastalık bu cihetten veba ile mukayese edilirse büyük farklar göstermektedir. Veba tülaremi gibi kemirici hayvanlar vasıtasile doğrudan doğruya veyahut sokucu haşarat ile sirayet ettiği halde ukde şişleri 75 % nisbetinde femoral ve eninal ukdelerde tezahür eder.

II - Epidemiyolojik müşahedeler.

Lüleburgazda efrat arasında epideminin inkişafı aylara taksimi aşağıdaki cedvelde gösterilmiştir.

Aylar	Vak'a adedi
Haziran 1936	3
1 - 15 Temmuz 1936	15
15 - 31 Temmuz 1936	32
1 - 15 Ağustos 1936	56
15 - Ağustos 1936	21
1 - Eylül 1936	6

Turgut Bey köyündeki vak'alar hakkında mahallenden alınan malûmata göre bu köyde tesbit edilen ve biri müstesna olmak üzere yaşları 7-15 arasındaki çocuklardan mürekkep olan 17 vak'anın yarısından fazlası temmuz ayında ve diğerleri ağustos ayında tutulmuşlardır. Yalnız bir vak'a mayısın sonunda görülmüştür. Turgut Beyde görülen vak'alardan ikisi okülo-gangliyoner diğerleri simple ganglionaire şekli idi.

Turgut Bey köyünde gördüğümüz vak'aların sekizinin seromu ile yapılan aglütinasyon hepsinde aşikâr müsbet bulunmuştur. Bu köy halkına sordüğümüz suallere aldığımız cevaplarda yabanî tavşanları avlıyarak yüzdükleri anlaşıldığından bunların bir intan menbaı olabileceğine büyük bir ihtimalle kanaat getirdik. Askerlerin tülareminin nâkili olarak nazarı dikkate alınan (tavşan, ada tavşanı, fare, köstebek, koyun, bildircin) hayvanlarla temas ettikleri tesbit edilememiştir. Askerler arasında Temmuz başlangıcından itibaren musap adedinin artması ve her sınıf askerlerde vak'aların aynı kesafette olması sebeplerine gelince arazide yazın talim gören askerlerin münten haşaratla (kene ve sokucu sinekler) temas etmeleri ve bu suretle intana maruz kalmaları ihtimali hatıra gelebilir. Prof. Kemal Hüseyin' inde hastalığın ilk haftasında bazı hastaların yüzlerinde haşaratın sokmasından mütevellit küçük yaralar müşahade etmesi bu fikre tevafuk etmektedir. Gerek mumaileyhin ve gerek bizim haşaratın tülaremidde nâkil vazifesini görmesi hususunda

yaptığımız tetkikat menfi netice vermiştir. Bu tetkikatın epideminin son zamanlarında yapılmış olması muvaffakiyet ümidini azaltan bir âmildir. Hangi hayvan ve sokucu böceklerin tülaremi naklinde rol oynadıklarını tesbit maksadile Lüleburgaz civarında ve münferit vak'alar görülen Trakyanın diğer mahallerinde öldürtülüp getirilen hayvanlar üzerinde yaptığımız tetkikat müsbet bir fikir vermemiştir.

Trakya'da tülareminin başlangıç ve inkişafı hakkında Çorlu askerî hastahanesi baştabibi Dr. Ömer Bican vasıtasile yaptığımız tetkikat neticesinde 1935 senesinin yazında Lüleburgazda efrat arasında ukde şişkinliklerinden mütevellit 26 şüpheli vak'a görüldüğü anlaşılmıştır. O zaman bunların tülaremi olduğu tesbit edimemişse de bilâhara 1936 senesindeki müşahedelerimiz bunların da tülaremi olduğu kanaatini vermiştir. Bunların hakikaten tülaremi olup olmadığını kontrol maksadile askerî hizmetlerini bitirerek memleketlerine dönenler arasından beş kişinin buldukları mahallerin hükümet tabipleri tarafından kanları alınarak Merkez Hıfzıssıhha Müessesesine gönderilmesi imkân elde edilmiş ve bu kanlarla yapılan aglütinasyon teamüllerinin hepsi müsbet netice vermiştir.

Hayvanlardaki hastalığın müzmin seyredişini tesbit epidemiyoloji noktasından ehemmiyetlidir. Çorlu hastahanesindeki arkadaşlar tarafından 4 hafta evvel zerk yapılmış kobayların otopsisinde şırınga mahalline münhasır apse görülmüştür. Bu hal tabii şartlar altında intana uğramış ve hastalığı müzmin seyretmiş hayvanlarda vukua gelirse vebada olduğu gibi virüsün salgın olmıyan mevsimlerde de hayvan vücudunda saklı kalarak diğer yıllara hastalığı taşıyabilir ki epidemiyoloji cihetinden büyük bir ehemmiyeti haizdir.

III - Serolojik araştırmalar

22 Çorlu hastahanesinden, 8 Lüleburgaz civarında Turgut Bey köyünden alınan ve bir de Tekirdağ'dan gönderilen cem'an 31 nekahattaki kan seromlarile aglütinasyon teamülü yapılmıştır. Elimizde 9 tane tülarens bakterisi kültürü mevcuttur.

Bu suşlar yandaki yazılı yerlerden gönderilmiştir.

Gülhane suşu	Prof. Kemal Hüseyin tarafından üretilmiş.
Çorlu suşu	Askerî hastahaneye mensup yukarda ismi geçen doktorlar tarafından üretilmiş.
Stokholm No.4 suşu	Stokholmda Prof. Dr. Olin tarafından gönderilen cenubî Amerikaya ait nümune.
Stokholm No.13 suşu	İsveç'te bir vak'adan üretilerek Prof. Dr. Olin tarafından gönderilmiştir.
Norveç suşu	Oslo'da Prof. Dr. Thjoetta tarafından gönderilen Norveç'te bir tülaremi vak'asından tecrit edilen numune.
Berlin No.38 suşu Berlin No.377 suşu	Berlinde Robert Koch-Enstitüsünde Prof. Dr. Gildemeister tarafından
Viyana suşu	Viyana'da Prof. David tarafından gönderilen Avusturyaya ait bir tülaremi vak'asından alınan numune.

Birde Kopenhag'da hükümet Serom-Enstitü reisi Prof. Dr. Madsen tarafından öldürülmüş kültür emülsiyonu gönderilmiştir.

Gerek yukarda isimleri geçen baylara ve gerek Londra Lister titüsünde Prof. Ledingkam ve John Brook ve ricamız üzerine İsveç ve Norveç'ten kültür gönderenlere teşekkürlerimizi bildiririz.

Elimizde iki tülaremi muaf serumu bulunmaktadır. Bunlardan birisini Robert Koch enstitüsü gönderdi, diğerini de Gülhane suşu ile müsesemizde Prof. Dr. Server Kamil Tokgöz ve mütehasıs baytar Sait Golem hazırlamıştır.

Pek muhtelif memleketlerden gelen kültürlerle yapılan mukayeseli muayenelerde gerek kültür ve gerek seroloji evsaf itibarile pek ziyade müşabehet olduğu aşağıdaki tabeladan anlaşılmaktadır.

Tülaremi kültürleri	Berlin, RobertKoch-Institut		Gülhane nümunesi	
Gümüşhane	1:800+	1:1600+	1:1600+	1:2000+
Çorlu	1:800+	1:1600+	1:800+	1:1600+
Stokholm 4	1:400+	1:800+	1:800+	1:1600+
Stokholm 1 3	1:800+	1:1600+	1:1600+	1:2000+
Norveç	1:800+	1:1600+	1:1600+	1:2000+
Berlin 38	1:800+	1:1600+	1:800+	1:1600+
Berlin 377	1:400+	1:800+	1:1600+	1:3200+
Viyana	1:800+	1:1600+	1:800+	1:1600+
Madsen Kültür Emülsiyonu	1:800+	1:1600+	1:1600+	1:3200+

Bunlar ve aşağıda zikredilen aglütinasyon teamülleri hep iki saat 37 derecelik etüvde ve 24 saat oda derecesi hararetinde bırakıldıktan sonra lûpla okunmuştur. 24 saat sonra okumada teamül ehemmiyetsiz ve tedricî bir surette biraz artmıştır, (Meselâ 1: 800 den 1: 1600 e kadar yükselmiştir.)

Kullanılan 9 mikrop nümunesile yapılan mukayeseli muayenede iki muaf serum aynı nisbette aglütinasyon vermiş yalnız Gülhane nümunesinden müessesemizde hazırlanan muaf serum biraz daha yüksek titr göstermiştir. Bakteriyum tülarens morfoloji ve kültür bakımından ezcümle bakterinin şekli ve cesameti (kokoïd ve basil şekli) ve evsatı zer'iyeye üzerinde yavaş üremesile Brucella sınıfına (Melitensis ve Abortus Bang) yaklaşmaktadır. Müessesemizde üretme vasatı olarak Francis vasatı (%), 1 Cystin % 1, 1 glikozlu kanlı jolez) kullanılmakta ve iki günde üremektedir.

Melitensis ve Bang'ın beşerî ve bakarı tipleriyle hazırladığımız emülsiyonla hastalarımızın seromlarile yaptığımız aglütinasyonda hafif derecede bir Ko-aglütinasyon verdiğini gördük. Bu hâdiseye iki mikrop arasındaki karabeti gösterirse de aglütinasyon nisbetinin gayet az olması dolayisile pratikte Brucella gurubu ile aglütinasyon yapılmaması bir hata teşkil etmez. Bizim 10 tülaremi hastası seromunun Melitensis kültürü emülsiyonu ile yapılan aglütinasyonda ancak bir tanesinde 1:25 olarak aşikâr bir aglütinasyon ve 1:50 eser halinde, diğer 4 aglütinasyon 1:25 eser halinde ve mütebaki 5 inde tamamen menfi netice vermiş; Bang emülsiyonile yapılan aglütinasyon dahi ikisinde 1:25 eser halinde birisinde 1:50, yedisi tamamen menfi olarak zuhur etmiştir. Veba basili muvacehesinde muayene edilen yukardaki 9 hasta seromu 1:25 de dahi tamamen menfi bulunmuştur. Kemirici hayvanlardaki kâzip tüberküloz basilile yapılan iki tülaremi seromu da negatif netice vermiştir.

Elimizdeki 9 tülaremi nümunesile yapılan aglütinasyon teamüllerinde daima sabit ve titresini yüksek bir netice alınmış ve aglütinasyon müsavi

olarak hasta seromu hastalığın on dördüncü gününden 120 inci gününe kadar 1:100 ile 1:3200 arasında bulunmuştur. Hastalığın bu devreler ile hastalığın devamı arasında aglütinasyon cihetinden bir nisbet tesbit edilememiştir.

31 hasta seromunun tülaremi basili emülsiyonu ile aglütinasyon teamülünde:

Bir vak'a	1: 100
3 vak'a	1:2000
3 vak'a	1:400
10 vak'a	1:800
5 vak'a	1:1600
9 vak'a	1:3200

nisbetinde müsbit bulunmuştur.

Diğer taraftan kontrol maksadile şimdiye kadar tülaremiye yakalanmadıkları muhakkak olan 30 kişinin seromu ile icra edilen aglütinasyon tamamen menfi netice vermiş. 1:25 nisbetinde bile müsbitlik göstermemiştir.

Tülaremiden şifa bulmuş insanların serumları uzun yıllar müsbit olarak kalır. Bilfarz yukarıda anlattığımız hastalardan beş kişi 1935 de Lü leburgazda hastalanmışlardı. Aradan birbuçuk yıl geçtiği halde aglütinasyon yine müsbittir. Dr. Talat Vasfi Öz' ün mekalesinde yazıldığı veçhile bu pozitif hal uzun yıllar devam etmektedir. Aldığımız neticeler tülareminin teşhisi için pratikte olduğu kadar teori cihetinden de serolojinin ehemmiyetini göstermiştir.

1) Tülaremi basilile yapılan aglütinasyon tecrübesinde 1: 100 nisbetinde müsbit bulunması teşhisi kat'ileştirdiği gibi hastanın evvelce tülaremi geçirdiğini de ifade eder.

2) Elimizdeki mahdut müşahedelere istinaden hastalığın başlangıcından 14 üncü gününe kadar aglütinasyon teamülü menfi bir netice verdiği takdirde hastalığın tülaremi olmadığına kanaat edilebilir.

3) Tülaremidde aglütinasyon teamülü 56 derecede ve 0,5 % asitfinik ilâvesile öldürülen tülaremi bakterisi kültürü müstahlebi ile icra edilir. Bunun tehlikesiz olması büyük laboratuvar

vasıtalarına ihtiyaç hissettirmemesi (Tifo teşhislerinde Ficker emülsiyonu gibi) pratikte büyük ehemiyeti vardır.

4) Tülaemiden hasta olmıyanların kanından yapılan aglütinasyon teamülünde gayri hususî reaksiyondan endişe edilmemelidir.

5) Biz vak'aların pek azında Melitensis ve Bang bakterilerinde hafif derecede Koaglütinasyon görmüş isek de pratikte bunlar bir mâna ifade etmez. Tülaemi hastalarının kanında veba basili ve kemirici hayvanların kâzip tüberküloz basillerile Koaglütinasyon yoktur.

6) Muhtelif arz kıt'alarına ve memleketlere ait tülaemi bakterisi kültürlerinde büyük bir müşabehet vardır. Bazı diğer hastalık âmillerinde olduğu gibi tülaemide tip meselesi mevzubahis değildir.

7) Bakteriyum tülaemense morfoloji ve kültür ve kısmen seroloji evsafı ile Brucella sınıfına yakınlık gösterdiği halde Pastörelle (veba ve psödötüberküloz basili) lerle karabeti yoktur. Tülaemi ile hıyarcık vebasının bilhassa kemirici hayvanlar ve haşereler ile intikali noktasından geniş mikyasta müşabehetinden dolayı tülaemi bakterisinin sistem içinde yeri ile salgın şekli arasındaki zahirî tezat kolaylıkla kabili izahtır. Bir salgının epidemiyolojik vasfı kültür ve morfolojik

evsafına tâbi olmıyarak intan yollarına, bakterinin tabiatta bulunduğu yerlere ve vücudu beşere giriş noktasına bağlıdır. Bu veçhile bakteriler tabii sistem içinde birbirine pek yakın cinslerin muhtelif salgın tipleri husule getirebilirler. Mesela Brucella süt intanile, tülaemi kemirici hayvanlar ve sokucu sineklerle diğer taraftan da aynı bakteri vücutta muhtelif kapılardan girdiğine göre de muhtelif tip salgınlar yaparlar. Ezcümle vebada hıyarcık ve akciğer vebasası, şarbonda cilt ve ciğer tezahüratı gibi.

Türkiye'de Tülaemiye ait literatür

1. Dr. Asım Arar, La tularémie en Turquie. Bulletin de l'Office International d'Hygiène Publique. Eylül 1937.
2. Dr. Kemal Hüseyin, Memleketimizde tularémie. La tularémie en Turquie. Tedavi kliniği ve laboratuvarı tom 6 No. 23, communication faite le 9 octobre 1936 à la 4 eme semaine medicale balcanique.
3. Dr. Ömer Bican, İrfan Titiz ve Mustafa Fevzi Kurtaran. Tularémie - Über die Tularämie istanbul şirketi mürettebiye Basımevi, No. 73.
4. Dr. Kemal Hüseyin: Die Tularämie in der Türkei. 26/10/1936 Die Tularämie in der Türkei. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Band 119, Heft 4 Berlin 1937.
6. Dr. Sait Bilâl Golem, Tularémie hakkında. Türk Baytar Birliği Dergisi, yıl 7, sayı 5 ve 6 1937.

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE

REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

REFİK SAYDAM HYGIENE CENTER

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology Publishing Agreement Form

.../.../20..

Makale Türü/Article Type: (...)Araştırma/Research (...)Derleme/Review (...)Olgu/Case
Makale Başlığı/Article Entitled:.....

Sayın Editör,

Yayınlanması dileğiyle Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi' ne gönderdiğimiz makalenin yazarları olarak;

Bu çalışmanın:

1. Bilimsel, etik ve hukuki sorumluluğunun bize ait olduğunu,
2. Daha önce yurt içinde veya yurt dışında Türkçe veya yabancı bir dilde yayınlanmadığını,
3. Başka bir yayın organına yayınlanmak üzere gönderilmediğini,
4. Yayın için kabulü halinde tüm yayın haklarının Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi' ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

Here, we affirm and warranty as the Author(s) of this manuscript submitted to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology that;

1. The article I / We submitted to the Bulletin is original and responsibilities are belong to us ethically and legally,
2. The article is not currently being considered for publication by any other journal and will not be submitted for such review while under evaluation by this bulletin,
3. The article contains no libellous or other unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights,
4. The article publishing rights belong to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.

(...)1).....İmza/Signature:.....
Yazışma Adresi/Corresponding Address:.....
Tel/Phone:.....Faks/Fax:.....e-posta/e-mail:.....

(...)2).....İmza/Signature:.....
Yazışma Adresi/Corresponding Address:.....
Tel/Phone:.....Faks/Fax:.....e-posta/e-mail:.....

(...)3).....İmza/Signature:.....
Yazışma Adresi/Corresponding Address:.....
Tel/Phone:.....Faks/Fax:.....e-posta/e-mail:.....

(...)4).....İmza/Signature:.....
Yazışma Adresi/Corresponding Address:.....
Tel/Phone:.....Faks/Fax:.....e-posta/e-mail:.....

(...)5).....İmza/Signature:.....
Yazışma Adresi/Corresponding Address:.....
Tel/Phone:.....Faks/Fax:.....e-posta/e-mail:.....

- Not:** 1.İletişim kurulacak yazarın yanına (X) işareti koyunuz.
2.Formu aşağıdaki adrese faks/posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz.

- Note:** 1.Please indicate the corresponding Author with (X).
2.Please send this form to the address below by faks or mail, or deliver personally.

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 06100 Sıhhiye-ANKARA

Tel/Phone: 0312 458 23 64 Faks/Fax: 0312 458 24 08 e-posta/e-mail: turkhijyen@rshm.gov.tr

