

BRUSELLOZDA SERUM SELENYUM DÜZEYLERİ*

Zeki Aras¹

Uçkun Sait Uçan^{@2}

Serum Selenium Levels in Brucellosis

Özet : Bu çalışmada, Van İli Başkale İlçesi'nden 29 adet insan serumu ve Konya Bölgesi'nden 12 adet inek serumu kullanıldı. RBPT ile yapılan brusellozis taramasının ardından RBPT pozitif örneklerde SAT ile doğrulama ve titre tayini yapıldı. Serum örneklerinde, selenyum konsantrasyonları ICP-AES cihazı ile belirlendi. Selenyum düzeylerinde brusellozisli hastalarla sağlıklılar arasında önemli farklılık olduğu tespit edildi. İnsanlarda ve ineklerde serum Selenyum düzeyleri sağlıklılarda 59.85 ± 1.94 mg/L ve 2.58 ± 0.25 mg/L iken hasta gruplarda sırasıyla 36.18 ± 1.94 mg/L ve 1.35 ± 0.12 mg/L olarak bulundu ($p < 0.05$).

Anahtar Sözcükler: Selenyum, Brusellozis

Summary : In this study, 29 human serum samples from Van (Başkale) province and 12 cattle serum samples from Konya were used. Titer determination of brucella positive serum samples was carried out using Serum Agglutination Test preceded by Rose Bengal Plate Test. Serum trace element concentrations were determined by ICP-AES. There were significant differences between serum selenium levels of the healthy and diseased human as well as cattle. Serum Selenium levels in healthy groups of human and cattle were found 59.85 ± 1.94 mg/L ve 2.58 ± 0.25 mg/L, respectively while corresponding levels in the diseased groups 36.18 ± 1.94 mg/L and 1.35 ± 0.12 mg/L ($p < 0.05$).

Key Words: Selenium, Brucellosis

Giriş

Brucella cinsi bakterilerin sebep olduğu Brusellozis, insan ve hayvanlarda (sığır, koyun, keçi, domuz, köpek) görülen zoonoz bir enfeksiyondur (Arda ve ark., 1982; Arda ve ark., 1996; Bilgehan, 1992; Gürel, 1992). Türkiye'de ilk brusellozis vakası 1915 yılında bir askerde, sığırlardaki ilk izolasyon ise 1931-32 yıllarında bildirilmiştir (İyisan ve ark., 2000).

Brucella cinsinin içinde *B.abortus*, *B.melitensis*, *B.suis*, *B.ovis*, *B.canis*, ve *B.neotomae* olmak üzere 6 tür bulunmaktadır. *B.abortus* 6, *B.melitensis* 3 ve *B.suis* 5 biyotip içermektedir. Diğer türler için herhangi bir biyotip bildirilmemiştir. Brusella cinsi mikroorganizmalar Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, $0.6 - 1.5 \times 0.5 - 0.7$ mm boyutlarında kokobasillerdir (Koneman, 1992). Brusella etkenleri pastörizasyon ısısında 10-15 dakikada ölürler. Kokuşma sonucu kısa zamanda kaybolurlar. Karanlık yerlerde, doku ve uterus akıntılarında ve sütte uzun zaman canlı kalabilirler (Arda ve ark., 1982; Koneman, 1992).

Hastalığın bulaşması, Brusella ile bulaşık yem ve su ile başlıca sindirim kanalından ve ayrıca çiftleşme ile olmaktadır. Etkenin sağlam deriden dahi geçtiği bildirilmektedir (Arda ve ark., 1982). Brusellozisli hayvanların atık yavru, yavruya ait membranlar, uterus akıntıları, süt idrar ve spermaları başlıca enfeksiyon

kaynaklarıdır (Arda ve ark., 1982). Brusellozis mikropişi çığ süt, böyle sütlerden yapılmış tereyağı, kaymak, taze peynir gibi ürünlerle insanlara kolayca geçebilen ve ağır enfeksiyonlara sebep olan bir hastalıktır (Gürel, 1992). Roux (1988) tarafından bildirilen ve enfeksiyonun insana bulaşmasının önemini gösterebilecek bir diğer yol ise, ekildikleri toprakta enfekte hayvan gübresi kullanıldığında, taze sebzelerle de bulaşmanın olabileceği ve nedeni bilinmeyen Brusellozis vakaları olarak kayıtlara geçen bir çok vakanın aslında bu yol ile bulaşmış olabileceği şeklindedir.

Brusellozisin en önemli özelliği, retikulohistiositer sistem hastalığı olması ve belirli organ ve dokulara yerleşmesidir. Brusella etkenleri hassas organizmaya girdikleri zaman önce polimorf nükleer lökositler tarafından fagosite edilirler. İntrasellüler özellik gösteren Brusella etkenleri çoğalarak onları parçalarlar. Serbest kalan bakteriler mono nükleer lökositler tarafından fagosite edilerek bölgesel lenf yumrularına ulaşırlar. İnfekte olan lenf yumrularında hiperplazi meydana gelir. Bu engeli aşabilen etkenler bakteriyemi yaparlar. Dalak, lenf yumruları ve karaciğerde granülomların görülmeye başlandığı bu evrenin ardından ikinci bir bakteriyemi ve lenf yumruları, uterus ve memede yerleşim evreleri gelir. Etkenler buralarda çok uzun süre canlı kalabilirler (Arda ve ark., 1982; Bilgehan, 1992). Koyun brusellozisinin en yaygın olduğu ülkeler; Fransa, İtalya, Almanya, Yu-

Geliş Tarihi : 17.09.2002 @: usucan@selcuk.edu.tr

*: Bu çalışma Tübitak BAYG tarafından desteklenmiştir.

1. Ladikli mah. Genelge sk. No : 16, Meram-KONYA

2. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı., KONYA

nanistan, Malta, Portekiz, Tunus, Cezayir, İran, Rusya, ABD ve Latin Amerika ülkeleridir. Sığır Brusellozisin ülkemizdeki prevalansı % 1.43'tür (İyisan ve ark., 2000). Ülkemizde, insanlarda risk gruplarında Brusellozisin prevalansı ile ilgili olarak yeterli çalışma olmamakla birlikte, yapılan çalışmalarda % 2.2 ile % 17.6 oranları arasında sero-pozitiflik bildirilmiştir. (Tezok ve ark., 1970; Çolak ve ark., 1991; Büke ve ark., 2000). Van Bölgesinde sığırlarda brusellozisin prevalansı % 0 olarak bildirilmiştir (İyisan ve ark., 2000).

Brusellozisin kesin tanısında, etken izolasyonu, serolojik yöntemler, allerjik testler ve diğer (PZR gibi) yöntemler kullanılır (Güler ve ark., 1988; Kenar ve ark., 1990; Kaya ve ark., 1991; Erganiş ve ark., 1995a; Erganiş ve ark., 1995b). Tek başına bakteri izolasyonu ve identifikasyonu ya da serolojik yöntemlerin kullanılması yerine birden fazla yöntemle kesin tanıya gidilmesi daha güvenilir sonuçlar verir. Atık materyallerinde yapılan bakteriyolojik incelemelerin serolojik testlerle desteklenmesi, vakaların laboratuvarında tespit edilebilme olasılığını % 10-35 oranında arttırdığı bildirilmektedir (Güler ve ark., 1998). Öte yandan serolojik testlerin yorumlanmasında kesinlik kazandırabilecek yeni yaklaşımlar hem laboratuvar ve hem de klinik düzeyde hekimlerin daha kesin karar vermelerini sağlayacak bulgulara ulaşmalarını sağlayabilecektir.

Enfeksiyon sırasında aktive olan konakçı immünobiyokimyasal mekanizmaları sonunda konakçı iz element düzeylerinde değişme olduğu bildirilmektedir (Kalkan ve ark., 2000). Ancak klinik düzeyde bu etkileşimler tam anlamıyla aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada Brusellozislilik inek ve insan serumlarında selenyum (Se) düzeyleri ile antikor düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Inek serumu: Çalışmada Konya Veteriner ve Kontrol Enstitüsü'ne sahadan ulaştırılan ve Rose Bengal Plate Test (RBPT), Serum Aglutinasyon Testi (SAT) ve Komplement Fikzasyon Testi (KFT) ile yoklanan 12 adet (7 brusella pozitif; 5 negatif) saha serumu kullanıldı.

İnsan serumu: Van İli Başkale İlçesi'nde ikamet eden insanlardan rastgele toplanan ve RBPT ile Brusella yönünden yoklanan 166 adet serum örneğinden 28 tanesi çalışmanın Selenyum analizleri için kullanıldı.

Test Antijenleri : Rose bengal plate antijeni ile tüp agglütinasyon antijeni Biomedical Systems (Spain)'den temin edilmiştir.

Serolojik Testler : RBPT ve SAT Erganiş ve İstanbulluoğlu (2002)'nin bildirdiği yöntemle yapıldı. Bu amaçla RBPT için, temiz bir lam üzerine 1 damla

serum ve bir damla RBPT antijeni kondu ve bir kürdan ile karıştırıldı. Üç dakika sonunda aglutinasyon veren örnekler, RBPT ile Brusella pozitif olarak değerlendirildi.

Sat için, 100 mm x 13 mm boyutlarında, U tabanlı tüplerden her bir örnek için 8 adet kullanıldı. Serum sulandırılmaları 1/10, 1/20, 1/40, ...1/320 yapılarak üzerlerine eşit miktarda SAT antijeni konarak 37 °C da yaklaşık 20±1 saat inkübasyona bırakıldı. Son 2 tüp antijen ve serum kontrol olarak bırakıldı. Aglutinasyonun görüldüğü son tüp sulandırması pozitif titre olarak kaydedildi.

Serum Selenyum analizleri : Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü Laboratuvarına yapıldı. Bu amaçla tüm serum örnekleri buz içerisinde laboratuvara nakledildi. Örneklerdeki Selenyum düzeyleri, Vista AX, CCD Simultaneous ICP-AES cihazında, üretici firmanın yönergesine uygun olarak hazırlanan serum örneklerinde ölçüldü.

İstatistik : Elde edilen ortalama değerler SPSS paket programı, Sürüm 6 (SPSS For Windows, 1993) ile analiz edildi ve t-testi ile değerlendirildi. İstatistik olarak önemlilik p<0.05 değeri ile ifade edildi.

Bulgular

Tablo 1'de RBPT ile pozitif bulunan 28 insan ve 7 inek serumunun SAT ile yoklanması ile elde edilen titrasyonları verilmiştir. (Tabloya RBPT ile negatif bulunan 5 adet inek serumu dahil edilmemiştir). Her iki kaynaklı serum örneklerinde de 1/80 ve üzerindeki titreler Brusella pozitiflik olarak kabul edildi (Erganiş ve İstanbulluoğlu, 2002).

Toplam 35 serum örneğinin serum selenyum düzeyleri ve istatistik ilişkisi Tablo 2'de verilmiştir. Sağlıklı insan ve ineklerdeki selenyum konsantrasyonlarının literatürde bildirilen düzeylerle genel olarak uyumlu olduğu görülmektedir (Özen ve ark., 1992; Kızıl ve Altıntaş, 2001). Ancak selenyum konsantrasyonlarının sağlıklı ve brusellozlu bireylerde istatistik olarak önemli derecede farklı olduğu tespit edildi.

Tablo 1. RBPT ile pozitif bulunan serumların SAT titreleri

	n	SAT (titre)	
		<1/80	≥1/80
Erkek	10	2	8
Bayan	18	4	14
İnek	7	-	7

n: Sayı, SAT: Serum aglutinasyon testi, RBPT: Rose bengal plate testi

Bu çalışmada sağlıklı ve brusellozlu insan ve inek serumlarında selenyum düzeyleri ile anti-brusella antikor titreleri arasındaki ilişki araştırıldı. Bu amaçla toplanan kan serumları RBPT ile tarandıktan sonra pozitif bulunanlara SAT uygulandı. Türkiye'de tüm illeri kapsayan ve sığır ve koyun popülasyonlarında brusellozisin sero-prevalansını belirlemeye yönelik Ülkesel düzeydeki son çalışma verilerine göre Van ili'nde sığırlarda enfeksiyonun sero-prevalansı % 0 olarak bildirilmiştir (İyisan ve ark., 2000). İyisan ve ark (2002) çalışmalarında, yalnızca Şırnak İlini, İl'de kamu görevlisi veteriner Hekim bulunmaması sebebiyle, çalışmaya dahil etmemiş ve toplam 79 İl'de 34958 sığır serumu toplanarak RBPT ve KFT ile yoklandığını bildirmiştir. Ancak, Van İli'ne komşu illerin sığır brusellozis prevalans değerlerine bakıldığında; Bitlis'in % 3.1, Siirt'in % 5.2 ve Ağrı'nın % 7.3 gibi oldukça yüksek prevalans değerlerine sahip olduğu görülür. Bölgesel düzeyde hayvan hareketleri ve yörenin sosyo-ekonomik yapısı dikkate alındığında Van ili'nde % 0'lık prevalansın yeniden araştırılması ya da mevcut verinin doğrulanması gereğinin ortaya çıktığı düşünülebilir. Bu çalışmada Van İli Başkale İlçesi'nde ikamet eden 166 gönüllüden (cinsiyet, yaş, meslek durumu dikkate alınmaksızın, 15 yaş ve üzeri) alınan kan serumu örneklerinde RBPT ve SAT ile 35 adet (%21.08) pozitif seruma rastlanmıştır. Her ne kadar çalışmanın asıl amacı brusellozisin Bölgedeki seroprevalansını belirlemek değilse de bu rakam enfeksiyonun lokal olarak yaygınlığı hakkında bir fikir vermektedir. Elde edilen % 21.08'lik değer Türkiye ortalamasına (% 1.43) göre çok yüksek olmakla beraber (Türkiye'nin en yüksek prevalansa sahip ili % 20'lik prevalans ile Kars'tır), çalışmanın daha güvenilir örnekleme yöntem ve miktarı ile (örneğin % 95 güven aralığında % 5 yanılma payı ile tahmini prevalans % 50 kabul edilerek en az 384 ya da % 95 güven aralığında % 1 yanılma payı ile tahmini prevalans % 50 kabul edilerek en az 9604 örnek ile) yapılması gereği açıktır. Diğer taraftan bu çalışmadan elde edilen sonuçlarına dayanarak Van İli Başkale İlçesi'nde insanlarda brusellozisin önemli bir sorun olabileceği söylenebilir.

Mineral metabolizmasında genel olarak, yetersiz veya dengesiz mineral alımına bağlı olarak şekillenen anormallik ve hastalık sırasında sekonder olarak gelişen anormallik olmak üzere 2 çeşit dengesizlik gör

rülür (McDowell, 1992). İkinci tipteki değişikliklerin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. İmmün yanıtın oluşumunda rol alan immünokimyasal mediatörlerin etkilendiği faktörler üzerindeki bir çalışmada (Powanda ve Biesel, 1982) lökositlerden salınan bazı ürünlerin, tıpkı akut faz yanıtına benzer şekilde bazı metabolik olayları başlatacağı bildirilmiştir. Diğer taraftan immün yanıt sırasında mineral metabolizmada değişimler olduğu ve serum çinko seviyesi düşerken bakır düzeyinde artış olduğu bildirilmiştir (Rofe ve ark., 1996). Son zamanlarda brusellozlu insanlarda yapılan bir çalışmada da ise serum çinko ve selenyum değerleri sağlıklara göre düşük iken bakır değerlerinin yüksek bulunduğu belirlenmiştir (Kalkan ve ark., 2000).

Bu çalışmada selenyum serum düzeyleri sağlıklı ve brusellozlu insan ve ineklerde incelenmiş ve spesifik antikor düzeyi ile bu iz elementin serum konsantrasyonları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Mineral madde konsantrasyonlarının literatürde bildirilen düzeylerle genel olarak uyumlu olduğu görülmektedir (McDowell, 1992; Rofe ve ark., 1996). Ancak selenyum konsantrasyonlarının sağlıklı ve brusellozlu bireylerde istatistiki olarak önemli derecede farklı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). Serum selenyum düzeylerinin brusellozlu hastalarda önemli ölçüde değiştiği görülmüştür.

Selenyum, glutasyon peroksidaz enziminin aktivitesi için gerekli bir elementtir (McDowell, 1992). Tarp (1994) yaptığı çalışmada bu enzim aktivitesinin brusellozlu hastalarda düştüğünü bildirmiştir. Ancak bunun sebebinin doğrudan selenyum seviyesindeki düşüşten mi yoksa diğer faktörlerin etkileşiminden mi kaynaklandığı bilinmemektedir. Selenyumun, enfeksiyonun gelişimi sürecindeki rolü veya katkısı yeni araştırma konusudur. Öte yandan Nockels ve Blair (1996), Se'un enfeksiyon olgularında mangan, çinko, Vit E ve β -karoten ile birlikte immün yanıtın düzenlenmesinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Drowkin (1994) AIDS'li hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada, düşük selenyum seviyelerinin yetersiz selenyum alımının bir sonucu olmadığını bildirmiş ve düşük selenyum seviyelerinin, yangıya karşı bir korunma mekanizmasının sonucu geliştiğini ve dolaşımdan dokulara geçen selenyumun enfeksiyonunun seyri üzerine etkili olabileceğini ileri sürmüştür.

Tablo 2. İnsan ve ineklerde serum iz element düzeyleri, mg/l

İz element	İnek		İnsan	
	Sağlıklı, n=5	Hasta, n=7	Sağlıklı, n=6	Hasta, n=22
Se	2.58 ± 0.25	1.35 ± 0.12 *	59.85 ± 1.94	36.18 ± 2.08 *

* p<0.05

Sonuç olarak, brusellozlu insan ve ineklerde selenyum kan serum düzeylerinde önemli değişimler olmaktadır. Bu değişimlerin brusellozun tanısında dikkate alınması önerilebilir. Diğer taraftan, enfeksiyonların oluşumunda mediatörlerin rolünü belirleyecek iz element dengelerinin oluşum mekanizmasının tam olarak aydınlatılması enfeksiyonların daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Kaynaklar

Arda, M., Minbay, A., Aydın, N. (1982). "Özel Mikrobiyoloji". Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları No: 336, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.

Arda, M., Akay, Ö., Esenal, Ö.M. (1996). Bovine brucellosis (in relation to epidemiology and human infection) In "Brucella and Brucellosis in Man and Animals", Ed., E. Tümbay, S. Hilmi, Ö. Anç, İzmir; Ege University Press.

Bilgehan, H. (1992). "Klinik Mikrobiyolojik Tanı". Fakülteler Kitapevi, Barış Yay., İzmir.

Büke, A.Ç., Çiçekçi, M., Erdem, İ., Özacar, T., Öztüfekçi, H., Arda, B., Taşbakan, M., Saçaklıoğlu, F. (2000). Süt ürünleri işleyicilerinde Brusellozis prevalansı ve Brusellozu bilme durumu. *İnfeksiyon Dergisi*, 14, 321-325.

Çolak, H., Usluer, G., Karagüven, B., Köse, Ş., Özgüneş, İ. (1991). Kırsal alanda seroepidemiolojik bruselloz araştırması. *İnfeks. Derg.* 5, 83-86.

Drowkin, B.M. (1994). Se deficiency in HIV infection and the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Chem. Biol. Interact.* 91, 181-186.

Erganiş, O., Güler, L., Kaya, O., Hadimli, H.H. (1995a). Koyun Brucellosis, Campylobacteriosis ve Salmonellosis teşhisinde bakteri izolasyon ve koagülünasyon metodlarının karşılaştırılması. *Veterinarium* 6, 40-43.

Erganiş, O., Hadimli, H.H., Solmaz, H., Çorlu, M., Göktürk, M., Baysal, B. (1995b). Koyunlarda Brusellozis, Chlamydia ve Toxoplasmosis'in EIA (Immuno-comb) testi ile teşhisinde karşılaştırmalı serolojik bir çalışma. 9. Kükem Kongresi, Özel sayı. 18 (2): 24-26. 20-22 Eylül, Denizli.

Erganiş, O., İstanbulluoğlu, E. (2002). "İmmünoloji". 3. Baskı Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya.

Güler, L., Gündüz, K., Baysal, T. (1988). Konya Veteriner ve Kontrol Araştırma Enstitüsü'ne getirilen koyun atık materyallerinin bakteriyolojik ve serolojik muayene sonuçlarının değerlendirilmesi. *Veterinarium*, 9, 3-10.

Gürel, A. (1992). Denizli Yöresi'nde insan ve sığır kan serumlarının Brusellozis yönünden serolojik yöntemlerle karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

İlyan, A.S., Akmaz, Ö., Gökçen Düzgün S., Ersoy, Y., Es-

kizmirliiler, S., Güler, L., Gündüz, K., Işık, N., İçyerioğlu, A.K., Kalender, H., Karaman, Z., Küçükayan, U., Özcan, C., Seyitoğlu, S., Tuna, İ., Tunca, T., Üstünakın, K., Yurtalan, S. (2000). Türkiye'de sığır ve koyunlarda Brucellosis'in seroepidemiolojisi. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 31, 21-75.

Kalkan, A., Bingöl, N.K., Bulut, V., Eral, Ö., Kılıç, S.S. (2000). Serum copper, zinc and selenium concentrations in Brucellosis. *İnfeksiyon Dergisi*, 14, 205-208.

Kaya, O., Erganiş, O., İstanbulluoğlu, E. (1991). Koyun ve keçi Brusellozis'inin allerjik deri testleri ile teşhisi. FEMS Symposium on Brucella and Brucellosis in man and animals. 24-26 Eylül, İzmir.

Kenar, B., Erganiş, O., Kaya, O., Güler, L. (1990). Konya Bölgesinde koyunlarda atıklara sebep olan Brucella, Salmonella, Campylobacter and Chlamydia'ların bakteriyolojik ve serolojik incelenmesi. *Veterinarium*, 1, 17-20.

Kızıl, S., Altıntaş, A. (2001). Şap hastalıklı sığırlarda süt ve kanda vitamin A, vitamin E ve selenyum düzeyleri. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 25, 961-969.

Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Win, W.C. (1992). "Colour atlas and textbook of diagnostic microbiology". 4th Ed. JB Lippincott Co., Philadelphia, USA.

McDowell, L.R. (1992). Minerals in animal and human nutrition. Academic Press Inc., San Diego, California.

Nockels, C.F., Blair, R. (1996). Antioxidant improve cattle immunity following stress. *Anim. Feed Sci. Tech.* 62, 59-68.

Özen, N., Çelik, C., Özkan, K., Malazgirt, Z., İşimer, A., Sayal, A. (1992). Trace elements in hydatid disease. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 6, 67-70.

Powanda, M.C., Biesel, W.R. (1982). Hypothesis: Leucocyte endogenous mediator/endogenous pyrogen/lymphocyte activating factor modulates the development of nonspecific and specific immunity and affects nutritional status. *Am. J. Clin. Nutr.*, 35, 23-29.

Rofe, A.M., Philcox, J.C., Coyle, P. (1996). Trace metal, acute phase and metabolic response to endotoksin in metallothionein-null mice. *Biochem. J.* 314, 793-797.

Roux, J. (1988). Public health importance of brucellosis. *Uluslar Arası Brusella Sempozyumu*. 18-20 Ekim. Pendik Hay. Hast. Araşt. Enst. Yayın No. 9

SPSS For windows. Release 6.0, June 17, 1993 Copyright (c.spss Inc. 1989-1993).

Tarp, U. (1994). Selenium and the selenium-dependent glutathione peroxidase in brucellosis. *Dan Med Bull.* 41, 264-274.

Tezok, F.O., Sağlam, İ.M., Gümrükçü, E. (1970). Türkiye'de insan brucella infeksiyonları. *Mikrobiyol. Bül.* 4, 341.