

ISSN: 1300-7866



Y.Y.Ü.
SAĞLIK BİLİMLERİ
DERGİSİ

JOURNAL OF
HEALTH SCIENCES OF
YUZUNCU YIL UNIVERSITY

CİLT
VOLUME

4

SAYI
NUMBER

1-2

YIL
YEAR

1998

ISSN: 1300-7866

Y.Y.Ü.
SAĞLIK BİLİMLERİ
DERGİSİ

JOURNAL OF
HEALTH SCIENCES OF
YUZUNCU YIL UNIVERSITY

CİLT
VOLUME 4

SAYI
NUMBER 1-2

YIL
YEAR 1998

**Y.Y.Ü.
SAĞLIK BİLİMLERİ
DERGİSİ**

**JOURNAL OF
HEALTH SCIENCES OF
YUZUNCU YIL UNIVERSITY**

Cilt : 4 Sayı : 1-2 Yıl : 1998
Volume : 4 Number : 1-2 Year : 1998

Yılda iki kez, altı ayda bir yayımlanır.

Sahibi / Owner:

Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Adına
On Behalf of Yuzuncu Yıl University
Institute of Health Sciences

Doç. Dr. Yakup Can SANCAK
Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü
65080 – VAN

Editor / Editor - in - Chief:

Doç. Dr. Orhan YILMAZ
Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
65080 – VAN

Dizgi / Composition:

Yrd. Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK

Kapak düzeni / Cover:

Doç. Dr. Mustafa BERKTAŞ

Basım Tarihi / Printing Date:

Aralık 1998

İÇİNDEKİLER (Contents)

EDİTÖRDEN.....	III
YAZARLARA BİLGİ.....	IV

ARAŞTIRMALAR (Research Reports)

Lipid Peroksidasyon Oluşumunun Engellenmesi Üzerine Verapamilin Etkisi The Effect of Verapamil on Prevention of Lipid Peroxidation Formation B. Baydaş, F. Bayıroğlu, T. Kahraman, Z. Ağaoğlu, R. Üstün...1	
Hipertiroidizmin Tavşanlarda Lipid Peroksidasyon, Glutasyon ve Lipid-Bağlı Sialik Asit Seviyeleri Üzerine Etkisi The Effect of The Hyperthyroidism on The Levels of Lipid Peroxidation, Glutathione and Lipid-Bound Sialic Acid in The Rabbits B. Baydaş, A. Ertekin, F. Yur, F. Belge, F. Bayıroğlu.....5	
Tükeninceye Kadar Yüzme Egzersizi Yapılan Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Kan Glutasyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi The Determination of The Concentration of Lipid Peroxidation and Blood Glutathione in Rats Exposed Exhaustive Swimming Exercise F. Bayıroğlu, S. Dede, B. Baydaş, F. Belge, Y. Değer.....9	
Dezenfektanların Brucella canis Üzerine Etkileri Effects of Disinfectants on Brucella canis H. Yardımcı, M. Akan, J. Erdeğer.....13	
Kistik Ovaryumlu İneklerde Kan Progesteron ve Östrojen Seviyeleri ile Plazma Beta-Karoten İlişkisi Serum Progesteron, Oestrogen Levels and Plasma Beta-Carotene Concentrations in Cows with Ovarian Cyst İ. Taşal, F. Gülyüz, F. Karaca, M. Alan, S. Dede, Y. Çetin. ...17	
İneklerde subklinik mastitis olgularından izole edilen Streptokokların serogruplandırılması ve çeşitli biyokimyasal özellikleri üzerine araştırmalar Studies on The Serogrouping and Biochemical Properties of Streptococci Isolated From Cows With Subclinical Mastitis İ. H. Ekin, K. Gürtürk.....21	
Kuru Kürleme İşlemi Geçiren Füme Dil ve Pastırmaların Üretimleri Sırasındaki Nitrat ve Nitrit Miktarlarındaki Değişmeler Changing of nitrate and nitrite contents of dry cured smoked tongue and pastrami during the production stages G. E. Soyutemiz, Ş. Anar, A. Özenir28	
Manisa'da Tüketilen Sucuk, Salam, Sosislerin Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi The Investigation of Chemical and Microbiological Properties of Turkish Soudjouks, Salami and Sausages Consumed in Manisa S. Kayaardı.....32	
Tavuk ve Bildircinin Yumurta Sarısında Total Kolesterol Düzeyi Egg Yolk Total Cholesterol Levels in Chicken and Quail N. Atasoy.....39	

**Y.Y.Ü.
SAĞLIK BİLİMLERİ
DERGİSİ**

**JOURNAL OF
HEALTH SCIENCES OF
YUZUNCU YIL UNIVERSITY**

Yazı İnceleme Kurulu / Editorial Board

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL
Prof. Dr. Aşkın BERKER
Prof. Dr. Hayati ÇAMAŞ
Prof. Dr. Serdar DİKER
Prof. Dr. Özer ERGÜN
Prof. Dr. Şerif KAYMAZ
Prof. Dr. Behiç SERPEK
Prof. Dr. Adem ŞENÜNVER
Prof. Dr. Tevfik TEKELİ
Prof. Dr. Abdülbaki TÜRKOĞLU
Prof. Dr. Nuri YAVRU
Prof. Dr. Yalçın YILDIRIM

Yayın Kurulu / Publication Board

Doç. Dr. Ali BELGE
Doç. Dr. Yakup Can SANCAK
Doç. Dr. Orhan YILMAZ
Yrd. Doç. Dr. Abdurrahman AKSOY
Yrd. Doç. Dr. Mecit YÖRÜK

Yazışma Adresi / Correspondence Address

Doç. Dr. Orhan YILMAZ
Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
65080 – VAN

Tel : 0 - 43 2 - 225 10 83 / 1588

Fax: 0 - 432 - 225 12 68

Copyright ©1995

Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Her Hakkı Mahfuzdur.

Institute of Health Sciences
University of Yuzuncu Yil
All Rights Reserved

İÇİNDEKİLER (Contents)

Tiftik Keçilerinin Serum ve Kıllarında Bakır ile Çinko Düzeyleri	
Zinc and Cooper Levels in Blood Serum and Hairs of Angora Goats	
N. Atasoy.....	44
Van'da Satışa Sunulan Torba Yoğurtlarının Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerinde Araştırmalar	
Chemical and Microbiological Qualities of Strained Yoghurt Sold in Van	
S.Ağaoğlu, Y. C. Sancak, K. Ekici, S. Alemdar.....	48
Bazı Florokinolon Antibiyotiklerle Santral Sinir Sistemi İlaçlarının Farmakolojik Etkileşim Özellikleri Üzerine Deneysel Araştırmalar	
Experimental Studies on the Pharmacologic Interaction of Some Fluoroquinolone Antibiotics with Central Nervous System Drugs	
H. Özbek, O. Yılmaz.....	52
Elektrik Alanın, Rat Eritrosit ve Dokularındaki Antioksidan Enzim (Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz) Aktiviteleri, Lipid Peroksidasyonu ve Glutasyon Seviyelerine Etkisi	
Effect of Electric Field on Activities of Antioxidant Enzymes (SOD, GSH-Px), Lipid Peroxidation (MDA) and Glutathione Levels in Rat Erythrocytes and Tissue	
T. Kahraman, H. Testereci.....	65
Sağıtım Dozlarında Uygulanan Bazı Sulfonamidlerin Alabalıkların (Oncorhynchus mykiss) Yenilebilir Dokularında Kalıntı Düzeyleri ile Vücuttan Atılma Sürelerinin Belirlenmesi	
The determination of residues in edible tissues and withdrawal times of some sulfanamides, administered with therapeutic doses to Rainbow trout	
İ. Türel, O. Yılmaz.....	72
A Retrospective Study on Inter-Estrous Intervals and Annual Distribution of Estruses in Anatolian and German Shepherd Dogs	
Türk Çoban ve Alman Çoban Köpeklerinde Östrüs Periyotları Arası Süreler ve Östrüslerin Aylara Dağılımları Üzerine Bir Araştırma	
İ. Taşal, A. Baştan, M. Alan, F. Gülyüz, E. Kırmızı.....	85
DERLEMELER (Reviews)	
Yersinia enterocolitica'dan İleri Gelen Gıda Zehirlenmeleri	
Yersinia enterocolitica Cause Food Poisoning	
Ş. Anar, R. Çıbık.....	90
Gıdalarda Nitrat Nitrit Kalıntıları ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	
The Residues of Nitrate Nitrite in the Foods and Their Effects on Human Health.	
N. Bayraktar, R. Gökçe, Ö. Ergün.....	95

EDİTÖRDEN

Bu sayıda dergimize gelen on yedi makaleden üçü Yayın İnceleme Kurulu'nda yer alan bilim adamlarının görüşü doğrultusunda yayınlanmamıştır. Şu ana kadar Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi Yayın İnceleme Kurulu'nda görev alan tüm bilim adamlarına dergimizin gelişimine katkılarından dolayı teşekkürü borç biliriz.

Önümüzdeki sayı yeni editörle sizlere ulaşacaktır.

Yayın Kurulu Adına

Doç. Dr. Orhan YILMAZ

Editör

YAZARLARA BİLGİ

1. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün yayın organı olup ilgili alanlardaki orjinal araştırmalar, olgu bildirimleri, derlemeler, tez özetleri, bilim haberleri ile bilimsel kitap ve dergilerin tanıtma yazılarını yayımlar.
2. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi Ocak ve Temmuz aylarında olmak üzere 6 ayda bir yayınlanır. İki sayıda bir cilt tamamlanır.
3. Dergide daha önce başka bir yerde yayımlanmamış ve dergi "yazı inceleme ve yayın kurulu"nce oluşturulacak heyet tarafından uygun görülen yazılar yayımlanır.
4. Yazıların her türlü hukuki ve cezai sorumluluğu yazarlara aittir.
5. Dergide yazı dili Türkçe ve İngilizce olup Türkçe makalelerde İngilizce, İngilizce makalelerde Türkçe özetin bulunması gerekmektedir.
6. Türkçe yazıların Türk Dil Kurumu'nun "Türkçe Sözlüğü ve Yeni yazım Kılavuzu"na uygun olması gerekir.
7. Makaleler ve derlemelerin tamamı tablo, fotoğraf, şekil dahil 20; olgu bildirimleri 10; editöre mektup bölümüne gönderilen yazılar 3, tez özetleri ise 20 daktilo sayfasını geçmemelidir.
8. Metinler 3 nüsha olarak A-4 formuna (240 X 297 mm) uygun kağıtlara 2 satır aralıklarla "Times New Roman" yazı stilinde 12 punto büyüklükte yazılmalı, sayfanın 4 kenarından 2.5 cm boşluk bırakılmalıdır.
9. Yazının bölümleri aşağıdaki sıralamada belirtilen şekilde olmalıdır.

I-Başlık: Yazının başlığı metine uygun, kısa ve açık ifade olmalıdır. Yazarların ad ve soyadları ünvan yazılmadan başlığın altına konmalı, yazarların soyadları büyük harfle yazılıp üzerlerine konacak rakamlar ile çalıştıkları kuruluş veya adresleri sayfanın altında metinden çizgi ile ayrılarak yazılmalıdır. Yazı bir bilimsel toplantıda tebliğ edilmiş ya da bir kurum tarafından desteklenmiş ise ilk sayfanın altında, adreslerin üstünde belirtilmelidir.

II-Özet: Türkçe makalelerde önce Türkçe, sonra İngilizce; İngilizce makalelerde ise önce İngilizce, sonra Türkçe olmak üzere 200 kelimeyi geçmeyecek şekilde yazılmalı ve ayrı dilde yazılan özetin başında yine o dilden başlık bulunmalıdır. Her özetin altına o dilde yazılan ve beş kelimeyi geçmeyecek anahtar kelimeler eklenmelidir.

III-Giriş

IV-Materyal ve Metot

V-Bulgular

VI-Tartışma ve Sonuç

VII-Kaynaklar

10. Tablolar alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara ve sütun çizgileri içermeli, Arap rakamları ile numaralanmalı, sıra numarasından sonra nokta kullanılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne, sol kenardan başlanarak yazılmalıdır. (Tablo 1. Antibiyotiklerin..... gibi.) Tablo içinde mikroorganizma adları cins ismi kısaltılmış olarak yazılmalıdır.
11. Metin içinde kullanılan Latince terim adlarının altı italik basılmalarını sağlamak amacı ile çizilmelidir. İlk kullanıldığında tam olarak yazılan mikroorganizma adı, daha sonraki kullanımlarda cins adının ilk harfi kullanılarak kısaltılmalıdır (Streptococcus pyogenes..... S.pyogenes gibi). Escherichia coli ve Entamoeba coli gibi kısaltmaları aynı olacak adlar aynı yazıda geçtiğinde yazı boyunca kısaltılmadan kullanılmalıdır. Türkçeye yerleşmiş kimyasal maddeler ve terimler (örn: tentürdiyot, stafilokok gibi) Türkçe olarak yazılabilir. Yazıda geçen 10'dan küçük sayılar yazı ile yazılmalı, rakam ile yazılan sayılara takılar kesme işareti ile eklenmelidir (örn: üç, hastaların 15'i gibi) yazılar bir zorunluluk olmadıkça "mişli geçmiş" edilgen kip ile (bulmuştur, gözlenmiştir gibi) yazılmalı, mülkiyet ifade eden kelimeler (yaptım,

- gördüm, araştırmamızda) kullanılmamalı, bunların yerine üçüncü şahıs ifade eden kelimeler (yapıldı, görüldü, araştırmada) tercih edilmelidir.
12. Kaynaklar listesinde yer alan kaynakların tamamının metin içinde kullanılmış olması gereklidir. Kaynaklar metin içinde geçiş sırasına göre sıralanmalı ve metin içinde cümle sonuna konacak paranteze numarası yazılmalıdır “gösterilmiştir (1,5,7) gibi”. Metinde kaynak verilirken yazar adı kullanılıyorsa kaynak numarası yazar adının yanına yazılmalıdır “Smith ve Gordon’a (2) göre gibi”.
- Kaynak olarak yazılacak dergi, kitap ve kitap bölümleri aşağıdaki örneklere uygun olarak yazılmalıdır.
- Dergi:** -Davies J, Courvalin P: Mechanism of resistance to aminoglycosides, Amer J Med 62:868(1977).
- Kitap:** -Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR: Microbiology, p133, 5th Ed, Mc Graw-Hill Co, New York (1986).
- Kitap bölümü:**-Cade AR, Gump WS: The bisphenols. “G F Reddish (ed): Antiseptics, Disinfectants and Fungicides”, p319, Lea Febiger, Philadelphia (1957).
- Kendisi görülmeyen, bir başa yazıda site edilen yazılar kullanılmamaya çalışılmalıdır. Mutlaka kullanmak gerekiyorsa yukarıdaki gibi kaynak verilmeli tarihten sonra (“X” nolu kaynakta site edilmiştir.) diye yazılmalı ve “X” numaradaki kaynağın alındığı yazı veya kitap bulunmalıdır. Yazı veya kitap bölümlerinde yalnız başlangıç sayfasının numarası verilmelidir. Yerli kitaplarda basımevinin değil, yayımlayan kuruluşun adı ve varsa yayının numarası kullanılmalıdır “İst Tıp Fak Yayın No. 20, İstanbul (1987) gibi”.
13. Şekil, grafik ve kimyasal formüller çini mürekkebi ile aydınlatılmış kağıdı veya beyaz kuşe kağıda çizilmeli ya da fotokopi olarak hazırlanmalıdır. Fotoğraflar parlak fotoğraf kağıdına siyah-beyaz veya renkli ve net basılmış olmalıdır. Şekil, grafik ve fotoğrafların arkasına yumuşak bir kurşun kalemle yazar adı, makale başlığı ve şekil numarası yazılıp ayrı bir zarf içinde yazıya eklenmelidir. Şekil, fotoğraf altı yazılar Şekil 1..... diye numaralanıp sıralanmalıdır. Şekillerde ölçü önemli ise üzerine cm veya mm’yi gösteren bir ölçek çizgisi konmalıdır.
14. Yazılarla birlikte, IBM uyumlu bilgisayarlarda Microsoft Word 2.0 ya da 6.0’da, Times New Roman 12 punto ve 2 aralıklı yazılmış ve backup’lanmış disketteki kaydının da verilmesi gereklidir.
15. Dergiye gönderilen yazılar yayınlanmasın veya yayınlanmasın iade edilmez.
16. Dergiye gelen yazılar Yayın Kurulu’nun belirleyeceği diğer üniversitelerden bir öğretim üyesine gönderilip incelettirildikten (gerekirse gerekli düzeltmeler yapıp “Yayınlanabilir” raporu alındıktan) sonra yayınlanır.
17. Dergiye kabul edilip yayınlanacak yazılardan sayfa başına 500.000 TL yayın ücreti alınmaktadır. Ücret Yapı Kredi Bankası Van Şubesi 1015554-9 nolu hesaba yatırılıp banka dekontu yayınla birlikte gönderilmelidir.
18. Yazılar aşağıdaki adrese gönderilmelidir.
19. Bundan sonra dergimizde yayınlanacak her yazı için, yazarın yayın hakkı devrini dergimize verdiğine dair bir belge alınacaktır. Belgenin bir örneği dergimizin altıncı sayfasındadır.

Doç. Dr. Orhan YILMAZ
Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
65080 - VAN.

Tel: 0-432-225 10 83/15 88

Fax: 0-432-225 12 68

Y.Y.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ

Editör:

Doç. Dr. Orhan YILMAZ
Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
65080 - VAN.

Tel: 0-432-225 10 83/15 88

Fax: 0-432-225 12 68

KONTROL LİSTESİ

- İki nüsha yazı konuldu.
- Orijinal resim ve grafiklerden iki kopya konuldu.
- Word for Windows programında yazılmış olan makalenin bulunduğu bir adet disket konuldu.
- Makale ücretinin yatırıldığına dair banka dekontu konuldu.
- Yayın hakkının devrine ait yazı tüm yazarlarca imzalanmış olarak konuldu.

Yayın Hakkı Devri Sözleşmesi

Biz aşağıda isim ve imzaları bulunan yazarlar, yayınlanmak üzere gönderdiğimiz yazımızın orijinal olduğunu; herhangi bir başka dergiye yayınlanmak üzere verilmediğini; daha önce yayınlanmadığını; gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayınlandığı günden itibaren Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi'ne devrettiğimizi kabul ederiz.

Tarih:

Yazının Adı:

Yazarların Adı:

Yazarların İmzası:

Lipid Peroksidasyon Oluşumunun Engellenmesi Üzerine Verapamilin Etkisi

Burhanettin BAYDAŞ¹

Fahri BAYIROĞLU¹

Tahir KAHRAMAN²

Zahid AĞAOĞLU³

Ramazan ÜSTÜN¹

Özet

Bu çalışma, karbontetraklorür (CCl₄) uygulaması ile lipid peroksidasyon oluşumu ve hücre içi kalsiyum artışını bloke eden verapamil'in lipid peroksidasyonu önleme etkisi araştırılmak amacıyla planlandı. Bunun için toplam 24 adet albino cinsi rat kullanıldı. Ratlar üç gruba ayrıldı. Birinci gruba sadece verapamil (5 mg/kg, i.p.), ikinci gruba sadece CCl₄ (0.4 ml/kg, s.c.) ve üçüncü gruba ise verapamil uygulandıktan bir saat sonra CCl₄ uygulandı. Bu uygulamalar iki gün süre ile tekrarlandı. İki gün sonra ratlardan eter anestezisi altında kan alınarak malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), seruloplazmin ve vitamin C seviyeleri ölçüldü.

Karbon tetraklorür uygulanan ratlarda, malondialdehit miktarı diğer gruplara oranla yüksek bulundu. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; CCl₄ ile verapamil grupları ve CCl₄ ile CCl₄+verapamil grupları arasında belirgin bir farkın mevcut olduğu ve bunun istatistiki olarak anlamlı olduğu belirlendi (P<0.05). Ancak, verapamil ile CCl₄+verapamil grupları arasında önemli bir farkın olmadığı gözlemlendi (P>0.05). Canlı organizmada antioksidan sistemin elemanları olarak bilinen GSH, seruloplazmin ve vitamin C değerleri açısından gruplar arasındaki farkların önemli olmadığı gözlemlendi (P>0.05). Malondialdehit miktarları göz önüne alındığında, bir kalsiyum kanal blokörü olan verapamilin, CCl₄ ile oluşturulan lipid peroksidasyon oluşumunu engelleyebileceği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Verapamil, Lipid peroksidasyon, Glutatyon, Seruloplazmin, Vitamin C, CCl₄

Summary

The Effect of Verapamil on Prevention of Lipid Peroxidation Formation

The purpose of this investigation was to find out whether CCl₄ cause lipid peroxidation generation and verapamil, calcium channel blocker, prevents lipid peroxidation generation. Twenty-four Wistar Albino rats were randomly divided into three groups. Following a week adaptation period, the rats in the first group were injected verapamil (i.p. .5 mg/kg), the second group was treated by CCl₄ and the third group were treated by verapamil one hour later following CCl₄ treatment. Treatments in all groups were repeated two consecutive days. The end of the treatment, the bloods with EDTA were collected from the hearts under the ether anesthesia. The analyses of MDA, GSH, seruloplasmin and vitamin C were performed.

MDA amounts were elevated in the rats treated with only CCl₄ in comparison with the other groups. The amount of the MDA were statistically differed between CCl₄ and verapamil groups and between CCl₄ and CCl₄ + verapamil groups. But the difference were not statistically important between verapamil and CCl₄ plus verapamil groups. At the same time, the levels of GSH, seruloplasmin and vitamin C, antioxidant system elements, were not different among the groups.

The results demonstrate that the treatment of verapamil, a Ca²⁺ channel blocker, was effective in normalizing lipid peroxidation induced by CCl₄.

Key words: Verapamil, Lipid peroxidation, Glutathione, Ascorbic acid, Ceruloplasmin, CCl₄

Giriş

Organizma için toksik bir madde olan karbon tetraklorürün (CCl₄), karaciğer hasarı ve lipid peroksidasyon oluşturma etkinliği çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur (1,2,3). Karbon tetraklorürün toksik etkisi, organizmada metabolize olması sonucu oluşan ve aynı zamanda bir serbest radikal olan metaboliti triklorometil (CCl₃) yoluyla ortaya çıkmaktadır (4).

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır (5).

Lipid peroksidasyonu, doğrudan membran yapısına ve dolaylı olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması nedeniyle reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Membran permeabilitesi ciddi bir şekilde hasara uğrar. Peroksidasyon sonucu oluşan malondialdehit (MDA), membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı-VAN.

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı-VAN.

³ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı-VAN.

polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşiklerinin özelliklerini değiştirir (5,6).

Son zamanlarda lipid peroksidasyonu ile hücre içi Ca^{2+} seviyesi arasında önemli bir ilişkinin olduğu ve bunun da hücrede sitotoksik etkiyi artırdığı ileri sürülmektedir (7,8,9,10,11). Yine, lipid peroksidasyona bağlı olarak artan hücre içi kalsiyumun hücre toksisitesini artırma etkinliğinin, kalsiyum kanal blokörlerinin kullanılmasıyla sitotoksik etkinin ve lipid peroksidasyon oluşumunun azaldığı tespit edilmiştir (1,2,8,12,13). Normal ve kalsiyum bakımından fakir yemlerle beslenen farelerde galaktozaminin; kalsiyum bakımından fakir yemlerle beslenenlerde normallere oranla daha az oranda lipid peroksidasyon oluşturduğu tespit edilmiştir(14).

Vitamin C ve redükte glutatyon (GSH) organizmada oluşan serbest radikalleri yakalayıp nötralize ederken, seruloplazmin, radikallerin oluşmasını engelleyen ve oluşan radikallerin yayılmasını engelleyen bir antioksidan sistem içinde yer alır (4).

Bu çalışmada, CCl_4 enjeksiyonuna bağlı olarak lipid peroksidasyon oluşma etkinliği ve verapamilin ne ölçüde lipid peroksidasyon oluşumunu engellediğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, 24 adet albino cinsi rat kullanıldı. Ratlar, üç gruba ayrıldı. Her üç grupta yer alan ratlar aynı laboratuvar ortamında tutuldu ve üç gruba da standart rat yemi verildi. Laboratuvar ortamı 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık olacak şekilde ayarlandı.

1.Grup. Bu gruba iki gün süre ile sadece verapamil hidroklorür (Knol Alman İlaç ve Ecza. Tic. Ltd. Şti.) intraperitoneal (i.p) olarak 5 mg/kg dozunda enjekte edildi.

2.Grup. Bu gruba da sadece CCl_4 (Merck) iki gün süre ile 0.4 ml/kg dozunda subkutan enjekte edildi.

3.Grup. Bu gruba ise hem verapamil, hem de CCl_4 birlikte uygulandı. Verapamil (5 mg/kg) uygulandıktan 1 saat sonra CCl_4 (0.4 ml/kg) uygulandı.

Deneme süresinin sonunda, eter anestezisi altında kalpten kan alınarak, EDTA'lı tüplere aktarıldı. Glutatyon tüm kanda, vitamin C, malondialdehit ve seruloplazmin kan alımını takiben plazmada çalışıldı. Tüm kandaki glutatyon Beutler metodu ile (15), plazma vitamin C tayini 2,4-Dinitrofenilhidrazin ayırıcı kullanılarak (16), seruloplazmin değiştirilmiş Ravin metoduyla (17), malondialdehit tiobarbitürik asit reaktivitesi metodu (5) kullanılarak Perkin-Elmer Lambda 1A spektrofotometresinde kolorimetrik olarak ölçüldü. İstatistiksel analizler, Minitab paket programı kullanılarak bilgisayarda yapıldı.

Bulgular

Bu çalışmada, verapamil, CCl_4 ve CCl_4 ile birlikte verapamil uygulanan ratlara ait parametreler aşağıda tablo halinde verilmiştir.

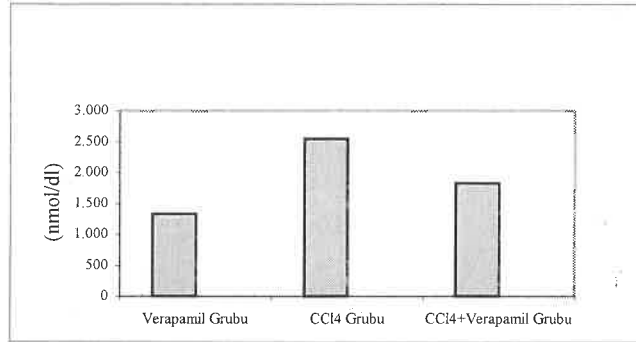
Tablo1. Deney gruplarına ait istatistiksel değerler (Aritmetik ortalama±Standart Hata)

Parametreler	N	Verapamil Grubu	CCl_4 Grubu	Verapamil+ CCl_4 grubu
Malondialdehit (nm/dl)	8	1.330±0.14	2.543±0.20 ^b	1.822±0.23 ^a
Glutatyon (mg/dl)	8	61.04±2.9	69.21±2.5	61.33±1.1
Vitamin C (mg/dl)	8	1.375±0.23	1.240±0.20	1.236±0.18
Seruloplazmin (mg/dl)	8	13.20±0.95	14.47±1.0	13.44±0.90

a: Verapamil grubu ile kıyaslandığında $P>0.05$, CCl_4 grubu ile kıyaslandığında $P<0.05$

b: Verapamil grubu ile kıyaslandığında $P<0.05$

Malondialdehit seviyelerine bakıldığında, gruplar arası farklılık bakımından, verapamil ve CCl₄ grupları arasında anlamlı bir farkın olduğu gözlemlendi (P<0.05). Verapamil grubu ile CCl₄+Verapamil grubu arasında aritmetik ortalama açısından bir miktar fark görülürken, istatistiksel anlamda önemli bir farkın olmadığı belirlendi (P>0.05). CCl₄ grubu ile CCl₄+Verapamil grubu arasında yine anlamlı bir farkın olduğu gözlemlendi (P<0.05).



Şekil 1. Malondialdehit değerlerinin grafiksel yorumu

Diğer taraftan, Vitamin C ve GSH seviyelerinde istatistiksel anlamda gruplar arasında önemli bir farkın olmadığı gözlemlendi (P>0.05). Seruloplazmin miktarlarında da yine gruplar arasında farkın önemli olmadığı saptandı (P>0.05).

Tartışma ve Sonuç

Karbon tetraklorür vücut için toksik bir madde olup, metabolize olması sonucu oluşan CCl₃ serbest radikal olarak etki göstermektedir. Dolayısıyla, organizmada lipid peroksidasyon oluşturma özelliğine sahip bir madde olarak karşımıza çıkmaktadır (1,2,3,4). Bilindiği gibi lipid peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Olay otokatalitik olarak başladığında zincirleme olarak yürümektedir (6,18).

Verapamil, yavaş kalsiyum kanallarından kalsiyumun hücre içine girişini engelleyen bir ajandır. Bu özelliğinden faydalanılarak antiaritmik olarak kullanılmaktadır. Özellikle miyokard iskemisi ve reperfüzyon sırasında oluşan ventriküler aritmileri önlemede etkin bir kullanım alanına sahiptir (19). Son zamanlarda, içerisinde verapamilin de yer aldığı kalsiyum blokörlerinin lipid peroksidasyon oluşumunu engellediği görüşü ileri sürülmektedir (8,12,13,14).

Gubskii ve ark.(12) ratlarda kloroforus (0,0-dimethyl-(1-oxy-2,2,21-trichloroethylphosphonate), Sakaguchi ve ark. (14), farelerde endotoksin ve galaktozamin kombinasyonu enjeksiyonu ile lipid peroksidasyonun önemli derecede arttığını ve bu artışın verapamil uygulanan grupta önlediğini bildirmektedir. Nayler ve ark. (8), iskemi-reperfüzyona bağlı olarak oluşan serbest radikallerin lipid peroksidasyonu artışına yol açtığını ve proflaktik olarak uygulanan verapamilin bu etkiyi önlediğini bildirmektedir. Rose ve ark. (20), intra peritoneal olarak E. coli verilen ratlarda hücre içi Ca²⁺ ve lipid peroksidasyonunun arttığı, oysa bir kalsiyum kanal blokörü olan diltiazem verilen grupta ise yukarıdaki değerlerin normale yakın seyrettiğini bildirmiştir. Aruoma ve ark.(13), verapamil ve beta-blokörü olan propranololün yeterli derecede, yüksek dozda kullanıldıklarında organizmada bir antioksidan sistem gibi etki gösterdikleri ve membranlarda oluşan lipid peroksidasyonu önledikleri görüşünü ileri sürmüştür.

Bu çalışmada, lipid peroksidasyonu göstergesi olarak kabul edilen MDA seviyesinin gruplar arası dağılımı da, Ca²⁺ ile MDA oluşumu arasında bir ilişkinin olduğu görüşünü desteklemektedir. Zira, CCl₄ verilen ratlarda MDA seviyesinin, CCl₄ ile birlikte verapamil verilen gruba oranla daha yüksek olduğu (2.5430±20, 1.822±023) ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (P<0.05). Malondialdehit lipid peroksidasyonun göstergesi olarak kabul edildiğinden, CCl₄'e bağlı olarak lipid peroksidasyon artışı olduğu ve bunun verapamil verilen grupta normal düzeylerde seyrettiği görülmektedir. Ancak antioksidan maddeler olarak kabul edilen redükte glutatyon, seruloplazmin ve vitamin C

değerlerinde aritmetik ortalama bakımından küçük çapta değişikliklere rastlandı ise de istatistiksel olarak bu değişikliklerin anlamlı olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$).

Hücre içi kalsiyum artışı ile lipid peroksidasyon arasındaki ilişki bir çok araştırmacı tarafından kaleme alınmıştır. Kalp kasında hasar oluşturan doxorubicin (7) ve nefrotoksik bir madde olan okratoksin A'nın (10), uygulanması ile lipid peroksidasyon oluşumu ve hücre içi Ca^{2+} artışının paralellik gösterdiği tespit edilirken, nicorandilin iskemi-reperfüzyona bağlı olarak oluşan lipid peroksidasyonu önlediği bildirilmektedir. Nicorandilin etkisinin hücre içi Ca^{2+} artışını önlemek olduğu bilinmektedir (11).

Sakaguchi ve ark. (14), kalsiyum bakımından fakir ve normal diyetle beslenen farelerde, endotoksin+galaktozamin kombinasyonunun lipid peroksidasyon oluşturma etkinliğini araştırırken, kalsiyum açısından fakir yemlerle beslenen farelerde lipid peroksidasyonun normallere kıyasla daha az bir artış gösterdiğini gözlemlemiştir.

Bütün bunların aksine, birçok fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonların düzenleyicisi olarak kabul edilen Ca^{2+} 'un, lipid peroksidasyonu artırdığı görüşünü abartılı olarak değerlendiren araştırmacılar da vardır (9).

Sonuç olarak, Ca^{2+} ile lipid peroksidasyon oluşumu arasında bir ilişkinin olabileceğini ve özellikle oluşan lipid peroksidasyonun membrandaki Ca^{2+} -ATPaz enzim aktivitesini bozarak hücre içi Ca^{2+} seviyesini artırdığı ve bunun da lipid peroksidasyonu oluşturmuş olabileceği düşünülmektedir. Buna bağlı olarak, kalsiyum kanal blokörü verapamilin hücre içi kalsiyum artışını bloke ederek bu etkiyi önleyebileceği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

- 1-Erwin JL, Naukam RJ, Rama Saitry BV: Effect of calcium channel blocking agents on calcium and centrilobular necrosis in the liver of rats treated with hepatotoxic agents, *Biochem. Pharmacol.* 35 (4): 697-705 (1986).
- 2-Itoh S, Shinji G, Shuichi M, Yoshitaka Y: Effect of calcium antagonist diltiazem on liver content and necrosis of hepatocytes in rats following treatment with CCl_4 , *Res. Commun. Chem. Pathol. and Pharmacol.* 60 (1): 133-136 (1988).
- 3-Morini P, Casalino E, Sblano C, Landriscina C: The response of rat liver lipid peroxidation, antioxidant enzyme activities and glutathione concentration to the thyroid hormone, *Int. J. Biochem.* 23 (10): 1025-1030 (1991).
- 4-Özdem SS, Şadan G: Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi, *Akd. Ü. Tıp Fak. Derg.* 11(1): 63-71 (1994).
- 5-Akkuş I: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimeoza yayımları, Konya, 1-60, (1995).
- 6-Basago HS: Biochemical aspect of free radicals, *Biochem. Cell. Biol.* 68: 989-998 (1990).
- 7-Fu LX, Sjoren KG, Liang QM, Waagstein F, Hoebeke J, Hjalmarson A: Activity of receptors coupled to guanine nucleotide binding regulatory protein in dexorubicin induced cardiomyopathy, *Cardiovasc. Res.* 25(2): 145-150 (1991).
- 8-Nayler WG: Basic mechanism involved in the protection of the ischaemic myocardium. The role of calcium antagonists, *Drugs.* 42 (2): 21-2 (1991).
- 9-Gupta M, Kale RK: Paradoxical influence of (Ca^{2+}) on lipid peroxidation, *Indian. J. Experiment. Biol.* 34 (11): 1071-1076 (1996).
- 10-Chong X, Rahimtula AD: Alterations in ATP-dependent calcium uptake by rat renal cortex microsomes following ochratoxin A administration in vivo or addition in vitro, *Biochem. Pharmacol.* 44 (7): 1401-9 (1992).
- 11-Zhang YM, Zhao DH, Sheng BH: Protective effects of nicorandil on myocardial mitochondria function during ischaemia and reperfusion. *Yao. Hsueh. Hsueh. Pao.* 26 (2): 144-146. (1991). (Abstrakt).
- 12-Gubskii Iul, Litvinova NV, Primak RG, Kurskaia N.M: Perekisno oksidatsiya lipidov i transport Ca^{2+} v mikrosomakh pecheri krysa pri intoksikatsii khlorofosom ideistviem atropina i verapamila. *Ukr. Biokhim. Zh.* 66 (1): 73-78 (1994).
- 13-Aruoma OI, Smith C, Cechini R, Evans PS, Halliwell B: Free radical scavenging and inhibition of lipid peroxidation by beta-blockers and by agents that interfere with calcium metabolism. A physiologically-significant process, *Biochem. Pharmacol.* 42 (4): 735-743 (1991).
- 14-Sakaguchi S, Yokota K: Role of Ca^{2+} on endotoxin-sensitivity by galactosamine challenge lipid peroxide formation and hepatotoxicity in zymosan-primed mice, *Pharmacol. Toxicol.* 77 (2): 81-86 (1995).
- 15-Beutler E, Duran O, Kelly BM: Improved method for determination of blood glutathione, *J. Lab. & Clin. Med.* 61: 882-888 (1963).
- 16-Omaye ST, Turnbull Savberlich HE: Selected methods for determination of ascorbic acid in animal cells, tissues, and fluids. *Methods in Enzymology.* Vol:2, p.7-8(1979).
- 17-Yenson, M.: Klinik Biyokimya, İstanbul (1986).
- 18-Krinsky NI: Membran antioxidant. *Ann. NY. Acad. Sci.* 551: 17-31 (1988).
- 19-Kayaalp O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Altıncı Baskı. Cilt:2, Feryal, Matbacılık, Ankara (1992).
- 20-Rose S, Thompson KD, Sayeed MM: Ca^{2+} -related hepatocellular alterations during intra-abdominal sepsis, *Am. J. Physiol.* 263(3 Pt 2): R553-R558 (1992).

Hipertiroidizmin Tavşanlarda Lipid Peroksidasyon, Glutatyon ve Lipid-Bağlı Sialik Asit Seviyeleri Üzerine Etkisi

Burhanettin BAYDAŞ¹ Ali ERTEKİN² Fatmagül YUR² Ferda BELGE¹
Fahri BAYIROĞLU¹

Özet

Bu çalışma, hipertiroidizmin lipid peroksidasyon, glutatyon (GSH) ve lipid-bağlı sialik asit (LSA) seviyeleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla planlandı. Çalışmada 16 adet tavşan (*Lepus europous*) kullanıldı. Tavşanlar deney ve kontrol grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Hipertiroidizm, otuz gün süreyle 100 µg/kg dozunda tiroksin (i.p) uygulamasıyla oluşturuldu. Bu süre sonunda deney ve kontrol grubu tavşanlarda tiroid hormonları düzeylerine bakıldı. Deney grubunda tiroksin (TT4) ve triiodotironin (TT3) seviyeleri oldukça yüksek düzeyde bulundu (TT3 91.6±5.7-288.4±17 ng/dl, TT4 3.88±0.60-8.42±1.4 µg/dl). Lipid peroksidasyon ve GSH tayini için tüm kan, LSA ölçümü için serum kullanıldı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hipertiroidili grupta hem lipid peroksidasyon ve LSA (P<0.05) hem de GSH (P<0.001) miktarları istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu sonuçlar, hipertiroidizmin lipid peroksidasyon, LSA ve GSH konsantrasyonlarında artışa neden olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, tiroid hormonu fazlalığında, oluşumu istenmeyen lipid peroksidasyonun da göz önünde tutulması gerekebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Hipertiroidizm, Lipid peroksidasyon, GSH, LSA

Summary

The Effect of The Hyperthyroidism on The Levels of Lipid Peroxidation, Glutathione and Lipid-Bound Sialic Acid in The Rabbits

This study was planned to investigate the effect of hyperthyroidism on blood lipid peroxidation, glutathione (GSH) and lipid-bound sialic acid (LSA) levels. Sixteen rabbits (*Lepus europous*) was used in this study. Rabbits divided two groups as control and treatment. Hyperthyroidism was produced by administration of thyroxine 100 µg/kg body weight (i.p), for 30 consecutive days. Following treatment, thyroid hormone levels were measured in the treatment and control groups. In the treatment group, triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) levels were found to be increased significantly (T3 91.6±5.7-288.4±17 ng/dl, TT4 3.88±0.60-8.42±1.4 µg/dl). Lipid peroxidation and GSH levels were determined in whole blood, while LSA evaluating in serum. In the treatment group compared to the control, lipid peroxidation, GSH and LSA levels were found to be elevated significantly (lipid peroxidation and LSA P<0.05, GSH P<0.001). These results suggest that hyperthyroidism may cause an increase in lipid peroxidation generation. For this reason it may be useful to consider the lipid peroxidation increase in the case of hyperthyroidism.

Key Words: Hyperthyroidism, Lipid Peroxidation, GSH, LSA.

Giriş

Hipertiroidizm, tiroid bezinin gereğinden fazla hormon sentezlemesi ve kana vermesi ile oluşan durumu belirtmek için kullanılan bir terim olarak karşımıza çıkmaktadır. Hipertiroidizm tablosunda protein ve lipidlerin katabolizması önemli derecede artmaktadır. Yine yüksek tiroid hormonu konsantrasyonlarının önemli derecede doku hasarına yol açtığı bildirilmektedir (1). Bununla birlikte, son yıllarda kandaki tiroid hormon fazlasının lipid peroksidasyonu artırdığı ileri sürülmektedir. Deneysel hipertiroidi oluşturulan ratlarda lipid peroksidasyonunun arttığı ve bu durumda oluşan reaktif oksijen türlerinin kalp kasında hasara neden olduğu bildirilmektedir (2). Hipertiroidi olgusunda lipid peroksidasyonunun (1) ve buna paralel olarak antioksidanların seviyesinde de artışın gözlendiği ileri sürülen bilgiler arasındadır (3).

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali özelliği kazanır (4). Lipid peroksidasyonu malondialdehit (MDA) oluşumuna yol açmakta ve oluşan MDA lipid peroksidasyonu için bir gösterge olarak kabul edilmektedir (2).

Organizmada önemli bir antioksidan madde olan glutatyon seviyesinde hipertiroidi olgusuna bağlı olarak değişik görüşler ileri sürülmektedir. Hipertiroidiye bağlı olarak kan glutatyon seviyesinin önemli

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, VAN.

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, VAN.

derecede arttığı bildirilirken (3), kalp kasında önemli bir değişikliğin görülmediği (2) ve hatta karaciğer GSH seviyesinin önemli derecede azaldığı ileri sürülmektedir (3,5).

Sialik asitler, hemen tüm hayvanların hücrelerinin yüzeylerinde görülürler. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sialik asitlerin hücre harabiyetiyle orantılı olarak artış gösterdikleri ileri sürülen görüşler arasında yer almaktadır (6,7).

Bu bağlamda amacımız, hipertiroidizmin, organizmada oluşumları istenmeyen lipid peroksidasyon ürünleri ve lipid peroksidasyona karşı oluşan antioksidan maddelerin seviyesini ve yine hücre harabiyetinin göstergesi olarak kabul edilen ve belkide lipid peroksidasyonla paralel olarak değişiklik gösterebileceğini düşündüğümüz lipid-bağlı sialik asit seviyelerini ne derecede etkilediğini incelemek olmuştur.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada canlı ağırlık ortalamaları yaklaşık olarak 1400-1550 gr. arasında değişen, 4 aylık 16 adet yerli ırk tavşan kullanıldı. Tavşanların bulunduğu laboratuvar ortamının ısı 25±2 °C olarak ayarlandı. Tüm deney hayvanlarına su ve yem ad libitum olarak verildi. Hayvanların bulunduğu laboratuvar ortamı 12 saat ışık ve 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Hayvanlar, laboratuvar ortamına uyum sağlamaları için bir haftalık adaptasyon süresine tabi tutuldu.

Bu süre sonunda tavşanlar 8'i kontrol ve 8'i deney (tiroksin uygulanan grup) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubuna otuz gün süreyle serum fizyolojik, deney grubuna yine aynı süre itibarıyla Tiroksin (Merck) 100µg/kg dozunda intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (8). Bir aylık bir deneme süresinin sonunda tavşanlardan kan alındı (V. Cephana lateralis). MDA ve GSH tayini için EDTA'lı tüplere alınan kan zaman kaybedilmeden taze olarak çalışıldı. LSA ve tiroid hormonları için alınan kan bir saat oda ısısında bekletildikten sonra 3000 rpm/15 dk santrifüj edildi ve serum kısmı pipetlenerek analizler yapılmaya kadar -21°C'de dipfirizde bekletildi. Serum LSA tayini Katapodis ve ark. (9) metoduna göre yapıldı. Serum triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) miktarları için DPC-İMMULİTE kitleri temin edildi ve DPC-İMMULİTE System (Solid- Phase, Chemiluminescent Enzyme Immunoassay) ile hormon otoanalizörü (DPC-İMMULİTE Automated Analyzer) kullanılarak nonradyoaktif olarak ölçüldü (10).

Tüm kandaki glutatyon analizleri Beutler (11), MDA konsantrasyonu Thiobarbitürik asit reaktivitesi metodu (12) kullanılarak ölçüldü. Ölçümler Perkin-Elmer Lambda 1A spektrofotometresinde kolorimetrik olarak ölçüldü. MDA konsantrasyonu tayininde standart olarak 1,1,3,3 Tetraethoxypropane çözeltisi kullanıldı. İstatistiksel analizler, Minitab paket programında 't'testi ile yapıldı.

Bulgular

Membrandaki lipidlerin peroksidasyonu malondialdehit oluşumuna yol açmakta ve bu oluşum, membrandaki değişiklikleri içeren bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada deneysel hipertiroidinin MDA seviyesinde önemli derecede değişikliklere sebebiyet verdiği gözlemlendi. Kontrol grubu MDA değerlerinin ortalaması 2.082±0.47 nmol/dl, hipertiroidili grubun ise 3.274±0.27 nmol/dl olarak bulundu. İki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (P<0.05). Lipid bağlı sialik asit seviyesi kontrol grubunda 21.570±0.32 mg/dl olarak bulunurken, hipertiroidili tavşanlarda 27.53±0.55 mg/dl bulundu. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü (P<0.05). Organizmada bir antioksidan madde olarak kabul edilen glutatyon seviyesinde kontrol grubuna oranla hipertiroidi oluşturulan grupta önemli derecede yükselme gözlemlendi. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu gözlemlendi (P<0.001).

Hipertiroidinin göstergesi olarak ölçülen T3 ve T4 seviyeleri arasında oldukça belirgin farklılık gözlemlendi. Kontrol ve deney grubu tavşanlara ait T3 değerleri sırasıyla 91.6 ±5.7 – 288.4±17 ng/dl, T4 değerleri 3.88±0.60 – 8.42±1.4 µg/dl olarak bulundu.

Tablo1. Kontrol ve hipertiroidili tavşanlara ait istatistiki değerler (n=8)

Parametreler	Kontrol Grubu X±S	Hipertiroidili Grup X±S	
MDA (nmol/dl)	2.082±0.047	3.274±0.27	P<0.05
GSH (mg/dl)	45.97±0.48	81.75±2.7	P<0.001
LSA (mg/dl)	21.570±0.32	27.53±0.55	P<0.05

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, hipertiroidizmin lipid peroksidasyonuna yol açtığını göstermektedir. Zira lipid peroksidasyonun göstergesi olarak kabul edilen MDA (13) ve bir antioksidan madde olan GSH (14) seviyelerinde önemli derecede artışlar gözlemlendi (P<0.05, P<0.001). Yine, son zamanlarda hücre harabiyetinin göstergesi olarak kabul edilen LSA (6,7) seviyesindeki artışın da hipertiroidizmin belli oranda bir hücre harabiyetine de yol açtığını göstermektedir.

Ademoğlu ve ark. (1), hipertiroidi tanısı konmuş bireylerde plazma MDA, Venditti ve ark. (2), on gün süreyle triiodotironin (T3) uyguladıkları ratların kalp kasında MDA, Morini ve ark. (3), hipertiroidi oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyon seviyesinin önemli derecede yükseldiğini bildirmektedir. Hipertiroidizm olgusunda görülen bu artışın, mitokondrial solunumun tiroid hormonları tarafından uyarılmasının oksidatif doku hasarının oluşumuyla açıklanmaktadır. Çalışmamızda gerek doku hasarı göstergesi olarak kabul edilen LSA ve gerekse oksidatif doku hasarının sonucu oluşan MDA seviyesinin artışı ileri sürülen görüşleri desteklemektedir. Akkuş ve ark. (4), hipertiroidi tanısı konmuş bireylerde MDA miktarında önemli derecede bir değişikliğin görülmediğini bildirmektedir. Aynı araştırmacılar, hipertiroidizm vakasında metabolizmanın artışıyla birlikte MDA seviyesinde değişikliğin görülmeysiğini oluşan hipolipidemiye bağlamaktadır.

Hipertiroidizmin antioksidan sistem üzerine etkisi konusunda ise çeşitli görüşler mevcuttur. Morini ve ark. (3), hipertiroidi oluşturdukları ratlarda karaciğer GSH seviyesinin %35 oranında azaldığını, oysa plazma GSH seviyesinde ise kontrollere oranla 2.5 kat arttığını bildirmektedir. Kan GSH düzeyi ile ilgili olarak elde ettiğimiz bulgular, GSH'nın plazma seviyesi konusunda ileri sürülen görüş doğrultusundadır. Doku antioksidan sisteminde kan antioksidan sistemine oranla farklılığın görülmesi başka araştırmacılar tarafından da desteklenmektedir. Zira, Venditti ve ark. (2), hipertiroidili ratların kalp kasında antioksidan sistem seviyesinin kontrollere oranla önemli bir değişiklik arzemediğini ileri sürmektedir. Karaciğer dokusunda GSH düzeyindeki azalmanın, artan lipid peroksidasyona paralel olarak GSH oksidasyonunun artmasıyla, ancak çok daha önemli olan faktörün GSH'nın karaciğer dokusundan karaciğer sinüzoidlerine geçişinin artışıyla açıklanmaktadır. Bu mekanizma karaciğer GSH azalmasının yaklaşık olarak %90'ından sorumludur. Dolaşımdaki yüksek düzeyde tiroid hormonları bu geçişi düzenlemez, ancak GSH'nın sinüzoidlere geçişi önemli derecede artmaktadır. Çünkü, T3 uygulamasına paralel olarak organizmada artan tiroid hormon seviyesi karaciğer hücre membranlarının geçirgenliğinde önemli derecede değişikliğe neden olmaktadır (5). Bu değişiklik, karaciğer hücre membranlarından sinüzoidlere doğru GSH geçişinin artışı yönündedir.

Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgulara bakıldığında LSA miktarında da önemli derecede bir artışın olduğu gözlenmektedir (P<0.05). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, sialik asitlerin hücre harabiyetiyle orantılı olarak relatif bir artışa maruz kaldıkları gösterilmiştir (15). Bunun, hücre membranı hasarına bağlı olarak hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein ve glikolipidlerin kontrol dışı salınımlarından kaynaklanabileceği bildirilmektedir (6,7). Hipertiroidizmin doku hasarına neden olduğu görüşü kabul edilirse (1), dokudaki harabiyetin bir göstergesi olarak kabul edilen LSA (7) miktarındaki artışların bu görüşü desteklediği görülecektir.

Sonuç olarak, hipertiroidizm olgusunda MDA, LSA ve GSH düzeylerinde görülen artışlar dokuda oksidatif harabiyetin olabileceği ve bu durumda, hipertiroidizm olgusunun radikal bir tedavisi yapılmıyaya kadar antioksidan ajanlarla semptomatik tedaviyle desteklenmesi gerektiği görüşünün doğru olabileceği

kanısında yız. Ancak daha kesin sonuçlara varmak için bu konuda yeterli düzeyde çalışmanın yapılması gerektiği görüşündeyiz.

Kaynaklar

- 1-Ademoğlu, E., Yarman, S., Gökkuşu, C., Azizlerli, H.: Hipertiroidide Metimazol Tedavisinin Antioksidan Sisteme Etkisi. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği 1: Ulusal Kongresi. Sayfa:138 (1997).
- 2-Venditti, P., Teodoro de Leo, Sergio di M.: Vitamin E Administration Attenuates the Tri-Iodothyronine-Induced Modification of Heart Electrical Activity in The Rat. J. Experimental Biol. 200:909-914 (1997).
- 3-Morini, P., Casalino, E., Sblano, C., Landriscina, C.: The Response of Rat Liver Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzyme Activities and Glutathione Concentration of The Thyroid Hormone. Int. J. Biochem. 23:1025-1030 (1991).
- 4-Akkuş, İ., Çıkım, T., Keha, E.E., Çağlayan, O., Ay, M., Gürel, A.: Hipertiroidi Hastalarında Serum ve Eritrosit MDA Düzeyleri ile Bazı Antioksidanların Araştırılması. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği 1: Ulusal Kongresi. Sayfa:139 (1997).
- 5-Fernandez, V., Llesuy, S., Solari, L., Kipreos, K., Videla, L.A.: Chemiluminescent and Respiratory Responses Related to Thyroid Hormone-Induced Liver Oxidative Stress. Free Radical Res. Commun.5: 77-84. (1988).
- 6-Jeanloz, R.W. and Codington, J.F.: Biological Roles of Sialic Acid (Rosenberg A, and Schengrund CL, eds). PP.201-237 plenum press. New York (1976).
- 7-Kamerling, I.P., Makovitzky, J., Schaver, R., Vlieganthert, J.F.G., Wember, M.: The Nature of Sialic Acids in Human Lymphocites. Biochem. Biophys. Acta. 714:351-354. (1982).
- 8-Adams, W.H., Daniel, G.B., Lependre, A.M. Investigation of The Effects of Hyperthyroidism on Renal Function in The Cat. Can. J. Vet. Res. 61: 53-56. (1997).
- 9-Katapodis, N., Hirshaut, Y., Geller, H.L., Stock, J.J.: Lipid-Associated Sialic Acid Test For The Dedection of Human Cancer. Cancer Res. 42: 5270-5275. (1982).
- 10-Babson A.L.: The IMMULITE Automated Immunoassay System. J. Clin. Immunoassay. 14, 83-88. (1991).
- 11-Beutler, E., Duran, O., Kelly, B.M.: Improved Method for The Determination of Blood Glutathione. J. Lab. Clin. Med. 61: 882-888. (1963).
- 12-Akkuş I: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza yayınları, Konya, 1-60, (1995).
- 13-Chaurasia SS, Gupta P, Kar A, Maiti PK. Free Radical Mediated Membrane Perturbation and Inhibition of Type-I Iodothyronine 5'-Monodeiodinase Activity by Lead and Cadmium in Rat Liver Homogenate. Biochem. Mol. Biol. Int. 39: 765-770. (1996).
- 14-Özdem, S.S., Şadan, G.: Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu ve Klinik Açından Önemi, Akd. Ü. Tıp Fak. Derg. 11(1): 63-71 (1994).
- 15-Sherblom, A.P., Dahlin, C.E.: Acetyl Neuraminic Acid and N-Glycocyneuraminic Acid in The D-Lincel Oligosaccharides of A Tumor Cell Glycoproteins. J. Biol. Chemistry. 260:1484-1492. (1985).

Tükeninceye Kadar Yüzme Egzersizi Yaptırılan Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Kan Glutatyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Fahri BAYIROĞLU¹, Semiha DEDE², Burhanettin BAYDAŞ¹, Ferda BELGE¹, Yeter DEĞER²

Özet

Bu çalışmada, tükeninceye kadar yüzme egzersizi yaptırılan ratlarda, hücrelerde mevcut en önemli doğal antioksidan olan kan redükte glutatyon (GSH) ve egzersize bağlı olarak meydana gelen lipid peroksidasyonunun bir ürünü olarak görülen MDA (malondialdehit) in kandaki konsantrasyonları belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda tüm kan GSH konsantrasyonları egzersiz yaptırılan grup ve kontrol grubunda sırasıyla 36.30 ± 1.5 ve 33.62 ± 2.8 mg/ dl olarak tespit edilmiştir. Plazma MDA konsantrasyonları ise egzersiz yaptırılan grup ve kontrol grubunda sırasıyla 1.99 ± 0.029 ve 1.90 ± 0.085 nmol /ml olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, deneme ve kontrol grupları arasında GSH ve MDA konsantrasyonları bakımından anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: Egzersiz, Glutatyon, Lipid peroksidasyonu.

Summary

The Determination of The Concentration of Lipid Peroxidation and Blood Glutathione in Rats Exposed Exhaustive Swimming Exercise

This study was performed to determine the blood reduced glutathione levels (GSH) and plasma malondialdehyde (MDA), sign of lipid peroxidation, levels of the rats which underwent exhaustive swimming exercise. Blood samples were taken soon after the exercise. In this study, exhaustive swimming exercise was found not to cause any significant changes of the glutathione and MDA levels. From these results it is concluded that the factors such as the type and the duration of exercise, individually variables of the strongness against the exercise and etc. may prevent these changes to be present.

Key Words: Exercise, Glutathione, Lipid peroxidation

Giriş

Serbest radikaller, organizmanın oksijen ihtiyacının artmasına paralel olarak mitokondriyal elektron transport zincirindeki ortaklanmamış elektron çiftlerinin sızıntısının artışına bağlı olarak meydana gelen reaktif oksijen türleridir. Serbest radikaller oksidatif, ksenobiyotik, enzimatik ve nonenzimatik reaksiyonlar sonucu oluşur ve antioksidant enzimler tarafından substrat olarak kullanılırlar. Serbest radikaller, normal olarak metabolizma sonucu üretilir. Ancak bunların aşırı derecede üretilmesine neden olacak olaylar sonucunda substratı olduğu antioksidanlar tarafından gerektiği şekilde etkisizleştirilemez ve hücrede bulunan lipid ve proteinlerin üzerinde yıkıcı etki gösterebilir.(1,2).

Glutatyon metabolizmada meydana gelen serbest oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine karşı hücreleri koruyan en önemli antioksidan maddelerden birisidir. Bütün aerobik doku ve hücrelerde bulunmakla beraber en çok karaciğerde bulunur. Karaciğerin rolü sentezden çok katabolizma ile ilgilidir. Glutatyon hücrelerde okside (GSSG) ve redükte (GSH) formda bulunur ve antioksidan etkisini bu iki form arasındaki döngüsü sırasında gerçekleştirir. Glutatyonun esas reaktif grubu olan SH grubu, serbest radikallerin ortaklanmamış elektronu ile bağlanarak radikal oluşumunu azaltır. Lipid peroksidasyonunun oluşması ile GSH konsantrasyonu azalırken, GSSG konsantrasyonu yükselmektedir. Çevre, metabolizma ve bireye bağlı pek çok faktörlerin etkisiyle organizmada oksidatif stres artabilir ve buna bağlı olarak ara metabolizmada serbest radikal oluşumu da artar ve hücreleri bunların yıkıcı etkilerine karşı korumakla görevli glutatyon konsantrasyonları da etkilenir(3). Oksidatif stres oluşturarak serbest radikal üretimine neden olan önemli faktörlerden birisi de fiziksel faaliyetlerdir (4). Çeşitli fiziksel faaliyetlere tabi tutulan bireylerde lipid peroksidasyon ve glutatyon seviyelerinin etkilendiğini gösteren pek çok çalışmalar yapılmıştır (5-8).

Bu çalışma, tükeninceye kadar yüzme egzersizi yaptırılan ratlarda, egzersize bağlı olarak oluşabilen serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunun bir ürünü olarak meydana gelen

¹ Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji ABD, VAN.

² Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD, VAN.

malondialdehit ve bir antioksidan olan glutasyon seviyelerinin, egzersizden hemen sonraki miktarlarının saptanması ve bu tükenme egzersizi sonucunda organizmada ne gibi durumların meydana gelebileceğinin ortaya konulması amacıyla planlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada Wistar- Albino ırkı, altı tanesi kontrol , altı tanesi de deneme olmak üzere toplam on iki adet, 250±25 gr ağırlığında erkek rat kullanıldı . Deneme grubundaki ratlar, vücut ısılarına yakın bir sıcaklıkta olan su dolu derin bir kaptaki yüzdürüldü. Yüzdürme işlemine ratlar tükeninceye kadar devam edildi. Sudan alınan ratlar eter anesteziye alındı. Daha sonra, kalpten antikoagülanlı tüplere kan alındı. Kontrol grubundan ise yüzdürme işlemine tabi tutulmadan, aynı şekilde kan alındı. Toplanan numunelerde tüm kan glutasyon analizleri Beutler ve ark. (9) 'nın ve kan MDA analizleri de Akkuş (2)' un bildirdikleri yöntemlere göre yapıldı. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak Minitab paket programı kullanılarak "t" testi ile değerlendirildi.

Bulgular

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Tüm kan GSH (mg/ dl) ve Plazma MDA (nmol/ ml) konsantrasyonları (n=6)

	Egzersiz grubu X±Sx	Kontrol grubu X±Sx	P
Tüm kan GSH (mg/dl)	36.30±1.5	33.62±2.8	p>0.05
Plazma MDA(nmol/ ml)	1.99±0.029	1.90±0.085	p>0.05

Tablolardan da görüldüğü üzere, tüm kandaki redükte glutasyon konsantrasyonları tükeninceye kadar yüzme egzersizi yaptırılan bireylerde egzersizden hemen sonra kısmen artmasına rağmen , kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir. Aynı bireylerde plazma malondialdehit konsantrasyonları da kontrol grubuna göre yükselmesine rağmen gruplar arasında önemli bir fark tespit edilememiştir.

Tartışma ve Sonuç

GSH hücrelerdeki en önemli antioksidan maddelerden biridir ve memeli hücrelerinde milimolar seviyelerde bulunur. Oksidatif stresin artmasına bağlı olarak serbest radikal oluşumu ve lipit peroksidasyonunda artış meydana gelir (10). Hücrelerde oksidatif stres yükselirken , genellikle GSH seviyeleri düşer, bununla birlikte GSSG seviyeleri yükselir (3). Serbest radikaller yorucu egzersizlerden sonra, iskelet kası yıkımı ve yangısında bir aracı olarak önemli rol alır. Oksijen serbest radikallerinin üretilmesi, lipit peroksidasyonunu indükleyen mitokondriyal oksijen tüketiminin ve elektron transport zincirindeki artmanın bir sonucu olarak egzersiz süresince yükselir (7). Hong ve Johnson (11), egzersizden kısa bir süre sonra egzersizin neden olduğu kastaki antioksidan durumunda değişiklikler meydana geldiğini göstermiştir. Antioksidanlar, kasları lipit peroksidasyonunun zararlı etkilerinden koruyarak , sağlıklı hayat süresini pozitif olarak etkileyen fiziksel faaliyetlerde aracı rolü oynar (12). Endojen antioksidan enzimler de lipit peroksidasyon olaylarında koruyucu rol oynayabilir. İnsan ve rodentlerde yapılan çalışmalarda, tükenen egzersizlerden sonra malondialdehitin önemli oranda yükseldiği ve plazma antioksidan seviyeleri ve antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişiklikler olduğu ,antioksidan enzim aktivitelerinin çok yükseldiği bildirilmiştir.. Bu şekilde egzersizle yükselen oksidatif stres, lipit peroksidasyonunu önleyen antioksidan enzim aktivitesinin yükselmesiyle uygunluk gösterir (7). Leeuwenburgh ve Ji (13), tükeninceye kadar yapılan egzersizin karaciğer ve kas glutasyon durumunu etkilediğini, bu değişikliklerin hepatik glutasyon sentezi ile kontrol edilebildiğini bildirmektedir.

Bu çalışmada, tükenme egzersizi yaptırıldıktan hemen sonra, tüm kandaki GSH ve plazma MDA konsantrasyonlarının, egzersiz yaptırılmayan kontrol grubuna oranla az da olsa yüksek olduğu görüldü. Ancak bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Nitekim bu sonuçlar literatür verileri ile uygunluk göstermektedir (14,15).

Gohil ve ark. (14), egzersiz yaptırılan insanlarda, egzersiz sırasında kan redükte glutatyon ve toplam glutatyon (GSH+GSSG) konsantrasyonlarında önemli bir değişiklik gözlenmediğini bildirmektedir. Aynı şekilde Ortenblad ve ark.(15), kan ve plazma MDA ve dolayısıyla lipit peroksidasyonu konsantrasyonları egzersiz öncesi ile karşılaştırıldığı zaman, egzersiz sonrasında önemli bir değişiklik olmadığını ileri sürmektedir. Ancak egzersiz yaptırılan bireylerde glutatyon ve lipit peroksidasyon seviyelerinde önemli değişikliklerin olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Lew ve ark.(16), plazma GSSG ve total GSH' un kontrol grubundaki ratlarda düşük, egzersiz grubunda yüksek olduğunu, buna karşılık karaciğer GSH düşük, GSSG'un da yüksek olduğunu bildirmektedir. Plazmada GSH yükselmesinin karaciğer doku harabiyeti ve alyuvar hasarı veya karaciğerde GSH akımının egzersizle uyarıldığı ve karaciğerde düşerken, plazmada buna bağlı olarak arttığını ileri sürmektedir. Buna karşın, Duthie ve ark. (17) yarı-maraton koşusundan hemen sonra total eritrosit glutatyon seviyesinde bir azalma ($P < 0.001$) olduğunu bildirmekte ve bunun redükte formun (GSH) konsantrasyonunun düşmesinden kaynaklandığını düşünmektedir.

Anuradha ve Balakrishnan (6), 6 hafta boyunca koşma egzersizi yaptırılan ratlarda kas ve karaciğerde lipit peroksidasyonunun arttığını ($P < 0.001$) ve tiol seviyelerinin (total ve non-protein) azaldığını, kandaki glutatyon seviyesinin yükseldiğini öne sürmektedir. Kan lipit peroksidasyonu durumu, kontroller ile karşılaştırıldığında, antrenmanın bir sonucu olarak değişmediği bildirilmiştir. Dufaux ve ark.(18) koşma egzersizi öncesi ve sonrasında aldıkları kan örneklerinde GSH, GSSG ve Tiyo Barbitürik Asit Reaktif Ürünleri konsantrasyonlarını belirlemiştir. Buna göre egzersizden hemen sonra GSH önemli ölçüde düşerken ($p < 0.01$) GSSG'nin önemli ölçüde yükseldiği ($p < 0.01$) ve ortalama bir saat sonra GSH ve GSSG değerlerinin normale döndüğü ileri sürülmektedir. MDA konsantrasyonlarında ise egzersiz öncesi ve sonrası dönemlerde önemli bir fark gözlenmediğini rapor etmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen verilerin ışığında , egzersiz yaptırılan grupta MDA konsantrasyonlarının az da olsa yüksek bulunmasına karşın, tüketen yüzme egzersizinin önemli derecede lipit peroksidasyonuna neden olduğunu söylemek oldukça zordur. Egzersiz yaptırıldıktan hemen sonra alınan kan numunelerinde GSH konsantrasyonları kontrol grubuna göre önemli bir fark göstermedi. Sonuç olarak, egzersizin türü ve süresi, kullanılan deneklerin egzersize dayanıklılığı gibi etkenler, gruplar arasında lipit peroksidasyonu ve glutatyon konsantrasyonları bakımından anlamlı ilişkilerin ortaya çıkmasına engel olabileceği gibi, her zaman da böyle bir ilişki ortaya çıkamayabileceği kanaatindeyiz.

Kaynaklar

- 1-Dormandy T.L.(1984): An approach to free radicals. The Lancet 29, 1010-1014.
- 2-Akkuş İ.(1995): Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya
- 3-Meister, A. , Anderson, M.E. (1983): Glutathione. Ann.Rev.Biochem., 52, 711-760.
- 4-Jenkins R.R., Goldfarb A.(1993): Introduction : oxidant stress, aging and exercise. Med.Sports. Exerc. 25:2,210-212.
- 5-Sharpe P.C., Duly E.B., MacAuley D., McCrum E.E., Mulholland C., Stott G., Boreham C.A., Kennedy G., Evans A.E., Trinick T.R. (1996): Total radical trapping antioxidant potential (TRAP) and exercise. QJM Mar ;89(3):223-228.
- 6-Anuradha C.V., Balakrishnan Sd. (1998): Effect of training on lipid peroxidation, thiol status and antioxidant enzymes in tissues of rats. Indian J Physiol Pharmacol 42(1):64-70.
- 7-J.C., van Doornen L.J., Kemper H.C.(1996): The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. Sports Med Mar;21(3):213-238.
- 8-Ata N., Çolak Ö., Ünalır A., Alataş Ö., Çavuşoğlu Y., Timuralp B.(1994): Treadmill egzersiz testinde kan glutatyon değerleri. MN Kardiyoloji 1:3, 106-109.
- 9-Beutler E., Duron O., Kelly B.M.(1963): Improved Method For The Determination of Blood Glutathione. J.Lab.Clin.Med., 61(5), 882-888.
- 10-Novak Z., Varga Sz. I., Pataki L., Matkovic B.(1990): Simple method for the measurement of antioxidants. Clin. Chim. Acta, 194, 115-120.
- 11⁴Hong H, Johnson P (1995): Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in exercised and hypertensive rat tissues. Int J Biochem Cell Biol Sep;27(9):923-931.
- 12-Alessio HM, Blasi ER (1997): Physical activity as a natural antioxidant booster and its effect on a healthy life span. Res Q Exerc Sport Dec;68(4):292-302.
- 13-Leeuwenburgh C, Ji LL (1996): Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats. J Nutr 126(7):1833-1843.
- 14-Gohil K., Viguie C., Stanley W.C., Brooks G.A., Packer L. (1988): Blood glutathione oxidation during human exercise. J. Appl.Physiol. 64:1, 115-119.
- 15-Ortenblad N, Madsen K, Djurhuus (1997): Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. Am J Physiol 272(4 Pt 2):R1258-R1263.

- 16-Lew H., Pyke S., Quintanilha A.(1985): Changes in the glutathione status of plasma, liver and muscle following exhaustive exercise in rats.FEBS Let. 185:2, 262-265.
- 17-Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC (1990): Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. Arch. Biochem. Biophys. 82:1, 78-83.
- 18-Dufaux B, Heine O, Kothe A, Prinz U, Rost R (1997): Blood glutathione status following Int J Sports Med Feb;18(2):89-93.

Dezenfektanların *Brucella canis* Üzerine Etkileri

Hakan Yardımcı¹

Mehmet Akan¹

Jale Erdeğer¹

Özet

Bu çalışmada, değişik konsantrasyonlardaki beş genel dezenfektanın Brucella canis RM 6/66 ve 1/90 suşu üzerindeki etkileri incelendi. Fenol, formalin ve etil alkolün iki katlı test sulandırılmalarının, bir dakikada bakterileri öldürdüğü saptandı. İyot'un 10 ppm'e kadar olan konsantrasyonları bir dakikada, 2.5 ppm'lik konsantrasyonu 60 dakikada bakteriler üzerine etkili olmadı. Benzalkonyum klorid (kuarterner amonyum bileşiği) (1/200000) 30 dakikada etkili olurken daha kısa sürelerde etkisiz kaldı.

Anahtar Kelimeler: *Brucella canis, Dezenfektan, Köpek*

Summary

Effects of Disinfectants on Brucella canis

In this study, the effect of various concentration of five common disinfectants on Brucella canis RM 6/66 and 1/90 strains was investigated. Two-fold dilutions of phenol, formaline and ethyl alcohol were killed bacteria within one min. Free iodine in iodophore group up to 10 ppm and 2.5 ppm had no effect on B.canis within one min. and 60 min., respectively. Benzalkonium chloride(quarterner ammonium compound) in 1/200000 consantration was effective against B.canis strains within 30 min, but not in shorter periods.

Key Words: *Brucella canis, Disinfectant, Dog*

Giriş

Brucella canis, ilk olarak Carmichael tarafından 1967'de köpeklerin bulaşıcı abort etkeni olarak izole edilmiştir (1). Etken, dişi köpeklerde abort ve infertilite, erkeklerde ise epididimitis ve testikuler atrofiye neden olur. Değişik ülkelerde yapılan birçok çalışmada, etkenin köpeklerde yaygın bulunduğu bildirilmiştir (2,3,4). *B.canis*'in Türkiye'de köpeklerdeki varlığı serolojik olarak saptanmıştır (5). Etken insanlara da bulaşarak hastalık meydana getirmektedir. Bulaşma genellikle infekte hayvanların vaginal akıntıları, aborte fetus, plasenta artıkları, semen ve daha az olarak da idrar ile olmaktadır. İnfekte hayvanların teşhisinde laboratuvar muayeneleri önem taşır. Teşhiste, özellikle serolojik testlerden serum aglutinasyon testi ve ELISA kullanılmaktadır (6,7). Ayrıca, bakteriyolojik yoklamalardan da yararlanılmaktadır (8). Hastalıktan korunmak amacıyla henüz etkili bir aşı geliştirilmemiştir. İnfeksiyonun kontrolü için, portör hayvanların eliminasyonu yanında uygun hijyen ve dezenfeksiyon koşullarının sağlanması gerekmektedir. Bu nedenle, etkenin giderilmesi için etkili bir dezenfektanın seçilmesi önem taşımaktadır. Ancak yapılan literatür taramasında bugüne kadar bu konuyla ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, 5 gruba ait dezenfektanın değişik sürelerde *B.canis* suşları üzerine etkilerinin saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Test suşları: Denemede Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi kültür koleksiyonundan sağlanan *B.canis* RM6/66 ve 1/90 suşları kullanıldı.

Besi yerleri: *B.canis*'in üretilmesinde BHI (Brain Hearth Infusion, Difco) buyyon ve %5 koyun kanlı TSA (Tripticase Soy Agar, Difco) kullanıldı.

¹A.Ü.Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

Tampon sıvı ve çözeltiler: Bakteri toplanmasında %0.85'lik fizyolojik tuzlu su, bakteri ve dezenfektan sulandırılmaları için Sorenson buffer (pH.7.0) kullanıldı.

Dezenfektanlar: Çalışmada, fenol (%0.5, Merck), betadine (iodine polivinylpyrrolidone %10, Kansuk), formaldehid solusyonu (formalin %37, Merck), zefiran (kurternar amonyum bileşiği, benzalkonyum klorid, %10, İltaş) ve etil alkol (%96, Merck) kullanıldı.

Dezenfektanların sulandırılması: Testlerde etken maddesi esas alınarak fenol'ün %0.5-%0.0625, betadine'nin 10-2.5 ppm, formaldehid solusyonu'nun %2-%0.25, zefiran'nın 1:50000-1:20000 arasındaki çift katlı sulandırılmaları ile etil alkol'un %70 ve %40'lık solusyonları kullanıldı.

Test süşunun standardizasyonu: B.canis RM6/66 ve 1/90 süşlerinin kültürel ve biyokimyasal özellikleri incelendi (3). B.canis süşlerinin TSA'daki 48 saatlik kültürleri steril fizyolojik tuzlu su ile toplandı. 5000 rpm'de 10 dakika 2 defa santrifüj edildi. Sediment Sorenson buffer ile yeniden süspanse edildi. TSA agarda canlı bakteri sayımı yapıldı. Tüm testlerde 10^7 CFU (Colony Forming Unit)/ml bakteri içeren süspanسیون en geç bir saat içinde kullanıldı. Bakteri sayımları, TSA'da yapıldı.

Test prosedürü: Steril cam tüpler içerisinde 0.2 ml ana bakteri süspanسیونu ile 9.8 ml dezenfektan sulandırılmaları karıştırıldı. Dezenfektan içermeyen Sorenson buffer kontrol olarak kullanıldı. Bakteri ve dezenfektan 22°C 'de 1, 5, 15, 30 ve 60 dakika süreyle muamele edildi. Her test süresinin bitiminde, 0.1 ml test sıvısı alınıp 9.9 ml Sorenson buffer, buradan alınan 1 ml sıvı da 9 ml BHI buyyona aktarılıp reaksiyon iki aşamada durduruldu. BHI buyyon 37°C 'de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Buradan da TSA'ya ekim yapıldı ve bakteri üremesi 96 saat süreyle incelendi. Bu süre sonunda üremenin görülmemesi, dezenfektanın tüm bakterileri öldürdüğünü ortaya koydu.

Bulgular

Çalışmada kullanılan 5 dezenfektanın çeşitli sulandırılmalarının 1-60 dakika sürelerde B.canis süşleri üzerine etkileri Tablo 1.de gösterilmiştir. Fenol (%0.5-%0.0625), formalin (%2-%0.5) ve etil alkol (%70-%40) sulandırılmalarının, kontrol edilen sürelerde bütün bakterileri öldürdüğü saptandı. Buna karşın iyotun tüm sulandırılmaları ve zefiranın yalnız 1/200000 sulandırılması 1.dakikada etkili olamadı. İyotun 10 ppm'lik konsantrasyonu ve zefiranın 1/50000 ile 1/100000 sulandırılmaları bakterileri 5.dakika öldürdüğü saptandı. Aynı dezenfektanlardan iyodun 5 ppm'lik konsantrasyonu ile zefiranın 1/50000-1/100000 sulandırılmaları 15.dakikada etkili olurken diğer sulandırılmaları etkisiz kaldıkları belirlendi. Otuz ve 60.dakikada iyot 15.dakikadaki etkiyi gösterirken zefiran tüm sulandırılmalarında etkenleri öldürdü. Kuarternar amonyum bileşiği'nin 1/200000'lik sulandırılması 30 dakikada etkili olurken daha kısa sürelerde etkisiz kaldı. Kontrollerin tamamında üreme görüldü.

Tablo 1. Dezenfektanların B.canis Suşları (RM6/66 ve 1/90) Üzerinde Çeşitli Sürelerde Etkileri

Dezenfektan	İncelenen Yoğunluk	Üreme (dakika)				
		1	5	15	30	60
Fenol	%0.5	-	-	-	-	-
	%0.25	-	-	-	-	-
	%0.125	-	-	-	-	-
	%0.0625	-	-	-	-	-
İyot grubu (Betadine)	10 ppm	+	-	-	-	-
	5 ppm	+	+	-	-	-
	2.5 ppm	+	+	+	+	+
Benzalkonyum Klorid (Zefiran)	1/50000	-	-	-	-	-
	1/100000	-	-	-	-	-
	1/200000	+	+	+	-	-
Formalin (Formaldehit sol.)	%2	-	-	-	-	-
	%1	-	-	-	-	-
	%0.5	-	-	-	-	-
	%0.25	-	-	-	-	-
Etil alkol	%70	-	-	-	-	-
	%40	-	-	-	-	-
Kontroller		+	+	+	+	+

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, veteriner hekimlikte dezenfeksiyon amacıyla kullanılan 5 dezenfektanın B.canis suşları üzerine etkileri incelenmiştir. Etil alkol ve betadin'den daha çok laboratuvar ve klinikte kullanılan araçlar ile derinin dezenfeksiyonunda yararlanılmaktadır. Bunun yanısıra formaldehit solusyonu dokuların tesbiti, antijen hazırlanması ile laboratuvar, hayvan barınağı ya da kuluçka makineleri gibi yerlerin dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır. Fenol ve zefiran ise her türlü genel dezenfeksiyon amacıyla kullanılabilirlerdir.

Etil alkol, formalin ve fenol bütün sulandırılmaları zamana bağlı olmaksızın B.canis suşları üzerine öldürücü etki gösterirken, bu etkinin iyot ve zefiranda yoğunluk ve süreye bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. İyodun 2.5 ppm konsantrasyonunun da B.canis üzerinde 60 dakika sonunda etkili olmadığı saptanmış olup bu durum, iyodun kullanılacağı dezenfeksiyon işlemlerinde yoğunluğun önemini göstermiştir. Ayrıca zefiranın 1/200000 sulandırılmasının B.canis suşlarının üzerindeki etkisinin zamana bağlı olarak değiştiği ve öldürücü etkinin 30.dakikada başladığı belirlenmiştir.

Dezenfektanların, sporsuz Gram negatif bakterilere etkileri üzerinde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (9,10). Wang ve ark.(9) dezenfektanların Campylobacter jejuni üzerinde etkilerini araştırdıkları çalışmada, fenol bileşiklerinin %0.15, kuarternar amonyum bileşiklerinin 1:50.000, iyodoforun 10 mg/l, etil alkolün %70'lik konsantrasyonlarının mikroorganizmaları bir dakikada öldürdüklerini saptamışlardır. Aynı çalışmada formolün mikroorganizmaları 15 dakikada öldürdüğü bildirilmiştir. Haemophilus somnus üzerine dezenfektanların etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada (10), %0.078'lik fenolik bileşiğin, %70'lik etil alkol ve iofordaki 10 ppm serbest iyotun 10⁶ CFU/ml yoğunluğundaki organizmaları bir dakika içerisinde öldürdüğü saptanmıştır. Kuarternar amonyum bileşiğinin 1:50.000'lik dilusyonu ve %2 formalinin H.somnus'un her iki suşunu 15 dakikada öldürdüğünü bildirmişlerdir. Bu araştırmada elde edilen bulgular ile diğer çalışmalarda bildirilen sonuçlar arasında bir benzerlik bulunmuştur. Ancak, mikroorganizmalara etki eden dezenfektan yoğunlukları ve süreleri arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan dezenfektanların B.canis suşları üzerine etkisi, laboratuvar koşullarında saptanmıştır. Yazılı literatürde daha önce bu konu ile ilgili gerek yurtiçi gerekse yurt dışında yayınlanmış bir eser bulunmadığından; çalışmada elde edilen sonuçlar, dezenfektanların sahadaki uygulamalarına bir

temel oluşturacaktır. Ancak, genel dezenfeksiyonda doğal koşulların dezenfektanın aktivitesini etkileyebileceği; ısı, organik materyaller (dışkı, kan vs.), pH gibi birçok faktörün etkiyi olumlu ya da olumsuz yönde değiştirebileceği göz önünde tutulmalıdır.

Kaynaklar

1. Carmichael LE, Kenney RB: Canine abortion caused by *Brucella canis* JAVMA., 152: 605-616 (1968).
2. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Akay Ö: Özel Mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi Yayınları No:741, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum (1992).
3. Corbel MJ, Brinley-MorganWJ: Genus *Brucella*. In: Krieg,N.R. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Volume 1, pp.377-376, Baltimore, London (1984).
4. Creek N: *Brucella canis* in dogs. Iowa State Veterinarian, 3: 122-124 (1980).
5. Diker KS, Aydın N, Erdeğer J, Özyurt M: A serological of dogs for *Brucella canis* and *Brucella abortus* and evaluation of mercaptoethanol microagglutination test. A Ü Vet Fak Derg., 34: 268-277 (1988).
6. Alton GG, Jones LM, Pietz DE: Laboratory techniques in Brucellosis. Second edition. World Health Organization, Monograph Series, Geneva (1975).
7. Mateu-de-Antonio EM, Martin M, Soler M: Use of indirect enzyme-linked immunosorbent assay with hot saline solution extracts of a variant (M-) strain of *Brucella canis* for diagnosis of brucellosis in dogs. Am J Vet Res., 54: 1043-1046 (1993).
8. Wooley RE, Hitchcock PL, Blue JL, Neuman MA, Brown J, Shotts EB: Isolation of *Brucella canis* from a dog seronegative for Brucellosis. J Am Vet Med Assoc., 173:387-388 (1978).
9. Wang WL, Powers BW, Luechtefeld NW, Blaser MJ: Effects of disinfectants on *Campylobacter jejuni*. Appl Environ Microbiol., 45: 1202-1205 (1983).
10. Diker KS, Erdeğer J, Hashimoto K: Effect of disinfectants on *Haemophilus somnus*. Etlik Vet Mikrobiol Derg., 5: 137-142 (1989).

Kistik Ovaryumlu İneklerde Kan Progesteron ve Östrojen Seviyeleri ile Plazma Beta-Karoten İlişkisi

İbrahim TAŞAL¹ Fetih GÜLYÜZ² Fikret KARACA² Muhammet ALAN¹
Semiha DEDE³ Yunus ÇETİN¹

Özet

Bu çalışma, ovaryumlarında kistik follikül bulunan ineklerde serum progesteron, östrojen (östradiol 17 β) ve plazma beta-karoten değerleri arasındaki ilişkinin ortaya konulması amacıyla yapıldı.

Rektal muayene esnasında bir ya da her iki ovaryumda 3 cm' den daha büyük follikül bulunan Holştayn ırkı 10 inek kistik olarak değerlendirildi. Normal siklus ve ovaryum bulgularına sahip Holştayn ırkı 6 inek ise kontrol grubu olarak seçildi.

Kistik ovaryumlu ineklerin serum progesteron, östrojen ve plazma beta-karoten miktarları ortalama olarak sırasıyla, 2.87 ng / ml, 73.4 pg / ml ve 267.4 mg / dl iken; bu değerler kontrol grubunda 0.80 ng / ml, 34.5 pg / ml ve 118.3 mg / dl olarak belirlendi.

Sonuç olarak kistik ovaryumlu ineklerde, kontrol grubuna göre serum östrojen değerleri (P< 0.05) ile plazma beta-karoten düzeyleri (P< 0.001) arasında istatistiki yönden önemli farklılıkların olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Kistik ovaryum, İnek, Beta-karoten, Östrojen, Progesteron.

Summary

Serum Progesteron, Oestrogen Levels and Plasma Beta-Carotene Concentrations in Cows with Ovarian Cyst

In this study, the relationship between serum progesteron, oestrogen (oestradiol 17 β) and plasma beta-carotene parameters in cows with ovarian cysts were investigated.

The presence of ovarian cysts was defined as smooth, rounded follicular structures having diameter of 3 cm or more on one or both ovaries in 10 Holstein cows. As a control, 6 healthy Holstein cows with normal cyclic and ovarium signs were used.

While the mean levels of serum progesteron, oestrogen and plasma beta-carotene in cows with ovarian cysts were 2.87 ng / ml, 73.4 pg / ml and 267.4 mg / dl respectively, the levels were 0.80 ng / ml, 34.5 pg / ml and 118.3 mg / dl found in control group.

As a result, differences in serum oestrogen levels (p< 0.05) and plasma beta-carotene concentrations (p< 0.001) in cows with ovarian cysts in comparison with control group was statistically significant.

Key words: Ovarian cyst, Cow, Beta-carotene, Oestrogen, Progesteron.

Giriş

Beslenme ve fertilité arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. Başta vitamin A ve özellikle beta-karoten eksikliğinden kaynaklanan sürü infertilitesi şekillenmektedir. Bunların yetersizlik düzeyine ve reproduktif sürecin dönemine göre sütçü sürülerde folliküler fazın geniş bir alana yayıldığı, ovulasyonların geciktiği, suböstrüs, anöstrüs, folliküler kist, döl tutmama, retensiyo sekundinarum ve metritis olgularında artışın görülebileceği kaydedilmektedir (1-10)

Beta-karotenin reproduktif performans üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir araştırmada (3) beta -karoten ilave edilen ve kontrol olarak bırakılan iki inek grubunda sırasıyla doğum-ilk östrüs 74, 64 gün; doğum- gebe kalma 95, 102 gün; ve her bir gebelik için yapılan tohumlama sayısı 1.7, 1.9 olarak bulunmuştur.

Beta-karoten yönünden düşük rasyonla beslenen düve ve ineklerde östrüs belirtilerinin zayıfladığı, rasyonlarına ilave beta-karoten katılan hayvanların reproduktif parametrelerinde ise önemli bir farklılık görülmediği de ileri sürülmektedir (1,9).

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı-VAN

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı-VAN

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı-VAN

Vitamin A ve beta-karotenin metabolizmada steroid bir hormon gibi davrandığı ve normal üreme ile ilgili vitamin A ihtiyaçlarının bu fonksiyonla bağlantılı olduğu belirtilmekte ve bu vitaminlerin kandā yüksek oranda bulunmasının reproduktif bozukluklara neden olabileceği kaydedilmektedir (3,11).

Son yıllarda beta -karotenin reproduksiyon üzerinde çok ilginç direkt etkilerinin olduğu, ayrıca beta-karotenin ovaryumlardan ya da corpus luteumdan üretilebildiği belirtilmektedir (3).

Inaba ve ark. (5), beta-karotene düşük rasyonlarla beslenen ineklerde plazma beta-karoten ve vitamin A seviyelerinin azaldığını, buna karşılık yonca ve yeşil rasyonlarla beslenen ineklerde kandaki beta-karoten miktarlarının önemli oranda arttığını ayrıca, kistik ovaryumlu ineklerde beta-karoten seviyelerinin ovaryumlarında kistik follikül bulunmayan ineklere göre önemli oranda düşük olduğunu saptadığını, ancak vitamin A değerlerinde çok az farklılıkların tespit edildiğini bildirmiştir.

Sunulan çalışmada, kistik ovaryumlu ve sağlıklı ineklerin serum progesteron, östrojen ve plazma beta-karoten düzeyleri arasındaki ilişkinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal Ve Metot

Bu araştırmada, rektal muayene sırasında ovaryumlarında kist bulunan 10 Holştayn ırkı inek materyal olarak kullanıldı. Bir ya da her iki ovaryumda 3 cm' den daha büyük çaptaki folliküller kistik olarak değerlendirildi. Normal siklus ve ovaryum bulgularına sahip 6 Holştayn ırkı inek ise kontrol grubu olarak seçildi.

Her iki gruptan da progesteron, östrojen (östradiol 17 β) ve beta-karoten miktarlarının tayini için 10' ar ml kan örnekleri alındı. Serum progesteron ve östrojen miktarlarının ölçümü ELISA ile yapıldı. Plazma beta-karoten düzeylerinin ölçülmesi ise Brewster (12) metoduna göre spektrofotometre cihazında yapıldı. Çalışmanın istatistiki değerlendirmeleri için 'student t' testi kullanıldı.

Bulgular

Çalışmada elde edilen bulgular Tablo 1 ve 2 de sunulmuştur. Ovaryumlarında kistik follikül bulunan ineklerle, kontrol grubundaki ineklerin plazma beta-karoten düzeyleri arasında istatistiki yönden önemli farklılıkların olduğu tespit edildi ($P < 0.001$). Her iki grubun progesteron değerleri arasındaki fark istatistik olarak önemsiz bulunurken, östrojen değerleri arasındaki farkın ise istatistiki yönden önemli olduğu saptandı ($P < 0.05$).

Tablo 1. Kistik ovaryumlu ve kontrol grubunun plazma beta-karoten düzeyleri

Kistik Ovaryum Grubu (Holştayn)			Kontrol Grubu (Holştayn)		
No	mg/ml	Mg/dl	No	mg/ml	mg/dl
1	3.40	340	1	1.85	185
2	2.10	210	2	1.40	140
3	2.84	284	3	1.15	115
4	2.78	278	4	0.60	60
5	1.96	196	5	0.86	86
6	2.85	285	6	1.24	124
7	2.80	280			
8	1.95	195			
9	3.10	310			
10	2.96	296			
Ort.	2.67	267.4	Ort	1.18	118.3

Tablo 2. Kistik ovaryumlu ve kontrol grubunun serum progesteron ve östrojen miktarları

Kistik Ovaryum Grubu (Holştayn)			Kontrol Grubu (Holştayn)		
No	Progesteron (ng / ml)	Östrojen (pg / ml)	No	Progesteron (ng / ml)	Östrojen (pg / ml)
1	1.5	36.4	1	0.74	33.7
2	1.3	62.5	2	1.34	26.2
3	1.1	47.5	3	0.22	48.4
4	13.0	149.0	4	1.78	12.3
5	1.1	44.7	5	0.14	56.8
6	0.9	25.7	6	0.62	29.7
7	2.9	50.6			
8	1.7	96.0			
9	2.0	83.8			
10	3.2	73.4			
Ort.	2.87	118.9	Ort	0.80	34.5

Tartışma Ve Sonuç

Düve ve ineklerin kan serumunda beta-karoten miktarı yetersiz olduğunda gebe kalma oranında azalma, anöstrüs, retensiyo sekundinarum ve ovaryum kistlerinde bir artış görülebildiği kaydedilmektedir (2,4,6,8,9). Sunulan araştırmada ise aynı rasyonlarla beslenen Holştayn ırkı ineklerdeki plazma beta-karoten düzeyleri kistik ovaryumlu hayvanlarda, kontrol grubuna göre önemli oranda yüksek bulunmuştur. Bu durumunun literatürlerde bildirildiği (10,11) gibi kanda yüksek oranda bulunan vitamin A ve beta-karotenin steroid bir hormon gibi etki ederek kistik ovaryumlara neden olmasından veya beta-karotenin ovaryumlardan da üretilebilmesinden kaynaklanabileceği ya da Arthur ve ark. (3)'ün ifade ettiği gibi beta-karoten eksikliği ile fertilité arasındaki ilişkilerin diğer bazı bilinmeyen eksiklik ve problemlerden ileri gelmiş olabileceği düşünülmektedir.

Bazı araştırmacılar (2,10,13) kan plazmasında 200 mg / dl'den daha düşük beta karoten bulunan ineklerin fertilité yönünden olumsuz olarak etkileneceğini ve kistik ovaryum oluşma riskinin artacağını ifade etmektedir. Gül ve ark. (14) ise bu sınırların 100 mg / dl olduğunu ileri sürmektedirler. Oysa sunulan bu araştırmada kistik ovaryumlu hayvanlardaki plazma beta-karoten seviyeleri yukarıda belirtilen sınırlardan daha yüksek bulunmuştur. Özpınar ve ark. (15) kistik ovaryumlu ineklerle, kistik ovaryumsuz ineklerdeki vitamin A ve beta-karoten değerleri arasında önemli bir farkın bulunmadığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde başka bir literatürde (3) de ineklerde beta-karoten eksikliğinin ovaryum kistleri insidensi üzerinde etkili olmadığı ve kistli hayvanlara beta-karoten uygulamasının tedaviye bir katkısının bulunmadığı belirtilmiştir. Bu araştırmada elde edilen bulgular da yukarıda ifade edilen literatür verilere (3,15) benzer niteliktedir.

Yapılan çoğu araştırmada (2,4,5,7,10,16) vitamin A ve beta-karotene eksik veya yetersiz rasyonlarla beslenen ya da kan serumunda düşük düzeyde beta-karoten bulunan hayvanlarda ovaryum kistlerinin meydana geldiği ileri sürülmektedir. Ancak kistik ovaryum şekillendikten sonra uzun süre ovaryumlarında kist bulunan hayvanların plazma beta-karoten seviyelerinin azaldığı veya arttığı konusunda her hangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Sunulan çalışmada, kistik ovaryumlu ineklerin serum östrojen seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu farkın diğer kaynaklarda (3,17,18,19) bildirildiği gibi ovaryumlarında kistik follükül bulunan ineklerde kandaki östrojen miktarlarının bir kaç misli artmasından ileri geldiği sanılmaktadır.

Sonuç olarak, aynı rasyonlarla beslenen bir sürüdeki kistik ovaryumlu ineklerle, kistik ovaryumsuz inekler arasında serum östrojen seviyeleri ile plazma beta-karoten düzeyleri yönünden önemli farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu konunun değişik sürü ve ırklarda ve daha çok sayıda hayvan üzerinde araştırılmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Alaçam E : Evcil Hayvanlarda Doğum Ve İnfertilite. Editör, E. Alaçam, s. 269-294, Medisan, Ankara, (1997).
2. Ahlswede L and Lotthammer KH : Specific vitamin A unrelated effect of beta-carotene on the fertility of cattle.V. Studies of organs (ovaries, corpora lutea, liver, fat tissue, uterus fluid, adrenals); determinations weights and contents. Deutsche-Tierarztliche-Wochenschrift, 85, 1, 7-12, (1978).
3. Arthur GH, Noakes DE and Pearson H : Veterinary Reproduction and Obstetrics (Theriogenology). 6 th Ed. pp 373-374, Bailliere Tindall, London, (1992).
4. Meyer H, Ahlswede L and Lotthammer KH : Studies on a specific vitamin A unrelated effect of beta-carotene on the fertility of cattle I. Methods, body development and ovary function. Deutsche-Tierarztliche-Wochenschrift, 82, 11, 444-449, (1975).
5. Inaba T, Mezan M, Shimizu R, Nakono Y and Mori J : Plasma concentrations of β -carotene and vitamin A in cows with ovarian cyst. Jpn. J. Vet. Sci., 48, 6, 1275-1278, (1986).
6. Nanda AS, Word WR and Dobson H : Treatment of cystic ovarian Disease in Cattle- An Update. Vet. Bull., 59, 7, 537-555, (1989).
7. Gaines J : The relationship between nutrition and fertility in dairy herds. Vet Med., s. 997-1002, (1989).
8. Gül Y : Elazığ çevresindeki halka ait sığırların kan plazmasında vitamin A ve karoten miktarlarının saptanması, bunların döl verimi ve buzağlarının sağlıkları üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Elazığ. (1982).
9. Gül Y ve Timurkan H. : Retensiyo sekundinarumlu süt ineklerinde serum vitamin A ve beta-karoten değerleri üzerinde araştırmalar. Doğa Türk Vet. ve Hay. Derg., 13, 1, 24-29, (1989).
10. Lotthammer KH : Beta-Carotene in Cattle Reproduction. Importance of Beta-Carotene for fertility of Female Cattle. pp 1-27, F. Hoffman - La Roche Co., Ltd. Basle. (1981).
11. Menteş G ve Ersöz B : Harper'in Biyokimyası (Çeviri), s. 704-713, Barış Kitabevi, Appleton, Lange, İstanbul. (1993).
12. Brewster MA : Vitamins in Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation. Ed. By: L. A. Kaplan and A. J. Pesce Th. C. U., Mosby Comp., St. Lovis USA, pp 656-685, (1984).
13. Blaszk S : The relationship of the content of beta-carotene in blood serum with fertility disorders in cows. Prezeglad-Hodowlany, 57, 3, 15-19, (1989).
14. Gül Y, Can R ve Yılmaz K : Studies of vitamin A and beta-carotene values in the blood plasma of infertile cows. Deutsche - Tierarztliche-Wochenschrift. 95, 5, 195-197, (1988).
15. Özpinar H, Çekgöl E, Eggenberger E and Şenel HS : Relation between ovarian cysts and concentrations of beta-carotene, vitamin E and vitamin A in serum of dairy cows. Schweizer- Archiv- Fur- Deutsche - Tierheilkunde. 130, 5, 263-273, (1988).
16. Özpinar H, Şenel HS, Özpinar A ve Çekgöl E : İneklerde döl verimiyle serumdaki beta-karoten A ve E vitamin düzeyleri arasındaki ilişkiler. Doğa-Türk Vet. Hay. Derg., 13, 3, 273-282, (1989).
17. Majeed AF, Ali JB, and Kushali MN : Haematological changes in some cases of ovarian cyst in dairy cattle. Iraqi J. Vet. Sci., 5, 1, 69-75, (1992).
18. Kondoh M, Taya K, Motoya M, Watanabe G, Sasamoto S and Hoshino K : Pituitary and ovarian hormones in cows with ovarian cysts. Japan J. Anim. Rep., 36, 1, 17-25, (1990).
19. Boos A : Beta-carotene and follicular cysts in cattle. Zuchthygiene, 22, 5, 223-228, (1987).

İneklerde subklinik mastitis olgularından izole edilen Streptokokların sero gruplandırılması ve çeşitli biyokimyasal özellikleri üzerine araştırmalar*

İsmail Hakkı EKİN¹

Kemal GÜRTÜRK¹

Özet

Bu çalışmada, Van ve yöresindeki süt ineklerinde subklinik mastitis olgularından izole edilen 92 adet streptokok sero gruplandırıldı ve çeşitli biyokimyasal özellikleri incelendi. İncelenen streptokokların 26 (%28.2)'si β -, 37 (%40.2)'si α - ve 29 (%31.5)'u da γ - hemolitik (non hemolitik) olarak tanımlandı. Serolojik incelemede, streptokokların 35 (%38)'i lateks aglutinasyon testi ile sero gruplandırılabilir. Yapılan sero gruplandırmada, streptokokların 15 (%16.3)'i sero grup B, 17 (%18.5)'i sero grup C, 1 (%1.1)'i sero grup D ve 2 (%2.2)'si sero grup F olarak tanımlandı.

İncelenen sero grup B streptokokların 3 (%20)'ü eskulin, 10 (%66.6)'u Na-hippurat ve 15 (%100)'ü arginini hidrolize ederken, sero grup C streptokokların 4 (%23.5)'ü eskulin, 1 (%5.8)'i Na-hippurat ve 16 (%94.1)'i da arginin pozitif bulundu. Sero grup D streptokok, sadece Na-hippuratı ve 2 adet F grubu streptokokun ikisi eskulini, bir (%50)'i de arginini hidrolize etti. Sero gruplandırılmayan 57 adet streptokokun 20 (%35.08)'si eskulini, 19 (%33.3)'ü Na-hippuratı ve 15 (%26.3)'i de arginini hidrolize etti. Sero grup C, D ve F streptokokların tümü CAMP testinde negatif bulunurken, sero grup B streptokokların 11 (%73.3)'i ve sero gruplandırılmayan streptokokların da 7 (%12.3)'si CAMP testinde pozitif bulundu.

İncelenen streptokokların eskulin hidrolizi ve CAMP testi ile sero grup özellikleri karşılaştırıldığında, 15 adet sero grup B streptokokun 9 (%60)'u ve sero gruplandırılmayan 57 adet streptokokun 20 (%35.1)'si CAMP pozitif – eskulin negatif bulundu. Sadece sero grup B streptokoktan 2 (%13.3)'si CAMP pozitif – eskulin pozitif reaksiyon verdi. Sero grup B streptokoklardan 1 (%6.6)'i CAMP negatif – eskulin pozitif bulunurken, sero grup C streptokokların 4 (%23.5)'ü, sero grup F streptokokların her ikisi ve sero gruplandırılmayan streptokokların 7 (%12.3)'si benzer reaksiyon verdi. Sero grup C streptokokların 13 (%76.5)'ü CAMP negatif – eskulin negatif bulunurken sero grup B streptokokların 3 (%20)'ü, sero gruplandırılmayan streptokokların da 30 (%52.6)'ü benzer reaksiyon verdi.

Anahtar kelimeler: Streptococcus, Sero gruplandırma, subklinik mastitis, inek

Summary

Studies on The Sero grouping and Biochemical Properties of Streptococci Isolated From Cows With Subclinical Mastitis

In this study, 92 streptococci isolated from dairy herds with subclinical mastitis in and around Van were serogrouped and examined for various biochemical properties. In respect of haemolytic properties of streptococci, 26 (28.2%) were identified as β -, 37 (40.2%) as α - and 29 (31.5%) as γ -haemolytic. Of the examined streptococci, 35 (38%) could be serogrouped by Latex agglutination test. Among the 35 isolates, 15 (16.3%) were serogrouped in group B, 17 (18.5%) in group C, 1 (1.1%) in group D and 2 (2.2%) in group F respectively.

In respect of esculin, Na-hippurate and arginin hydrolysis, of the examined serogroup B streptococci 3 (20%) were positive for esculin, 10 (66.6%) for Na-hippurate and 16 (94.1%) for arginin respectively. Of the serogroup C streptococci 4 (23.5%) were found positive for esculin, 1 (5.8%) for Na-hippurate and 16 (94.1%) for arginin. One serogroup D streptococci hydrolyzed only Na-hippurate. Of the 2 serogroup F streptococci, all were found to be positive for esculin and 1 (50%) for arginin. Of the 57 non serogrouped streptococci 20 (35.08%) were found positive for esculin hydrolysis, 19 (33.3%) for Na-hippurate and 15 (26.3%) for arginin. All serogroup C, D and F streptococci were negative with CAMP test, whereas 11 (73.3%) of the serogroup B and 7 (12.3%) of the non serogrouped streptococci were found to be CAMP positive.

When the biochemical properties of streptococci in respect of esculin hydrolysis and CAMP reaction were compared to serogrouping, 9 (60%) serogroup B streptococci and 20 (35.1%) non serogrouped streptococci were found to be CAMP positive-esculin negative. Only 2 (13.3%) group B streptococci were CAMP positive-esculin positive. One (6.6%) of serogroup B, 4 (23.5%) of serogroup C, 2 (100%) of group F and 7 (12.3%) of non serogrouped streptococci were found to be CAMP negative-esculin positive. Whereas 13 (76.5%) of serogroup C streptococci were found to be CAMP negative-esculin negative, 3 (20%) of group B and 30 (52.6%) non serogrouped streptococci gave the same reaction.

Key Words: Streptococcus, Sero grouping, Subclinical mastitis, Cow

Giriş

Kültür ırkı süt sığırcılığı, son zamanlarda önemli bir gelişim göstermekte ve bu gelişim ile birlikte

*Bu araştırma, Y.Y.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiş (97 VF 034) aynı isimli Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı-Van.

gün geçtikçe çeşitli problemler de gündeme gelmektedir. Bu problemlerin başında, mastitis gelmektedir.

Mastitis, meme dokusunun süt yapan bezleri (alveoller ve meme parankimi) ile sinus ve kanallarında meydana gelen enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır (1). Kompleks bir hastalık olduğu bilinen mastitisin patogenezinin henüz tam olarak açıklanmadığı bildirilmiştir (2).

Mastitiste enfeksiyonun şiddetine göre, klinik (perakut, akut, subakut ve kronik) ve subklinik olmak üzere iki form görülmektedir. Süt inekleri üzerinde yapılan çalışmalarda, mastitis olgularının % 93-98'ini subklinik mastitislerin oluşturduğu tespit edilmiştir (3,4).

Subklinik mastitisinin kesin teşhisi, etken izolasyonu ve identifikasyonu ile mümkün olmaktadır (1,2). Bunun yanında, subklinik mastitis olgularında sütte değişen derecelerde meydana gelen yangısal değişikliklerin kimyasal yöntemlerle tespiti de hastalığın teşhisinde önemli bir yer tutmaktadır. California mastitis test (CMT), Wisconsin mastitis testi, Whiteside testi ve somatik hücre sayımı, bu amaç için en fazla yararlanılan testlerdir (5). Bunun yanı sıra son yıllarda subklinik mastitis teşhisinde laktat dehidrojenaz (LDH), aspartat transferaz, alkalın fosfataz (ALP) aktivitesinin tespitine dayalı diğer testlerden de yararlanılmaktadır (3).

Mastitise neden olan mikrobiyel etkenler çok çeşitli (koliform bakteriler, *Corynebacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma spp.*, bazı mantar ve mayalar) olmalarına rağmen, yapılan çalışmalarda hastalığın genellikle Streptokok ve Stafilokoklardan ileri geldiği tespit edilmiştir (6,7). Streptokoklar, ineklerde akut veya kronik seyreden mastitislere neden olmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda (4,8), subklinik mastitis olgularının %13-34'ünden *Streptococcus* cinsine bağlı bakteriler izole edilmektedir. Bunlar arasında özellikle *Str. agalactiae* (Serogrup B streptokok) önemli bir yer tutmakta ve ineklerin kuru dönemi gibi sağım yapılmayan dönemlerinde, sütte hızla çoğalarak klinik mastitise ve bunun sonucu olarak memenin körelmesine sebep olmaktadır (7,8). *Str. uberis*'in, subklinik ve akut klinik mastitise sebep olduğu ancak kısa süre içinde iyileşme görüldüğü, *Str. dysgalactiae*'nin ise meme kanalına adhese olarak, akut ve şiddetli seyreden mastitisler ile uzun süreli subklinik mastitise yol açtığı tespit edilmiştir (5,7). Ayrıca *Str. pyogenes*, Serogrup G ve L streptokok, ve *Str. zooepidemicus* ile daha az oranda da *Str. viridans* ve *Str. pneumoniae* gibi streptokoklar da subklinik mastitis olgularından izole edilmektedir (4,7).

Streptokokların identifikasyonunda genellikle eskulin, Na-hippurat ve arginin'in hidrolizi ile trehaloz, sorbitol, mannitol, inulin ve salisin gibi karbonhidratların fermentasyonuna dayalı biyokimyasal testler ile serogrup spesifik C-polisakkarid antijeninin belirlenmesine yönelik serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır (7,9,10). Bunun yanında özellikle serogrup B streptokokların identifikasyonunda CAMP reaksiyonundan da yararlanılmaktadır (11). Biyokimyasal yöntemler zaman alıcı olduğundan, streptokokların lateks aglutinasyon, ko-aglutinasyon ve immunodiffüzyon gibi serolojik testler yardımıyla serogruplandırılarak identifikasyonunun önemi gün geçtikçe artmaktadır (12,13).

Ülkemizde, ineklerde mastitis olgularından izole edilen streptokokların identifikasyonuna yönelik araştırmaların çoğunda (14,15,16) biyokimyasal yöntemler kullanılmakta, serolojik yöntemlerin kullanıldığı araştırmalara (13,17) ender rastlanmaktadır. Bu çalışmada, ineklerde subklinik mastitis olgularından izole edilen streptokoklar, lateks aglutinasyon yöntemi ile serogruplandırıldı ve çeşitli biyokimyasal özellikleri karşılaştırıldı.

Materyal ve Metot

Araştırmada, Van il'i ve çevresinde 3'ü devlet ve 35'i özel sektöre ait olan toplam 38 farklı işletmeden alınan 4.400 süt örneği, California Mastitis Test (CMT) ile subklinik mastitis yönünden incelendi ve subklinik mastitis olgusu tespit edilen 200 süt örneğinin 74 (%37)'ünden izole edilen 92 adet streptokok suşu, araştırmanın materyalini oluşturdu.

İneklerde subklinik mastitis teşhisi:

Alınan süt örneklerinin subklinik mastitis yönünden incelenmesi amacıyla CMT testinden yararlanıldı. Test, Schalm ve ark. (18)'nin bildirdiği şekilde uygulandı.

Numune alınması:

Numuneler, CMT'de pozitif sonuç veren ve klinik mastitis bulguları saptanmayan meme loplardan usulüne uygun olarak alındı. Bunun için önce meme başları %70 alkollü pamukla silindi ve süt örnekleri, numaralandırılmış plastik kapaklı steril tüplere 8-10 ml miktarında alınarak kısa sürede ve uygun

koşullarda laboratuvara getirildi.

İzolasyon ve identifikasyon:

Streptokokların izolasyonu için süt örneklerinden %8-10 defibrine koyun kanı katılmış Blood Agar Base (MERCK®) ve %5-7 defibrine koyun kanı katılmış Edwards Medium (OXOID®)'a ekim yapıldı. Üreyen kolonilerden, Gram pozitif, ikili veya zincir şeklinde kok (yuvarlak veya oval) görünümlü olan bakteriler arasında katalaz testinde negatif sonuç verenler, *Streptococcus spp.* olarak identifiye edildi (19).

Serogruplandırma:

İzole edilen streptokokların serogruplandırılmasında, A, B, C, D, F, G grup spesifik antikorları ile kaplanmış lateks partiküllerinin hazır kitleri (PROLEX™ STREPTOCOCCAL GROUPING LATEX KIT PL.050, U.K.) kullanıldı ve test, prospektüsünde önerildiği gibi uygulandı.

Biyokimyasal testler:

Hemoliz testi:

İzole edilen streptokokların %8-10 defibrine koyun kanı katılmış kanlı agara ekimi yapıldı ve 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonunda oluşturdukları hemoliz tipine göre α -, β - veya γ - (hemolitik olmayan) hemolitik olarak ayırt edildi (12).

Eskulin hidrolizi:

Bunun için, %5-7 defibrine koyun kanı ilave edilmiş Edward besi yerine streptokokların ekimi yapıldı. Koloni etrafında koyu kahverengi bir zon oluşumu pozitif, renk değişikliğinin görülmemesi ise negatif olarak değerlendirildi (19).

Hippurat hidrolizi:

Bunun için %1 Na-hippurat içeren ortama 24 saatlik bakteri kültüründen inokulasyon yapıldı ve 35°C'de 2-3 saat inkübe edildi. Sonra 0.2 ml ninhidrin ayırıcı ilave edilerek iyice karıştırıldı ve 35°C'de 10 dakika içinde oluşan reaksiyon değerlendirildi. Karışımın koyu mavi veya lacivert rengini aldığı olgular pozitif, renk değişikliğinin olmadığı veya açık mavi rengin görüldüğü olgular ise negatif olarak değerlendirildi (9,12).

Arginin hidrolizi:

Test için, 24 saatlik bakteri kültüründen argininli besi yerine inokulasyonlar yapıldı ve 35-37°C'de 2-7 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüpler karıştırılarak her birine 0.1 ml Nessler ayırıcı damlatıldı. Gözlenen reaksiyonda portakal sarısından kahverengiye kadar değişen olgular pozitif, renk değişiminin görülmediği olgular ise negatif olarak değerlendirildi (20).

CAMP (Christie, Atkins and Munch-Peterson) testi:

Bu test, Christie ve ark. (21)'nin bildirildiği şekilde uygulandı.

Bulgular

Subklinik mastitis yönünden incelenen 4.400 süt örneğinin 200 (%4.54)'ü CMT ile pozitif bulundu. Subklinik mastitisli bulunan süt örneklerinin 74 (%37)'ünden 92 adet *Streptococcus spp.* izole ve identifiye edildi.

Lateks aglutinasyon testi ile incelenen 92 adet streptokokun 35 (%38)'i serogruplandırılabilirdi. Serogruplandırılabilen streptokokların 15 (%16.3)'i B, 17 (%18.5)'si C, 1 (%1.1)'i D ve 2 (%2.2)'si F serogrup spesifik antiserumlar ile ayrı ayrı pozitif reaksiyon verdi. Tüm streptokok suşları, A ve G serogrup spesifik antiserumlar ile negatif bulundu. Serogrup B olarak identifiye edilen bir streptokok, aynı zamanda serogrup C spesifik antiserumu ile pozitif reaksiyon verdi (Tablo 1).

İncelenen streptokokların 26 (%28.2)'si β -, 37 (%40.2)'si α - ve 29 (%31.5)'unun da γ - hemolitik olduğu tespit edildi. Bunlar arasında β - hemolitik streptokokların %6.5'i serogrup B, %7.6'sı serogrup C, %1.1'i serogrup F ve %13'ünün ise serogruplandırılmayan streptokok olduğu; α - hemolitik streptokokların %1.1'i serogrup B, %3.3'ü serogrup C, %1.1'i serogrup D, %1.1'i serogrup F ve %33.7'sinin serogruplandırılmayan streptokok; γ - hemolitik olanların da, %8.7'si serogrup B, %7.6'sı serogrup C ve %15.2'sinin ise serogruplandırılmayan streptokok oldukları tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 3'te, incelenen streptokokların çeşitli biyokimyasal özellikleri gösterildi. İncelenen 15 adet serogrup B streptokokun 3 (%20)'ü eskulin, 10 (%66.6)'u Na-hippurat ve 15 (%100)'i arginini hidrolize ederken, 11 (%73.3)'i de CAMP testinde pozitif bulundu. İncelenen 17 adet serogrup C streptokokun 4

(%23.5)'ü eskulin, 1 (%5.8)'i Na-hippurat ve 16 (%94.1)'sı da arginini hidrolize ederken, CAMP testinde hepsi negatif bulundu. Bir adet serogrup D streptokok, sadece Na-hippuratı, 2 adet serogrup F streptokokun 2 (%100)'si eskulini, 1 (%50)'i de arginini hidrolize etti. İncelenen 57 adet serogruplandırılmayan streptokokun 20 (%35.1)'si eskulini, 19 (%33.3)'ü Na-hippuratı ve 15 (%26.3)'i de arginini hidrolize ederken, 7 (%12.3)'si CAMP testinde pozitif bulundu.

İncelenen streptokokların 29 (%31.5)'u CAMP pozitif-eskulin negatif, 2 (%2.2)'si CAMP pozitif-eskulin pozitif, 14 (%15.2)'ü CAMP negatif-eskulin pozitif ve 47 (%51.1)'si CAMP negatif-eskulin negatif bulundu (Tablo 4). Eskulin hidrolizi ve CAMP testi ile serogruplandırmadan elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında (Tablo 4); serogrup B streptokokların 9 (%60)'u CAMP pozitif-eskulin negatif bulunurken, serogruplandırılmayan streptokokların 20 (%35.1)'si benzer reaksiyon verdi. Sadece 2 (%13.3) adet serogrup B streptokok CAMP pozitif – eskulin pozitif bulundu. Serogrup B streptokokların 1 (%6.6)'i CAMP negatif – eskulin pozitif bulunurken, serogrup C streptokokların 4 (%23.5)'ü, serogrup F streptokokların tamamı ve serogruplandırılmayan streptokokların 7 (%12.3)'si benzer reaksiyon verdi. Serogrup B streptokokların 3 (%20)'ü, serogrup C streptokokların 13 (%76.5)'ü ve serogrup D streptokok ile serogruplandırılmayan streptokokların 30 (%52.6)'u ise CAMP negatif – eskulin negatif bulundu.

Tablo 1. İncelenen Streptokokların Lateks aglutinasyon testinde A, B, C, D, F ve G serogrup spesifik antiserumlarla yapılan serogruplandırılmasında elde edilen sonuçlar

N	Pozitif reaksiyon (%)						Serogruplandırılmayan
	A	B	C	D	F	G	
92	0	15* (16.3)	17 (18.5)	1 (1.1)	2 (2.2)	0	57 (62)

n: İncelenen streptokok sayısı

*: Bir streptokok, aynı zamanda grup C spesifik antiserumu ile kros reaksiyon verdi

Tablo 2: İncelenen Streptokok suşlarının hemolitik özelliklerinin dağılımı

Streptokok	Hemoliz						Toplam	
	β		α		γ			
	n	%	n	%	n	%	n	%
Serogrup								
B	6	6.5	1	1.1	8	8.7	15	16.3
C	7	7.6	3	3.3	7	7.6	17	18.5
D	0	-	1	1.1	0	-	1	1.1
F	1	1.1	1	1.1	0	-	2	2.2
Serogruplandırılmayan	12	13	31	33.7	14	15.2	57	62
Toplam	26	28.2	37	40.2	29	31.5	92	100

n: Pozitif streptokok sayısı

Tablo 3. İncelenen streptokokların bazı biyokimyasal özelliklerine ilişkin sonuçlar

Streptokok	n	Test* (%)			
		Eskulin	Na Hippurat	Arginin	CAMP Testi
Serogrup					
B	15	3 (20)	10 (66.6)	15 (100)	11 (73.3)
C	17	4 (23.5)	1 (5.8)	16 (94.1)	0
D	1	0	1 (100)	0	0
F	2	2 (100)	0	1 (50)	0
Serogruplandırılmayan	57	20 (35.1)	19 (33.3)	15 (26.3)	7 (12.3)

*: Pozitif streptokok sayısı, n: İncelenen streptokok sayısı

Tablo 4. İncelenen streptokokların serogrup, eskulin hidrolizi ve CAMP testinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması

Streptokok Serogrup	N	Test (%)			
		CAMP + Eskulin -	CAMP + Eskulin +	CAMP - Eskulin +	CAMP - Eskulin -
B	15	9* (60)	2 (13.3)	1 (6.6)	3 (20)
C	17	-	-	4 (23.5)	13 (76.5)
D	1	-	-	-	1 (100)
F	2	-	-	2 (100)	-
Serogruplandırılmayan	57	20 (35.1)	-	7 (12.3)	30 (52.6)
Toplam (%)	92	29 (31.5)	2 (2.2)	14 (15.2)	47 (51.1)

*: Bir streptokok aynı zamanda grup C antiserumu ile kros reaksiyon verdi

n: İncelenen Streptokok sayısı

+: Pozitif

-: Negatif

Tartışma ve Sonuç

Süt inekleri üzerinde yapılan araştırmalarda, subklinik mastitise neden olan etkenlerin çok çeşitli olmasına rağmen, enfeksiyonun çoğunlukla Gram pozitif koklardan (Streptokok, Stafilokok) ileri geldiği bildirilmektedir (6,11). Yapılan çalışmalarda subklinik mastitis olgularının % 13-34'ünden *Streptococcus spp.* izole edildiği, *Str. agalactiae*, *Str. uberis* ve *Str. dysgalactiae*'nın mastitise neden olan en önemli streptokok türleri olduğu bildirilmektedir (4,7,8,22,23). *Str. agalactiae* serogrup B, *Str. dysgalactiae*, serogrup C streptokok olarak identifiye edilmektedir. *Str. uberis*'in ise bazı suşları serogrup E spesifik antiserumlarla reaksiyon verirken çoğu suş serogruplandırılmamaktadır (7,10,11).

Bu araştırmada CMT ile subklinik mastitis tespit edilen 200 süt örneğinin 74 (%37)'ünden izole edilen 92 adet streptokok suşu serogruplandırıldı ve çeşitli biyokimyasal özellikleri ile karşılaştırıldı.

Akay ve ark. (13), mastitisli sütlerden izole ettikleri 295 streptokok suşunun %11.5'ni serogrup A, %36.27'sini serogrup B, %20.67'sini serogrup C, %14.23'ünü serogrup D ve %5.8'ini serogrup E streptokok olarak serogruplandırılabilirdiğini ve %12.20'sinin ise serogruplandırılmadığını bildirmektedir. Rund (22) ise incelediği 160 streptokok suşunun %19.37'sini serogrup B, %21.87'sini serogrup C, %6.25'ini serogrup D, %16.87'sini serogrup E, %3.75'inin de serogrup L olarak identifiye ettiğini, %31.8'inin de serogruplandırılmadığını rapor etmektedir. Kunter (23) de, süt numunelerinden izole ettiği 12358 streptokok suşunun %0.05'ini serogrup A, %35'ini serogrup B, %17.1'ini serogrup C, %5.8'ini serogrup D, %7.7'sini serogrup E, %1.1'ini serogrup G, %5.8'ini serogrup L, %1.6'sını serogrup N, %1.2'sini serogrup P ve %0.7'sini serogrup U olarak serogruplandırırken, %21.6'sının serogruplandırılmadığını bildirmektedir.

Bu araştırmada, incelenen 92 streptokok suşunun %16.3'ü serogrup B, %18.5'i serogrup C, %1.1'i serogrup D, %2.2'si serogrup F spesifik antiserumlarla reaksiyon verirken %62'si serogruplandırılmadı. Araştırmada A, B, C, D, F ve G serogrup spesifik antiserumlar kullanıldı fakat serogrup A ve G streptokok tespit edilemedi. Subklinik mastitis olgularından sıklıkla serogrup B, C, D, E streptokokların izole edildiği diğer araştırmacılar (4,7,24) tarafından da bildirilmektedir. Fakat bu araştırmada serogruplandırılabilen streptokokların oranı diğer araştırmacılara (6,13,22,23) göre düşük bulundu. Araştırmada sadece A, B, C, D, F, G gibi subklinik mastitis olgularından sıklıkla izole edilen streptokok serogruplarına karşı antiserumların kullanılmasından dolayı diğer serogrup streptokokların tespit edilememesi, serogruplandırılmayan streptokok sayısının fazla bulunmasında etkili olduğu söylenebilir.

Serogruplandırmanın yanında CAMP reaksiyonu, eskulin ve Na-hippurat hidrolizi, mastitise neden olan streptokokların ayırıcı teşhisinde en sık kullanılan biyokimyasal testlerdir (9). Önemli mastitis etkenlerinden birisi olan *Str. agalactiae* suşlarının %79-100'ü CAMP testinde pozitif bulunmaktadır (2,21,22,23,25). *Str. uberis* ve serogrup G streptokok (*Str. canis*)' ların da CAMP benzeri reaksiyon

gösterdiği bilinmektedir (26).

Rund (22), serogrup B streptokokların %87'sini CAMP pozitif-eskulin negatif bulurken serogrup E streptokokların %18.5'inin benzer reaksiyon verdiğini bildirmektedir. Aynı araştırmacı serogrup C streptokokların %97.14'ünü CAMP negatif-eskulin negatif bulurken serogrup B streptokokların %9.67'sinin, serogrup E streptokokların %11.11'inin ve serogruplandırılmayan streptokokların da %35.29'unun benzer reaksiyon verdiğini bildirmektedir. Kunter (23) de serogrup B streptokokların %85.6'sının CAMP pozitif-eskulin negatif bulurken serogrup E streptokokların %5.3'ünün ve serogrup U streptokokların %6.3'ünün de benzer reaksiyon verdiğini bildirmektedir. Aynı araştırmacı serogrup C streptokokların %98.8'inin CAMP negatif-eskulin negatif reaksiyon verdiğini, serogrup B streptokokların %13.4'ünün, serogrup G streptokokların %59.7'sinin, serogrup L streptokokların %97'sinin, serogrup K streptokokların %19.4'ünün ve serogruplandırılmayan streptokokların ise %26.1'inin benzer reaksiyon verdiğini bildirmektedir.

Bu araştırmada, serogrup B streptokokların %60'ı CAMP pozitif-eskulin negatif bulunurken, serogruplandırılmayan streptokokların %35.1'i benzer reaksiyon verdi. Ayrıca serogrup C streptokokların %76.5'i CAMP negatif-eskulin negatif bulunurken, serogrup B streptokokların %20'si ve serogruplandırılmayan streptokokların %52.6'sı benzer reaksiyon verdi. Araştırmada, CAMP pozitif-eskulin negatif reaksiyon veren 29 streptokoktan sadece 9 (%31)'u serogrup B streptokok olarak tanımlandı. Diğer taraftan serogruplandırılmayan streptokoklardan 20 (%69)'ünün benzer reaksiyon vermesi, sadece biyokimyasal testlerle yapılacak identifikasyonlarda serogruplandırılmayan streptokokların *Str. agalactiae* olarak yanlış teşhis riskini arttırabileceğini göstermektedir. Fakat araştırmada CAMP pozitif-eskulin negatif streptokokların çoğunun serogrup B spesifik antiserumla reaksiyon vermemesi testin duyarlılığı ile de ilgili olabilir. Bazı araştırmacılar (27,28), streptokokların serogruplandırılmasında lateks aglutinasyon testinin duyarlılığının %90'ın üzerinde olduğunu bildirmektedirler. Bunun yanı sıra serogrup B streptokokların %20'sinin CAMP negatif-eskulin negatif bulunması, serogrup C ve B streptokoklar arasında daha önce bildirilen (10,12) kros reaksiyonlardan dolayı bu serogrup streptokokların identifikasyonunda problem teşkil edebilir. Araştırmada serogrup C ve B spesifik antiserumlarla kros reaksiyon veren bir suş, CAMP pozitif-eskulin negatif bulundu ve serogrup B olarak tanımlandı.

Bu araştırmada elde edilen sonuçlar, subklinik mastitis olgularından sıklıkla izole edilen *Str. agalactiae* (serogrup B) ve serogrup C streptokokların identifikasyonunda biyokimyasal testlerin (CAMP reaksiyonu, eskulin hidrolizi) yeterli olmadığını göstermektedir. Ayrıca kullanılan test Kit'inin prospektüsünde, Kit'in özellikle β -hemolitik streptokokların serogruplandırılmasında kullanılması önerilmektedir. Fakat bu araştırmada β -hemolitik streptokok oranı, diğer araştırmacılar (14,22,23) göre daha düşük bulundu. Araştırmada serogruplandırılabilen streptokokların sadece %15.2'si β -hemolitik gösterirken, %6.6'sının α -hemolitik ve %16.3'ünün de γ -hemolitik olduğu tespit edildi. Rund (22), incelediği 160 streptokok suşunun %61.2'sinin β -hemolitik, %34.37'sinin α -hemolitik ve %4.37'sinin γ -hemolitik olduğunu, Kunter (23) ise süt numunelerinden izole ettiği streptokokların %34'ünün β -hemolitik, %51.37'sinin α -hemolitik ve %14.26'sının da γ -hemolitik olduğunu bildirmektedir.

Sonuç olarak, subklinik mastitis olgularından izole edilen streptokokların identifikasyonunda biyokimyasal testlerin yanında serolojik testlerin de kullanılmasının, *Str. agalactiae* (serogrup B) ve *Str. dysgalactiae* (serogrup C) gibi önemli mastitis etkenlerinin teşhisi için gerekli olduğu ve elde edilen bulguların konu ile ilgili yapılacak müteakip araştırmalarla daha iyi değerlendirilebileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Deveci, H., Apaydın, A.M., Kalkan, C. ve Öcal, H. Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. F.Ü. Basımevi, Elazığ (1994).
2. Maisi, P., Mattila, T. And Sandholm, M. Mastitis whey - a good medium for bacteria? Acta Vet. Scand. 25, 297-308 (1984).
3. National Mastitis Council of USA. Current concepts of Bovine Mastitis Isr. J. Vet. Med. 42,4,405-415 (1978).
4. Säxena, R.K., Dutta, G.N., Borah, P. And Buragohain, J. Incidence and etiology of bovine subclinical mastitis. Indian Vet. J. 70:11,1079-1080 (1993).
5. Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Kahraman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M. ve Diker, K.S. Özel Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik Hastalıklar. Medisan Yayın Serisi No:26. 4.Baskı, Ankara, (1997).
6. Watts, J.L. Characterization and identification of Streptococci isolated from bovine mammary glands. J. Dairy. Sci., 71: 1616-164 (1988).
7. Blobel, H. und Schiesser, T. Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band II. VEB Gustav Fisher Verlag., (1982).
8. Malinowski, E., Klossowska, A. and Szalbierz, M. Pathogenicity to the mammary gland of microorganisms isolated from clinical and subclinical mastitis. Medycyna Weterynaryjna. 48 (10) 467-469 (1992).
9. Carter, G.R. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. Fourth edition. Springfield. Illinois. U.S.A. (1984).

10. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. vol.2. Baltimore. U.S.A. (1986).
11. Hahn, G., Ergebnisse aus der Streptokokken-zentrale in Kiel von 1965 bis 1978 – mastitis-Streptokokken. Zbl. Bakt. Hyg., I.Abt. Orig. A 249, 323-340 (1981).
12. Facklam, R.R. Manual of Clinical Microbiology. Fourth edition. Washington. U.S.A. (1985).
13. Akay, Ö., İzgür, M., Esenal, Ö. ve Çetin, C. İnek sütlerinden izole edilen streptokok suşlarının sero gruplandırılması. TÜBİTAK Vet. Hay. Arş. Grubu. Proje No: VHAG-760 (1993).
14. Kahraman, M. Sığır mastitisi üzerine araştırmalar 2. Streptokoklara bağlı mastitis. Uludağ Üniversitesi Vet. Fak. Der. 1-2-3: 4,5 (1985).
15. Arda, M. ve İstanbulluoğlu, İ. Mastitislere sebep olan aerobik-mikroaerofilik, anaerobik bakterilerin izolasyon ve identifikasyonları üzerinde çalışmalar. T.B.T.A.K. VHAG- 304 (1980).
16. Ulusoy, E., İzgür, M., Akay, Ö., Diker, K.S., Aydın, N. ve Arda, M. Mastitisli inek sütlerinden izole edilen mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine bir araştırma. A.Ü.Vet.Fak.Dergisi. 32(2):358-370 (1985).
17. Aydın, N., Girgin, H., Canbazoglu, M. ve Aksak, E. İnsan ve hayvan orijinli beta hemolitik Streptokokların serolojik gruplandırılması. Doğa Tr. J. of Vet. and Anim. Sci. 14, 228-238 (1990).
18. Schalm, O.W., Carrol, F.J. and Jain, N.C. Bovine Mastitis. Lea-Febiger, Philadelphia, USA. (1971).
19. Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R., Janda, W.M. Sommers, H.M. and Winn, W.C. Color atlas and text book of diagnostic microbiology third edition. Lippincott comp. Philadelphia. USA (1988).
20. Harrigan, W.F. and McCance, M.E. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Revised ed. Academic press. London (1976).
21. Christie, R., Atkins, N.E. and Munch-Peterson, E. A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 22, 197-200 (1944).
22. Rund, J. Zur bakteriologischen untersuchung von milchproben auf Streptococcus agalactiae. Arch. Exper. Vet. Med., Leipzig 40, Juli, 4, S. 587-590 (1986).
23. Kunter, E. Zur bakteriologischen diagnostik des Streptococcus agalactiae in milchproben: CAMP-test, hydrolyse von askulin, hamolysearten. Arch. Exper. Vet. Med. Leipzig 42: 71-82 (1988).
24. Havelka, B. and Skarkova, S. Isolation of streptococci of various serological groups from animals. Vet. Med. 34 (12). 743-749 (1989).
25. Banzhaf, K. and Walsler, K. Identification of Streptococcus agalactiae with latex agglutination test and CAMP test. Tierarztliche-Umschau., 43: 444, 447-449 (1988).
26. Lammler, Ch., Gürtürk, K. and Blobel, H. CAMP-like reactions of group G streptococci from dogs. Med. Sci. Res. 15, 217-218 (1987).
27. Hogan, J.S. Smith, K.L., Todhunter, D.A. and Schoenberger, P.S. sensitivity and specificity of latex agglutination tests used to identify Streptococcus agalactiae and Staphylococcus aureus isolated from bulk tank milk. Am. J. Vet. Res. 49:9, 1537-1539 (1988).
28. Inzana, T.J. and Iritani, B. Rapid detection of group C streptococci from animals by latex agglutination. J. of Clin. Microbiol. 27: 2, 309-312 (1989).

Kuru Kürleme İşlemi Geçiren Füme Dil ve Pastırmaların Üretimleri Sırasındaki Nitrat ve Nitrit Miktarlarındaki Değişmeler

G. Ece SOYUTEMİZ¹

Şahsene ANAR¹

Ayten ÖZENİR²

Özet

Bu çalışmada 4 ayrı grup halinde füme dil ve pastırma üretilerek, üretim aşamalarındaki nitrat ve nitrit miktarları incelendi. Füme dillerde taze dil halinde, kürlemenin 1. günü, 7. günü, 21. günü yıkama, haşlama ve dumanlama işlemlerinden sonra nitrat ve nitrit miktarı saptandı. Satışa hazır hale gelen dillerde nitrat miktarı ortalama 92.704 ppm., nitrit miktarı ise ortalama 6.028 ppm. olarak bulundu. Üretilen pastırmaların et halinde, tuzlama, yıkama, 1. kurutma, presleme, II. kurutma ve çemenleme işleminden sonra ortalama nitrat ve nitrit miktarı saptandı. Çemenlenmiş pastırmaların nitrat miktarı ortalama 1437.07 ppm., nitrit miktarı ortalama 1.232 ppm. olarak saptandı. Bu çalışmada satışa hazır hale gelen füme dillere ait nitrat ve nitrit değerleri Türk Gıda Kodeksi'nin rezidual nitrat ve nitrit değerleri için getirdiği sınırlamaların altında bulundu. Pastırmalara ait nitrat değerlerinin ise sınırlamaların üzerinde olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Pastırma, Füme dil, Nitrit, Nitrat

Summary

Changing of nitrate and nitrite contents of dry cured smoked tongue and pastrami during the production stages.

In this study, four different groups of smoked tongue and pastrami were produced and nitrate and nitrite contents were recorded. In smoked tongues, the nitrate and nitrite contents were determined on fresh tongue, at the 1st, 7th, 9th, 14th and 21st days of during, at the end of whasing, boiling and smoking procedures. Average nitrate and nitrite amounts in smoked tongues ready to marketing were determined respectively, 92.704 ppm and 6.028 ppm.

In pastramies, nitrate and nitrite amounts were also determined in raw meat, and following the procedures of curing, washing, first drying in the air, pressing, second drying in the air and pasting of çemen.

Pastramies that were ready for marketing had average nitrate amount of 1437.07 ppm and average nitrite amount of 1.232 ppm.

Although average amounts of nitrate and nitrite in smoked tongues were found to be less than the limits of residual nitrate and nitrite accepted in Food Codex, the results obtained in this study showed that nitrat levels in pastrami made ready for marketing were higher than the values accepted in Turkish Food Codex.

Key Words: Pastrami, Smoked tongue, Nitrite, Nitrate

Giriş

Et ürünleri kendilerine has renklerini üretimlerinde kullanılan nitrat ve nitritin et üzerine olan etkileri ile kazanırlar (1,2). Nitrat ve nitrit yüzyıllardır etlerin kürlenmesinde kullanılmakta olup, kürleme tuzunda bulunan nitrat, nitrit için depo ödevi görmektedir (36). Nitrat bazı redükte edici bakterilerin etkisiyle nitrite, nitrit de nitrit okside dönüşür. Nitrit oksid (NO) miyogloblin ile birleşerek nitrozomyogloblin'e (NOMb), ısı ve dumanlama işlemi ile de NO hemochromogene dönüşür ve kalıcı pembe renk oluşur (7-9). Nitrit ürüne has karakteristik bir lezzet oluşturması ve ransidite gelişimini geciktirmesi yanısıra kürlenmiş etlerde antimikrobiyel özelliğe de sahiptir (3,7,9,10). Bu inhibe edici etki nitritin et bileşikleri veya additifleri ile reaksiyonundan ileri gelir. Bu durum perigoeffect olarak adlandırılır (10).

Yapılan çalışmalar, nitrit ile sekonder aminler gibi etin doğal bileşenleri arasındaki reaksiyonlarla karsinojenik özellikte nitrozo bileşiklerinin oluşabileceğini göstermiştir (8, 11-15). Nitrozamin oluşumu için uygun koşullar, et ürünlerine çok miktarda nitrit ilave edildiğinde veya ilave edilen nitrattan çok miktarda nitrit oluştuğu zaman, et ürünleri birçok aminleri içerdiği zaman (ürünler uzun süre olgunlaştırıldığı zaman) ve yüksek derecelerde ısıldığında (artan reaksiyon hızı ile) sağlanır (10).

¹Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, BURSA

²İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, BURSA

Bu çalışmada yüksek oranda tuz-nitrat karışımı kullanılarak üretilen füme dil ve pastırmada, üretim aşamalarındaki nitrat ve nitrit miktarının saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Füme dil üretimi sığır dilleri kullanılarak yapıldı. Yıkama ve temizleme işlemini takiben diller delinerek % 1 nitrat içeren tuz ile kürlenmeye tabi tutuldu. Kürlenmiş diller 21 gün süre ile soğuk depoda bekletildi. Bu süre sonunda yıkanan diller pişirme kazanlarında 2.5-3 saat süre ile haşlandı. Haşlama işleminden sonra diller 3 saat süre ile soğuk dumanlamaya tabi tutuldu (16). Diller taze dil halinde, kürlenmenin 1., 7., 9., 14., 21. günü yıkama, haşlama ve dumanlama işleminden sonra nitrat ve nitrit miktarı açısından analize alındı.

Pastırma üretiminde sığır kontrfileleri kullanıldı. Kontrfileler pastırma formuna sokulduktan sonra ete uygun aralıklarla bıçak yaraları (şak'lar) yapıldı. Et %1 nitrat içeren tuz ile kürendikten sonra oda ısısında bir gece bekletildi. Bu süre sonunda parçalar alt-üst edilip 16 saat daha bekletildikten sonra birinci kaptaki 30 saniye süre ile yıkandı, ikinci kaptaki ise aynı süre ile durulandı. Yıkamış olan pastırmalar çardaklarda doğal koşullarda 3 günlük bir kurutma işleminden sonra 16 saat süre ile pres edildi. Preslemeyi takiben 6 gün süre ile II. kez kurutmaya tabi tutulan pastırmalar çemenlendi (17).

Pastırmalar et halinde iken, tuzlandıktan, yıkandıktan, I. kurutma işleminden, presleme işleminden, II. kurutma işleminden ve çemenlemeden sonra nitrat ve nitrit miktarı açısından analizlere tabi tutuldu.

Nitrat ve Nitrit Miktarının Saptanması: Nitrit direkt olarak, nitrat ise bir kadmiyum kolonunda nitrite dönüştürüldükten sonra kantitatif metotla tayin edildi.

Yöntem, aromatik amin gruplarının asitlendirilmiş nitrit çözeltisiyle reaksiyonu sonucu oluşan diazonyum tuzunun diğer bir aromatik amin (N-1-naphtyl-ethylendiamin 2HCL) ile bağlanmasıyla meydana gelen kırmızı renkli aminoazo bileşiğinin absorbansının 538 nm.de spektrofotometrede ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır (18).

Çalışma için 4 ayrı grup halinde pastırma ve füme dil üretildi.

Bulgular

Dört ayrı grup halinde üretilen pastırma ve füme dillere ait ortalama nitrat ve nitritin değerleri Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Pastırmaların Üretim Aşamalarındaki Nitrat ve Nitrit Miktarları (ppm.)

	Nitrat (x)	Nitrit (x)
Et	2.846	0.173
Tuzlanmış	990.391	0.968
Yıkamış	274.614	0.830
I. kez kurutulmuş	713.700	2.068
Preslenmiş	631.791	2.552
II. kez kurutulmuş	1482.325	1.804
Çemenlenmiş	1437.070	1.232

Tablo 2: Füme Dilin Üretim Aşamalarındaki Nitrat ve Nitrit Miktarları (ppm).

	Nitrat (x)	Nitrit (x)
Taze Dil	5.337	0.440
Kürlemenin 1. Günü	129.833	0.924
Kürlemenin 7. Günü	146.737	1.496
Kürlemenin 14. Günü	239.619	2.200
Kürlemenin 21. Günü	459.668	0.968
Yıkanmış Dil	233.155	0.792
Haşlanmış Dil	148.338	3.916
Dumanlanmış Dil	92.704	6.028

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada % 1 nitrat içeren tuzla kuru kürleme işlemi geçiren pastırma ile kuru kürleme işleme yanında haşlama ve dumanlama işlemine tabi tutulan füme dillerin üretim aşamalarındaki ve son ürün halindeki nitrat ve nitrit değerleri saptandı.

Pastırma üretimi için kürleme işlemi geçirmiş etlerde nitrat miktarı 990.391 ppm iken, yıkama sonrası nitrat oranında önemli bir düşme meydana gelmiş ve nitrat miktarı 274.614 ppm'e düşmüştür. Bunun nedeni yıkama işlemi ile hem ortamdaki tuz ile birlikte nitrat miktarının azalması, hem de etin içerdiği su miktarının artmasıdır. Üç günlük bir kurutma işleminden sonra etlerin rutubetindeki düşüşe bağlı olarak nitrat miktarının arttığı ve 713.700 ppm olduğu görülmektedir. Bu değer, presleme işleminden sonra elde edilen nitrat miktarından daha düşük olması beklenirken presleme işlemi sonundaki nitrat miktarı 631.791 ppm olarak tesbit edilmiştir. Pastırma yapımında kullanılan etlerde bıçak yaralarının açıldığı bölgelerde tuzun ve nitratın ete diffüzyonu daha fazla gerçekleşmektedir. Ayrıca pastırma yapımında kullanılan konfileler kalınlık ve dolayısıyla içerdiği su miktarı bakımından homojen bir yapıda değildir. Bu nedenle analize alınan et numunelerine göre sonuçlarda bir takım farklılıklar meydana gelmektedir.

Altı gün süreyle kurutmaya tabi tutulan pastırmalık etlerin nitrat miktarında önemli bir artma meydana gelmiş ve 1482.325 ppm olarak belirlenmiştir. Çemenlenmiş pastırmalarda ise çemenden ete su diffüzyonuna bağlı olarak etin nitrat ve nitrit miktarlarında bir önceki safhaya göre hafif bir düşme meydana gelmiştir. Satışa hazır hale gelmiş pastırmalarda nitrat miktarı 1437.07 ppm, nitrit miktarı ise 1.232 ppm olarak belirlenmiştir. Nitrat miktarı Gıda Kodeksi'nin satış noktasında içermesi gereken kalıntı nitrat miktarının (250 ppm) çok üzerinde bulunmuştur. Nitrit miktarı ise düşük değerlerde olup, El - Khateib ve arkadaşları'nın (19) pastırmalardan elde ettiği 12 ppm lik ve Soyutemiz ve Özenir'in (20), 15 ppm'lik nitrit miktarından daha düşüktür.

Pamukçu (2), ise pastırmalardaki nitrit miktarını 114 mg/kg olarak saptamış olup, değerlerimizin çok üzerindedir.

Pastırma üretimi ustaların insiyatifinde gerçekleştirildiğinden, gerek kullanılan tuz - nitrat miktarları gerekse olgunlaşma sırasında üretimi hızlandırmak ve kırmızı renk oluşumunu sağlamak için pastırmalık etlere ısı uygulanmasına bağlı olarak pastırmalara ait nitrat ve nitrit miktarlarında değişiklikler oluşmaktadır. Nitekim Alperden (6), yaptığı çalışmada pastırmalarda nitrat miktarını 0-18.000 ppm arasında bulmuştur.

Füme dillerin üretiminde, kürleme işlemi sırasında tuzun diffüzyonuna bağlı olarak nitrat miktarı, kürlemenin 21. gününe kadar düzenli olarak artmış ve 21. günde 459.668 ppm'e ulaşmıştır. Bu devrelerde nitrit miktarı önemli bir artış göstermemiştir. Kürlemenin 21. gününde ise bir önceki devreye göre elde edilen nitrit miktarından daha düşük değer elde edilmiştir. Bu durumu farklı dillerin farklı bölgelerinde tuz ve nitrat diffüzyonunun farklı olması ve alınan numunelerin bir örneklik göstermemesine bağlayabiliriz. Yıkama işlemi nitrat ve nitrit miktarını düşürmesine rağmen, haşlama ve dumanlama işleminden sonra nitrat miktarı azalırken nitrit miktarında artış meydana gelmiştir. Bunda ısı işleminin nitratı nitrite

indirgemesi etkili olmuştur. Dumanlanmış dillerdeki nitrat miktarı 92.704 ppm'e düşerken nitrit miktarı 6.028 ppm'e çıkmıştır.

Pratikte pastırma ve füme dil yapımında kullanılan tuz-nitrat miktarının ustalara göre değişiklik göstermesi, kürlenme işleminde nitrat yanında nitrit de kullanılması, olgunlaşma sürelerinin değişik uygulanması, kurutma amacı ile pastırmaların ısı işlemine tabi tutulması tüketime sunulan pastırma ve füme dillerde değişik oranlarda nitrat ve nitrit miktarlarının çıkmasına neden olmaktadır.

Bir çok ülkede son ürün halinde iken kürlenmiş et ürünlerinde bulunması gereken rezidüel nitrat ve nitrit miktarları için sınırlama getirilmiştir. Ülkemizde 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine (21) göre ısı işlemi görmemiş, kürlenmiş, kurutulmuş et ürünlerinde kalıntı sodyum nitrit miktarı 50 mg/kg, diğer kürlenmiş et ürünlerinde 100 mg/kg, kalıntı sodyum nitrat miktarı ise 250 mg/kg olarak verilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada füme dillere ait nitrat ve nitrit değerleri Gıda Kodeksinin getirdiği sınırlamaların üzerinde değildir. Ancak pastırmalara ait nitrat miktarı bu sınırlamaların çok üzerinde bulunmuştur.

Kaynaklar

- 1-Forrest JC, Aberle ED, Hdrick HB: Principles of Meat Science. W.H Freeman and Company, San Francisco, (1975).
- 2-Pamukçu T: Ankara piyasasında tüketime arz edilen sucuk, salam ve pastırmada bulunan nitrit, nitrozaminlerin miktarları ve mutajenik aktiviteleri üzerinde araştırmalar. A.Ü. Veteriner Fak., Besin Hij. ve Tekn. Anabilim Dalı, Doktora Tezi, (1984).
- 3-Potter NN: Food Science. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. 701-702, (1984).
- 4-Frazier WC, Westhoof DC: Food Microbiology, Third Edition Mc Graw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi, (1983).
- 5-Chiester DF, Tanrer FW: Antimicrobial food additives, Handbook of Food Additives, 2nd Edition, CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida, (1972).
- 6-Alperden İ, Karaali A, Kocakuşak S: Bölgesinde gıda maddelerinde yapılan taklit ve tağış üzerine bazı araştırmalar. TÜBİTAK Marmara Bil. ve End. Arş. Ens. Yayın No:47, (1980).
- 7-Kramlich WE, Pearson AM, Tauber FW: Processed Meats. The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, (1982).
- 8-Toth L: Nitrite reactions during the curing of meat products. Fleischwirtsch. 63 (2), 208-211, (1983).
- 9-Dinçer B: Et ürünleri yapımında uygulanan temel işlemler. SEGEM et endüstrisinde teknolojik yöntemler ve kalite kontrolü. İç Hizmetler Eğitim Notları, Ankara, (1988).
- 10-Anonymous: Reducing the level of nitrite and nitrate added to cured meat products. 24 th. European Meeting of Meat Research Workers held in Kulmbach, 4 th-8 th. September, 1978. Fleischwirtsch., 59 (2), 221-222, (1979).
- 11-Hofmann K: Nitrosamines-a problem that concerns everyone, Fleischwirtsch., 59, 6, 852-853, (1979).
- 12-Şanlı Y: Ankara piyasasında satılan bazı işlenmiş et ürünlerinde şekillenebilen nitrozamin türevleri üzerine bir araştırma. A.Ü. Vet. Fak. Der., 31, 2, 260-280, (1984).
- 13-Reuter H: Salzen und pökeln, Die Fleischwirtsch., 10, 1419-1423, (1976).
- 14-Kostyukovskii YL, Arkhipov GN, Mellamed DB, Zhukova GJI: Carcinogenic N-nitrosamines in foods. Zhurnal Vsesosoyuznogo-Khimichesko-Obshchestva Mendeleve, 23, 4, 406-410, (1978).
- 15-Kolsarıcı N, Turhan K: Et ürünlerinde nitrozamin oluşumu ve sağlık açısından önemi, A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları: 1283, Derlemeler: 52, (1993).
- 16-Tezcan İ, Yurtyeri A: Et Teknolojisi Ders Notları, A.Ü. Veteriner Fakültesi, (1987).
- 17-Anonymous: Pastırmanın üretim teknolojisi ve kalite kontrolü. TÜBİTAK Veterinerlik ve Hayvancılık Grubu, XIV. İhtisas Komisyonu Toplantısı, Ankara, (1987).
- 18-Altuğ T, Boyacıoğlu D: Gıda katkı maddeleri analiz yöntemleri. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 83-91, (1990).
- 19-El-Khateib T, Schmidt U, Leistner L: Microbiologische stabilität von Türkischer Pastırma, Fleischwirtsch, 67(1), 101-105, (1987).
- 20-Soyutemiz GE, Özenir A: Bursa'da tüketilen sucuk, salam, sosis ve pastırmalardaki kalıntı nitrat ve nitrit miktarlarının saptanması, Gıda Derg., 21, 6, 471-476, (1996).
- 21-Resmi Gazete: Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. 16 Kasım 1997, Sayı: 23172.

Manisa'da Tüketilen Sucuk, Salam, Sosislerin Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi

Semra KAYAARDI¹

Özet

Bu çalışmada, Manisa'daki büfe ve kafeteryalarda tüketime sunulan sucuk, salam ve sosislerin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Analiz sonuçları Gıda Maddeleri Tüzüğü ve Türk Standartları Enstitüsünün sucuk, salam, sosis standartları hükümleri ile karşılaştırılmıştır. Sucuk, salam, sosis örneklerin çoğunluğunun, kimyasal özelliklerden pH değeri, nitrat miktarı, nem ve yağ/protein oranı, mikrobiyolojik niteliklerden de toplam bakteri, laktobasil ve maya-küf sayıları bakımından standartlara uymadığı saptanmıştır. Sonuç olarak, tüketime sunulan et ürünlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitelerinin düşük olduğu ve arzu edilen kalitede et ürünleri elde edilebilmesi için etkin önlemlerin alınması gerektiği ortaya çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sucuk, Salam, Sosis, Kimyasal, Mikrobiyolojik özellikler

Summary

The Investigation of Chemical and Microbiological Properties of Turkish Soudjous, Salami and Sausages Consumed in Manisa

In this study, chemical and microbiological properties of Turkish soudjous, salami and sausages consumed at buffet and cafeteria in Manisa was investigated. The results of analysis are compared with Food Regulation and Turkish soudjouk, salami and sausage standarts. The most of Turkish soudjouk, salami and sausage samples were found not suitable in terms of pH value, nitrate, moisture content, fat/protein ratio as chemical properties, total aerobic bacteria, coliform and yeast-mould counts as microbiological properties. As a result, chemical and microbiological properties of consumed meat products were found to be rather low quality and should be taken active measures for providing good quality.

Key Words: Turkish soudjouk, Salami, Sausage, Chemical, Microbiological properties

Giriş

Bireylerin sağlıklı ve verimli olabilmeleri için yeterli ve dengeli bir şekilde beslenmeleri gerekmektedir. Gereği gibi beslenmeyi sağlayan, yani vücudun tüm ihtiyaçlarına cevap verebilen ve bunun yanında damak zevkine hitap eden besinlerin başında et ve et ürünleri gelmektedir (1). Et ürünleri üretim teknolojileri nedeniyle, taze ete göre daha az su, daha fazla protein, yağ ve mineral madde içermeleri, baharatlarla özel bir çeşni verilerek beğenin arttırılması, uzun dayanma süresine sahip olmaları, tüketime hazırlanmalarının kolay ve çabuk olması gibi nedenlerle taze ete göre her zaman tercih edilmektedir (2). Ülkemizde en fazla üretilen ve tüketilen et ürünleri Fermente Türk sucuğu, salam ve sosistir.

Et ürünleri, yüksek besleyici değer ve sindirilme oranına sahip olmakla birlikte, mikroorganizmaların üremeleri için çok uygun bir ortam olduklarından ve ürünün özelliklerini iyileştirmek amacıyla katılan nitrat ve nitritin, hem toksik hem de kanserojen etkilerinden dolayı aynı zamanda sağlık açısından risk oluşturan gıdaların da başında gelmektedir (2-9).

Nitrat ve nitrit, ürünün renk, tat, aroma gibi duyuşsal niteliklerini geliştirmeleri ve özellikle de antimikrobiyal ve antioksidant etkileri nedeniyle et ürünlerinde büyük ölçüde kullanılmaktadır (10,11,12). Üretimde kürlenme etkisinin çabuk oluşması ve ekstra nitrit kaynağı sağlanması bakımından, nitrat ve nitritin birlikte kullanımı tercih edilmektedir (13). Bu katkı maddelerinin ürünlere katkı düzeyi, sağlık üzerine olumsuz etkileri göz önüne alınarak standart ve yönetmeliklerle sınırlandırılmıştır. Örneğin Türk Standartları Enstitüsünün (TSE) sucuk, salam ve sosis standartlarında "katılması kabul edilen miktarı aşmamalıdır" ifadesi yer almaktadır. Bu standartlara göre ürünlere katılabilecek en yüksek nitrat ve nitrit miktarları 300 ppm ve 150 ppm olarak bildirilmektedir (14-17). Kürlenmiş et ürünlerinde satış noktasındaki en yüksek kalıntı nitrat ve nitrit miktarlarının ise 250 mg/kg ve 100 mg/kg olması

¹Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa

gerekmektedir (18). Ancak bazı araştırmacılar, fermente sucuklar ve ısıtma işlemi gören kürlenmiş et ürünlerinde kalıntı nitrat ve nitritin toplam miktarının 100 ppm'den çok olmaması gerektiğini ifade etmişlerdir (19,20).

Et ürünlerinde nitrat ve nitrit miktarlarının belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada (9), örneklerdeki kalıntı nitrat ve nitrit miktarları ortalama olarak sucukta 229.87 ve 20.93 ppm, salamda 141.51 ve 29.51 ppm, sosiste ise 125.76 ve 49.41 ppm düzeyinde bulunmuştur. Bir başka çalışmada (7) ise, aynı değerler sucuklarda 89.58 ve 4.94, salamlarda 64.76 ve 60.32 ve sosislerde 70.84 ve 51.05 ppm olarak tespit edilmiştir.

Et ürünlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri üzerine yapılan araştırmalarda, genel olarak hijyenik ve kimyasal kalitenin düşük olduğu, özellikle de pH değeri, nem ve yağ miktarı ile mikrobiyolojik özelliklerin standartlara uymadığı belirtilmektedir (4,5,7,9,21-24). Bunun nedeni de ülkemizde üretim ve tüketim yönünden oldukça önemli bir konumda olan sucuk, salam ve sosislerin halen büyük oranda ilkel teknolojilerle üretilmesi, kalitesi düşük hammadde, katkı maddesi, baharat ve bağırsakların kullanılması ve gerek üretim gerekse muhafaza aşamalarında hijyenik kurallara yeterince uyulmamasıdır. Bu durumda et ürünlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik kaliteleri bozulmakta ve hem tüketici sağlığı hem de ülke ekonomisi yönünden sakıncalar ortaya çıkmaktadır.

Piyasadaki tüketimi giderek artan sucuk, salam, sosis gibi et ürünlerinde, hammaddeden tüketiciye ulaşıncaya kadar geçen tüm işlem basamaklarında kontaminasyon ve kalite kaybının söz konusu olması ve kullanılan katkı maddelerinin olumsuz etkilerinden dolayı kimyasal ve mikrobiyolojik kontrollerin yapılması tüketici sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Özellikle de son yıllarda oldukça yaygınlaşan büfe ve kafeteryalarda bu ürünlerin çok az bir ısıtma işlemiyle tüketime sunulması konuyu daha da önemli kılmaktadır. Bu araştırmada, Manisa'daki büfe ve kafeteryalarda tüketilen çeşitli firmalara ait sucuk, salam, sosislerin kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikler yönünden Gıda Maddeleri Tüzüğü (GMT) ile Türk Standartları Enstitüsü'nün (TSE) ilgili standartlarına uygunluğunun incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada, Manisa'daki büfe ve kafeteryalarda tüketime sunulan et ürünlerinden 10 sucuk, 5 salam ve 5 sosis olmak üzere toplam 20 örnek materyal olarak kullanılmıştır. Toplanan örneklerde, öncelikle mikrobiyolojik muayeneler yapılmıştır. Geriye kalan kısım kıyma haline getirildikten sonra kimyasal analizlerde kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır.

Deneysel Metotlar:

Kimyasal Analizler: Sucuk, salam ve sosislerin nem miktarı SCALTEC SMO 01 nem tayin cihazıyla belirlenmiştir. Yağ tayini için de aynı cihaz kullanılmış, nemi uçurulan örnekler karbon tetra klorür ile berraklaşmaya kadar (5-7 kez) muamele edilerek tekrar cihaza yerleştirilmiş ve okunan son değerden nem için okunan değer çıkarılarak aradaki fark % yağ olarak değerlendirilmiştir (2,25).

Örneklerin pH değerinin saptanmasında Türk Standartları Enstitüsü'nün referans metodu (TS 3136) kullanılmıştır (26). Su aktivitesi değeri aw WERT-MESSER cihazı ile belirlenmiştir (27). Protein tayininde kjeldahl yöntemi kullanılmıştır (28). Kalıntı nitrat miktarı tayini ksilenol yöntemine, nitrit miktarı ise standart yöntemine göre yapılmıştır (28,29).

Mikrobiyolojik Analizler: Örneklerin toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları, Plate Count Agar (PCA) besiyeri yerine ekimler yapıldıktan sonra $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 72 ± 1 saat inkübe edilerek oluşan kolonilerin sayımı ile belirlenmiştir. Laktik asit bakterilerinin sayımında Man Rogosa Sharp Agar (MRS) besiyeri kullanılmıştır. Maya-küf sayısı Potato Dextrose Agar (PDA), koliform da Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyeri yerine yapılan ekimlerle tespit edilmiştir (30,31).

Bulgular

Manisa'daki büfe ve kafeteryalardan temin edilen sucuk, salam ve sosis örneklerinin kimyasal analiz bulguları Tablo 1'de, sucuk örneklerinin mikrobiyolojik muayene bulguları Tablo 2'de, salam ve sosis örneklerinin mikrobiyolojik muayene bulguları Tablo 3'de ve örneklerdeki mikroorganizma dağılımı da Grafik 1'de verilmektedir.

Tablo 1. Sucuk, salam ve sosis örneklerine ait kimyasal analiz bulguları

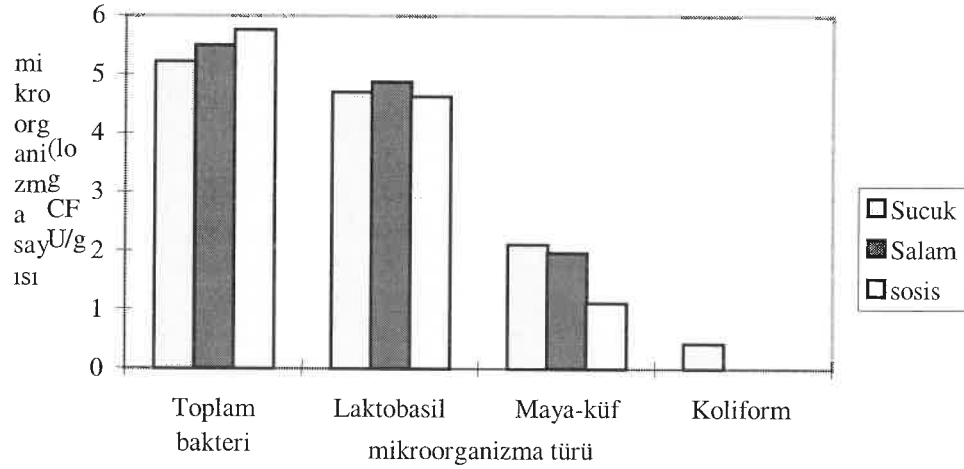
Örnek No	Rutubet (%)	Yağ (%)	Protein (%)	pH	a _w	Kalıntı Nitrat (ppm NaNO ₃)	Kalıntı Nitrit (ppm NaNO ₂)	Nitrat+Nitrit (ppm NaNO ₃)
Sucuk								
1	36.70	23.00	18.69	5.38	0.885	248.61	10.00	260.93
2	41.84	32.47	14.72	6.21	0.951	293.04	12.50	305.54
3	25.75	40.10	19.00	6.76	0.847	543.24	5.00	549.40
4	48.90	41.45	17.56	6.14	0.901	405.85	20.00	430.49
5	44.37	34.78	18.35	5.62	0.976	197.51	5.00	203.67
6	41.74	34.36	17.96	6.18	0.910	331.74	7.00	340.36
7	43.51	28.94	15.34	6.79	0.964	409.38	12.25	424.47
8	40.72	36.63	18.21	5.41	0.890	315.91	10.50	328.85
9	42.86	31.08	17.71	6.63	0.935	233.60	14.00	250.85
10	39.21	40.97	19.08	5.48	0.850	456.03	9.00	467.12
ort.	40.56	34.38	17.66	6.06	0.911	343.49	10.53	356.17
Salam								
1	54.74	28.00	11.54	6.76	0.930	180.60	15.40	199.57
2	47.47	39.30	12.11	6.59	0.934	155.59	26.25	187.93
3	48.00	32.07	11.63	6.55	0.970	12.88	65.00	92.96
4	50.70	30.42	12.44	6.29	0.980	198.12	2.20	200.83
5	54.05	31.77	11.41	6.65	0.976	47.91	35.00	91.03
ort.	50.99	32.31	11.83	6.57	0.958	119.02	28.77	154.46
Sosis								
1	59.25	30.25	12.24	6.67	0.953	142.98	35.00	186.10
2	54.69	34.9	10.61	6.18	0.960	209.08	25.00	239.88
3	58.8	38.5	12.24	6.88	0.957	32.03	5.00	38.19
4	49.22	31.72	11.98	5.88	0.931	81.75	8.00	91.60
5	52.49	36.34	11.91	6.13	0.939	25.44	10.00	37.76
Ort	54.89	34.34	11.80	6.35	0.948	98.26	16.60	118.71

Tablo 2. Sucuk örneklerinin mikrobiyolojik muayene bulguları (log CFU/g)

Örnek No	Toplam bakteri	Laktobasil	Maya-küf	Koliform
1	5.57	7.83	0	0
2	3.75	0	0	0
3	5.28	5.46	4.28	4.23
4	5.23	4.00	3.28	0
5	6.28	6.28	2.92	0
6	3.96	0	0	0
7	5.47	4.87	3.85	0
8	4.84	6.35	2.42	0
9	5.70	5.23	0	0
10	6.14	7.10	4.23	0
ort.	5.22	4.71	2.10	0.42

Tablo 3. Salam ve sosis örneklerinin mikrobiyolojik muayene bulguları (log CFU/g)

Örnek No	Toplam bakteri	Laktobasil	Maya-küf	Koliform
Salam				
1	6.28	5.38	0	0
2	5.04	5.30	0	0
3	5.15	5.38	2.70	0
4	6.34	5.38	4.18	0
5	4.73	2.91	2.97	0
ort.	5.51	4.87	1.97	0
Sosis				
1	7.30	5.08	2.70	0
2	5.00	4.23	0	0
3	5.23	3.15	2.92	0
4	4.90	5.18	0	0
5	6.30	5.46	0	0
ort.	5.75	4.62	1.12	0

**Grafik 1.** Sucuk, salam, sosis örneklerinin mikroorganizma sayılarının genel dağılımı

Tartışma ve Sonuç

Tablo 1'de görüldüğü gibi sucuk örneklerinde kalıntı nitrat miktarı 197.51-543.24 ppm arasında ve ortalama 343.49 ppm, nitrit miktarı da 5.0-20.0 ppm arasında ve ortalama 10.53 ppm düzeyinde bulunmuştur. Bu çalışmada, sucuk örneklerinin %70'inde nitrat miktarı, Türk Gıda Kodeksi'nde kürlenmiş et ürünlerinde satış noktasında bulunması gereken en yüksek kalıntı nitrat düzeyini aşmış, nitrit miktarları ise tüm örneklerde oldukça düşük bulunmuştur. Nitrat ve nitrit miktarları ortalama olarak, salamlarda 119.02 ve 28.77 ppm, sosislerde ise 98.26 ve 16.6 ppm olarak saptanmış ve bu değerler bakımından salam ve sosislerin standartlara uygun olduğu belirlenmiştir. Ancak bazı araştırmacıların (19,20) nitrat+nitrit miktarı toplamı için önermiş olduğu 100 ppm düzeyi dikkate alındığında, sucuk örneklerinin tamamı, salamların %60'ı ve sosislerin de %40'ının tüketime uygun olmadığı gözlenmiştir.

Et ürünlerinin nitrat ve nitrit miktarları, aynı çalışmanın örnekleri arasında olduğu gibi, farklı çalışmaların ortalama değerleri arasında da önemli farklılıklar gösterebilmektedir. Bu durum ürünlere katılan miktar ile üretim tekniklerinin farklı olmasına bağlanmaktadır (9).

Sucuklarda tespit edilen nitrat miktarına ait bulgular, bazı araştırmacıların (7,9,32) değerlerinden yüksek, nitrit miktarı ise Soyutemiz ve Özenir (7)'in bulduğu değerden yüksek, Özer ve Yağmur (9) ile

Batı (32)'nin sonuçlarından düşük çıkmıştır. Salam ve sosislerdeki nitrat miktarlarının Özer ve Yağmur (9)'un bulgularından düşük, Soyutemiz ve Özenir (7)'in bulgularından yüksek, nitrit miktarlarının da diğer araştırmacıların (7,8,9,32) saptadıkları değerlerden düşük olduğu gözlenmiştir.

Araştırmada analize alınan sucuk örneklerinde nem miktarı %25.75-48.90 arasında tespit edilmiş ve örneklerin %70'inde nem miktarının standartlarda belirtilen sınırın (%40) üzerinde olduğu görülmüştür. Bu durum, muhtemelen sucukların olgunlaşmadan piyasaya sürülmüş olmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim aynı örneklerde tespit edilen pH değerlerinin de yüksek olması bu kanıyı güçlendirmektedir (21,24,33,34).

Emülsiyet ürünlerinden olan salamlarda nem miktarının en fazla %65, sosislerde ise %55 olması gerekmektedir. Bu değer, salam örneklerinde %47.47-54.74, sosis örneklerinde %49.22-59.25 arasında saptanmıştır. Araştırma bulgularına göre, salam ve sosisler ortalama nem miktarları bakımından standartlara uymaktadır. Bu ürünlerdeki nem miktarı bazı araştırmacıların (8,34) sonuçlarından düşük bulunmuştur.

Sucuk, salam ve sosis örneklerindeki yağ miktarlarının sırasıyla; %23.00-48.90, %28.00-39.30 ve 30.25-38.50 arasında değiştiği saptanmıştır. Sucuk standardı ve GMT'ye göre sucuklardaki yağ miktarının en fazla %40 olması gerekmektedir. İncelenen sucukların ortalama yağ miktarı bu sınırın altında kalmaktadır. Salam ve sosislerdeki yağ ile ilgili olarak standartlarda doğrudan bir hüküm bulunmamaktadır. Örneklerde tespit edilen % yağ değerleri bazı araştırmacıların (8,24,34) ortalama sonuçlarından yüksek bulunmuş, ancak tüm örneklerde bu değer %41.5'in altında kalmıştır.

Emülsiyet ürünlerinde su/protein oranının en fazla 4.8, yağ/protein oranının da 2 olması gerektiği bildirilmektedir(15,17). Bu çalışmada protein miktarı, salamlarda %11.41-12.44, sosislerde ise 10.61-12.24 arasında bulunmuştur. Buna göre salam örnekleri nem/protein oranı bakımından standartlara uymakta, ancak yağ/protein oranları bir örnek dışında uymamaktadır. Sosis örneklerinin nem/protein oranı ortalama değere göre uygun, örnekler tek tek incelendiğinde ise %40'ının uygun, %40'ının sınırda, %20'sinin de uygun olmadığı görülmektedir. Sosis örneklerinin tümünde yağ/protein oranının 2'den yüksek olduğu, yani yağ miktarının fazla, proteinin ise düşük olduğu saptanmıştır. Yani sosislerdeki protein miktarı standartta belirtilen en az %15 sınırının altında çıkmıştır. Sucuklardaki protein miktarı ise %14.72-19.08 arasında ve ortalama %17.66 bulunmuştur. Bu değer bazı araştırmacıların (8,24) bulgularından yüksek, bazılarının da (34,35) düşüktür. Bu durum muhtemelen olgunlaşma ve kullanılan hammaddenin kalitesiyle ilişkilidir.

Örneklerdeki pH ve su aktivitesi değerlerinin sırasıyla, sucuklarda 5.38-6.79 ve 0.847-0.976, salamlarda 6.29-6.76 ve 0.930-0.980, sosislerde ise 5.88-6.88 ve 0.931-0.960 arasında değiştiği saptanmıştır. Sucuklarda pH değerinin 5.4-5.8 düzeyinde olması gerekmektedir. Araştırmada analize alınan sucukların pH değerlerinin ortalaması bu değerlerin üzerinde bulunmuş ve incelenen örneklerin %60'ının standartlara uygun olmadığı tespit edilmiştir. Salam ve sosislerdeki pH değeri için önerilen üst sınırlar ise 6.4 ve 6.3'tür. Araştırma bulguları salamlarda %80, sosislerde de %40 oranında standartların üzerinde çıkmıştır. Bu da örneklerin çabuk bozulabilir nitelikte olduklarını, yani 5°C'nin altında saklanmaları gerektiğini göstermektedir (36). Örneklerdeki aw değerleri ise Yıldırım (36)'ın bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Araştırmada yapılan mikrobiyolojik muayeneler sonucu elde edilen sucuklara ait bulgular Tablo 2'de verilmiştir. Sucukların toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 3.75-6.28 log CFU/g arasında ve ortalama 5.22 log CFU/g olarak saptanmıştır. Örneklerden sadece ikisinin toplam bakteri sayısının 6 log CFU/g'ın üzerinde olması sucukların mikrobiyolojik kalitelerinin kabul edilebilir düzeyde olduğunu göstermektedir.

Son yıllarda Fermente Türk Sucuklarında kaliteyi geliştirmek ve standart bir ürün elde etmek amacıyla starter kültür kullanılması olgunlaşmış sucuklarda bile toplam aerobik bakteri sayısını arttırmaktadır. Nitekim sucukların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, toplam aerobik bakteri sayısı genelde yüksek bulunmuş, ancak bu bakterilerin çoğunluğunun laktobasil olmasından dolayı sağlık açısından sakıncalı olmadığı belirtilmiştir (4,37).

Bu araştırmada belirlenen toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı TS 1070'de belirtilen sınırlar dahilinde ve Nazlı ve ark. (4)'nın bulgularıyla benzerlik gösterirken, bazı araştırmacıların (22,23,24) sonuçlarından düşük çıkmıştır.

Sucuk örneklerindeki laktik asit bakterilerinin sayısı 0-7.83 log CFU/g arasında ve ortalama 4.71 log CFU/g olarak saptanmıştır. Bu bakterinin geniş bir yelpazeye dağılmasının ürünün hazırlanmasında

starter kültür kullanıp kullanmama ve olgunlaşma süreci ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Laktik asit bakterilerinin sayısı et ürünlerinde 4 log CFU/g ile sınırlandırılmıştır (38). Ancak bu grup bakterilerin sağlık açısından sakınca yaratmadığı bilindiğinden sayının yüksek olması tehlike olarak değerlendirilmemektedir. Özellikle starter kültür kullanılan ürünlerde dominant floranın laktobasillerden oluştuğu dikkati çekmektedir.

Araştırmada sucuklardaki maya-küf sayısı 0-4.28 log CFU/g arasında tespit edilmiştir. Örneklerin %40'ında hiç maya-küf bulunmazken diğer örneklerde bu değer 2 log CFU/g sınırının üzerinde çıkmıştır. Ortalama maya-küf sayısı ise 2.1 log CFU/g olup sınıra çok yakın değerdedir. Tablo 2 incelendiğinde, maya-küf ve toplam aerobik bakteri sayılarının paralellik gösterdiği görülmektedir.

Yapılan çalışmada fermente sucuklarda bir örnek dışında koliforma rastlanmamıştır. FS 1070'e göre (17) de sucuklarda koliform grubu bakterinin bulunmaması gerekmektedir. Örneklerin indikatör mikroorganizma olarak kabul edilen koliformu içermemesi bu ürünlerin fekal bulaşmalara maruz kalmadığını göstermektedir.

Salam ve sosislerin mikrobiyolojik muayene bulgularına göre (Tablo 3), toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı salamlarda 4.73-6.34 log CFU/g, sosislerde ise 4.75-7.30 log CFU/g arasında değişmiştir. Kalite standartlarına göre, salam ve sosiste toplam aerobik bakteri sayısının 5 log CFU/g'ın üzerinde olmaması gerekmektedir. Bu durumda örneklerin çoğunluğu bu bakteri yükü bakımından standartlara aykırıdır. Laktik asit bakterilerinin sayısı ise salamlarda 2.91-5.38 log CFU/g, sosislerde 3.15-5.46 log CFU/g arasında bulunmuştur. Maya-küf ortalama olarak salamlarda 1.97 log CFU/g, sosislerde 1.12 log CFU/g sayılmış ve salam örneklerinin %40'ında, sosis örneklerinin de %60'unda maya-küf ürememiştir. Örneklerde koliform grubu bakteriye de rastlanmamıştır.

Araştırma sonuçlarına göre, salam ve sosislerde toplam bakteri ve laktobasil sayılarının standartların üzerinde olduğu ve mikrobiyolojik yönden düşük kaliteli olarak değerlendirilebilecekleri ortaya çıkmıştır. Ancak koliform ve maya-küf yükünün düşük olması, bu ürünlerde hijyenik kalitenin uygun olduğunu ve bunun da ürünlerin genellikle vakum ambalajlı olarak piyasaya sürülmesinden kaynaklanmış olabileceğini akla getirmektedir. Araştırmada tespit edilen değerler Nazlı ve ark.(4) ile Dabanlioğlu ve Kaya (8)'nin bulgularından yüksek, Ağaoğlu (37)'nin bulgularından düşüktür.

Manisa'daki büfe ve kafeteryalarda tüketilen et ürünlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, sucukların nem, nitrat miktarı ve pH değerlerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Bu ürün örneklerinin %20'sinde toplam aerobik bakteri, çoğunluğunda laktobasil, %60'ında maya-küf ve %10'unda koliform bakteri sayısı standartların üzerinde çıkmıştır.

Salam ve sosislerdeki nem oranı standartların altında bulunmuştur. Yağ/protein oranı bakımından tüm örneklerin standartlara uymadığı ve pH değerinin de salamlarda 6.4'ün üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bu örneklerdeki toplam bakteri sayısı %40, laktobasil %80, maya-küf ise %50 oranında önerilen sınırların üzerinde bulunmuştur.

Sonuç olarak, tüketime sunulan et ürünlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitelerinin düşük olduğu ve arzu edilen kalitede et ürünleri elde edilebilmesi için etkin önlemlerin alınması gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu durumda yapılması gereken, öncelikle hammadde ve katkı maddelerinin kontrol altına alınması, üretimden tüketime kadar tüm aşamalarda hijyenik ve teknolojik kurallara uyulmasıdır. Bu gereksinimleri önemli ölçüde karşılayabilecek sistemler günümüzde oldukça popüler olan ISO 9000 ve HACCP uygulamalarıdır. Modern işletmelerde büyük oranda kabul gören bu uygulamaların orta ölçekli et işletmelerine de adapte edilmesi kalitenin iyileştirilmesinde önemli bir adım olacaktır. Ayrıca çıkartılan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nin derhal uygulamaya konulması ve beklenen gıda yasasının ivedilikle tamamlanması durumunda et ürünlerinin kalite standartlarının arzu edilen düzeye geleceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Kolsarıcı N, Atıcı H; Geleneksel Türk et ürünlerinin Türkiye ekonomisindeki yeri. Standart, 34: 69-73. (1995).
2. Dinçer B; Yerli Sucuklarda Fermentasyon ve Kurumada Bileşimsel, Lipolitik ve Organoleptik Değişiklikler Üzerinde Araştırmalar. (Doçentlik Tezi). TÜBİTAK, VHĞ Grubu Proje No:457, Ankara (1980).
3. Tekinşen O C, Dinçer B, Kaymaz Ş, Yücel A; Türk sucuğunun olgunlaşması sırasında mikrobiyal flora ve organoleptik niteliklerindeki değişimler. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 29(1-2), 111-130 (1982).
4. Nazlı B, Uğur M, Akol N; İstanbul piyasasında tüketime sunulan sucuk, salam ve sosislerin mikrobiyolojik kaliteleri üzerine araştırmalar. İ.Ü.Vet.Fak.Derg., 11(2), 11-15 (1986).
5. Alkan M; Elazığ ve Kayseri Bölgesinde İmal Edilen Fermente Sucukların Mikrobiyolojik, Organoleptik, Fiziksel ve Kimyasal Kaliteleri Üzerine Araştırmalar. (Doktora tezi). S.Ü. Sağlık Bil. Ens., Konya (1989).
6. Atala N; İzmir piyasasında satılan sucuk ve sosislerin kimyasal nitelikleri, toplam yağsız et miktarlarının saptanması üzerine araştırmalar. Etlik Vet. Mikr. Enst. Derg. 5(10,11,12), 69-108 (1992).
7. Soyutemiz G E, Özenir,A.; Bursa'da tüketilen sucuk, salam, sosis ve pastırmalardaki kalıntı nitrat ve nitrit miktarlarının saptanması. Gıda, 21(6), 471-476 (1996).
8. Dabanlıoğlu G, Kaya M; Değişik firmalara ait salamların mikrobiyolojik kalite açısından incelenmesi ve bazı kimyasal özelliklerinin tespiti. Gıda Mühendisliği III. Ulusal Sempozyumu, Ankara. S: 231-236 (1997).
9. Özer E A, Yağmur C; Adana'da tüketime sunulan sucuk, salam ve sosislerdeki kalıntı nitrat ve nitrit miktarlarının belirlenmesi. Gıda Mühendisliği III. Ulusal Sempozyumu, Ankara. S: 368-375 (1997).
10. Christiansen L N, Tomkin,R.B., Shapars,A.B.; Effect of sodium nitrite and nitrate on Clostridium botulinum growth and toxin production in a summer style sausage. J.Food Sci.,40: 488-490 (1975).
11. Tezcan İ; Sosislerde spektrofotometrik metotla kantitatif nitrit tayini üzerinde bir araştırma. Gıda,Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Lalahan Zooteknik Araştırma Enstitüsü, Ankara (1977).
12. Igene J O, Yamauchi,K., Pearson,A.M., Gray,J.I.; Mechanism by which nitrite inhibits the development of warmed-over flavour (WOF) in cured meat. Food Chem. 18: 1-18 (1985).
13. Kramlich,W.E., Pearson,A.M., Tauber,F.W.; Processed Meats. The Avi Publishing Co., Inc., Westport, Conn. (1980).
14. Göktürk,F., Örün,H., Banoğlu,V.; Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlıkla İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük. Titiz Ofset Matbaası, Ankara (1982).
15. Anonymous; Sosis. TS 980. Türk Standartları Enstitüsü. Necatibey cad. No:112, Ankara (1984).
16. Anonymous; Salam. TS 979, Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. No:112, Ankara (1992).
17. Anonymous; Türk Sucuğu. TS 1070, Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. No:112, Ankara (1997a).
18. Anonymous; Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği., Resmi Gazete. Sayı: 23172 (1997b).
19. Murmann D; Determining nitrite/nitrate content in dry sausages in the light of the new regulations. Fleischwirtsch., 63(2), 207 (1983).
20. Vösgen W; Curing. Are nitrite and nitrate necessary or superfluous as curing substances? Fleischwirtsch., 72(12), 1675-1678 (1992).
21. Akol N, Nazlı B, Uğur M; İstanbul'da tüketim için piyasaya sunulan bazı et ürünlerinde kimyasal analizler. İ.Ü.Vet.Fak.Derg. 11(2),23-28 (1985).
22. Gökalp H Y, Yetim H, Kaya M, Ockerman H W; Saprophytic and pathogenic bacteria levels in Turkish Soudjous manufactured in Erzurum, Turkey. J. Food Protection, 51(2), 121-125 (1988).
23. Tayar M, Başeğmez Z; Bursa'da tüketilen fermente sucukların bazı mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri. Veterinarium, 4(1), 22-24 (1993).
24. Sancak,Y.C., Kayaardı,S., Sağun,E., İşleyici,Ö., Sancak,H.; Van piyasasında tüketime sunulan Fermente Türk sucuklarının fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik niteliklerinin incelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv. Vet.Fak.Derg. 7(1-2), 67-73 (1996).
25. Pearson A M, Tauber F W; "Processed Meats". 2nd ed, The AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn (1984).
26. Anonymous; Et ve Et Mamüllerinde pH Tayini (Referans metot) TS 3136, Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. No:112, Ankara (1978).
27. Troller J A, Christian J H B; "Water Activity and Food". Academic Press, Inc., NewYork (1978).
28. Anonymous; Association of Official Analytical Chemist (AOAC). "Official Methods of Analysis". 14th ed. Association of Official Analytical Chemist, Virginia (1984).
29. Gökalp H Y, Kaya M , Tülek Y, Zorba Ö; Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu. Atatürk Üni. Yayın No: 751. Atatürk Üni. Zir. Fak. Ofset Tesisi, Erzurum (1995).
30. Harrigan W F, Mc Cance M E; "Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology". Revised ed., Academic Press, London (1976).
31. Anonymous; Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods. 3th Ed. Ed.by Vanderzant,C and Splittstoesser,D.F. American Public Health Association, Inc. Washington. D.C., USA (1985).
32. Batu B; Türk Sucuklarında Nitrat, Nitrit Katkı Maddelerinin Tayini ve Bunlardan Oluşan Nitrozaminlerin Belirlenmesi. F.Ü. Vet.Fak. (Yüksek lisans tezi), 66s, Elazığ (1983).
33. Ertuş E H, Kolsarıcı N; Salam, sosis ve sucuklarda hidroksiprolin miktarı üzerine araştırma. Gıda, 8(5), 209-215 (1983).
34. Kolsarıcı N, Ertuş H; Bazı et ürünlerinde kollogen bağ doku ve hazmolabilir protein miktarı üzerine araştırma. Gıda, 11(3), 127-134 (1986).
35. Kolsarıcı N, Ertuş A H, Şahin M E; Afyon, Ankara ve Aydın yöresi sucuklarının bileşimi üzerine araştırma. Gıda, 11(1), 34-39 (1986).
36. Yıldırım Y; Et ürünlerimizin su aktivitesi (a_w) değerlerinin saptanması üzerine bir araştırma. B.Ü.Vet.Fak.Derg., 1(1), 9-25 (1989).
37. Ağaoğlu S; Vakumla paketlenmiş sosis ve salamların mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv., Sağlık Bil. Derg., 3(1), 21-25 (1997).
38. Yıldırım Y; "Et Endüstrisi". 3. Baskı. Yıldırım Basımevi, Ankara (1992).

Tavuk ve Bildircının Yumurta Sarısında Total Kolesterol Düzeyi

Nurhayat ATASOY¹

Özet

Çalışmada Veteriner Fakültesi çiftliğinde bulunan Normal White Leghorn ve Albino bildircınlarından toplanan toplam 26 yumurtanın sarısında Gaz Likit Kromatografi ile kolesterol miktarına bakıldı.

Ortalama total kolesterol miktarı tavuk yumurtası sarısında 336.76 mg, bildircın yurruurtası sarısında ise 104.92 mg bulunmuştur.

Bulgular sonucunda tavuk yumurtası sarı ağırlığı ile içerdiği kolesterol miktarı arasında önemli ölçüde pozitif ilişki saptanırken, bildircın yumurtası sarı ağırlığı ile içerdiği kolesterol miktarı arasında aynı şekilde bir ilişki saptanamamıştır.

Anahtar Kelimeler : Tavuk, Bildircın, Yumurta Sarısı, Kolesterol

Summary

Egg Yolk Total Cholesterol Levels in Chicken and Quail

Cholesterol levels in egg yolk of 26 eggs of Normal White Leghorn and Albino quails from Faculty of Veterinary farm were examined with Gas Liquid Chromatography. Average total cholesterol amount in chicken egg yolk was 336.76 mg and quail egg yolk was 104.92 mg.

The findings indicated that there was a close relationship between the weight of chicken egg yolk and its cholesterol content. While the relationship between quail egg yolk and its cholesterol content was found to be different.

Key Words : Chicken, Quail, Egg Yolk, Cholesterol

Giriş

Kolesterol pekçok hayvan hücresinin plazma membranında ve kan plazmasının lipoproteinlerinde, nadiren yüksek bitkilerde ve fitosterollerin yapısında bulunmaktadır. Kolesterol 150 °C'de erimektedir, suda çözünmez, kloroform, eter, benzen, sıcak alkol ile dokulardan kolayca ekstrakte edilmektedir. İlk defa insan safra taşından elde edildiğinden bu isim verilmiştir (1-3).

Kolesterol antihemolitik etkiye sahip bir maddedir. İnsanlardaki kalp rahatsızlıklarında önemli bir etkiye sahiptir. Hayvansal dokulardaki kolesterol miktarı geniş sınırlar arasında değişir. Özellikle beyin, sinir dokusu, adrenal bezler ve yumurta sarısında çok bulunur (4,5).

Yumurta sarısındaki kolesterol miktarı yaş, mevsim, diyet, tüy dökümü, genetiğe bağlı olarak önemli değişiklikler gösterir (6-13).

Bu çalışmanın amacı Van'da yetiştirilen Normal White Leghorn ve Albino bildircınlarının yumurta sarılarındaki total kolesterol miktarını saptamaktır.

Materyal ve Metot

Materyal: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı çiftliğinden elde edilen 13 tane Albino bildircın yumurtası sarısında ve 13 tane de Normal White Leghorn tavuk yumurtası sarısında kolesterol düzeyi ölçüldü.

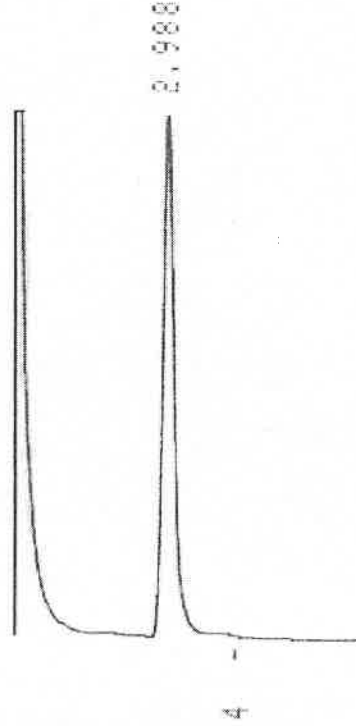
Metot: Yumurta sarısından kolesterolün ekstraksiyonu aşağıdaki şekilde yapıldı (14).

Yumurta ve yumurta sarısının ağırlıkları tartıldıktan sonra, yumurta sarısı homojen hale getirildi. Bir erlene yumurta sarısından 1 gr kondu. Bunun üzerine 3 ml % 95 etilalkol + % 50 potasyum hidroksit karışımından (260 + 40) kondu. Sonra 80 °C'lik bir ısıtıcıda homojen sarılık oluşana kadar ısıtıldı. Homojen sarılık oluşunca ısıtıcıdan indirilerek üzerine 3 ml distile su ve 5 ml hexan konarak 5 dk çalkalandı. Hexan fazı süzülerek alındı ve aşağıdaki koşullarda Gaz-Likit Kromatografiye uygulandı.

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, VAN.

Gaz-Likit Kromatografinin çalışma koşulları:

Dedektör: FID
Kolon ısısı: 270°C
Dedektör ısısı: 300°C
İnjesiyon ısısı: 300°C
Kolon: 2.1 m x 2.6 mm çapında, % 2 silikon OV-1
Chromosob WAW DMCS, 60/80 mech `lik dolgulu kolon.



Kromatogram 1: 10 mikrogramlık kolesterol standart kromatogramı

Bulgular

Tavuk ve bildircin yumurtalarının ağırlıkları, sarı ağırlıkları, total kolesterol düzeyleri ve 1 gram yumurtanın içerdiği kolesterol miktarları Tablo 1 ve Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir. Tavuk ve bildircin yumurta sarıları kolesterol miktarları yönünden karşılaştırıldıklarında aradaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Tablo 1: Tavuk ve bildircin yumurtalarının ağırlık ve total kolesterol düzeyleri.

Numune Sayısı	TAVUK				BILDIRCIN			
	YA	SA	TK	TK/SA	YA	SA	TK	TK/SA
1	38.98	7.55	318	42.11	11.97	3.81	134	35.17
2	41.11	8.23	338	41.06	11.94	3.77	110	29.17
3	43.96	8.96	336	37.50	10.96	3.71	135	36.38
4	44.21	9.17	352	38.38	10.54	3.70	110	29.72
5	43.55	10.00	349	34.90	11.38	3.55	116	32.67
6	33.33	6.85	287	41.89	10.68	3.42	93	27.19
7	35.14	7.47	300	40.16	10.76	3.36	108	32.14
8	43.67	10.82	415	38.35	10.16	3.70	96	25.94
9	39.36	8.00	304	38.00	9.92	3.30	79	23.93
10	43.43	8.34	312	37.41	9.07	3.22	111	34.47
11	43.00	9.97	389	39.01	10.87	3.32	97	29.21
12	40.25	9.32	355	38.09	10.47	3.70	88	23.78
13	39.61	7.60	323	42.50	11.03	3.45	87	25.21
X±Sx	40.73±0.9	8.63±0.32	336.76±1	38.18±0.61	10.75±0.2	3.53±0.05	104.92±4.7	29.61±1.19
	6		0	*	1		6	*

*: P<0.05

YA: Yumurta ağırlığı

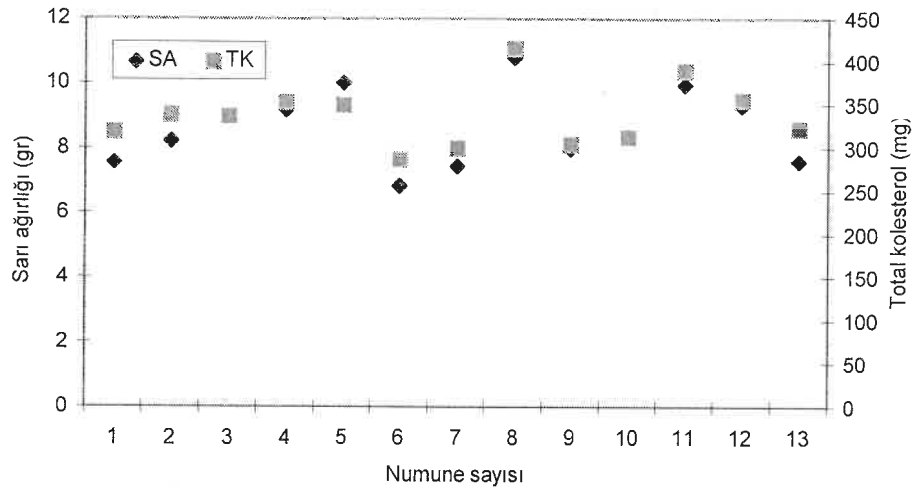
SA: Yumurta sarısı ağırlığı

TK: Total kolesterol

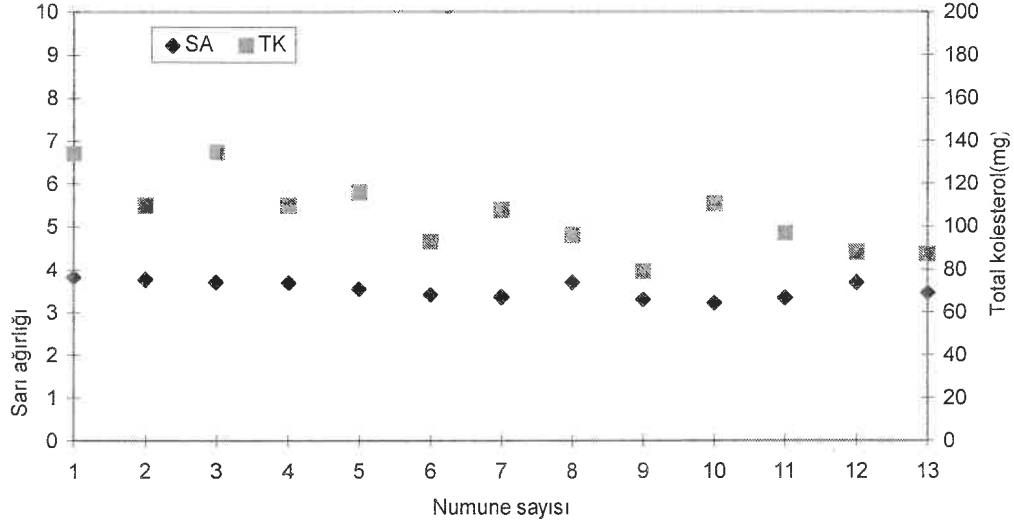
TK/SA: 1 gr. Yumurta sarısındaki kolesterol miktarı

Tablo 2: Tavuk ve bildircin yumurtasındaki yumurta ağırlığı, sarı ağırlığı ve total kolesterol düzeyleri arasındaki ilişki dereceleri.

	TAVUK		BILDIRCIN	
	TK	SA	TK	SA
YA	0.683	0.785	0.431	0.607
SA	0.922		0.464	



Şekil 1: Tavuk yumurta sarısı ve kolesterol düzeyleri.



Şekil 2: Bıldırcın yumurta sarısı ve kolesterol düzeyleri.

Tavuk ve bıldırcın yumurta ağırlığı, sarı ağırlığı ve total kolesterol düzeyleri arasındaki ilişki düzeyleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Yumurta sarılarının ağırlıkları ile içerdiği kolesterol düzeyleri karşılaştırıldığında, tavuk yumurtasının sarı ağırlığı ile içerdiği kolesterol miktarı arasında önemli düzeyde pozitif bir ilişki ($P < 0.01$) tespit edilmiştir. Bıldırcın yumurtasının sarı ağırlığı ile içerdiği kolesterol düzeyleri arasında aynı şekilde bir ilişki saptanamamıştır.

Tartışma ve Sonuç

Van piyasasında tüketime sunulan tavuk yumurtası ve bıldırcın yumurtası sarısındaki total kolesterol miktarı ve aralarındaki korelasyonlar, bazı araştırmacıların bulgularıyla paralellik, bazılarıyla uyumsuzluk gösterdiği görülmüştür (8, 10, 11, 13). Bu uyumsuzluğun kolesterol miktarını etkileyen yaş, cinsiyet, iklim, diyet, genetik, yumurta üretimi gibi faktörlerden ileri geldiği sanılmaktadır. Edwards ve ark (11)' leri aynı soy tavukta ve ayrıca aynı ailedeki tavuklar arasında bile önemli farklılıkların olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan bazı çalışmalarda da (12, 15) yumurta üretimi ile içerdiği kolesterol miktarı arasında pozitif bir korelasyonun olduğu bildirilmektedir. Bu pozitif korelasyonun yumurta ağırlığı ile yumurta üretimi arasındaki negatif korelasyondan ileri geldiği sanılmaktadır.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada tavuk yumurta sarısı ile içerdiği total kolesterol miktarı arasında pozitif bir korelasyonun olduğu, bıldırcın yumurta sarısı ağırlığı ile içerdiği kolesterol miktarı arasında ise böyle bir korelasyonun olmadığı görülmüştür.

Kaynaklar

- 1-Ersoy E., Bayşu N., Ertürk K., Üstüdal KM: Biyokimya, p 142, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları : 358, Ankara, (1979).
- 2-Gözükara EM : Biyokimya, p 998-1002, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, (1997).
- 3-Zubay G : Biochemistry, p 545-554, Addison Wesley Publishing Company, (1983).
- 4-Anderson WP, Reid CM, Jennings GL : Pet ownership and risk factors for cardiovascular disease, Medical Journal of Australia, 157, 5, 298- 301, (1992).
- 5-Zavarey AHT : Effect of dietary protein and dietary energy on blood proteins, urea, lipids, glucose, electrolytes and three enzymes in the blood serum of broiler hybrid and layer hybrid chicks, p 107, Inaugural Dissertation Tierärztliche Hochschule, Hannover, (1984).
- 6-Becker WA, Spencer JV, Verstrate JA, Mirosh LW : Genetic analysis of chicken egg yolk cholesterol, Poultry Sci., 56, 895- 901, (1977).
- 7-Harris PC, Wilcox FH : Studies on yolk cholesterol, 2. Influence of season, Poultry Sci, 42, 182-185, (1963).
- 8-Nix DF, Thornton EJ, Washburn KW, Marks HL : The influence of molting on yolk cholesterol level, Poultry Sci., 53, 412-414, 1974.
- 9-Edwards HM, Jones V : Effect of dietary cholesterol on serum and egg cholesterol levels over a period of time, Poultry Sci., 43, 477-480, 1964.
- 10-Harris PC, Wilcox FH : Studies on egg yolk cholesterol. 3. Effect of dietary cholesterol, Poultry Sci., 42, 186-189, 1963.
- 11-Edwards HM, Driggers JC, Dean R, Carmon JL : Studies on the cholesterol content of eggs from various breeds and or strains of chickens, Poultry Sci., 39, 487-489, (1960).
- 12-Ansah GA, Chan CW, Touchburn SP, Buckland RB : Selection for low yolk cholesterol in Leghorn-Type chickens, Poultry Sci., 64, 1-5, (1985).
- 13-Caruzzo C, Guarda F, Bertello F, Cassader M, Conti MA : Effect of animal protein and cholesterol in the diet on plasma lipids and atherosclerosis in pigs, Summa, 1, 2, 109-113, (1984).
- 14-Onno T, Inno Y : Compari-on of determination methods of cholesterol in avian eggs and the total cholesterol content in those eggs, J. jpn. Soc. Nutr. Food Sci., 37, 475-478, (1984).
- 15-Washburn KW, Marks HL : Changens in egg composition of lines selected for divergence in yolk cholesterol concentration, Poultry Sci., 64, 205- 211, (1985).

Tiftik Keçilerinin Serum ve Kıllarında Bakır ile Çinko Düzeyleri

Nurhayat ATASOY¹

Özet

Bu çalışmada Van' da yetiştirilen Tiftik keçilerinden alınan 30'ar adet kan serumu ve kılta Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre ile bakır ve çinko düzeylerine bakıldı.

Analiz sonucunda kılta bakır miktarı 31.90 ppm, çinko 98.29 ppm; kan serumunda bakır 1.17 ppm, çinko 1.05 ppm bulundu. Bulgular sonucunda kıl bakır düzeyleri ile kan serumu bakır düzeyleri arasında önemli düzeyde ($p < 0.05$) pozitif ilişki, serum bakır ile kıl çinko düzeyleri arasında negatif ilişki bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler : Tiftik Keçisi, Kıl, Serum, Bakır, Çinko

Summary

Zinc and Cooper Levels in Blood Serum and Hairs of Angora Goats

30 blood serum and hair samples collected from angora goats raised in Van were examined with Atomic Absorbtion Spectrophotometer to detect the copper and zinc levels.

The results showed that Cu level was 31.90 ppm and Zn level was 98.29 ppm in hair, while Cu level was 1.17 ppm and Zn level was 1.05 ppm in blood serum samples. There was a correlation between Cu levels of hair and blood samples ($p < 0.05$) while the correlation between seum Cu levels and hair Zn levels was found to be negative.

Key Words : Angora goat, Hair, Serum, Zinc, Copper

Giriş

Mineral maddeler, hayvanların sağlıklı biçimde gelişme, büyüme, üreme ve verimlilikleri için gerekli temel besin unsurlarındandır. Bunların tümü su veya besinlerle dışardan alınır. Her hangi bir bitkideki belli bir mineralin miktarı, o bitkinin yetiştiği toprağa ve topraktaki yoğunluğuna, bitkinin tipine ve gelişme dönemindeki çevre faktörlerine bağlılık gösterir. Bu durum herhangi bir yörede yetiştirilip yem olarak kullanılan tarım ürünlerini yiyen hayvanlarda karşılaşılan mineral madde noksanlıkları veya zehirlenmelerin en önemli sebepleri arasındadır (1, 2).

Bakır temel iz elementlerden birisidir; kanın şekillenmesi, bağ doku metabolizması, yeni doğanlarda miyelin oluşması, kemiğin şekillenmesi, deri veya kılların renginin oluşmasına doğrudan girer. Bakır sitokrom oksidaz ve aromatik aminoasitlerin metabolizmasına giren birçok enzimin (tirozinaz, dopamin hidroksilaz, monoamin oksidaz gibi) yardımcı faktörü olarak görev yapar (1, 3, 4).

Ağızdan alındıktan sonra sindirim kanalından çok sınırlı olarak emilir,dolaşıma geçen bakır karaciğer tarafından tutulur ve bazı doku proteinlerine katılır. Aralarında ters etkileşme olması nedeniyle molibden, çinko, demir ve kalsiyum bakırın kullanılmasını azaltır (5, 6).

Bakır toprak ve bitkilerde hayvanların ihtiyacını karşılayacak miktarda bulunur. Kuru ağırlık hesabına göre yemlerde 5-8 ppm arasında bakır bulunması hayvanların çoğunda noksanlığı önlemek için yeterli olmaktadır. Bakırın noksanlığı halinde, dolaşım ve karaciğer depolarındaki bakırın tükenmesi sonucunda omurlukte miyelin kaybı ve beyinde nekroz ile karakterize olan enzootik ataksi diye bilinen hastalık tablosu ortaya çıkar (7, 8, 9, 10, 11).

Çinko da vücutta ihtiyaç duyulan temel iz elementlerden birisidir. Hayvansal ve bitkisel dokularda ve özellikle süt ve balık ununda yüksek oranda bulunur. Karbonik anhidraz, alkali fosfataz gibi birçok enzimin yapısına girer. Çinko özellikle kıl, tüy, kas ve erkek üreme organlarında yüksek oranda bulunur. Vücudun normal gelişmesi ve onarımı için çinkoya ihtiyaç duyulur (8,12-15).

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, VAN.

Bu çalışmada Van Bölgesinde yetiştirilen kıl keçilerinin kıl ve serumlarındaki bakır ve çinko düzeylerine bakılarak söz konusu elementlerin kalıntı düzeylerinin saptanması ve bu iki element arasındaki ilişki düzeylerini ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal: Araştırma materyali olarak Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi çiftliğinde yetiştirilen kıl keçilerinden alınan 30 adet kan ve 30 adet kıl numunesinde Cu ve Zn bakıldı.

Metot:

Serum Cu ve Zn Düzeyinin Ölçülmesi: Kan örneklerinin serumları 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek alındı. Serum örnekleri 5 ml'lik tüplere konarak % 1 Triton X 100 solüsyonu ile sulandırıldı. Daha sonra Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre'de ölçümler yapıldı (16).

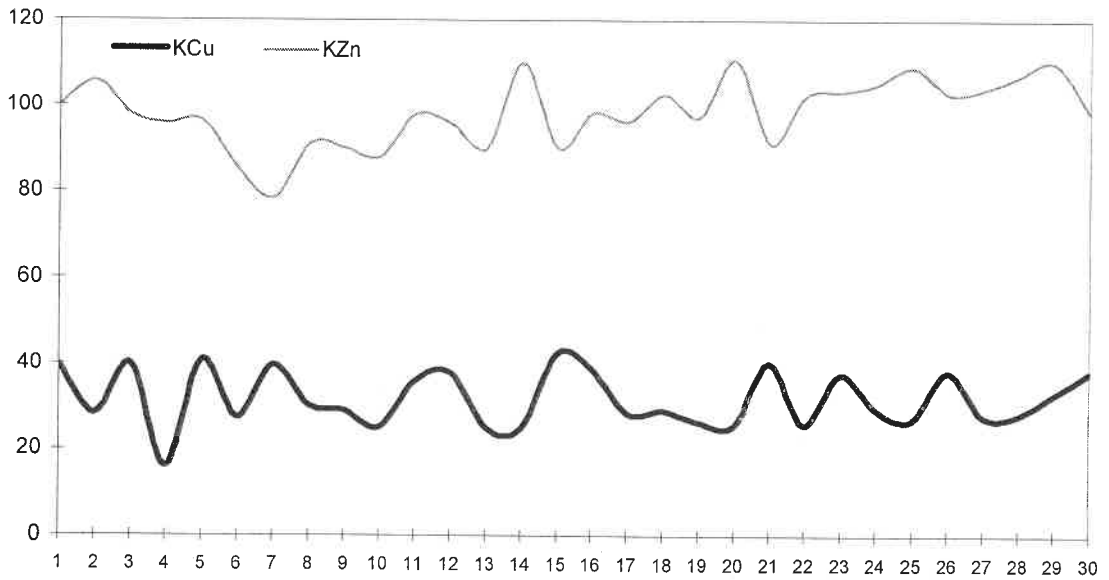
Kıl Örneklerinde Cu ve Zn Düzeyinin Ölçülmesi: Kıl örnekleri % 1 Triton X 100 solüsyonu ile 4 kez ve bidistile deionize su ile 2 kez yıkandı ve etüvde 100 °C' de 2 saat kurutuldu. Kurutulan kıl örneklerinden 200 mg tartılarak 10'lik tüplere kondu. Üzerine 1.2 ml nitropërklorik asit karışımı (nitrik asit + perklorik asit karışımı 1/5 v/v) kondu. Daha sonra kıl örneği ve asit karışımının içinde bulunduğu tüpler 60 °C'de 6-7 saat süreyle benmaride bekletildi. Çözünmüş kıl örnekleri 10 ml'lik balon jojelere % 1 Triton X 100 solüsyonla 10 ml'ye tamamlandı. Tamamlandıktan sonra Alevli Atomik Spektrofotometre'de ölçümler yapıldı (16, 17).

Bulgular

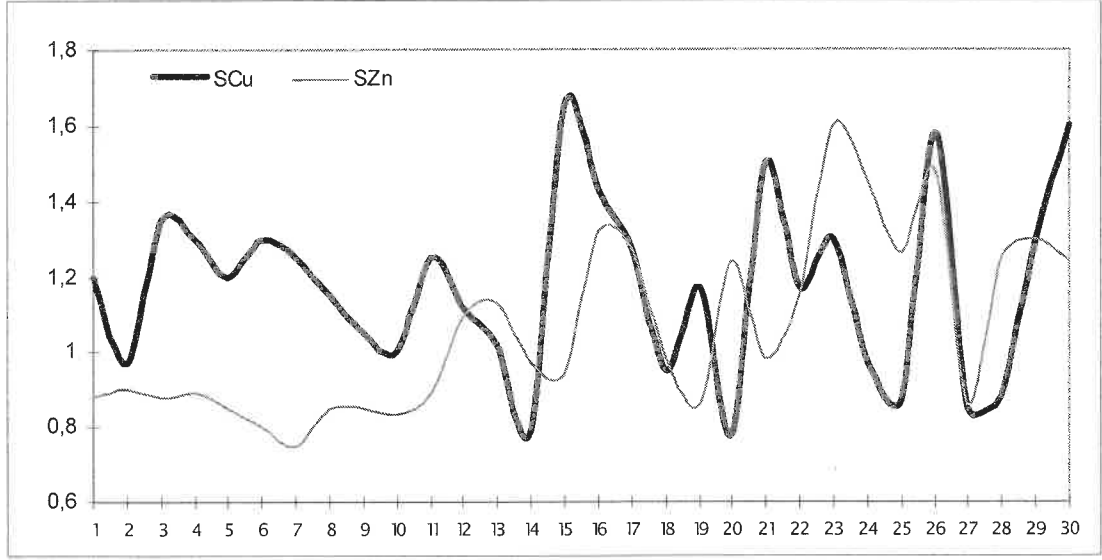
Kıl ve Kan serumlarında elde edilen çinko ve bakır düzeyleri Tablo 1 ve Şekil 1-2'de verilmiştir.

Tablo 1: Tiftik keçilerine ait kıl ve kan serumu Cu ve Zn değerleri.

	Kıl Cu	Kıl Zn	Kan serumu Cu	Kan serumu Zn
Numune sayısı	30	30	30	30
Ortalama	31.90	98.29	1.17	1.05
Std. Hata	1.21	1.45	0.04	0.04
Minimum	16.05	78.4	0.78	0.75
Maksimum	42.50	110.7	1.65	1.60



Şekil 1: Tiftik keçilerine ait kıllarda tespit edilen Cu ve Zn düzeyleri.



Şekil 2: Kan serumunda ölçülen Cu ve Zn düzeyleri.

Kıl Cu ve Zn ile kan serumu Cu ve Zn değerleri arasındaki ilişki (korelasyon katsayıları) düzeyleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2: Kıl Cu ve Zn ile kan serumu Cu ve Zn değerleri arasındaki ilişki

	Scu	Szn	Kzn
KCu	0.622	0.073	-0.218
Kzn	-0.412	0.543	
SZn	0.097		

KCu: Kıl bakır

KZn: Kıl çinko

SCu: Kan serumu bakır

SZn: Kan serumu çinko

Tablo 2’de görüldüğü gibi Kıl bakır düzeyleri ile kan serumu bakır düzeyleri arasında önemli düzeyde ($p < 0.05$) pozitif bir ilişki elde edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Kan serumu ve kıl çinko ile kan serumu bakır düzeylerinin saptanması subklinik çinko ve bakır yetersizliğinin tanısında zorunlu olmakla birlikte, bu parametreler yaş, ırk, cinsiyet, iklim, rasyon, gebelik ve laktasyon gibi çeşitli faktörlerden etkilenirler (18, 19, 20). Yetersizliklerin daha doğru olarak ortaya konmasında adı geçen faktörlerin göz önüne alınmasında yarar vardır.

Çeşitli araştırmacılara göre (21, 22, 23) sağlıklı keçilerin serumundaki bakır ve çinko değerleri 0.8-1.2 ppm arasında değişmektedir. Taylor (24), keçilerin kan serumundaki bakır düzeyini 0.1-0.4 ppm, Unanian ve ark'ları (25) 0.86 ± 0.09 ppm, Sarkar ve ark'ları (26) 0.92 ppm olarak, McDowell ve ark'ları (27) ise keçilerin kan serumundaki çinko seviyesini 0.54 ppm olarak bildirmişlerdir.

Sonuç olarak keçilerin serum bakır ve çinko değerleri bazı araştırmacıların (21, 22, 23) bildirdiği normal değerler arasında bulunmuştur. Öte yandan serum bakır ile kıl çinko düzeyleri arasında negatif ilişki bulunması, serum ve kıl çinko düzeyleri arasında dikkate değer bir ilişki saptanmaması araştırmacıların (6, 28) bulgularını destekler niteliktedir.

Kaynaklar

- 1-Kaplan LA, Pesce AJ : Clinical Chemistry, 2 th Ed, The C. V. Mosby Company, St Louis, p 535-536, (1989).
- 2-Booth NH, McDonald LE : Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 6 th Ed, Iowa State University Press, Ames, p 708-719, (1988).
- 3-Gill BS, Kwatra MS, Sharma DR, Singh R : Outbreaks of acute toxic hepatitis in sheep and goat, J. of Res. Punjab Agric Univ., 29, (3) , 397-399, (1992).
- 4-Sarkar S, Misra SK, Bhowmik MK, Samanta AK, Basak DN : A note of anaemia in goats of alluvion belt of West Bengal, Indian Vet. J., 69, (12), 1139-1141, (1992).
- 5-Jacob RA, Munoz JM, Sandstead HH : Whole body surface loss of trace metals in normal males, Am. J. Clin. Nutr., 34, 1379, (1981).
- 6-Benemariya H, Robberecht H, Deelstra H : Zinc, cooper and selenium in milk and organs of cow and goat from Brundi, Africa, Sci. Total Environ., 128, (1), 83-98, (1993).
- 7-Waslien CI : Human intake of trace elements. In : Trace Elements in Human Health and Disease. Vol 2, Essential and Toxic Elements, Academic Press, New York, p 347, (1976).
- 8-Anke M, Hennig A, Grun M, Partschefeld M, Groppe B : Influence of Mn, Zn, Cu, I, Se, Mo and Ni deficiencies on the fertility of ruminants. Wissenschaftliche Zeitschrift der Karl Marx Universität Leipzig Mathematisch Naturwissenschaftliche Reihe, 26, (3), 283-292, (1977).
- 9-Partschefeld M, Anke M, Grun M : Possibilities of the biochemical diagnosis of neuromuscular defects caused by the deficiency of selenium, manganese and copper, 3 rd Symposium on Neuromuscular Disorders, September 12-14, 263- 267, Czechoslovakia. (1975).
- 10-O'Sullivan BM : Enzootic ataxia in goat kids, Aus. Vet. J., 53, (9), 455-456, (1977).
- 11-Banton MI, Lozano AF, Nicholson SS, Jowett PLH, Fletcher J, Olcott BM : Enzootic ataxia in Louisiana goat kids. J. Vet. Diagn. Inves., 2, (1), 70-73, (1990).
- 12-Aggett PJ, Harries JT : Current Status of Zinc in Health and Disease States. Arch. Dis. Child., 54, 909, (1979).
- 13-Iyengar GV, Kollmer WE, Bowen HJM : The Elemental Composition of Human Tissues and Body Fluids, Weinheim Verlag Chemie, (1978).
- 14-Jacob RA : Zinc and copper, Clin. Lab. Med., 1, 743, (1981.)
- 15-Neathery MW, Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP : Effects of long term zinc deficiency on feed utilization, reproductive characteristics and hair growth in the sexually mature male goat, J. Dairy Sci., 56, (1), 98-105, (1972).
- 16-Ölçücü A, Çağlar P : Zinc levels in human hair and serum of infants and their relationship to various diseases in the uoocer euphrates basin, J Trace Elements Experimen Med., 6, 141-145, (1993).
- 17-Kunç Ş : The determination of certain trace elements in human serum, urine and hair, J Fırat Uni., 2, (1), 1-9, (1987).
- 18-Miller WJ, Powell GW, Pitts WJ, Perkins HF : Factors affecting zinc content of bovine hair, J Dairy Sci, 48,1091-1095, (1965).
- 19-Perry TM, Beeson WM, Smith WH, Mohler MT : Value of zinc supplementation of natural rations for fattening beef cattle, J Anim. Sci., 27, 1674-1677, (1968).
- 20-Pryor WJ : Plasma zinc status of dairy cattle in the periparturient period, New Zealand Vet. J, 24, (4), 57-58, (1976).
- 21-Baufundo KW, Baker DH, Fitzgerald PR : Zinc utilization in the chick as influenced by dietary concentrations of calcium and phytate and by Eimeria acevulina infection, Poultry Sci., 63, 2430-2437, (1984).
- 22-Rosenberger G : Clinical Examination of Cattle, Verlag Paul Parey, Berlin, p 136-137, (1979).
- 23-Underwood EJ : The Mineral Nutrition of Livestock, 2. Ed., Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, (1981).
- 24-Taylor PA : Enzootic ataxia (swayback) in goats (correspondance), Canadian Vet J, 23, (3), 105, (1982).
- 25-Unanian MDS, Feliciano AED : Trace elements deficiency : association with early abortion in goats, Int Goat and Sheep Res, 2, 2, 129-134, (1984).
- 26-Sarkar S, Mishra SK, Das SK : Soil, plant and animal relationship in respect of micronutrients in anaemic Black Bengal goats (Capra hircus), Indian J Ani Health, 29, 1, 59-64, (1990).
- 27-McDowell LR, Gordon BJ, Merkel RC, Fadok V, Wilkinson NS, Kunkle GA : Mineral status comparisons in goats in Florida, with emphasis on zinc deficiency, Small Rum Res., 5, (4), 327-335, (1991).
- 28-Broek AHM, Van den Stafford WL : Zinc and copper concentrations in the plasma and hair of normal cats, Vet. Rec, 131, (22), 512-513, (1992).

Van'da Satışa Sunulan Torba Yoğurtlarının Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerinde Araştırmalar

Sema AĞAOĞLU¹

Yakup Can SANCAK¹
Süleyman ALEMDAR¹

Kamil EKİCİ¹

Özet

Bu çalışmada, Van piyasasında satışa sunulan toplam 30 adet torba yoğurdunun kimyasal ve mikrobiyolojik kalite nitelikleri incelenerek, Gıda Maddeleri Tüzüğüne (GMT) uygunlukları araştırıldı. Mikrobiyolojik analizler sonucunda, ortalama maya ve küf sayısı 3.0×10^7 kob/g, koliform grubu mikroorganizma sayısı 1.0×10^3 kob/g ve fekal streptokok sayısı 6.0×10^2 kob/g olarak saptandı. Kimyasal analizler sonucunda ise ortalama kuru madde miktarı % 27.15, yağ miktarı %7.72, yağsız kuru madde miktarı % 19.43, asidite değeri % 2.02 (LA) ve pH değeri 3.32 olarak belirlendi. Torba yoğurtlarının tamamı kimyasal ve mikrobiyolojik yönden Gıda Maddeleri Tüzüğünde bildirilen kriterlere uygun bulunmadı.

Sonuç olarak, torba yoğurdunun geleneksel yöntemlerle ve hijyenik kurallara uyulmadan üretilmesinin, halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceği kamsına varıldı.

Anahtar kelimeler: Torba yoğurdu, Kimyasal, Mikrobiyolojik, Kalite

Summary

Chemical and Microbiological Qualities of Strained Yoghurt Sold in Van

In this study, chemical and microbiological qualities of totally 30 strained yoghurt samples sold in Van market were determined and researched as to availability to Food Regulations. The result of microbiological analysis were as follows; the number of yeast and mould 3.0×10^7 cfu/g, of coliform microorganism' 1.0×10^3 cfu/g, of fecal streptococcus 6.0×10^2 cfu/g in turn. The result of chemical analysis were as follows; the average amount moisture 72.85 %, of drymatter 27.15%, of fat 7.72%, of nonfat drymatter 19.43 %, value of acidity as lactic acid 2.02 % and value of pH 3.32. All of them with regard to chemically and microbiologically of strained yoghurt were not found suitable with regard to Food Regulations.

As a result it was concluded that having strained yoghurt with primitive methods and it's not being suitable to hygienic rules might result in a potential risk with respect to public health.

Key Words: Strained yoghurt, Chemical, Microbiological, Quality.

Giriş

Fermente bir süt ürünü olan yoğurt, içerdiği fazla miktarda su, yapım ve muhafaza koşullarına bağlı olarak sınırlı raf ömrüne sahiptir. Ülkemizde yaygın olarak tüketilen ve önemli bir besin kaynağı olan yoğurdun uzun süre muhafazasını sağlamak amacıyla bir çok dayanıklı-konsantre yoğurt çeşidi üretilmektedir. Bunlardan en çok bilineni torba yoğurdudur (1, 2). Yapımı tamamen geleneksel yöntemlere dayanan bu ürün, Gıda Maddeleri Tüzüğünde (3) "yağlı, yarım yağlı veya yağsız yoğurtların veya ayranların torbada süzülmesi veya başka bir yöntemle suyunun alınmasıyla elde edilen katı kıvamlı yoğurt çeşidi" olarak tanımlanmaktadır. Ülkemizin değişik yörelerinde üretilen torba yoğurtlarının kalitesi ile ilgili bilimsel çalışmalar yapılmıştır.

Eralp (4) Ankara'da tüketime sunulan torba yoğurtları üzerinde yaptığı çalışmada ortalama su miktarını %81.40 yağ miktarını %2.21, asitlik derecesini 123 (⁰SH) olarak tespit etmiştir.

Kayıkcılar (5) İzmir ve yöresinden sağladığı torba yoğurtlarında ortalama su, kuru madde, yağ ve asitlik değerlerini sırasıyla %81.17, %18.83, %5.10 ve 104.5 (⁰SH) olarak belirlemiştir.

Tatlı (6) incelediği torba yoğurdu örneklerinde kuru madde miktarını %21.90, yağ miktarını %5.80, asitlik derecesini 114.76 (⁰SH) , pH değerini 3.80 olarak saptamıştır.

Bazı araştırmacılar (7), Denizli yöresinde üretilen torba yoğurtlarında kuru madde miktarını %22.74, yağ miktarını %6.30 ve asitlik derecesini 76.55 (⁰SH) olarak belirlemişlerdir.

Ankara'da tüketime sunulan torba yoğurtlarının bileşimi ile ilgili yapılan bir çalışmada (8)

¹ Y.Y.Ü. Veteriner Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi A.B.D., VAN.

ortalama kuru madde % 19.41, yağ %2.54, asitlik derecesi 100.61 (⁰SH) ve pH değeri 3.52 olarak tespit edilmiştir.

Yağın ve ark. (9) Konya'da satışa sunulan torba yoğurtlarında ortalama kuru madde, yağ, asitlik ve pH değerlerini sırasıyla %23.26, %5.80, %2.80 (LA) ve 3.60, koliform sayısını 1.6×10^3 /g (1 numunede) ve maya-küf sayısını 1.2×10^6 - 2.7×10^7 /g olarak belirlemiştir.

Gıda Maddeleri Tüzüğünde (3), torba yoğurdunda bulunabilecek su miktarı en çok %70, yağ miktarı yağlı olanların 100 gramında en az 5 gram, yarım yağlılarda en az 2.5 gram, yağsız kuru madde miktarı en az % 30, asitlik derecesi (süt asidi hesabıyla) en çok % 2.25, maya-küf sayısı gramda en çok 50 olarak sınırlandırılmış ve patojen mikroorganizma bulunmaması gerektiği bildirilmiştir.

Bu çalışma, Van piyasasında satışa sunulan torba yoğurtlarının kimyasal ve mikrobiyolojik kalite niteliklerini belirlemek ve Gıda Maddeleri Tüzüğüne uygunluğunu ortaya koymak amacıyla ele alınmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmanın materyalini Van piyasasında satışa sunulan toplam 30 adet torba yoğurdu oluşturdu.

Numune alımı: Torba yoğurdu numuneleri TS 1330'da (10) bildirilen kurallar çerçevesinde, piyasadan düzenli aralıklarla ve tesadüfi olarak sağlandı.

Steril cam kavanozlara alınan numuneler en kısa sürede laboratuvara getirilerek aynı gün analizlere başlandı.

Mikrobiyolojik Analizler

Numunelerin Analize Hazırlanması: Laboratuvarda aseptik koşullarda tartılan 10 g numune, 90 ml steril peptonlu su (%0.1) ilavesi ile homojenize edildi. Hazırlanan bu ilk seyreltiden (10^{-1}) aynı seyreltici ile 10^{-6} 'ya kadar seyreltildi. Numunenin uygun dilüsyonlarından ilgili besi yerlerine çift paralelli ekimler yapıldı.

Koliform Grubu Mikroorganizma Sayımı: Koliform grubu mikroorganizmaların sayımında Violet Red Bile Agar (Difco) besi yeri kullanıldı. Çift kat dökme plak metodu ile ekimi yapılan plaklar 37 ± 1^0 C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, koyu kırmızı koloniler koliform grubu mikroorganizma olarak değerlendirildi (11).

Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayımı: Fekal streptokok mikroorganizmaların sayımı için Slanetz and Barthley (Oxoid) besi yerine damla plak yöntemi ile ekim yapıldı. Plaklar 37 ± 1^0 C'de 48 saat inkübe edildikten sonra, 1-2 mm çapındaki kırmızı koloniler sayıldı (11).

Maya-Küf Sayımı: Maya-küf sayımı için %10'luk tartarik asit ile pH'sı 3.5'e ayarlanan Potato Dextrose Agar (Oxoid) besi yeri ve damla plak yöntemi kullanıldı. Plaklar 25 ± 1^0 C'de 72 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi (12).

Kimyasal Analizler:

Numunelerde pH değeri pH metre (Nel Elekt. 890) ile 25 ± 1^0 C'de saptandı (13). Asidite değeri % laktik asit cinsinden (L.A.), kuru madde ve yağ miktarları TS 1330 yoğurt standardında (10) önerilen metotlarla, yağsız kuru madde miktarı ise yüzde (%) hesaplama yöntemiyle (14) tespit edildi.

Bulgular

Torba yoğurtlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Torba yoğurtlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları

Mikroorganizma	n	x	Sx	En az	En çok
Maya - Küf	30	3.0×10^7	0.1×10^1	6.7×10^6	8.3×10^7
Koliform grubu	30	1.0×10^3	0.1×10^1	0	4.8×10^3
Fekal streptokok	30	6.0×10^2	0.1×10^1	0	3.5×10^3

Tablo 1 incelendiğinde, maya-küf yönünden numunelerin tamamının kontamine olduğu ve sayısının 6.7×10^6 - 8.3×10^7 kob/g arasında değiştiği belirlendi.

Numunelerin %43.3'ünde fekal streptokok, %30'unda ise koliform grubu mikroorganizmaya rastlanmadı. Geriye kalan numunelerde fekal streptokok sayısı 3.9×10^1 - 3.5×10^3 kob/g arasında ve ortalama 6.0×10^2 kob/g, koliform grubu mikroorganizma sayısı 1.9×10^2 - 4.8×10^3 kob/g arasında ve ortalama 1.0×10^3 kob/g olarak tespit edildi.

Torba yoğurtlarının kimyasal analiz sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Torba yoğurtlarının kimyasal analiz sonuçları

Nitelikler	n	x	Sx	En az	En çok
Su (%)	30	72.85	0.41	66.55	76.13
Kuru madde (%)	30	27.15	0.41	23.87	33.45
Yağ (%)	30	7.72	0.39	3.40	10.60
Yağsız Kuru Madde (%)	30	19.43	0.51	14.01	26.19
Asidite (% L.A.)	30	2.02	0.08	1.17	3.33
PH	30	3.32	0.05	2.90	3.80

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, Van piyasasından sağlanan 30 adet torba yoğurdunun, kimyasal ve mikrobiyolojik kalite nitelikleri incelendi.

Mikrobiyolojik analizler sonucunda, torba yoğurdu numunelerinde maya - küf sayısı ortalama 3.0×10^7 kob/g olarak belirlendi. Bu değer, Yalçın ve ark.'nın (9) bulgularıyla benzer olmasına karşın, Gıda Maddeleri Tüzüğünde (3) bildirilen değerlerden farklı bulundu. Bu durum muhtemelen hammaddenin kalitesi, numunelerin içerdiği su miktarı, yapım ve muhafaza koşullarından kaynaklanmaktadır. Numunelerin %56.7'sinde fekal streptokok sayısı 3.9×10^1 - 3.5×10^3 kob/g arasında ve ortalama 6.0×10^2 kob/g, numunelerin % 70'inde ise koliform grubu mikroorganizma sayısı 1.9×10^2 - 4.8×10^3 kob/g arasında ve ortalama 1.0×10^3 kob/g olarak tespit edildi. Bu bulgu torba yoğurtlarının üretim, muhafaza ve satışları esnasında hijyenik kurallara yeterince uyulmadığı düşüncesini akla getirmektedir.

Numunelerde ortalama su, kuru madde ve yağ miktarları sırasıyla % 72.85, % 27.15 ve % 7.72 olarak tespit edildi. Belirlenen bu değerler birçok araştırmacının (4-9) bulgularıyla paralellik göstermemektedir. Ayrıca numunelerin tamamı yağsız kuru madde, % 90'ı ise su miktarı yönünden Gıda Maddeleri Tüzüğünde (3) bildirilen değerlere uygun bulunmamıştır. Bu durum torba yoğurdu yapımında kullanılan sütlerin kalitesi, çeşidi ve üretimde standart bir metodun uygulanmamasından kaynaklanabilir. Yağ miktarı yönünden elde edilen değerler analiz edildiğinde, torba yoğurtlarının % 86.7'sinin yağlı, % 13.3'ünün ise yarım yağlı yoğurttan imal edildiği anlaşılmaktadır.

Torba yoğurtlarında yağsız kuru madde miktarı ortalama % 19.43 olarak saptandı. Bu durum numunelerin içerdiği yağ ve kuru madde miktarı ile açıklanabilir.

Numunelerde ortalama pH değeri 3.32, asidite değeri ise % 2.02 (L.A.) olarak belirlendi. Elde edilen bu değerler birçok araştırmacının (4 - 9) bulgularından farklılık gösterdi. Numunelerin % 23.3'ünde belirlenen asidite değeri Gıda Maddeleri Tüzüğünde (3) bildirilen en çok laktik asit miktarına uygunluk göstermedi. Bu konuda üretimde kullanılan hammaddenin kalitesi, yoğurdun mayalama ve muhafaza ısısı önemli ölçüde etkili olmuştur.

Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre torba yoğurdu numunelerinin %56.7'sinde fekal streptokok, %70'inde koliform grubu mikroorganizma saptandı. Ayrıca numunelerin tamamının maya-küf ve yağsız kuru madde miktarı, %90'ının su miktarı, %23.3'ünün asidite değeri yönünden Gıda Maddeleri Tüzüğüne (3) uygunluk göstermediği belirlendi.

Sonuç olarak, Van piyasasında satışa sunulan torba yoğurtlarının hijyenik kalitesinin yetersiz olduğu, bu durumun tüketici sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Eralp M, Kaptan N: Antalya İli Genel Sütçülüğü ile Süt Mamülleri Üzerinde İncelemeler. A.Ü. Zir. Fak. Yay. No: 436, 25-26, A.Ü. Basım evi, Ankara (1970).

2. Yöney Z: Türkiye Sütçülüğü ve Sorunları. A.Ü. Zir. Fak. Yay. No: 452, Yardımcı Ders Kitabı: 154, A.Ü. Basım evi, Ankara (1967).
3. SSY Bakanlığı Gıda Maddelerinin Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük. Yayın No: 161, SSYB, Ankara (1952).
4. Eralp M: Torba Yoğurdu. A.Ü. Zir.Fak. Süt ve Mam. Kürsüsü Çalışmaları. Nur Matbaası, Ankara (1953).
5. Kayıkçılar E: İzmir'de Torba Yoğurdunun Yapılışı ve Özellikleri Üzerinde İncelemeler. Mezuniyet Tezi. E.Ü. Zir. Fak. Zir.Tek. Böl., İzmir (1971).
6. Tatlı F: Süzme (Torba) Yoğurtların Yapılışı ve Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Mezuniyet Tezi. A.Ü. Zir. Fak., Ankara (1984).
7. Töral AR, Tekbıyık L, İldeş Z: Denizli ve Bölgesi Torba Yoğurtları Üzerinde Kimyasal ve Teknolojik Araştırmalar. Pendik Vet. Mik. Enst. Derg., 17 (1-2), 23-34 (1985).
8. Atamer M, Sezgin E, Yetişmeyen A: Torba Yoğurtlarının Bazı Niteliklerinin Araştırılması. Gıda Der. 11(41), 283-288 (1988).
9. Yaşın S, Tekinşen OC, Nizamlıoğlu M: Konya'da Tüketime Sunulan Torba Yoğurtlarının Kalitesi. S.Ü. Vet.Fak.Derg., Cilt:4, Sayı:1, 143-147 (1988).
10. Türk Standartları Enstitüsü: Yoğurt Standardı, TS. 1330, TSE, Ankara (1984).
11. Harrigan WF, and Mc Cance ME: Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology Revised Ed., Academic Press, London (1976).
12. Koburger JA: Yeasts and Moulds In Compendium of Methods For The Microbiological Examination of Foods. Ed. By M.I., Speck, American Puplic Health Assocation, New York (1977).
13. American Puplic Health Association (APHA): Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 13th Ed. APHA Inc., New York (1974).
14. Kurt A, Çakmakçı S, Çağlar A: Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi. Atatürk Üni., Yay. No: 252/d Zir. Fak. Yay. No: 18, Erzurum (1993).

Bazı Florokinolon Antibiyotiklerle Santral Sinir Sistemi İlaçlarının Farmakolojik Etkileşim Özellikleri Üzerine Deneysel Araştırmalar¹

Hanefi ÖZBEK²

Orhan YILMAZ³

Özet

Bu çalışmada, sağaltımda yaygın olarak kullanılan ve santral sinir sistemiyle ilgili istenmeyen etkileri bildirilen florokinolon grubu antibiyotiklerden siprofloksasin, ofloksasin, pefloksasin ve norfloksasinin santral sinir sistemini etkileyen ilaçlarla birlikte kullanıldığında oluşabilecek etkileşimler ve bu etkileşimlerin ne yönde gelişebileceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Siprofloksasin, ofloksasin, pefloksasin ve norfloksasinin santral sinir sistemi uyarıcısı olan teofilin ve bir genel anesteziye olan etomidatla oluşabilecek etkileşimini belirlemek için motor aktivite testleri, open field testi, yüzme testi ve uyku süresinin hesaplanması gerçekleştirildi. Çalışmada inbred yetiştirilmiş ortalama 20-30 gram ağırlıkta toplam 160 adet *Mus musculus* Swiss-albino fare kullanıldı. Her biri beş erkek ve beş dişi olmak üzere 10'ar fareden oluşturulan 16 deneme grubunda çalışıldı.

Çalışmada siprofloksasinin motor aktivite testlerinin sonucuna göre teofilinin etkisini önemli derecede artırdığı ($p<0.05$), diğer üç antibiyotiğin ise belirgin bir etkileşim göstermediği belirlenmiştir. Open field testine göre florokinolon grubu antibiyotiklerle teofilin arasında bir etkileşim belirlenmemiştir. Yüzme testinin sonuçlarına göre ise, siprofloksasin ve ofloksasinin teofilinin etkisini önemli derecede antagonize ettiği ($p<0.05$) saptanmıştır.

Etomidatın meydana getirdiği uyku süresini florokinolonlardan siprofloksasin ortalama olarak 150 saniye, ofloksasin 118 saniye, pefloksasin 142 saniye ve norfloksasin 98 saniye uzatmıştır. Fakat bu artış sadece siprofloksasin için anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Open field testinden elde edilen sonuçlar da siprofloksasinin, etomidatın genel hareket aktivitesini azaltıcı etkisini önemli derecede güçlendirdiğini göstermektedir. Bu iki sonuç birlikte değerlendirildiğinde, siprofloksasinin etomidatın etkilerini anlamlı bir şekilde artırdığı kanısına varılmaktadır.

Ofloksasin ve pefloksasinin etomidatın uyku sürelerini artırıcı etkileri istatistik yönden önemsiz ($P>0.05$) bulunmasının yanında, open field testleri de bu iki ilaçla etomidatın genel hareket aktivitesi üzerine belirgin bir etkileşme göstermediğini ortaya çıkarmaktadır.

Norfloksasinin ise open field testine göre etomidatın etkilerini önemli derecede güçlendirdiği, fakat uyku süresi üzerinde önemli bir artış şekillendirmediği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, florokinolon grubu antibiyotiklerle sağaltım gören veya profilaktik amaçla bu ilaçların uygulandığı hastalarda santral sinir sistemi ilaçları kullanılırken oluşabilecek etkileşimlerin göz önünde bulundurulması ve azami dikkat gösterilmesi önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: Florokinolon antibiyotikler, Etomidat, Teofilin, Farmakolojik etkileşim.

Summary

Experimental Studies on the Pharmacologic Interaction of Some Fluoroquinolone Antibiotics with Central Nervous System Drugs

This study aims to investigate the interaction of antimicrobial drugs such as ciprofloxacin, ofloxacin, pefloxacin and norfloxacin with drugs affecting central neural system.

In order to determine the interaction of ciprofloxacin, ofloxacin, pefloxacin and norfloxacin with theophylline, a central nervous system stimulant, and with etomidate a general anaesthetic; motor activity tests, swimming test and the measuring of sleeping time were carried out. Inbred 16 *Mus musculus* Swiss albino mice with an average weight between 20-30 grams were used. Mice were divided into 16 experiment groups, each containing ten mice, half male and half female.

It was observed that ciprofloxacin significantly increased the interaction of theophylline according to the motor activity test ($p<0.05$), whereas effects of other drugs were not seen in this test. According to open field test, there was no interaction between fluoroquinolone and theophylline. On the other hand the swimming test showed that ciprofloxacin and ofloxacin had significantly antagonized the interaction of theophylline ($p<0.05$).

The sleeping time which followed administration of etomidate was prolonged 150, 118, 142 and 98 seconds by ciprofloxacin, ofloxacin, pefloxacin and norfloxacin respectively. But this increase was significant only for ciprofloxacin ($p<0.05$). This observation was supported by the data of open field test in which the general activity of animal was diminished by ciprofloxacin following etomidate application. Therefore, it can be concluded that ciprofloxacin increases the effects of etomidate.

Ofloxacin and pefloxacin were not effective on sleeping time caused by etomidate. This data was also supported by open field test.

According to open field test, norfloxacin increased the effect of etomidate but it had no effect on the sleeping time.

¹ Aynı isimli tezden özetlenmiştir.

² Y.Y.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı-VAN.

³ Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı- VAN.

In conclusion, it is advised that one should be cautious while using these antibiotics of fluoroquinolone group in treatment of patients or for prophylactic purpose when the patient is given central neural system drugs.

Key words: Fluoroquinolone antibiotics, Etomidate, Theophylline, Pharmacologic interaction.

Giriş

Florokinolon grubu antibiyotikler, kinolon grubu antibiyotiklerin florlanmış yapay türevleri olarak son yıllarda geliştirilmiştir. Etki spektrumlarının geniş olması ve kullanım kolaylıklarından dolayı, oldukça geniş bir uygulama alanı bulan bu antibakteriyel maddelerin, başka ilaçlarla birlikte çok sık uygulanmaları, bu ilaçlarla olan etkileşimlerini önemli kılmaktadır.

Florokinolonlar, başta ürogenital kanal enfeksiyonları olmak üzere, solunum sistemi, sindirim sistemi, kemik ve eklem enfeksiyonları ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında, ayrıca ameliyat öncesi profilaksi amacıyla ve gerekli durumlarda üriner sistemin ampirik sağaltımında kullanılabilir. Sistemik enfeksiyonlarda ofloksasinin, idrar yolu enfeksiyonlarında norfloksasinin ve ürogenital kanal enfeksiyonlarında ise norfloksasinin daha etkili olduğu bildirilmiştir (1).

Kinolonlar bireysel farklılık göstermekle birlikte, P-450 sitokromuna bağımlı mikrozomal oksidazlar tarafından karaciğerde genellikle piperazin halkası üzerinden oksitlenme suretiyle metabolize edilir (2,3,4). Ayrıca böbrek ve barsak mukozasında da metabolize edilmektedir (5).

Florokinolonların plazma düzeyinin yaklaşık % 30-40 kadarı BOS'a geçer. Bu nedenle santral sinir sistemi enfeksiyonlarında florokinolonlar da akla gelmelidir. Beyin abselerinde ve ampirik sağaltımda tavsiye edilmezler (5). Ayrıca beyin zarlarının yangısı halinde BOS'a geçiş oranları da artmaktadır (6).

En sık sindirim sistemine ait yan etkilere rastlanırken, daha az olarak allerjik reaksiyonlar ve santral sinir sistemine ait yan etkiler gözlenmektedir (5,7).

Sindirim sistemine ait yan etkilerin % 1.8-5 oranında, santral sinir sistemine ait yan etkilerin % 0.9-1.6 oranında, dermatolojik yan etkilerin % 0.6-1.4 oranında gözlenebileceği bildirilmiştir (8).

Florokinolonların diğer ilaçlarla etkileşimi pek fazla değildir. Bu etkileşim farmakodinamik yönden çok farmakokinetik özelliklerde görülür. En önemlisi teofilinle olan etkileşimdir. Teofilin ve florokinolon beraber verildiğinde, teofilinin karaciğerde metabolize olması yavaşlar ve plazma düzeyi çok yükselir (9,10,11). Teofilinin güvenlik aralığı dar olduğundan, birlikte kullanıldığı ilaçlarla etkileşimi teofilinin yan etkileri açısından önemli olmaktadır (10).

Florokinolonların alüminyum ve magnezyum içeren antasidlerle etkileşerek (şelat yaparak) barsaklardan emilimlerinin önemli ölçüde önlenmesi de etkileşim olarak bildirilmiştir (9,11,12,13). Ayrıca demir sülfat (11,13,14,15) ve çinko (16) içeren multivitamin preparatları, sukralfat (11,13), kalsiyum karbonat (11), florokinolonların barsaklardan emilimlerini önemli derecede bozmaktadır.

Siprofloksasin (13,16), ofloksasin (3,13) ve norfloksasinin (3) varfarinle etkileşerek protrombin zamanını yükselttiği, temafloksasinin ise böyle bir etkileşime girmediği bildirilmiştir (13).

Florokinolonlardan siprofloksasin, enoksasin, fleroksasin, lomefloksasin, norfloksasin ve pefloksasinin, non-steroid anti inflamatuarlardan fenbufenle etkileşime girdikleri halde (11,17), yine bir NSAI olan ketoprofenin pefloksasin ve ofloksasinle etkileşime girmediği bildirilmiştir (18). Florokinolonlar ve NSAI'ların bir nörotransmitter olan GABA'nın bağlanması üzerine sinerjik inhibitör etki yaptığı (11) ve bu durumun konvülziyonlara neden olduğu belirlenmiştir (13).

Florokinolonlar, ayrıca ksantin (5), kafein, siklosporin (9,13,19), rifampin (19), simetidin (11,19), probenesid (13,19), sis-platin, nitrozüre, nitrozoguanid ve melfalanla da etkileşmektedir (9).

Florokinolonlar, aynı set içinde penisilinler (flukloksasilin, amoksisilin gibi) (20), klindamisin (11) veya aminofilinle (20) karıştırıldıklarında aralarında farmasötik geçimsizlik olmaktadır.

İlk kinolonlardan nalidiksik asidin nitrofurantoinle birlikte verildiğinde nalidiksik asidin etkisinin azaldığı, ayrıca nalidiksik asidin varfarinin etkisini artırdığı bildirilmiştir (21).

Siprofloksasinle vankomisin ve rifampin arasında stafilokoklar üzerinde antagonist etki gözleendiği (13), penisilinler, sefalosporinler, sefamezin, karbapenemler, monobaktamlar ve aminoglikozidlerle florokinolonlar arasında ise etki yönünden antagonist veya sinerjik bir etki olmadığı bildirilmiştir (8,13).

Bu çalışmada, florokinolon grubu antibiyotiklerin istenmeyen etkilerinin, santral sinir sistemini etkileyen ilaçlarla birlikte kullanıldığında ne yönde değişiklik göstereceği ve bu tür ilaçlarla bir etkileşim olasılığının bulunup bulunmadığı amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden sağlanan inbred yetiştirilmiş *Mus musculus* Swiss-albino farelerden ortalama ağırlıkları 20-30 gram olan toplam 160 adet fare kullanıldı.

Kimyasal materyal olarak kullanılan maddeler aşağıdadır:

-Pefloksasin (Eczacıbaşı İlaç Pazarlama A.Ş.)

-Siprofloksasin (Fako İlaçları A.Ş.)

-Norfloksasin (Merck Sharp ve Dohme İlaçları A.Ş. (MSD))

-Ofloksasin (Biokem İlaç Sanayi)

-Teofilin (İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan alınmıştır).

-Etomidat (Hypnomidate 10 ml amp., 2mg/ml etomidat, Janssen Pharmaceutica)

Norfloksasin ve etomidat dışındaki ilaçlar distile suda çözülürerek enjeksiyonluk çözelti haline getirilip kullanıldı. Norfloksasin ise 3 damla glasiyal asetik asit katılan 20 ml distile suda çözülürdü. Etomidat sulandırılmadan kullanıldı.

Aygıt olarak, open field testi aygıtı, yüzme testi havuzu (50x50x100 cm boyutlarında) kullanılmıştır.

Çalışma süresince deney hayvanlarının bulunduğu ve ısısı 20-22 °C olan ortama 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ritmi uygulandı. Hayvanlarda su ve yiyecek alımı serbest bırakıldı. Yem olarak Van Yem Fabrikası'na yaptırılan peletler kullanıldı. Fareler deney başlamadan bir gün önceden aç bırakıldı. Denemeler her gün aynı saatler arasında (10.00-14.00) yürütüldü.

Fareler, Tablo 1.'de görülen biçim ve dozlarda ilaç uygulaması için her grup 5 erkek ve 5 dişi olacak şekilde 10 hayvandan oluşan toplam 16 gruba ayrılmıştır.

Tablo 1. Deneme grupları, kullanılan ilaçlar ve dozları.

Gruplar	Dozlar	
	İlaç (periton içi)	İlilaç (periton içi)
I.Kontrol	0.5 ml distile su	-
II.Kontrol	0.5 ml glasiyal asetik asit (asitli su)	-
Siprofloksasin	50 mg/kg siprofloksasin	-
Ofloksasin	20 mg/kg ofloksasin	-
Pefloksasin	40 mg/kg pefloksasin	-
Norfloksasin	40 mg/kg norfloksasin	-
Teofilin	30 mg/kg teofilin	-
Etomidat	10 mg/kg etomidat	-
Siprofloksasin+Teofilin	50 mg/kg siprofloksasin	30 mg/kg teofilin
Ofloksasin+Teofilin	20 mg/kg ofloksasin	30 mg/kg teofilin
Pefloksasin+Teofilin	40 mg/kg pefloksasin	30 mg/kg teofilin
Norfloksasin+Teofilin	40 mg/kg norfloksasin	30 mg/kg teofilin
Siprofloksasin+Etomidat	50 mg/kg siprofloksasin	10 mg/kg etomidat
Ofloksasin+Etomidat	20 mg/kg ofloksasin	10 mg/kg etomidat
Pefloksasin+Etomidat	40 mg/kg pefloksasin	10 mg/kg etomidat
Norfloksasin+Etomidat	40 mg/kg norfloksasin	10 mg/kg etomidat

İkinci ilaç uygulamaları ilk ilacın uygulanmasından 30 dakika sonra yapılmıştır.

Kontrol grupları, florokinolon grupları, teofilin grubu ve florokinolon+teofilin gruplarına kimyasal madde verildikten sonra motor aktivite testleri (22), open-field testi (23) ve son olarak yüzme testi (24) uygulandı. Etomidat ve Florokinolon+etomidat gruplarına ise uykuya dalma, uykudan uyanma ve son olarak motor aktivite testleri uygulandı.

Open field testinde hayvanların 5 dakika içinde yaptıkları santral, periferik ve vertikal hareketlerinin tümü sayıldı ve toplamı genel hareket aktivitesi olarak (GHA) kabul edildi.

Yüzme testi için deney hayvanları bir gün önceden 15 dakika süreyle kabın içinde tutularak yüzme alıştırdı. Test uygulanırken farelerin silindir kaptaki hareketsiz (immobil) kalma süreleri ölçüldü.

Elde edilen bulguların istatistik değerlendirilmeleri Mann-Whitney U testine göre yapıldı (25).

Bulgular

Beyaz farelerle yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bulgular ilaç başlıkları altında tablolar halinde verilmiştir.

Siprofloksasinle ilgili bulgular: Tablo 2'de siprofloksasinle teofilin ve etomidat etkileşmesinin open field testine göre farelerin genel hareket aktivitesine (GHA) etkisi gösterilmiştir.

Tablo 2. Siprofloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin open field testine göre genel hareket aktivitesine (GHA) etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	GHA	
		Minimal-Maksimal	Ortalama (X±SEM)
Kontrol (Distile su)	10	6-136	69.1 ± 13.3
Siprofloksasin	10	14-124	50.9 ± 10.9
Teofilin	10	30-136	64.9 ± 11.1
Siprofloksasin+Teofilin	10	47-124	77.9 ± 8.88
Etomidat	10	3-113	40.4 ± 11.4
Siprofloksasin+Etomidat	10	1-72	25.8 ± 7.89

Tablo 2 incelendiğinde, siprofloksasin+etomidat grubu farelerin open field testindeki genel hareket aktivitesinin çok düşük olduğu görülmektedir. Bu gruba, diğer gruplar arasındaki farklar istatistik yönünden önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Siprofloksasin, etomidatla birarada verildiğinde, etomidatın meydana getirdiği genel hareket aktivitesindeki azalmayı güçlendirmektedir. Öte yandan siprofloksasin ve teofilin tek başlarına verildiğinde meydana getirdikleri etkiler, kontrol grubundan düşüktür. Birlikte verilmeleri sonucu oluşan etki ise bireysel etkilerinden fazladır.

Tablo 3'de siprofloksasinle teofilin etkileşmesinin open field testine göre ürinyasyon ve defekasyon aktına etkisi gösterilmiştir.

Tablo 3. Siprofloksasinle teofilin ve etomidat etkileşmesinin open field testine göre ürinyasyon ve defekasyon aktına etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Ürinyasyon		Defekasyon	
		Min-Mak	Ortalama (X±SEM)	Min-Mak	Ortalama (X±SEM)
Kontrol (Distile su)	10	0	0.0 ± 0.000	0-1	0.6 ± 0.163
Siprofloksasin	10	0-2	0.2 ± 0.100	0-2	0.5 ± 0.277
Teofilin	10	0-1	0.1 ± 0.153	0-2	0.8 ± 0.359
Siprofloksasin+Teofilin	10	0-1	0.3 ± 0.153	0-3	0.9 ± 0.314
Etomidat	10	0-1	0.2 ± 0.133	0-5	1.8 ± 0.629
Siprofloksasin+Etomidat	10	0-1	0.1 ± 0.100	0-4	0.6 ± 0.400

Gruplar arasında ürinyasyon ve defekasyon aktı bakımından istatistik yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 4'de siprofloksasinle teofilin etkileşmesinin yüzme testine etkisi gösterilmiştir.

Tablo 4. Siprofloksasinle teofilin etkileşmesinin yüzme testine etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Yüzme süresi (saniye)	
		Min-mak	Ortalama
Kontrol (Distile su)	10	147-1521	677 ± 155
Siprofloksasin	10	57-315	190.7 ± 33.9
Teofilin	10	245-3530	1117 ± 402
Siprofloksasin+Teofilin	10	130-235	179.2 ± 12.1

Siprofloksasin grubundaki farelerin ortalama yüzme süresi, kontrol hayvanlarına göre 487 saniye, teofilin grubuna göre 927 saniye daha azdır ($p<0.05$). Tablo 4'de de görüldüğü üzere siprofloksasin, birlikte kullanıldığında teofilinin yüzme süresini artırıcı etkisini ters yönde etkileyerek düşürmektedir.

Tablo 5'de siprofloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin motor aktivite testlerine etkisi gösterilmiştir.

Tablo 5. Siprofloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin motor aktivite testlerine etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Motor aktivite ($X \pm SEM$)			
		Reaktivite (çevresel)	Spontan aktivite	Dokunmaya tepki	Ağrıya tepki
Normal puan		4.0	4.0	4.0	4.0
Kontrol (Distile su)	10	4.3 ± 0.300	4.3 ± 0.300	4.4 ± 0.221	4.6 ± 0.221
Siprofloksasin	10	3.9 ± 0.314	4.0 ± 0.298	3.8 ± 0.249	4.0 ± 0.149
Teofilin	10	4.5 ± 0.167	4.5 ± 0.167	4.3 ± 0.153	4.5 ± 0.224
Siprofloksasin+Teofilin	10	5.4 ± 0.169	5.1 ± 0.233	5.1 ± 0.100	5.5 ± 0.269
Etomidat	10	4.0 ± 0.149	4.0 ± 0.149	4.1 ± 0.233	4.2 ± 0.249
Siprofloksasin+Etomidat	10	3.8 ± 0.291	3.8 ± 0.291	4.0 ± 0.211	4.1 ± 0.180

Tablo 5 incelendiğinde çevresel reaktivite yönünden siprofloksasin+teofilin grubuyla kontrol arasında, siprofloksasin grubuyla siprofloksasin+teofilin grubu arasında, teofilinle siprofloksasin+teofilin grubu arasındaki farklar istatistik bakımından önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Siprofloksasin kontrolle karşılaştırıldığında tek başına çevresel reaktiviteyi azaltmasına karşılık, birlikte verildiğinde teofilinin etkisini önemli oranda artırmaktadır. Spontan aktivite yönünden siprofloksasinle siprofloksasin+teofilin grubu arasındaki fark istatistik yönünden önemlidir ($p<0.05$). Siprofloksasinin etkisi kontrole benzer olmasına karşın, birlikte verildiğinde teofilinin etkisini artırmaktadır. Dokunmaya tepki yönünden siprofloksasin ve teofilin kontrole eşdeğer bir etkiye sahipken, birlikte verildiğinde önemli derecede etki artışı gözlemlenmektedir ($p<0.05$). Ağrıya tepki yönünden ise siprofloksasinin etkisi kontrole göre daha düşük olmasına rağmen, teofilinle birlikte verildiğinde önemli derecede etki artışı olmaktadır ($p<0.05$).

Ofloksasinle ilgili bulgular: Ofloksasinle teofilin ve etomidat etkileşmesinin open field testine göre genel hareket aktivitesine (GHA) etkisi Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Ofloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin open field testine göre genel hareket aktivitesine (GHA) etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	GHA	
		Minimal-Maksimal	Ortalama ($X \pm SEM$)
Kontrol (Distile su)	10	6-136	69.1 ± 13.3
Ofloksasin	10	0-151	57.6 ± 15.8
Teofilin	10	30-136	64.9 ± 11.1
Ofloksasin+Teofilin	10	17-132	59.6 ± 12.2
Etomidat	10	3-113	40.4 ± 11.4
Ofloksasin+Etomidat	10	9-98	44.8 ± 11.4

Tablo 6'da izlendiği gibi, gruplar arasında istatistik yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 7’de ofloksasinle teofilin etkileşmesinin open field testine göre ürinyasyon ve defekasyon aktına etkisi gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistik yönünden önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 7. Ofloksasinle teofilin ve etomidat etkileşmesinin open field testine göre ürinyasyon ve defekasyon aktına etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Ürinyasyon		Defekasyon	
		Min-Mak	Ortalama (X±SEM)	Min-Mak	Ortalama (X±SEM)
Kontrol (Distile su)	10	0	0.0 ± 0.000	0-1	0.6 ± 0.163
Ofloksasin	10	0-1	0.1 ± 0.249	0-2	0.9 ± 0.314
Teofilin	10	0-1	0.1 ± 0.153	0-2	0.8 ± 0.359
Ofloksasin+Teofilin	10	0-1	0.6 ± 0.163	0-4	1.3 ± 0.396
Etomidat	10	0-1	0.2 ± 0.133	0-5	1.8 ± 0.629
Ofloksasin+Etomidat	10	0-1	0.4 ± 0.163	0-1	0.4 ± 0.163

Tablo 8’de ofloksasinle teofilin etkileşmesinin yüzme testine etkisi gösterilmiştir.

Tablo 8. Ofloksasinle teofilin etkileşmesinin yüzme testine etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Yüzme süresi (saniye)	
		Min-mak	Ortalama
Kontrol (Distile su)	10	147-1521	677.5 ± 155
Ofloksasin	10	175-375	265.5 ± 19.7
Teofilin	10	245-3530	1117 ± 402
Ofloksasin+Teofilin	10	155-430	252.0 ± 24.7

Ofloksasin grubundaki farelerin ortalama yüzme süresi kontrol hayvanlarınıninkine göre 412 saniye ve teofilin grubuna göre 852 saniye daha azdır ($p<0.05$). Tablo 8’de de görüldüğü üzere ofloksasin, birlikte kullanıldığında teofilinin yüzme süresini artırıcı etkisini aksi yönde etkileyerek düşürmektedir.

Tablo 9’da ofloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin motor aktivite testlerine etkisi gösterilmiştir.

Tablo 9. Ofloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin motor aktivite testlerine etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Motor aktivite (X±SEM)			
		Reaktivite (çevresel)	Spontan aktivite	Dokunmaya tepki	Ağrıya tepki
Normal puan		4.0	4.0	4.0	4.0
Kontrol (Distile su)	10	4.3 ± 0.300	4.3 ± 0.300	4.4 ± 0.221	4.6 ± 0.221
Ofloksasin	10	4.1 ± 0.314	4.1 ± 0.407	4.8 ± 0.211	3.8 ± 0.133
Teofilin	10	4.5 ± 0.167	4.5 ± 0.167	4.3 ± 0.153	4.5 ± 0.224
Ofloksasin+Teofilin	10	4.6 ± 0.267	4.5 ± 0.224	4.6 ± 0.512	4.7 ± 0.153
Etomidat	10	4.0 ± 0.149	4.0 ± 0.149	4.1 ± 0.233	4.2 ± 0.249
Ofloksasin+Etomidat	10	4.0 ± 0.258	4.0 ± 0.228	4.1 ± 0.180	4.2 ± 0.153

Motor aktivite testlerinde ağrıya tepki yönünden ofloksasin kontrole göre daha düşük etki yapmıştır ($p<0.05$). Bu nedenle ofloksasinin analjezik etkinliğinin bulunduğu sonucuna varılabilir.

Pefloksasinle ilgili bulgular: Pefloksasinle teofilin ve etomidat etkileşmesinin open field testine göre genel hareket aktivitesine (GHA) etkisi Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. Pefloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin open field testine göre genel hareket aktivitesine (GHA) etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	GHA	
		Minimal-Maksimal	Ortalama (X±SEM)
Kontrol (Distile su)	10	6-136	69.1 ± 13.3
Pefloksasin	10	20-101	54.8 ± 9.11
Teofilin	10	30-136	64.9 ± 11.1
Pefloksasin+Teofilin	10	2-154	61.5 ± 14.9
Etomidat	10	3-113	40.4 ± 11.4
Pefloksasin+Etomidat	10	4-90	48.0 ± 10.3

Tablo 10'da da görüldüğü üzere, gruplar arasında istatistik yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 11'de pefloksasinle teofilin etkileşmesinin open field testine göre ürinyasyon ve defekasyon aktına etkisi gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistik yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 11. Pefloksasinle teofilin ve etomidat etkileşmesinin open field testine göre ürinyasyon ve defekasyon aktına etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Ürinyasyon		Defekasyon	
		Min-Mak	Ortalama (X±SEM)	Min-Mak	Ortalama (X±SEM)
Kontrol (Distile su)	10	0	0.0 ± 0.000	0-1	0.6 ± 0.163
Pefloksasin	10	0-2	0.8 ± 0.163	0-3	1.1 ± 0.133
Teofilin	10	0-1	0.1 ± 0.153	0-2	0.8 ± 0.359
Pefloksasin+Teofilin	10	0-1	0.5 ± 0.167	0-3	1.5 ± 0.373
Etomidat	10	0-1	0.2 ± 0.133	0-5	1.8 ± 0.629
Pefloksasin+Etomidat	10	0-1	0.4 ± 0.163	0-2	0.6 ± 0.221

Tablo 12'de pefloksasinle teofilin etkileşmesinin yüzme testine etkisi gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistik yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 12. Pefloksasinle teofilin etkileşmesinin yüzme testine etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Yüzme süresi (saniye)	
		Min.-mak.	Ortalama
Kontrol (Distile su)	10	147-1521	677 ± 155
Pefloksasin	10	100-850	347.7 ± 72
Teofilin	10	245-3530	1117 ± 402
Pefloksasin+Teofilin	9	132-1096	502 ± 104

Tablo 13'de pefloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin motor aktivite testlerine etkisi gösterilmiştir.

Tablo 13. Pefloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin motor aktivite testlerine etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Motor aktivite (X±SEM)			
		Reaktivite (çevresel)	Spontan aktivite	Dokunmaya tepki	Ağrıya tepki
Normal puan		4.0	4.0	4.0	4.0
Kontrol (Distile su)	10	4.3 ± 0.300	4.3 ± 0.300	4.4 ± 0.221	4.6 ± 0.221
Pefloksasin	10	4.0 ± 0.149	4.0 ± 0.149	3.9 ± 0.100	4.1 ± 0.100
Teofilin	10	4.5 ± 0.167	4.5 ± 0.167	4.3 ± 0.153	4.5 ± 0.224
Pefloksasin+Teofilin	10	4.5 ± 0.307	4.5 ± 0.307	4.7 ± 0.335	5.3 ± 0.300
Etomidat	10	4.0 ± 0.149	4.0 ± 0.149	4.1 ± 0.233	4.2 ± 0.249
Pefloksasin+Etomidat	10	4.2 ± 0.327	4.2 ± 0.327	4.4 ± 0.452	4.4 ± 0.267

Çevresel reaktivite ve spontan aktivite yönünden pefloksasin grubuyla teofilin grubu arasındaki fark istatistik yönünden önemli olmasına karşı ($p<0.05$), birlikte verildiğinde önemli bir etki oluşturmamaktadır. Dokunmaya tepki yönünden kontrollerle pefloksasin grubu arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Pefloksasin dokunmaya tepkiyi azaltmaktadır. Ağrıya tepki yönünden ise pefloksasin+teofilin etkileşim grubuyla kontrol, pefloksasin ve teofilin grupları arasındaki farklar önemlidir ($p<0.05$). Bu gruplara göre pefloksasin+teofilin grubu farelerde ağrıya tepkiyi büyük oranda artırmıştır.

Norfloksasinle ilgili bulgular: Tablo 14’de norfloksasinle teofilin ve etomidat etkileşmesinin open field testine göre genel hareket aktivitesine (GHA) etkisi gösterilmiştir.

Tablo 14. Norfloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin open field testine göre genel hareket aktivitesine (GHA) etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	GHA	
		Minimal-Maksimal	Ortalama
Kontrol (Asitli su)	10	7-97	40.4 ± 9.19
Norfloksasin	10	0-82	47.3 ± 9.62
Teofilin	10	30-136	64.9 ± 11.1
Norfloksasin+Teofilin	10	5-127	61.3 ± 12.6
Etomidat	10	3-113	40.4 ± 11.4
Norfloksasin+Etomidat	9	2-17	8.22 ± 1.53

Tablo 14’de de görüldüğü üzere, norfloksasin+etomidat grubundaki farelerin open field testindeki genel hareket aktivitesinin çok düşük olduğu görülmektedir ve bu grupla diğer gruplar arasındaki farklar istatistik yönünden önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Norfloksasin, etomidatla birlikte verildiğinde, genel hareket aktivitesinde çok güçlü bir azalma meydana gelmektedir.

Tablo 15’de norfloksasinle teofilin etkileşmesinin open field testine göre ürinyasyon ve defekasyon aktına etkisi gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistik yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 15. Norfloksasinle teofilin ve etomidat etkileşmesinin open field testine göre ürinyasyon ve defekasyon aktına etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Ürinyasyon		Defekasyon	
		Min-Mak	Ortalama (X±SEM)	Min-Mak	Ortalama (X±SEM)
Kontrol (Asitli su)	10	0-1	0.3 ± 0.200	0-3	0.8 ± 0.269
Norfloksasin	10	0-1	0.4 ± 0.100	0-1	0.2 ± 0.249
Teofilin	10	0-1	0.1 ± 0.153	0-2	0.8 ± 0.359
Norfloksasin+Teofilin	10	0	0.0 ± 0.000	0-1	0.2 ± 0.133
Etomidat	10	0-1	0.2 ± 0.133	0-5	1.8 ± 0.629
Norfloksasin+Etomidat	10	0-1	0.1 ± 0.100	0-2	0.8 ± 0.291

Tablo 16'da norfloksasinle teofilin etkileşmesinin yüzme testine etkisi gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistik yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 16. Norfloksasinle teofilin etkileşmesinin yüzme testine etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Yüzme süresi (saniye)	
		Min-mak	Ortalama
Kontrol (Asitli su)	10	202-660	393.6 ± 51.2
Norfloksasin	10	205-1990	520 ± 168
Teofilin	10	245-3530	1117 ± 402
Norfloksasin+Teofilin	10	264-3424	1322 ± 418

Tablo 17'de norfloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin motor aktivite testlerine etkisi gösterilmiştir.

Tablo 17. Norfloksasinin teofilin ve etomidatla etkileşmesinin motor aktivite testlerine etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Motor aktivite (X±SEM)			
		Reaktivite (çevresel)	Spontan aktivite	Dokunmaya tepki	Ağrıya tepki
Normal puan		4.0	4.0	4.0	4.0
Kontrol(Asitli su)	10	4.0 ± 0.211	4.0 ± 0.211	4.1 ± 0.100	3.7 ± 0.657
Norfloksasin	10	3.8 ± 0.249	3.8 ± 0.249	3.8 ± 0.200	4.0 ± 0.149
Teofilin	10	4.5 ± 0.167	4.5 ± 0.167	4.3 ± 0.153	4.5 ± 0.224
Norfloksasin+Teofilin	10	4.1 ± 0.233	4.2 ± 0.249	4.5 ± 0.167	4.6 ± 0.221
Etomidat	10	4.0 ± 0.149	4.0 ± 0.149	4.1 ± 0.233	4.2 ± 0.249
Norfloksasin+Etomidat	10	3.7 ± 0.213	3.7 ± 0.213	3.7 ± 0.153	4.0 ± 0.000

Motor aktivite testlerinden çevresel reaktivite ve spontan aktivite yönünden norfloksasinle teofilin arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$). Dokunmaya tepki yönünden ise norfloksasinle norfloksasin+teofilin grubu arasındaki fark önemli bulunmuş ($p<0.05$); etkileşim grubu farelerin dokunmaya tepkilerinin artmış olduğu görülmüştür. Ağrıya tepki yönünden ise norfloksasin+teofilin grubu farelerin verdikleri cevaplarla kontrol ve norfloksasin grubu fareler arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$). Norfloksasin, teofilinin ağrıya olan cevabını değiştirmemektedir.

Bazı florokinolon antibiyotiklerin etomidatla oluşturulan uykunun süresine etkisi: Tablo 18'de etomidatın beyaz farelerde oluşturduğu uyku sürelerine bazı florokinolon antibiyotiklerin etkisi gösterilmiştir.

Tablo 18. Beyaz farelerde etomidatın oluşturduğu uyku sürelerine bazı florokinolon antibiyotiklerin etkisi.

İlaç grubu	Hayvan sayısı (n)	Uyku süresi (saniye)	
		Minimal-maksimal	Ortalama
Etomidat	10	80-357	211.0 ± 78.90
Siprofloksasin+Etomidat	10	20-801	361.3 ± 233.72
Ofloksasin+Etomidat	10	97-675	329.4 ± 188.33
Pefloksasin+Etomidat	10	26-826	353.2 ± 264.61
Norfloksasin+Etomidat	10	22-1075	309.7 ± 338.75

Siprofloksasin, etomidatın meydana getirdiği uykunun süresini yaklaşık 150 saniye uzatmaktadır ($p<0.05$). Diğer florokinolon antibiyotiklerle de bir artış olmasına rağmen, aradaki fark istatistik yönünden önemli değildir ($p>0.05$).

Tartışma ve Sonuç

Florokinolon grubu antibiyotiklerle sağaltım sırasında ortaya çıkan santral sinir sistemiyle ilgili yan etkiler, hastaların yoğun şikayetlerine yol açtıkları için önemlidir. Kinolonlar arasında yakın kimyasal benzerlikten dolayı, bütün türevlerinin aynı yan etkileri ve diğer ilaçlarla benzer etkileşimleri göstermeleri beklenebilir. Oysa, genel olarak ilaçların etkilerini değiştiren çeşitli ölçütler işe karıştırdığından florokinolon türevlerinin hepsinden aynı etkiler beklenemez.

Etomidat, anestezi indüksiyonunda ve uzun süreli uygulama gerektirmeyen dengeli anestezi tekniklerinde kullanılan, karboksillenmiş imidazol yapısındaki bir intravenöz genel anesteziktir (26,27,28). Metabolizması, karaciğerde esterlerine ayrılma ve N-dealkilasyon suretiyle olmakta (26,29), karaciğer esterazları tarafından inaktif olan karboksilik asite hidrolize edilmektedir (30). Etomidatın, NADPH-sitokrom P450-fenilozosiyonid redüktaz için non-kompetitif inhibitör gibi davrandığı, dolayısıyla bu enzimle metabolize olan maddelerin metabolizmasını yavaşlattığı bildirilmektedir (31).

Teofilin, bronkodilatör etkisi nedeniyle bronşiyal astma ve kronik obstrüktif akciğer hastalıklarının tedavisinde uzun süreden beri kullanılan, metilksantin türevi bir ilaçtır. Ayrıca diüretik ve antiinflamatuvar etkileri de vardır. Bronkodilatör ve antiinflamatuvar etkinliğini fosfodiesteraz IV'ü inhibe ederek yaptığı ileri sürülmektedir. Fakat teofilinin bronkodilatör etkinliğinin mekanizması tam olarak belli değildir. Teofilin, santral sinir sistemi üzerinde uyarıcı ve yorgunluğun daha geç oluşumunu sağlayıcı bir etkiye sahiptir. Ayrıca sinirlilik, uykusuzluk, tremor ve konvülsiyon oluşturan etkileri de vardır (28).

Santral sinir sistemini uyaran ilaçlardan teofilinle florokinolon grubu antibiyotikler arasındaki etkileşimi belirlemek için değişik çalışmalar yapılmıştır. Enoksasin, teofilinin yarılanma ömrünü % 200 artırırken (13), metabolize olmayan florokinolonlardan örneğin ofloksasin (3,10,13), norfloksasin (8), lomefloksasin (3,13) ve temafloksasinde (13) bu etkileşimin görülmediği belirlenmiştir. Siprofloksasinle teofilin birlikte verildiğinde teofilinin serum seviyelerinin değişmediği (22), norfloksasin (13), lomefloksasin (16) ve pefloksasin (8) birlikte verildiğinde teofilinin serum düzeyini artırdıkları bildirilmektedir. Bu çeşitli çalışmalara ait sonuçlar birbirleriyle karşılaştırıldıklarında siprofloksasin, lomefloksasin ve norfloksasinle ilgili bulguların birbirleriyle çeliştikleri görülmektedir. Dolayısıyla bu grup antibiyotiklerle ilgili olarak daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğu ortaya çıkmaktadır.

Teofilin, karaciğerde mikrozomal enzim sistemiyle (sitokrom P450 enzimi aracılığıyla) metabolize edilmektedir. Florokinolonlar da aynı sistemle metabolize edilir. İkisi beraber kullanıldığında bu enzim için yarışmaya girer ve teofilinin metabolize olma hızı düşer (9).

Florokinolonlardan enoksasinin, teofilinin vücut klirensini % 60 oranında azalttığı ve buna bağlı olarak serum teofilin düzeyini artırarak yarılanma ömrünü % 200'ün üzerine çıkardığı ve sonuçta teofilin toksisitesinin geliştiği bildirilmiştir (13,23). Yapılan bazı çalışmalar (5,13,23,32) siprofloksasinin de teofilinin vücut klirensini % 30-32 oranında azalttığını, bazıları ise (22) teofilinin serum düzeyine ve vücut klirensine etkisinin bulunmadığını ileri sürmüştür. Florokinolonlardan pefloksasin (13,23) ve norfloksasinin de (13) teofilinin serum düzeyini artırdığı bildirilmiştir. Ofloksasinin ise teofilinin serum düzeyini etkilemediği değişik araştırmalarla belirlenmiştir (10,13,23). Tarafımızdan yapılan bu çalışmada, çalışılan dört florokinolon antibiyotiklerinin de teofilinin etkilerinin güçlendirmede, aksine özellikle yüzme testinde elde edilen sonuçlara göre siprofloksasin ve ofloksasinin anlamlı bir şekilde teofilinin etkisini azalttığı belirlenmiştir. Yapılan farmakokinetik çalışmalar, teofilinin serum düzeyinin siprofloksasinle değişmediğini gösterdiğinden siprofloksasin ve ofloksasinin teofilinle birlikte verildiğinde felç aktivitesi ve agresif davranışlarda ortaya çıkan artışın ve bu artışın kloroadenozin ve diazepamla giderilebilmesi, etkileşimlerin GABA-erjik mekanizmalarla olabileceğine dikkat çekmiştir (22). Kinolon grubu antibiyotiklerin santral sinir sisteminde kısmen, GABA ve adenozin nörotransmisyonunun inhibisyonu üzerine yan etkileri olduğu saptanmıştır (33).

Beyinde nöyronal inhibisyonda en yaygın şekilde rol oynayan GABA'nın aktive ettiği GABA_A reseptörü-klorür kanalı kompleksi üzerinde barbitüratlar ve diğer bazı anestezikler için yüksek afiniteli bağlanma yerleri vardır. Bu ilaçların o yerlere bağlanması GABA'nın kendine özgü reseptöre bağlanmasını potansiyalize eder ve GABA'nın inhibitör etkisini artırır. Öte yandan GABA_A/Benzodiazepin reseptör kompleksi üzerinde barbitürat bağlanma yerinden başka, non-barbitürat hipnosedatiflerin ve etil alkolün de kompleksle etkileşimine olanak veren özel allosterik etkileşme yerlerinin bulunduğu vurgulanmaktadır

(28). Etomidatın GABA_A reseptörleriyle etkileşerek GABA_A reseptör/klorür kanalı kompleksi aracılığıyla anestezi etkisini oluşturduğu gösterilmiştir (34).

Ofloksasinin konsantrasyona bağlı olarak izole sıçan nöronlarında ³H-γ-amino-butyric asidi (GABA) bağlamadığı tespit edilmiştir (35). Ofloksasinle sağaltım gören hastaların yaklaşık % 2-4'ünde halüsinasyon, ajitasyon, konfüzyon, depresyon, anksiyete, ve insomnia gibi psikotoksik yan etkiler şekillendiği bildirilmiştir. Bu durum GABA_A ve dopaminerjik mekanizmalara bağlanmıştır (36). Bir NSAII olan fenbufenle enoksasinin kombine kullanımında konvülsiyonlar gözlenmiştir. Florokinolonlar ve bazı NSAII'lerin bir nörotransmitter olan GABA'nın bağlanması üzerine sinerjik inhibitör etkide buldukları gözlenmiştir (11). Kinolonların yalnız başlarına veya 4-bifenilasetik asitle (BPAA) birlikte verilmesi sonucu oluşan konvülsiyonların farelerde büyük bir ekseriyetle GABA_A reseptöründen ziyade glutamat ve GABA_B reseptörüne bağlı olabileceği bildirilmektedir (37). Beyinde ve omurilikteki bazı yapılarda (serebral korteks, hipokampus ve diğer limbik yapılar, kortikospinal sinir uçları ve omurilikteki primer aferent sinir uçları gibi) eksitasyon ve inhibisyon durumu, inhibitör GABA-erjik etkinlikle eksitatör glutamerjik etkinlik arasındaki dengeye bağlı olduğundan, glutamerjik antagonistlerin GABA agonisti gibi etkinlik göstermesi beklenebilir. Bu yaklaşımla glutamat reseptörlerini bloke ederek antikonvülzan, sedatif, analjezik antispazmodik ilaçların geliştirilmesi mümkündür (32).

Bu çalışmada gerçekleştirilen motor aktivite testlerinde ofloksasinin ağrıya karşı tepkiyi kontrole göre anlamlı bir şekilde azalttığı belirlenmiştir. Ofloksasinin belirlenen analjezik etkinliğinin glutamat reseptörlerini bloke ederek GABA agonisti gibi etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Siprofloksasinin teofilinin etkilerinin artırdığını (5,13,23,32), ofloksasinin ise anlamlı bir etkileşime sahip olmadığını ortaya çıkaran çalışmalar (13,16,17,23) bulunmaktadır. Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda teofilinin etkilerinin pefloksasinle (13,23) ve norfloksasinle (13) arttığı ileri sürülmüştür. Tarafımızdan yapılan bu çalışmada, siprofloksasin dışında diğer üç antibiyotığın sağaltım dozlarında teofilinin etkisini artırmadığı belirlenmiştir. Motor aktivite testlerinde siprofloksasin tek başına kontrole göre aktiviteleri azaltırken, teofilinle birlikte verildiğinde teofilinin etkilerinin artırmıştır. Bu yönüyle diğer çalışmalarla uygundur (5,13,22,32). Fakat yüzmeye testinden elde edilen sonuçlar siprofloksasin ve ofloksasinin teofilinin etkisini anlamlı bir şekilde azaltmadığını ortaya çıkarmaktadır. Yapılan bir çalışmada (17) yüksek dozlarda ofloksasinin farelerde pentetrazol konvülsiyonlarını potansiyalize ettiği fakat düşük dozlarda anlamlı bir etkileşim görülmediği, bunun nedeni olarak da ofloksasinin kan-beyin engelini yeterince aşıp beyinde gerekli GABA inhibisyonu yapacak düzeye erişemediğine veya GABA antagonist etkisinin yeterli düzeyde olmadığına ve GABA etkisini inhibe edici özelliğinin diğer kinolonlara göre daha düşük olmasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Çalışmamızda kullanılan tüm florokinolon antibiyotikler sağaltım dozlarında uygulanmıştır. Etomidatla yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar, florokinolonların sedatif etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, siprofloksasin ve ofloksasinin yüzmeye testinde teofilinin etkisini anlamlı bir şekilde azaltmasını desteklemektedir.

Florokinolon grubu antibiyotiklerin profilaktik amaçla operasyonlardan önce kullanıldığı rapor edilmiştir (3,13,38,39). Bu tür profilaktik uygulama yapılmış hastalarda, anestezi için etomidat kullanılması durumunda florokinolonlarla etomidat arasında bir etkileşim olup olmadığı, etkileşimin yönü ve şiddeti konusunda bir veriye rastlanmamıştır. İnsan hekimliğinde sık kullanılan bu iki grup ilacın GABA reseptörleriyle ilişkili olması nedeniyle, muhtemel etkileşim olasılığı ve etkileşimin derecesini belirleme amacıyla çalışmanın bu bölümü gerçekleştirilmiştir.

Etomidatın meydana getirdiği uyku süresini florokinolonlardan siprofloksasin ortalama olarak 150 saniye ofloksasin 118 saniye, pefloksasin 142 saniye ve norfloksasin 98 saniye uzatmıştır. Fakat bu artış sadece siprofloksasin için anlamlı bulunmuştur (P<0.05). Open field testinden elde edilen sonuçlar da siprofloksasinin, etomidatın genel hareket aktivitesini azaltıcı etkisini önemli derecede güçlendirdiğini göstermektedir. Bu iki sonuç birlikte değerlendirildiğinde, siprofloksasinin etomidatın etkilerini anlamlı bir şekilde artırdığı kanısına varılmaktadır.

Ofloksasin ve pefloksasinin etomidatın uyku sürelerini artırıcı etkileri istatistik yönden önemsiz (P>0.05) bulunmasının yanında open field testleri de bu iki ilaçla etomidatın genel hareket aktivitesi üzerine belirgin bir etkileşim göstermediğini ortaya çıkarmaktadır. Enginar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (40) ofloksasin, pentobarbitalle oluşturulan uykunun süresini önemli derecede kısaltmıştır.

Araştırmacılar ofloksasinin bu etkilerinin santral sinir sistemi üzerinde direkt etkisiyle olamayacağını, muhtemelen pentobarbitalin farmakokinetiğini değiştirmesine bağlı olabileceğini ileri sürmüştür.

Norfloksasinin ise open field testine göre etomidatın etkilerini önemli derecede güçlendirdiği, fakat uyku süresi üzerinde önemli bir artış şekillendirmediği belirlenmiştir.

Siprofloksasin, ofloksasin, pefloksasin ve norfloksasin arasında santral sinir sistemini etkileme açısından ortaya çıkan bu farklar, ilaçların bireysel özelliklerinin farklı olmasına bağlanmaktadır. Kesin sonuçlara varmak için bu ilaçların santral sinir sistemi üzerindeki etkilerinin değişik tür hayvanlar üzerinde incelenmesi gerekir. Ayrıca farmakokinetik çalışmalarla reseptörler ve moleküler düzeyde santral sinir sistemindeki etki mekanizmasını aydınlatacak çalışmalar, birbirinden farklı ve birbiriyle çelişkili sonuçların nedeninin açıklanmasını sağlayacaktır.

Sonuç olarak, florokinolon grubu antibiyotiklerle sağaltım gören veya profilaktik amaçla bu ilaçların uygulandığı hastalarda santral sinir sistemi ilaçları kullanılırken oluşabilecek etkileşimlerin gözönünde bulundurulması ve azami dikkat gösterilmesi önerilmektedir.

Kaynaklar

1. Sönmez E, Taşkın R, Felek R, Çelebi S: Üriner sistem enfeksiyonu şüphesi olan hastalardan alınan idrar örneklerinden üretilen bakterilerin kinolon grubu bazı antibiyotiklere duyarlılığı, ANKEM 6(3), 395-397, (1992).
2. Peters T, Kuschinsky G, Lüllmann H: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, New York, 9. vöellig, 349, (1981).
3. Rosenstiel NV, Adam D: Quinolone antibacterials an update of their pharmacology and therapeutic use, Drugs 47(6), 872-901, (1994).
4. Stein GE: Review of the bioavailability and pharmacokinetics of oral norfloksasin, Am J Med 82(6), 18-21, (1987).
5. Louie TJ: Ciprofloxacin: an oral quinolone for the treatment on infections with Gram-negative pathogens, Can Med Assoc J 150(5), 669-676, (1994).
6. Yüce K: Yeni Quinolone Antimikrobikler. Ege Üniversitesi Basımevi Bornova-İzmir, (1991).
7. Mutschler E: Arzneimittelwirkungen Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 6. vöellig, Stuttgart 599-602, (1991).
8. Orsini JA, Perkons S: The fluoroquinolones: Clinical applications in veterinary medicine, The Compendium 11, 1491-1496, (1992).
9. Ball P: Adverse reactions and interactions of fluoroquinolones, Clin Invest Med 12(1), 28-34, (1989).
10. Hatipoğlu İ, Enginar N, Eroğlu L: Ofloksasin ve teofilinin şıçanlarda bazı davranışlar üzerine etkileri, ANKEM 3(4), 531-534, (1989).
11. Janknegt R: Drug interactions with quinolones, J Antimicrob Chemother 26(D), 7-29, (1990).
12. Neer TM: Clinical pharmacologic features of fluoroquinolone antimicrobial drugs, JAVMA 193(5), 577-580, (1988).
13. Just PM: Overview of the fluoroquinolone antibiotics, Pharmacotherapy 13(2), 4-17, (1993).
14. Polk RE, Healy DP, Sahai J, Drwal L, Racht E: Effects of ferrous sulfate and multivitamins with zinc on absorbtion of ciprofloxacin in normal volunteers, Antimic Agents Chemotherap 33(11), 1841-1844, (1989).
15. Kara M, Hasinoff BB, McKay DW, Campbell NRC: Clinical and chemical interactions between iron preparations and ciprofloxacin, Br. J. Clin. Pharmac. 31, 257-261, (1991).
16. Linville D, Emory C: Ciprofloxacin and warfarin interaction, Am J Med 90, 765, (1991).
17. Enginar N, Eroğlu L: Ofloksasinin farelerde pentetrazol konvülziyonlarına etkisi, ANKEM 4(4), 532-536, (1990).
18. Leroy A, Fillastre JP, Borsa-Lebas F, Etienne I: Influence du kétoprofène sur la pharmacocinétique de deux fluoroquinolones chez l'homme, Path Biol. 41(4), 379-384, (1993).
19. Marchbanks CR: Drug-drug interactions with fluoroquinolones, Pharmacotherapy 13(2), 23-28, (1993).
20. Kayaalp O: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt 1, 7.Baskı, FERYAL Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, 821-831, (1994).
21. Aleksanyan V: Teşhisten Tedaviye. Filiz Kitabevi, Beyazıt-İstanbul, 9, (1981).
22. Turner RA: Screening Methods in Pharmacology, Academic Press, New-York, (1965).
23. Andronati CA: Gidazepam, Naukovo Dumka, Kiev, 50, (1992).
24. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jafre M: Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments, Eur J. Pharmacol. 47, 379, (1978).
25. Minitab Statistical Software, Release 8.2, 1991.
26. Trevor AJ, Miller RD: Basic&Clinical Pharmacology, Ed. BG Katzung, fifth edition, Appleton and Lange. Norwalk, Connecticut, USA, 360-361, (1992).
27. Mutschler E: Arzneimittelwirkungen Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 6. vöellig, Stuttgart (211-212), (1991).
28. Kayaalp O: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt 2, 7.Baskı, FERYAL Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, 1583-1585, 1659-1660, 1708, (1995).
29. Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K: Allgemeine und Speziell Pharmakologie und Toxikologie. 6. vöellig, Germany 249, (1993).
30. Levron JC, Assoune P: Pharmacokinetics of etomidate, Ann Fr Anesth Reanim 9(2), 123-126, (1990).
31. Kurokohchi K, Nishioka M, Ichikawa Y: Inhibition mechanism of reconstituted cytochrome P-450_{sec}-linked monooxygenase system by antimycotic reagents and other inhibitors, J Steroid Biochem Mol Biol 42(3-4), 287-292, (1992).
32. Loi CM, Parker BM, Cusack BJ, Vestal RE: Individual and combined effects of cimetidine and ciprofloxacin on theophylline metabolism in male nonsmokers, Br. J. Clin. Pharmac. 36, 195-200, (1993).
33. Dodd PR, Davies LP, Watson WEJ, Nielsen B, Dyer AJ, Wong LS, Johnston GAR: Neurochemical studies on quinolone antibiotics: Effects on glutamate, GABA and adenosine systems in mammalian CNS, Pharmacol Toxicol 64, 404-411, (1989).
34. Uchida I, Kamatchi G, Burt D, Yang J: Etomidate potentiation of GABA_A receptor gated current depends on the subunit composition, Neurosci Lett., 185(3), 203-206, (1995).
35. Tsuji A, Sato H, Kume Y, Tomai I, Okezaki E, Nogata O, Kato H: Inhibitory effects of quinolone antibacterial agents on γ -aminobutyric acid binding to receptive sites in rat brain. Antimic Agents Chemotherap 32, 190-194, (1988).

36. Koppel C, Hopfe T, Menzel J: Central anticholinergic syndrome after ofloxacin overdose and therapeutic doses of diphenhydramine and chlormezanone. *Clin Toxicol* 28(2), 249-253, (1990).
37. Akahane K, Kato M, Takayama S: Involvement of inhibitory and excitatory neurotransmitters in levofloxacin -and ciprofloxacin- induced convulsions in mice, *Antimic Agents Chemotherap* 37(9), 1764-1770, (1993).
38. Babacan F, Korten V, Eskiürk A, Bayık M, Fıratlı T, Söyletir G, Akoğlu T: Nötropenik kanser hastalarında oral ciprofloxacin ile selektif dekontaminasyon, *ANKEM* 5(2), 199, (1991).
39. Birkenfeld A, Born P, Rösch T, Allescher HD, Lehn N, Classen M: Antibiotic prophylaxis with ofloxacin before percutaneous transhepatic biliary drainage, *Gastroenterology* 112(4), 516, (1997).
40. Enginar N, Eroğlu L, Ulak G: The effect of ofloxacin on pentobarbital-induced sleep in mice, *Pharmacol Biochem Behav* 40, 65-67, (1991).

Elektrik Alanın, Rat Eritrosit ve Dokularındaki Antioksidan Enzim (Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz) Aktiviteleri, Lipid Peroksidasyonu ve Glutasyon Seviyelerine Etkisi¹

Tahir KAHRAMAN² Haluk TESTERECİ³

Özet

Sunulan çalışmada doğru (DC), alternatif akım (AC) ile trafo merkezinde yüksek voltaj altında (TR) sırasıyla, 0.74 kV/m, 0.81 kV/m ve 50 kV/m şiddetinde elektrik alan etkisine bırakılan ratların eritrosit ve dokularında, süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri, lipid peroksidasyonu malondialdehid (MDA) ve glutasyon (GSH) düzeyleri araştırıldı.

44 genç erkek rat, 11 hayvandan oluşan 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol olarak alındı. Diğer üç grup 40 gün boyunca günde 24 saat süreyle farklı şiddetlerdeki elektrik alan etkisine bırakıldı. Tüm ratlardan 20. ve 40. günlerde kan örnekleri alındı. 44. günde karaciğer ve beyin dokuları kesilerek çıkarıldı. MDA, GSH, SOD ve GSH-Px kan ve dokulardaki düzeyleri, spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Kan MDA düzeyi, DC ve AC gruplarında kontrol grubuna göre artarken, kan glutasyon düzeyi bütün gruplarda önemli oranda azaldı ($p<0.05$). Kan GSH-Px aktivitesi AC grubunda arttı ($p<0.05$). Kan SOD aktivitesinde DC grubunda azalma saptandı ($p<0.05$).

Karaciğer MDA, GSH-Px ve SOD düzeylerinde değişiklik bulunmadı ($p>0.05$). Beyin MDA düzeyi DC grubunda arttı ($p<0.05$). Karaciğer GSH düzeyi bütün gruplarda kontrole göre önemli oranda azaldı ($p<0.05$). Beyin dokusunda GSH düzeyi deneme gruplarında (DC, AC ve TR) artarken ($p<0.05$) beyin GSH-Px aktivitesi azaldı ($p<0.05$). Beyin SOD aktivitesinde ise değişiklik olmadı ($p>0.05$).

Sonuç olarak farklı düzeylerde elektrik alanların etkisinde bırakılan ratlarda MDA düzeyleri DC ve AC gruplarında önemli olarak arttığı gözlenirken GSH düzeyi, önemli düzeyde azaldı. MDA, lipid peroksidasyon sonucu oluşan bir ürün olup, glutasyon ise kuvvetli bir antioksidandır. Elektrik alanların etkileri sonucu kolaylıkla lipid peroksidasyon ürünleri ve antioksidanlar değişebilmektedir. Deneysel koşullarda gerçekleştirilen bu çalışmada antioksidan enzim aktivitelerinde değişim saptanamamıştır.

Anahtar kelimeler: Elektrik alan, Antioksidanlar, Malondialdehid, Eritrosit, Doku

Summary

Effect of Electric Field on Activities of Antioxidant Enzymes (SOD, GSH-Px), Lipid Peroxidation (MDA) and Glutathione Levels in Rat Erythrocytes and Tissues

The main aim of this study was to investigate activity of SOD, GSH-Px as well as MDA and GSH levels in the rat erythrocytes and tissues exposed to electric field of direct current (DC), alternating current (AC) and Van Transformer Center (TR) with intensity of 0.74 kV/m, 0.81 kV/m and 50 kV/m respectively.

Forty-four adult male rats were divided into four groups of 11 animals. The first group was used as the control (KN). The other groups were exposed to three different electric fields described above for 24 hours till 40th day. Blood samples were collected on 20th and 40th days. Liver and brain tissues were excised on the 44th day. MDA, GSH, SOD and GSH-Px were determined on both tissues and blood samples by means of spectrophotometer.

In blood, MDA levels in DC and AC groups were found to be significantly increased comparing to other groups ($p<0.05$). GSH levels in the blood decreased in all groups comparing to control ($p<0.05$). GSH-Px activity in the blood increased for AC group ($p<0.05$). SOD activity in blood for DC group decreased significantly ($p<0.05$) comparing to the other groups.

MDA level, SOD and GSH-Px activities in liver had no change ($p>0.05$). GSH levels in the liver decreased in all groups comparing to the control group ($p<0.05$). MDA levels in brain increased for DC group ($p<0.05$). GSH-Px activities in brain increased in all groups comparing to the control group ($p<0.05$). SOD activities in brain was not changes ($p>0.05$).

In this study, rats exposed to different levels of electrical field indicated that MDA level in DC and AC groups increased significantly. MDA is by-products of lipid peroxidation. But glutathione is a strong antioxidant. It is understood that electric field can easily alter lipid peroxidation by-products and antioxidant level but not enough effective on antioxidant enzymes under above experimental condition yet.

¹Aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir ve YYÜ Araştırma Fonu tarafından 97.VF.036 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

²YYÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, VAN, TÜRKİYE.

³KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, TRABZON, TÜRKİYE.

Key word: Electric field, Erythrocytes, Malondialdehyde, Antioxidant, Tissue.

Giriş

Çevresel faktörlerin, canlı organizmaların metabolizmasına, gelişimine ve genetik yapısı üzerine etki ettiği bilinmektedir. Bu konularda ayrıntılı çalışmalar yapılmaktadır. Çevresel faktörler arasında kimyasal ajanlar yanında fiziksel ajanların da canlı metabolik fonksiyonlar üzerine etkili olduğu bilinmektedir (1,2,3).

Son yıllarda çevresel faktörlerden elektrik ve elektromanyetik alanların canlı organizma üzerine toksik etkilerinin araştırılması yönünde çalışmalar giderek hız kazanmıştır (4, 5, 6). Serbest radikallerin düşük frekanslı elektromanyetik alanlara maruz kalan insanlarda daha serbestçe dolaşabileceği ve hasara yol açabileceği ileri sürülmektedir (7,8).

Bu çalışmada doğru akımla ve alternatif akımla oluşturulan sırasıyla 0.74 kV/m ve 0.81 kV/m elektrik alan şiddeti ile yüksek voltaj altında oluşan 50 kV/m elektrik alana maruz bırakılan Wistar albino ırkı erkek sıçanlarda (rat) serbest radikallerin bir göstergesini oluşturan antioksidan savunma ajanlarından, antioksidan enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerini, lipid peroksidasyon ürünü malondialdehid (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyelerini ne şekilde etkilediğini araştırmak hedeflenmiştir.

Materyal ve Metot

Deney hayvanı materyali: Araştırmada 3.0-3.5 aylık, ortalama 200 g ağırlığında 44 tane Wistar Albino erkek sıçan (rat) kullanıldı. Deney hayvanları, kontrol (KN), doğru akımla oluşturulan elektrik alana maruz bırakılan grup (DC), alternatif akımla oluşturulan elektrik alana maruz bırakılan grup (AC) ve yüksek voltaj (150 kV) altında (TR) elektrik alana maruz bırakılan grup olarak 4 gruba ayrıldı. Denemeler, dört adet plastik kafeste (27cm x 40cm x 23cm) gerçekleştirildi ve her birinde 11 tane sıçan yer aldı. Sıçanlar, deneme müddetince standart sıçan yemi ve su ile ad libitum beslendi.

Elektrik alan uygulama metodu: Ratlar (sıçanlar), delikli plastik kafeslere yerleştirilerek kafeslerin her iki yan kenarına 25 cm x 60 cm x 0.1 cm ebatlarında düz bakır plakalar kondu. Elektrik alanın plakalar arasında oluşturulması amacıyla (+) kutup bir plakaya, (nötr) kutup diğer plakaya bağlandı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. DC grubu, doğru akımla oluşturulan 50 Hz frekans, 0.220 kV voltajla 0.74 kV/m şiddetinde, AC grubu, alternatif akımla oluşturulan 50 Hz frekans, 0.220 kV/m voltajla 0.81 kV/m şiddetinde ve TR grubu, 150 kV'luk yüksek gerilim altında doğal şartlarda oluşan aynı zamanda manyetik alanında olduğu yüksek gerilim altında yaklaşık 50 kV/m şiddetinde elektrik alana 40 gün boyunca 24 saat/gün bırakıldı (9, 10). Gerilim şiddetinin deneme boyunca sabit kalması amacıyla güç kaynağı regülatöre (15 kV) bağlandı ve multimetre ile kontrol edildi. Elektrik yalıtımı amacıyla kafeslerin altına tahta yerleştirildi.

Kan ve doku örneklerinin alınması: Deney hayvanlarından kan alımı, kuyruk kesme metodu ile gerçekleştirildi. Kanlar, 20. ve 40. günlerde 2 kez EDTA'lı cam tüplere alındı. GSH analizi için tüm kan kullanıldı. Sonra eritrosit paketleri elde edildi (11, 12, 13) ve MDA analizi yapıldıktan sonra enzim analizlerine kadar derin dondurucuda -20° C'de saklandı. Denemenin 44. gününde deney hayvanları eterle anesteziye alındı, karaciğer ve beyin dokusu kesilerek çıkarıldı ve hemen sıvı azotta dondurularak derin dondurucuda -80°C'de muhafaza edildi. Doku antioksidanları ve malondialdehid tayini için doku ekstraksiyonları yapıldı (11,12,14,15).

Biyokimyasal analizler: Eritrosit ve dokularda MDA analizi, Sushil ve ark. (13) metodu, eritrosit GSH analizi, Beutler ve ark. (16) ile Rizzi ve ark. (17) metotları, doku GSH analizi, Ball (18) metodu, eritrosit ve doku SOD aktivitesi Ransod SOD enzim kiti (11), eritrosit ve doku GSH-Px aktivitesi, Ransel GSH-Px enzim kiti (12) ile gerçekleştirildi. Doku total protein analizi ise biüret (19) metoduyla saptandı.

İstatistik analizler: Elektrik alan etkisinin MDA, GSH düzeyleri, SOD ve GSH-Px aktivitelerinin gruplar arası istatistik değerlendirmesi ve varyans analizleri (ANOVA), SPSS (IBM-PC) paket programında yapıldı (20-23).

Bulgular

Elektrik alan etkisinin 20. ve 40. gün sonundaki kan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, malondialdehid ve glutatyon bulguları Tablo 1'de, 44. gün sonundaki karaciğer ve beyin dokusu süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, malondialdehid ve glutatyon bulguları Tablo 2'de sunuldu.

Tablo 1. Elektrik alan etkisinin 20. ve 40. gün sonundaki kan süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, malondialdehid ve glutatyon bulguları.

Gruplar	Malondialdehid nmol / ml eritrosit X±SH		Glutatyon mg/100 ml eritrosit X±SH		Süperoksit dismutaz U/ml Tüm kan X±SH		Glutatyon peroksidaz U/ml Tüm kan X±SH	
	20. Gün	40. Gün	20. Gün	40. Gün	20. Gün	40. Gün	20. Gün	40. Gün
Kontrol	1.79 ±0.25 ^a	2.30 ±0.22 ^a	32.09 ±0.73 ^a	28.11 ±1.03 ^a	464.4 ±44.2 ^a	508.6 ±114.1 ^a	56.50 ±1.13 ^a	57.21 ±1.26 ^a
DC EA 0.74kV/m	3.55 ±0.47 ^b	3.66 ±0.54 ^b	25.26 ±1.20 ^{bc}	21.03 ±0.76 ^b	282.6 ±29.7 ^b	564.5 ±75.9 ^a	50.86 ±5.75 ^a	51.43 ±10.89 ^a
AC EA 0.81kV/m	2.29 ±0.35 ^{ac}	4.52 ±0.82 ^c	22.57 ±1.01 ^{bc}	18.69 ±0.54 ^b	427.0 ±51.6 ^a	467.1 ±53.6 ^a	82.29 ±5.44 ^b	84.12 ±5.47 ^b
TR EA 50 kV/m	2.55 ±0.23 ^{ac}	3.33 ±0.17 ^a	18.60 ±0.91 ^d	19.38 ±0.53 ^c	412.4 ±56.8 ^a	593.0 ±100.6 ^a	61.01 ±4.09 ^a	63.47 ±5.21 ^a

Aynı sütunda gruplar arasındaki farklı harfler taşıyanlar istatistik olarak önemli farklılığa sahiptir (p<0.05).

Tablo 2. Elektrik alan etkisinin 44. gün sonundaki karaciğer ve beyin dokusu süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, malondialdehid ve glutatyon bulguları.

Gruplar	Malondialdehid nmol / g doku X±SH		Glutatyon µmol / g doku X±SH		Süperoksit dismutaz U / mg protein X±SH		Glutatyon peroksidaz U / mg protein X±SH	
	Karaciğer	Beyin	Karaciğer	Beyin	Karaciğer	Beyin	Karaciğer	Beyin
Kontrol	185.6 ± 12.7 ^a	144.3 ± 5.9 ^a	7.41 ± 0.07 ^a	1.36 ± 0.13 ^a	12.07 ± 2.81 ^a	3.22 ± 0.33 ^a	1.55 ± 0.14 ^a	0.228 ± 0.033 ^a
DC EA 0.74kV/m	199.2 ± 7.6 ^a	168.6 ± 11.5 ^b	6.50 ±0.26 ^b	1.67 ± 0.04 ^b	10.73 ± 0.86 ^a	3.09 ± 0.12 ^a	1.29 ± 0.07 ^a	0.116 ± 0.020 ^b
AC EA 0.81kV/m	199.7 ± 9.8 ^a	137.6 ± 6.5 ^a	4.85 ±0.13 ^c	1.07 ± 0.01 ^c	9.99 ±1.33 ^a	3.80 ± 0.22 ^a	1.41 ± 0.10 ^a	0.052 ± 0.008 ^c
TR EA 50 kV/m	197.8 ± 4.8 ^a	152.5 ± 7.2 ^{ab}	4.79 ± 0.14 ^d	1.99 ± 0.12 ^d	12.24 ± 2.09 ^a	3.33 ± 0.19 ^a	1.48 ± 0.19 ^a	0.069 ± 0.011 ^d

Aynı sütunda gruplar arasındaki farklı harfler taşıyanlar istatistik olarak önemli farklılığa sahiptir (p<0.05).

Tartışma ve Sonuç

Çevresel ve fiziksel faktörlerin (İlaç toksikasyonları, parasetamol, CCl₄, alkol, uyuşturucu, ısı, elektromanyetik etkili ultraviyole, X ışınları vb. gibi) etkisi ile serbest radikallerin meydana gelmesi arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır (1,9,24). Bu faktörlerin etkisi sonucu canlılarda serbest radikaller çeşitli hastalıkların patogeneziinde önemli rol oynarlar. Diyabet, kalp hastalıkları, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, kas, deri, göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi bir çok hastalıkta serbest radikal ve lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşumunda artma sonucu, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı gözlenmiştir. Yalnız bu hastalıkların patogeneziinde serbest radikallerin hastalığın sebebi mi yoksa bir sonucu olarak mı ortaya çıktıkları kesin olarak bilinmemektedir (25,26). Çeşitli klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda, serbest radikaller, lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile kanser gelişimi arasında pozitif bir ilişkinin söz

konusu olduğu ortaya konulmuştur. Bir çok kimyasal maddenin hücre etrafındaki oksidatif stresi artırarak, kansere sebep olduğu bildirilmektedir. Fiziksel ajanlardan radyasyonun da serbest radikal ve lipid peroksidasyon üretimini artırarak kansere sebep olduğu gösterilmiştir. Serbest radikaller, kanserin başlangıç, ilerleme ve gelişme dönemlerinde etkili olmakla beraber bu etki ilerleme döneminde daha belirgin, diğer dönemlerde ise nispeten azdır (27,28).

Tablo 1'in incelenmesinde kandaki malondialdehid (MDA) verilerinin DC, AC ve TR gruplarında KN grubuna göre önemli oranda, aritmetik ortalama değerinde bir artış görülmektedir. Kontrol grubu kan MDA verileri, literatürdeki sonuçlarla uygunluk göstermektedir (13). Tabloda DC grubunun kandaki MDA verilerinde, diğer gruplara (KN, AC ve TR) göre istatistiksel olarak önemli bir artış bulunmaktadır ($p<0.05$). AC ve TR grubunun 20. gün kan MDA verileri, KN grubuna göre artış göstermesine rağmen bu artış, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). DC ve AC gruplarında 40. gün kan MDA verilerinin incelenmesinde, KN ve TR gruplarına göre önemli oranda artışı saptanmıştır ($p<0.05$). TR grubunda kandaki MDA düzeyi, KN grubuna göre artmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak önemli düzeye ulaşamamıştır ($p>0.05$). Kanda MDA verileri, zamana göre incelendiğinde 20. günde, diğer gruplara göre sadece DC grubunda istatistiksel önemlilik saptanırken, 40. günde DC ile birlikte AC grubunda da diğer gruplara göre önemli bir artış belirlenmiştir. Kanda MDA verilerinin kontrol gruplarının karşılaştırılmasında, 40. gün kandaki MDA düzeyi, 20. gün düzeyine göre artmasına rağmen bu önemli bir düzeye ulaşmamıştır ($p>0.05$). Zamana bağlı olarak kanda MDA verilerinin, KN grubuna göre diğer gruplarda önemli oranda artış gösterdiği görülmektedir. Romodanova (29), 320 kV/m'lik elektrostatik alanlara uzun süre maruz bıraktığı sıçanlarda kan MDA düzeyinde artma olduğunu bildirmektedir. Levshin (30), alçak (düşük) frekanslı alternatif akımla oluşturduğu elektromanyetik alan etkisinde bıraktığı hayvanlarda kanda MDA düzeyinde artış gözlemlenmiştir. Farklı elektrik alan etkisinin 20. ve 40. gün kan MDA verileri yukarıda belirtilen literatür sonuçları ile paralellik göstermekte, elektrik alan etkisi sonrası kan MDA verilerinde artma olduğu görülmektedir. Romodanova (29)'nın çalışmaları baz alındığında TR grubunun kan MDA verilerinde de istatistiksel olarak önemli bir artış beklenmesine karşın, bu artış sadece aritmetik düzeyde kalmıştır. TR grubu kan MDA verilerinin, KN grubuna göre önemli düzeyde artış göstermemesi, Romodanova (29)'nın çalışmasında sıçanlara daha yüksek şiddette elektrostatik alan uygulamasından ileri gelebileceğini düşündürmektedir.

Tablo 1 incelendiğinde, bütün deneme gruplarının (DC, AC ve TR) kandaki glutatyon (GSH) değerlerinin, kontrol grubuna göre önemli oranda azaldıkları görülmektedir ($p<0.05$). Kontrol grubunun kandaki GSH değerleri literatür verilerine uygunluk göstermektedir (16, 17, 31). 20. günde kandaki GSH verilerinde, KN grubuna göre tüm gruplarda (DC, AC ve TR grupları) önemli oranda azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Azalan gruplar arasında, DC grubu ile AC grubu arasında önemli bir farklılık ($p>0.05$) olmamasına karşın, TR grubunda önemli farklılık belirlenmiştir ($p<0.05$). 40. gün kandaki GSH verilerinde, KN grubuna göre, diğer gruplarda (DC, AC ve TR) önemli farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Farklı elektrik alan etkisindeki grupların (DC, AC ve TR) kendi aralarında da önemli farklılık söz konusudur ($p<0.05$). Kandaki GSH düzeylerinde farklı elektrik alan etkisinin zamana göre veriler arası karşılaştırılmasında, KN grubuna göre, diğer gruplarda (DC, AC ve TR) önemli oranda azalma göze çarpmaktadır. Elektrik alan uygulama süresinin artırılması ile elektrik alan etkisinde bırakılan grupların (DC, AC ve TR) kan glutatyon değerlerinde azalmanın daha fazla olduğu görülmektedir. Fakat bu azalma istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0.05$). Elektrik alan etkisi sonrası kan ve dokularda GSH ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Glutatyon, serbest radikal artışına ve lipid peroksidasyon oluşmasına bağlı olarak meydana gelen ürünlerle kolayca reaksiyona girerek metabolizma için zararlı olan bu ürünlerin ortamdaki uzaklaştırılması için görev alan güçlü bir antioksidandır. Oksidatif hasar sonucu gelişen lipid peroksidasyon oluşumuna bağlı olarak bu ürünlerle reaksiyona girerek okside glutatyon dönüşür. Çeşitli araştırmalarda serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonu ile glutatyon düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığı, glutatyon düzeyinin azaldığı bildirilmektedir (25,31). Oksidatif stres ve hasar sonucu dokularda özellikle karaciğerde glutatyon düzeyinde azalma olacağı bildirilmektedir (31). Elektrik alan etkisinin araştırıldığı bu çalışmada kan MDA düzeylerinde artışa bağlı olarak GSH düzeyinde önemli bir azalma olması yukarıdaki literatür bilgileriyle uyumluluk göstermektedir (13,31).

Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin, kandaki düzeylerinin Tablo 1'de incelenmesinde elektrik alan etkisinin 20. ve 40. gün sonrasındaki verileri arasında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik saptanamamıştır ($p>0.05$). Sadece DC grubunda 20. gün SOD aktivitesinde ($p<0.05$) önemli bir azalma olmasına karşın, 40. gün sonunda SOD aktivitesi normal düzeydedir. DC grubunun 40. günde kandaki SOD aktivitesinde, 20. gün aktivitesine göre önemli bir artış olmasına rağmen bu istatistiksel olarak önemli düzeye ulaşamamıştır ($p>0.05$). AC ve TR grubundaki kandaki SOD aktivitelerinin normal sınırlar içinde kaldığı gözlenmiştir. DC grubundaki SOD enziminde, oluşan serbest radikal ve lipid peroksidasyonuna bağlı olarak hücre antioksidan savunma mekanizmalarının uyarılması sonucu artış görülmüştür. Diğer iki grupta (AC ve TR) da kan MDA miktarında artış olmasına rağmen, SOD aktivitesinde KN grubuna göre bir artış saptanamamıştır. Zamana bağlı SOD enzim aktivitelerinin incelenmesinde AC ve TR gruplarında 40. gün verileri, 20. güne göre aritmetik olarak yükselmesine karşın, bu artış istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0.05$).

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin kandaki verilerinin incelenmesinde, DC grubunda, diğer gruplara göre (KN, AC ve TR) hafif bir azalma görülmesiyle beraber bu azalma istatistiksel önemlilik arz etmemektedir ($p>0.05$). Zamana bağlı kan GSH-Px aktivitelerinin incelenmesinde, AC ve TR gruplarının verilerinin ise KN ve DC grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda yükseldiği belirlenmiştir ($p<0.05$). Hücre içi çeşitli etkiler sonucu serbest radikal oluşumunu ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonu meydana gelmektedir. Serbest radikal ve lipid peroksidasyonunu ortadan kaldırmak amacıyla hücrel savunma elemanlarından süperoksid dismutaz ve glutasyon peroksidaz aktivitesinde ilk aşamada bu zararlı etkileri ortadan kaldırmak amacıyla artış meydana gelmektedir. Serbest radikal ve lipid peroksidasyonu oluşumunun uzun süreli artışına bağlı olarak hücrel antioksidan savunma sisteminin aşılmasıyla antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olabileceği bildirilmektedir (27,31). Sunulan çalışmada elektrik alan etkisi sonrası lipid peroksidasyonu artışına paralel olarak hücrel antioksidan savunma elemanlarından olan glutasyon peroksidaz aktivitesinde önemli düzeyde artışın olması kanda hücrel antioksidan savunma sisteminin aşılamadığını ortaya koymaktadır.

Tablo 2'de sunulduğu üzere deneme gruplarının (DC, AC ve TR), karaciğer dokusu MDA düzeyinin incelenmesinde KN grubuna göre aritmetik artış bulunmasına karşın, bu artış istatistiksel olarak önemli düzeye çıkmamıştır ($p>0.05$). Beyin dokusunda MDA düzeyinde sadece DC grubunda, diğer gruplara göre (KN, AC ve TR) önemli bir farklılık saptandı ($p<0.05$). Romodanova (29)'nın yaptığı 320 kV/m'lik elektrostatik alanların uzun süreli etkileri sonucu karaciğer dokusu MDA düzeyinde artış olduğu belirtilmekle birlikte deneme sonunda fizyolojik adaptasyonun yüksek olduğu bildirilmektedir. Atalay (9) ve Güler (32), 0.956 kV/m ile 0.29 kV/m elektrik alan etkisine kısa süreyle (3 gün) maruz bıraktıkları sıçanlarda böbreküstü bezi MDA düzeylerinde artma bulmuşlardır. Bu çalışmada elde edilen karaciğer ve beyin dokusu MDA verilerinde farklı elektrik alan (DC ve AC) uygulaması sonrası, istatistiksel olarak önemli farklılığın bulunmamasının bu konuda yapılan çalışmalarda elektrik alan şiddetinin ve alan etkisinde kalma süresinin farklılığından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanında karaciğer ve beyin dokularında MDA düzeylerinde DC grubu hariç herhangi bir değişiklik olmaması hücrel antioksidan savunma mekanizmalarında bu düzeylerin normal sınırlarda tutulmasında görev yaptıkları kanaatini uyandırmaktadır.

Glutasyon verilerinin karaciğer dokusundaki sonuçlarının Tablo 2'de incelenmesinde elektrik alan uygulanan bütün gruplarda GSH düzeyinde önemli oranda azalma görülmüştür ($p<0.05$). Dinçer ve ark. (33), tarafından DC akımla oluşturulan elektrik alan etkisinin 3 gün boyunca kobaylara uygulanması sonrasında karaciğer dokusunda, MDA düzeyinde artışa paralel olarak GSH benzeri etki gösteren askorbik asit düzeylerinde önemli azalmanın olduğu bildirilmektedir. Sunulan çalışmada DC, AC ve TR gruplarındaki karaciğer dokusu MDA düzeyleri, KN grubuna göre aritmetik olarak artarken, buna paralel olarak GSH düzeylerinde düşüş saptanması literatür verileriyle uyumluluk arz etmektedir (31). DC ve TR gruplarındaki GSH beyin dokusu düzeyi, diğer gruplara göre artış göstermiştir ($p<0.05$). Elektrik alanın beyin dokusunda GSH düzeylerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Glutasyon, hücrelerin serbest radikallerden ileri gelen oksidatif hasardan korunması yanı sıra yabancı toksik bileşiklerin ortadan kaldırılmasında görev alan reaksiyonlarda da yer

almaktadır. Beyin, vücudun en hassas anatomik yapıya sahip bir organdır ve fonksiyonlarını etkileyebilecek her türlü olumsuz koşulların en kısa sürede ortamdaki uzaklaştırılması gereklidir. Beyindeki glutatyon düzeyinde bu artışa paralel olarak glutatyon peroksidaz aktivitesinde de bu gruplarda önemli düzeyde azalma bulunmuştur ($p < 0.05$).

Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin karaciğer dokusu verilerinin Tablo 2’de incelenmesinde, gruplar arasında önemli bir değişim gözlenmemiştir. KN grubuna göre DC ve AC grubu aritmetik olarak azalma gösterirken TR grubunda herhangi bir azalma bulunmamıştır ($p > 0.05$). Beyin dokusunda SOD aktivite verileri arasında herhangi bir değişim görülmemektedir ($p > 0.05$). Güler ve ark. (32) tarafından doğru akımla oluşturulan elektrik alan etkisine kısa süreyle (3 gün) bırakılan koyalarda karaciğer SOD aktivitesinde önemli artış bulunduğu bildirilmektedir. Başka bir çalışmada doğru akımla oluşturulan 0.956 kV/m elektrik alan şiddetinde, 3 gün etki altında bırakılan koyalarda böbrek üstü bezi MDA düzeyinde artış bulunduğu bildirilmektedir (9,33). Çalışmada, 44 gün süreyle sürekli bu çalışmalara paralel şiddette DC akımla elektrik alan (0.74 kV/m) uygulaması yanında DC akıma yakın AC akımla oluşturulan (0.81 kV/m) ve AC akım altında oluşan yaklaşık 50 kV/m şiddetindeki elektrik alan etkisi sonrası sıçanlarda karaciğer ve beyin dokusunda SOD aktivitesinde bir değişiklik bulunamadı. Yukarıdaki yapılan çalışmalarda (9, 33) kısa süreli DC akımla oluşturulan elektrik alan etkisi sonrası böbrek üstü bezi MDA düzeyi ile karaciğerdeki SOD aktivitesinde artış bulunduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada ise karaciğer ve beyin MDA düzeylerinde istatistiksel önemi olmasa da aritmetik artış bulunmuştur. SOD aktivitesinde herhangi bir değişikliğin olmaması, 44 günlük sürede sıçan metabolizmasında dokularda fizyolojik adaptasyonun sağlandığı kanısını uyandırmaktadır.

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) karaciğer dokusundaki aktivitesinin Tablo 2’de incelenmesinde önemli bir farklılık olmamasına karşın ($p > 0.05$) aritmetik olarak elektrik alan uygulanan gruplarda (DC, AC ve TR) azalma göze çarpmaktadır. GSH-Px’in beyin dokusundaki aktivitesi önemli oranda azalma göstermektedir ($p < 0.05$).

Bu çalışmada, 0.74 kV/m şiddetindeki DC elektrik alan etkisinde 40. gün süreyle sürekli etki altında bırakılan sıçanlarda 20. ve 40. gün eritrosit MDA düzeyinde önemli farklılıklar gerçekleşmesine karşın karaciğer ve beyin dokusunda aritmetik artışlar önemli düzeye ulaşmamıştır. Uzun süreyle elektrik alan etkisinde bırakılan sıçanların dokularında farklılık bulunamamasının nedeninin, alan şiddetinden fazla etkilenmedikleri ya da bu süre içinde hücrel fizyolojik adaptasyon sağladıkları ve değerlerin normal düzeye düşmüş olabileceği kanaatini uyandırmaktadır.

Romodanova (29), 320 kV/m şiddetinde elektrik alan etkisine uzun süreyle bıraktığı sıçanların karaciğer ve beyin dokularında MDA verilerinde artış olduğunu bildirmektedir. Bu çalışmada yüksek voltaj altında bıraktığımız 50 kV/m şiddetindeki elektrik alan uygulaması sonrası dokularda MDA düzeyinde önemli bir değişiklik bulunmadı ($p > 0.05$). Bu farklılığın Romodanova (29) tarafından gerçekleştirilen çalışmada elektrik şiddetinin yüksek olmasının rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, 0.74 kV/m şiddetinde DC, 0.81kV/m şiddetinde AC ile yüksek gerilim hattı altında 50 kV/m şiddetinde AC elektrik alan etkisine deney hayvanları 40 gün boyunca 24 saat/gün süreyle bırakıldı. Karaciğer dokusundaki MDA düzeyi ve SOD aktivitesinde değişiklik olmaması ve kandaki MDA düzeylerinde artışın ve GSH düzeyinde azalışın, bütün parametrelerde önemli düzeyde azalma ya da yükselme göstermemesi uygulanan doğru (DC) ve alternatif akıma (AC), bu akımların şiddetlerine ve etki sürelerine de bağlı olarak gerçekleştiği kanaatini düşündürmektedir. Aynı zamanda uygulama süresi boyunca kandaki verilere paralel olarak ilk günlerde dokularda meydana gelebilecek serbest radikal hasarına karşı, sıçanların metabolizmasında antioksidan savunma sisteminin geliştirildiği 44. güne kadar bu savunma sisteminin aşılamadığı ve elektrik alan etkisinin antioksidan enzimleri fazla etkilemediği, sıçan dokularında fizyolojik bir adaptasyonun gerçekleştiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada, düşük şiddette 0.74 kV/m DC ve 0.81 kV/m AC ile 50 kV/m yüksek şiddette AC elektrik alanların eritrosit, karaciğer ve beyin dokusundaki analizi gerçekleştirilen parametrelerde kısmi etkili olduğu, rat metabolizmasındaki antioksidan savunma sisteminin aşılamadığı belirlendi. Parametrelerdeki değişikliklere karşın, antioksidan adaptasyonun kısa sürede sıçan metabolizmasında gelişiminin olabileceği kanaatine varılmıştır. Bu nedenle ileriki çalışmalarda bu parametrelerle birlikte elektrik alan etkisinde bırakılma süresinin uzatılması yanında diğer antioksidan

maddelerin (β karoten, E, C, seruloplazmin, glukoz, ürik asit, transferrin, vb gibi) araştırılması yanında bu maddelerin yemde kısıtlanmasıyla elektrik alan etkilerinin araştırılmasının yararlı olacağı önerilmiştir.

Elektrik alanların stres, aktivite düşüklüğü gibi etkileri için adrenalin düzeylerinin, epidemiyolojik çalışmalarda meme, kan, beyin kanser riskleri için kanser belirleyici parametrelerin de araştırılması elektrik alanların etkilerinin daha detaylı aydınlatılması için yararlı olabilecektir.

Kaynaklar

1. Sümer Ş, Baldemir F and Çelik T: An Investigation on the Effects of Electric Fields on Cell Division in Barley (*Hordeum vulgare* L.), FÜ Fen ve Müh. Bil. Der. 7(1):171-178 (1995).
2. Billings CE: Fiziksel Ajanların Etkileri, N. Zengin(Ed) Sodemans Fیزیopatolojisi, 1164-1190, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara (1992).
3. Flink EB and Prasad AS: Kimyasal Ajanlar ve Hastalık, S. Turgut(Ed) Sodemans Fیزیopatolojisi, 1191 - 1208, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara (1992).
4. Dowman R, Wolpaw JR, Seegal RF and Murti SS: Chronic Exposure of Primates to 60 Hz Electric and Magnetic Fields: III. Neurophysiologic Effects, *Bioelectromagnetics*, 10:303 - 317(1989).
5. Theriault G, Goldberg M, Miller AB, Armstrong B, Guenel P, Deadman J, İmbernon E, To T, Chevalier A, Cry D and Wall C: Cancer Risks Associated with Occupational Exposure to Magnetic Field Among Electric Utility Workers in Ontario and Quebec, Canada and France: (1970-1989), *American J. Epidemiology*, 139(6):550 - 572 (1994).
6. Kavet R and Black R: Electrical and Magnetic Fields: Health Reseach *Agricultural Engineering*, 66(1):21-24 (1985).
7. Korur E: Elektrik Hatları Sağlığa Zararlı mı? A. Coghlan (Ed), In "New Scientist" *Bilim ve Teknik Derg.*, 20:6-8(1992).
8. Pentland AP: Active Oxygen Mechanisms of UV Inflammation, Free Radicals in Diagnostic Medicine, D.Armstrong(Ed), pp. 87-97, Plenum Press, New York (1994).
9. Atalay NS, Güler G, Koz M ve Gönül B: Elektrik Alanın Böbreküstü Bezi Malondialdehid (MDA) Seviyesine Etkisi, *Türkiye Tıp Derg.*, 1(39): 161- 167 (1994).
10. Wolpaw JR, Seegal RF and Dowman R: Chronic Exposure of Primates to 60-Hz Electric and Magnetic Fields: I. Exposure System and Measurements of General Health and Performance, *Bioelectromagnetics*, 10: 277-288 (1989).
11. Anon. Randox Lab. Lmd. Ransod Süperoxide Dismutase Enzim Kiti, (1996).
12. Anon. Randox Lab. Lmd., Ransel Glutathione Peroxidase Enzim Kiti, (1996).
13. Sushil JK, Mcvie R, Duett J and Herbst JJ: Erythrocyte Membrane Lipid Peroxidation and Glycosylated Hemoglobin in Diabetes, *Diabetes*, 38:1539-1543 (1989).
14. Xia E, Rao G, Remmen HV, Heydari AR and Richardson A: Activities of Antioxidant Enzymes in Various Tissues of Male Fischer 344 Rats are Altered by Food Restriction, *J. Nutr.* 125:195-201 (1994).
15. Paglia DE and Valentine WN: Studies on The Quantitative and Qualitative Characterization of Erythrocyte Glutathione Peroxidase, *J. Lab. Clin. Med.*, 70(1):158-168 (1967).
16. Beutler E, Dubon O and Kelly BM: Improved Method for The Determination of Blood Glutathione, *J. Lab. Clin. Med.*, 61:882-888 (1963).
17. Rizzi R, Caroli A, Bolla P, Acciaioli A and Pagnacco G: Variability of Reduced Glutathione Levels in Massese Ewes and Its Effect on Daily Milk Production, *J. of Dairy Research*, 55:345-353 (1988)
18. Ball CR:Estimation and Identification of Thiols in Rat Spleen After Cysteine or Glutathione Treatment, Pelevance to Protection Against Nitrojen Mustards, *Biochem. Pharmac.*, 15: 809-816. Pergamon Press Lmd. (1966).
19. Tiftik AM: Biüret Metoduyla Total Protein Tayini, *Klinik Biyokimya*, pp. 291-292, Mimoza Yayınları, Konya (1996).
20. Cochran WG and Cox GM: *Experimental Desing*, John Wiley&Jons, New York (1950)
21. Anon. SPSS for Windows, Release 6.1 Standart Version, USA, (1994).
22. Snedecor G, Wand Cochran WG: *Statistical Methods*, Iowa State University, Press Ames, pp.1-503, USA (1989).
23. Akgül A: Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri SPSS Uygulamaları, Yüksek Öğretim Kurulu Matbaası, Ankara (1997)
24. Yağı K:Lipid Peroxides and Related Radicals in Clinical Medicine, Free Radicals in Diagnostic Medicine, D. Armstrong(Ed), pp. 17-27, Plenum Press, New York (1994).
25. Halliwell B and Gutteridge JM: Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage, and Antioxidant Therapy, *The Lancet*, 23:1396-1397 (1984).
26. Janssen YMW, Houten BV, Borm PJA and Mossmon BT: Biology of Disease, Cell and Tissue Responses to Oxidative Damage, *Lab. Invest.*, 69(3):261-274 (1993).
27. Akkuş I: Serbest Radikaller ve Fیزیopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya (1995).
28. Özdem SS ve Şadan G: Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu ve Klinik Açından Önemi, *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Der.* XI (1):63-71 (1994).
29. Romodanova EA, Paranich AV and Chaikina LA: Effect of Chronic Effect of The Electrostatic Field on Various Biochemical Indicators of The Tissues, *Fiziol Zh.*, May-Jun., 36(3):30-34 (1990).
30. Levshin IV: Permeability of Erhythrocyte Membranes from Peripheral Blood After Exposure to Low- Frequency Alternating Electromagnetic Field, *Patologicheskaya Fiziolgiya i Eksperimentalnaya Terapiya*, 1:17-19 (1990).
31. Meister A and Anderson ME: Glutathione, *Ann. Rev. Biochem.* 52: 711 - 760 (1983).
32. Güler G, Atalay NS, Altan N ve Yavuz Ö: Süperoksid Dismutaz Aktivitesini Artırmada Yeni Bir Etken: Elektrik Alanlar, *Türk Fیزیoloji Bil. Derneği 21. Ulusal Kong.*, Ankara, 24-28.Eylül.1995.
33. Dinçer S, Koz E, Gönül B, Güler G ve Atalay NS: Elektrik Alanın Askorbik Asit ve Malondialdehid Düzeyleri Üzerine Etkisi, *T. Fیزیolojik Bil. Der. 21. Ulusal Kong.*, Ankara 24-28.Eylül.1995.

Sağıtım Dozlarında Uygulanan Bazı Sulfonamidlerin Alabalıkların (Oncorhynchus mykiss) Yenilebilir Dokularında Kalıntı Düzeyleri ile Vücuttan Atılma Sürelerinin Belirlenmesi¹

İdris TÜREL²

Orhan YILMAZ²

Özet

Bu çalışmada, Gökkuşığı alabalıklarında tedavi amacıyla kullanılan sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinin dokularındaki kalıntı düzeylerinin ne kadar zamanda tolerans limitlerinin altına düştüğü, ilaç uygulamasından ne kadar süre sonra tüketime sunulması gerektiği ve sulfonamid grubu ilaçlar uygulandığı zaman dokularda hangi düzeylerde bulunduğu Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile araştırılmıştır. Gökkuşığı alabalıkları 3 ay süreyle su ortamına ve yeme alıştırdıktan sonra canlı ağırlıkları tartılarak, grup ortalamaları birbirine yakın olacak şekilde 180 adet balık, her grupta 36 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Grubun herbirine bir sulfonamid türevi 200 mg/kg/gün dozunda 14 gün süreyle uygulandı.

Balıklar, en son ilaç uygulamasından sonra 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13., 15., 17., 19. ve 21 günlerde üçerli gruplar halinde alınarak kas dokuları blenderde parçalanarak homojen hale getirildi. Bu örneklerin ekstraksiyon işleminden sonra, sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinin kas dokusundaki dağılımları Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Metoduyla tesbit edildi.

Sulfadiazin (0.097 ± 0.01 ppm), sulfamerazin (0.1 ± 0.02 ppm), sulfametazin (0.07 ± 0.02 ppm) ve sulfametoksazol (0.081 ± 0.043 ppm) 11. günde, sulfadimetoksinin ise (0.095 ± 0.02 ppm) 7. günde tolerans limitinin altına indiği saptandı. Gökkuşığı alabalığı kas dokusunda sulfadiazin 17. günde 0.018 ± 0.003 ppm, sulfamerazin 19. günde 0.01 ± 0.002 ppm, sulfametazin 17. günde 0.01 ± 0.001 ppm, sulfametoksazol 15. günde 0.004 ± 0.001 ve sulfadimetoksin ise 11. günde 0.003 ± 0.0005 ppm düzeyinde belirlendi.

Gökkuşığı alabalıklarının sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin ve sulfametoksazol için 11. günden, sulfadimetoksin için ise 7. günden sonra tüketime sunulabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Sıvı kromatografisi, Sulfonamidler, İlaç kalıntıları, Gökkuşığı alabalığı

Summary

The determination of residues in edible tissues and withdrawal times of some sulfanamides, administered with therapeutic doses to Rainbow trout

In this study, sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole and sulfadimethoxine were applied to the rainbow trouts. How long it takes to lower below tolerance limits for the residue levels accumulated in tissues, consumption time after medication, and accuracy levels of sulfonamide group in tissues were researched by using HPLC. The experimental rainbow trouts were adapted for the feed and water conditions for a period of three months. After their body were weighed and total 180 rainbow trouts were divided into five groups. Each group contained 36 fishes. Each group was treated with a sulfonamide derivative (200 mg/kg/day) for 14 days.

After the latest application of medicines, live fish samples were taken on 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 and 21 days, and their muscle tissue were homogenized with blender. After extraction process of the samples, distributions of sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole and sulfadimethoxine in muscle tissue were determined by HPLC.

It was found that tolerance limits of sulfadiazine (0.097 ± 0.01 ppm), sulfamerazine (0.100 ± 0.02 ppm), sulfamethazine (0.070 ± 0.02 ppm) and sulfamethoxazole (0.081 ± 0.04 ppm) lowered on 11th day. However, tolerance limit of sulfadimethoxine (0.095 ± 0.02 ppm) lowered on 7th day. Sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole and sulfadimethoxine were determined as 0.018 ± 0.003 ppm on 17th day, 0.010 ± 0.02 ppm on 19th day, 0.010 ± 0.001 ppm on 17th day, 0.004 ± 0.001 ppm on 15th day and as 0.003 ± 0.0005 ppm on 11th day in the tissue of rainbow trouts, respectively.

It was also determined that the rainbow trouts would be able to be consumed after 11th day in terms of sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine and sulfamethoxazole. Nevertheless, it was after 7th day for sulfadimethoxine.

Key words: Liquid chromatography, Sulfonamides, Drug residues, Rainbow trout

¹Bu çalışma, Y.Y.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenen doktora tezinden özetlenmiştir. (Proje No: 97-VF-004)

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, VAN

Giriş

Günümüzde insanların karşılaştığı en büyük sorunlardan biri de beslenme sorunudur. Bu nedenle yeni gıda kaynakları araştırılmaktadır. Gıda maddesi açığının kapatılması için deniz ürünlerinin değerlendirilmesi ve bu ürünlerin gıda olarak kullanılması için yoğun çalışmalar sürdürülmektedir.

Doğal olarak mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen ve çoğu sentetik olarak hazırlanan, bakterilerin çoğalmasını önleyen ya da onları öldürebilen antibakteriyel ilaçlar, beşeri ve veteriner hekimlikte hastalıkların sağaltılması veya önlenmesinde kullanılırlar. İlk kez 1949 yılında az miktarda yeme katılarak verilen bazı antibiyotiklerin domuz ve piliçlerde büyümeyi hızlandırdıkları anlaşılmıştır. Bundan sonra çok sayıda antibakteriyel madde, gelişmeyi hızlandırıcı özellikleri bakımından denenmiştir (1). Hastalık, kültür balıkçılığının yoğun olduğu işletmelerde kaçınılmaz bir faktördür ve kültürü yapılmış türlerin üretimi ve sağlıklarının sürdürülebilmesi için antibakteriyel ve diğer tedavi edici ajanların kullanılması zorunludur (2-7).

Patojen mikroorganizmalar suda, havaya göre çok daha hızlı ve kolay yayılır ve taşınırlar. Yaşama ortamı olarak su, biyolojik ve kimyasal özellikleri bakımından daha karmaşıktır; suda oksijenin elverişliliği ve alınabilirliği daha düşüktür. Balıkların ve patojenlerin su ortamındaki sıcaklığa bağlılıkları, hastalıkların sabit bir inkübasyon zamanına sahip olmayışları gerçeğini gündeme getirmektedir. Çevresel etkiler, su ortamında çok yüksek seviyededir ve inkübasyon süresi değişim gösterir (8).

Kültür balıkçılığının yapıldığı işletmelerde sulfonamidler, Mycobacterium spp, Nocardia spp, Renibacterium salmoninarum, Aeromonas salmonicida, Edwardsiella tarda, Edwardsiella ictaluri, Proteus rettgeri, Flexibacter columnaris, Vibrio anguillarum, Vibrio ordalli ve Pseudomonas spp bakterilerinin sebep olduğu enfeksiyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (4,9,10).

İlaçların aşırı dozda uygulanmalarından veya kabul edilen ilaç atılma zamanına uyulmaması sonucu sulfonamid kalıntılarını içeren balık etlerinin, tüketici olan insanlar üzerinde bir sağlık riski oluşturacağı, aynı zamanda spesifik patojen mikroorganizmalarda da direnç gelişimine yol açacağı düşünülmektedir (4,11,12).

Bununla birlikte antibakteriyel ajanların kullanımı, kültür balıklarında ilaç kalıntı problemleri için potansiyel bir tehlike arz etmektedir (2).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, sulfametazinin karsinogenik (tiroid kanseri) bir etkiye sahip olabileceği kuşkusunu artırmaktadır (13-17).

Türkiye geneline yaygınlaşan alabalık işletmelerinde, koruyucu ve sağıtıcı amaçla yaygın olarak sulfonamidler kullanılmaktadır. Balıkların yemlerine katılarak veya parenteral olarak sağıtıcı ya da koruyucu amaçla verilen sulfonamidler önerilen şekilde kullanılmadıklarında, ilaç uygulanan balıkların yenilebilir dokularında ve bunlardan elde edilen ürünlerde kalıntı bırakırlar. Böyle sulfonamid kalıntıları içeren besin maddeleri, insan tüketimi için uygun değildir (18). Zira, et ve diğer hayvansal ürünlerde bulunabilecek çok az miktardaki sulfonamid kalıntıları, insanlarda allerjik reaksiyonlara ve ilaçlara dirençli bakterilerin şekillenmesine neden olurlar (13,18).

FDA (Food and Drug Administration), sulfonamidlerin yenilebilir dokulardaki tolerans düzeylerini 0.1 ppm olarak belirlemiştir (2,3,14,19).

Bu çalışmada, Gökkuşluğu alabalığı (Oncorhynchus mykiss - Rainbow trout) dokularında sulfonamid kalıntı düzeylerinin, ne kadar zamanda tolerans limitlerinin altına düştüğünün; ilaç uygulamasından ne kadar süre sonra tüketime sunulması gerektiğinin ve sulfonamid grubu ilaçlar uygulandığı zaman dokularda hangi düzeylerde bulunduğunun saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal:

Sulfonamid standartları: Sulfadiazin (Sigma), Sulfamerazin (Sigma), Sulfametazin (Sigma), Sulfametoksazol (Sigma), Sulfadimetoksin (Sigma)

Kimyasal maddeler: Sodyum hidroksid (Merck), Asetonitril (Merck LiChrosolv), Dikloro metan (Merck LiChrosolv), n-Hekzan (Merck LiChrosolv), Aseton (Merck LiChrosolv), Fosforik asit %35 (Carlo Erba), di-Sodyum hidrojen fosfat anhidr (Merck), Triklorasetik asit (Merck).

Aletler: Cecil marka Ultraviyole (UV) dedektörlü Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC), C-R3A Chromatopac (Shimadzu), ODS kolon, Degase cihazı (Millipore), Blender (Arçelik), Çalkalayıcı (Gerhardt), pH metre (Nel), Santrifüj cihazı (Heraeus SEPATECH, Minifuge RF), Terazi (Sartorius)

Metot:

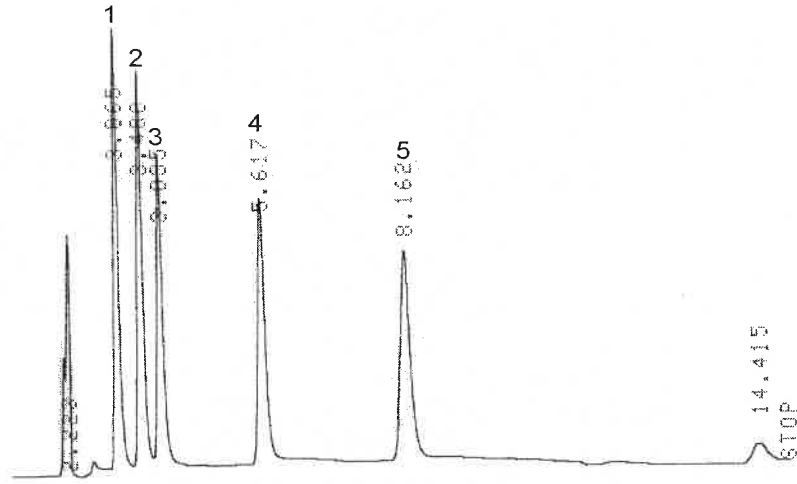
Gökkuşığı alabalıkları 3 ay süreyle su ortamına ve yeme alıştırdıktan sonra canlı ağırlıkları tartılarak, grup ortalamaları birbirine yakın olacak şekilde 180 adet balık, her grupta 36 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Grubun herbirine bir sulfonamid türevi 200 mg/kg/gün dozunda 14 gün süreyle uygulandı.

Balıklar, en son ilaç uygulamasından sonra 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13., 15., 17., 19. ve 21 günlerde üçerli gruplar halinde alınarak kas dokuları blenderde parçalanarak homojen hale getirildi. Bu örneklerin ekstraksiyon işleminden sonra, sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinin kas dokusundaki dağılımları Hormazabal ve arkadaşlarının (20) kullandıkları Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Metodu modifiye edilerek tesbit edilmiştir.

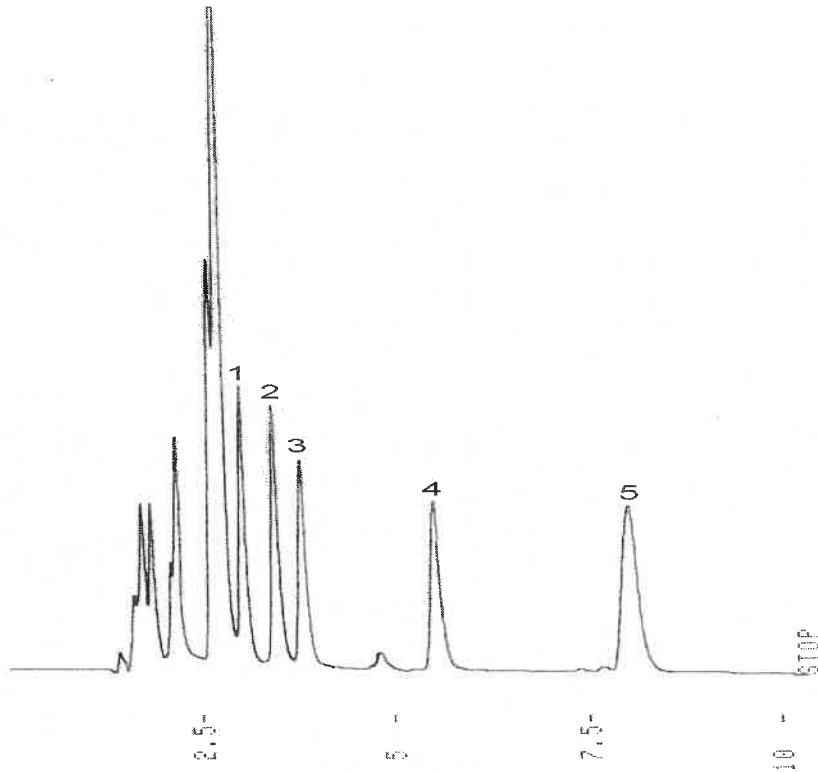
Kromatografik şartlar: Mobil faz: Asetonitril - 0.017 M H₃PO₄, (30:70, v/v), Akış hızı: 1.4 ml/dk., Rekorder: 8 mm/dk., Dalga boyu: Bütün standartlar için 270 nm.

Standartların hazırlanması: Sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksin standartları karışımı 20 µl'de 20 ng olacak şekilde hazırlandı. Standart karışımından 20 µl HPLC'ye enjekte edilerek standart pikleri alındı. Elde edilen kromatogram Şekil 1'de gösterilmiştir.

Balık kas dokusuna 1 ppm standart katılarak ekstraksiyon ve temizleme işlemine tabi tutuldu. Elde edilen eluatın 20 µl'si Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisine enjekte edilerek elde edilen piklerin alanlarına göre kalibrasyon yapıldı. Elde edilen kromatogram Şekil 2'de verilmiştir. Bundan sonra numunelerin okunmasına geçildi.



Şekil 1: Sulfadiazin (1), sulfamerazin (2), sulfametazin (3), sulfametoksazol (4) ve sulfadimetoksinin (5) 20 ng miktarlarındaki miks standart çözeltisi ile elde edilen kromatogram.



Şekil 2: Sulfadiazin (1), sulfamerazin (2), sulfametazin (3), sulfametoksazol (4) ve sulfadimetoksin (5) katılmış balık dokusundan elde edilen kromatogram.

Bulgular

Tablo 1. Balık kas dokusunda saptanan sulfonamid türevlerinin günlere göre dağılımı (ppm)

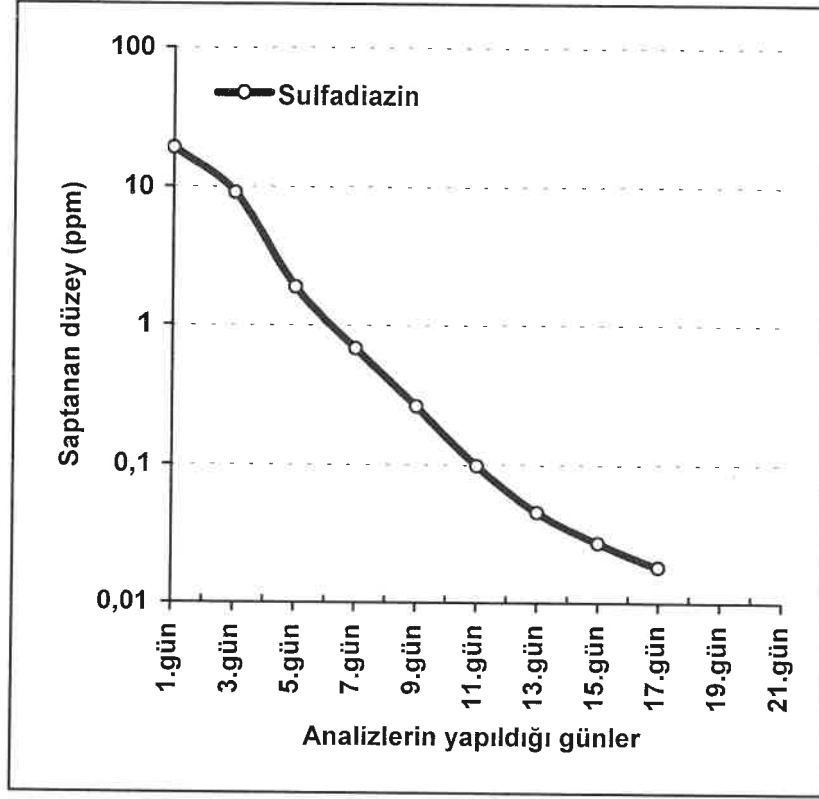
Günler	Sulfadiazin	Sulfamerazin	Sulfametazin	Sulfametoksazol	Sulfadimetoksin
1.gün	18.90±1.76	29.46±1.035	71.94±5.02	100.08±4.01	21.55±2.66
3.gün	8.94±0.18	15.76±0.80	55.63±5.76	58.44±21.77	18.54±0.40
5.gün	1.87±0.29	2.70±0.24	6.64±1.02	23.37±1.14	1.03±0.38
7.gün	0.68±0.16	0.84±0.19	0.57±0.06	9.24±0.93	0.095±0.02
9.gün	0.26±0.09	0.4±0.09	0.32±0.04	1.81±1.55	0.065±0.02
11.gün	0.097±0.01	0.1±0.02	0.07±0.02	0.081±0.043	0.003±0.0005
13.gün	0.045±0.01	0.05±0.007	0.048±0.005	0.020±0.008	Saptanamadı
15.gün	0.027±0.001	0.029±0.001	0.024±0.003	0.004±0.001	Saptanamadı
17.gün	0.018±0.003	0.017±0.001	0.010±0.001	Saptanamadı	Saptanamadı
19.gün	Saptanamadı	0.01±0.002	Saptanamadı	Saptanamadı	Saptanamadı
21.gün	Saptanamadı	Saptanamadı	Saptanamadı	Saptanamadı	Saptanamadı

Balık kas dokusunda saptanan sulfonamid kalıntıları

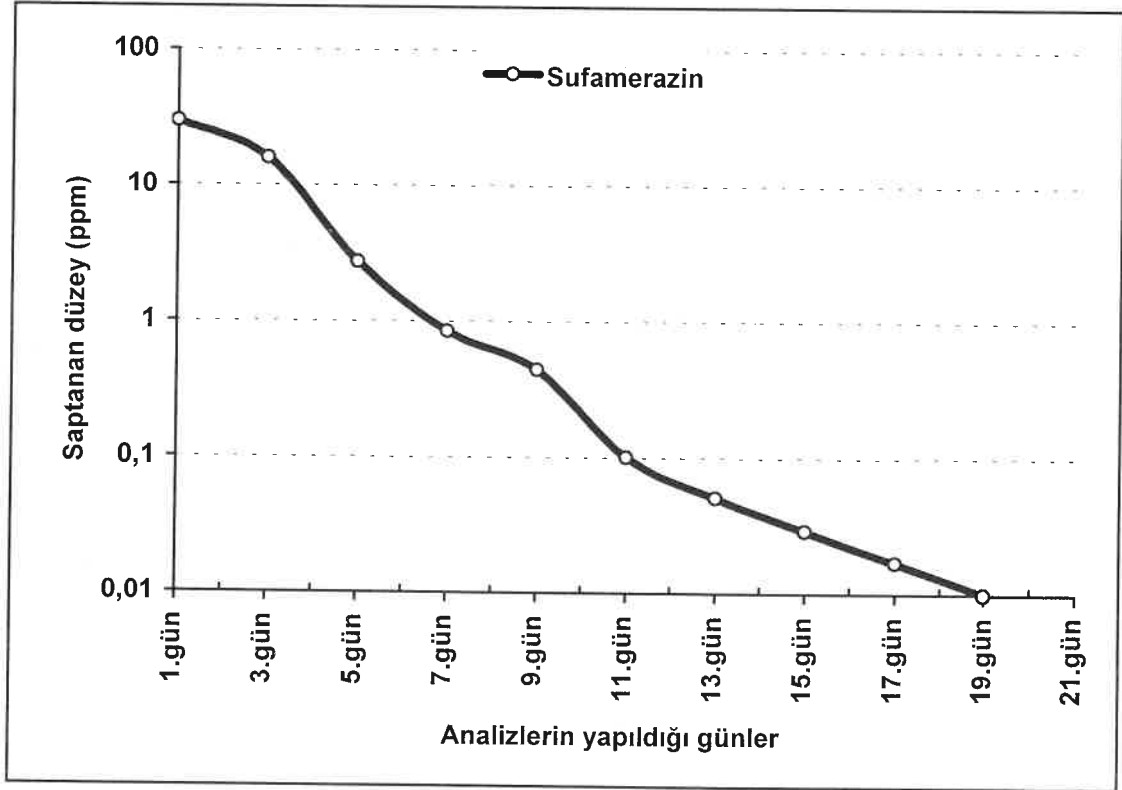
Sağıtım dozunda 14 gün sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksin uygulanmış Gökkuşığı alabalıklarında, deneme sonunda kas dokusunda saptanan sulfonamid türevlerinin günlere göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Deneme sonunda Gökkuşığı alabalıklarının kas dokusunda saptanan sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinin günlere göre dağılımı Şekil 3, 4, 5, 6 ve 7'de gösterilmiştir.

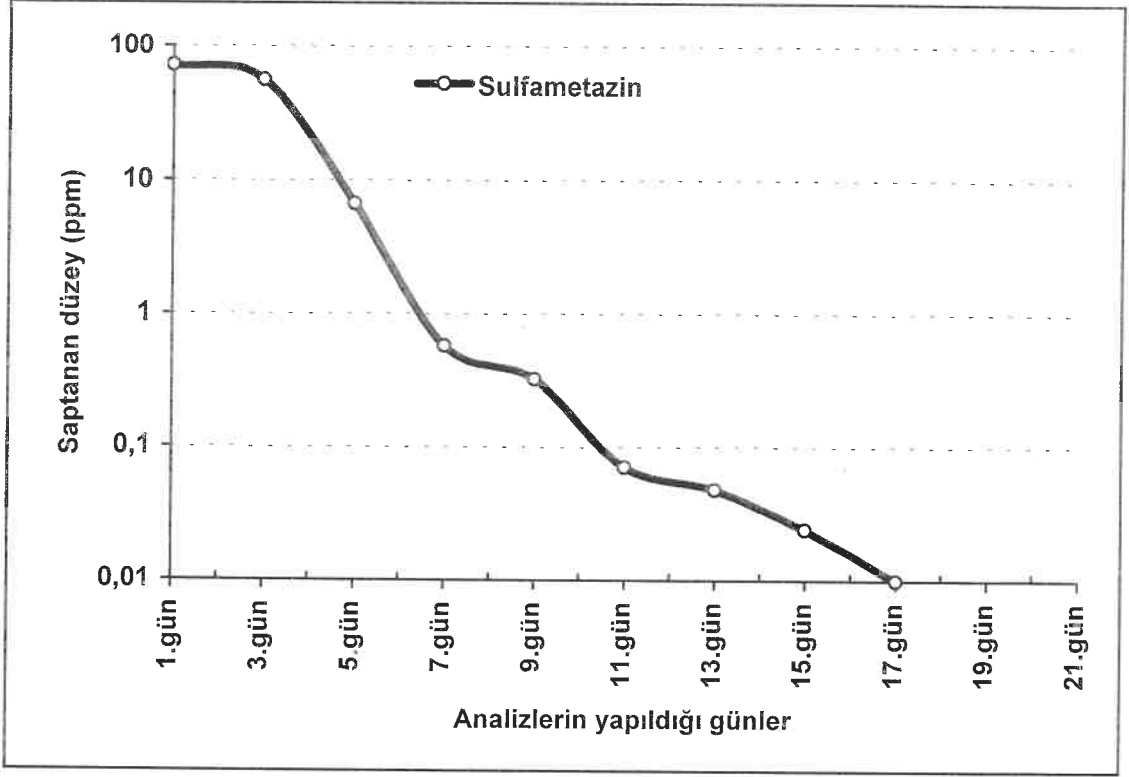
Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinine ait kromatogramlar Şekil 8, 9, 10, 11 ve 12'de verilmiştir.



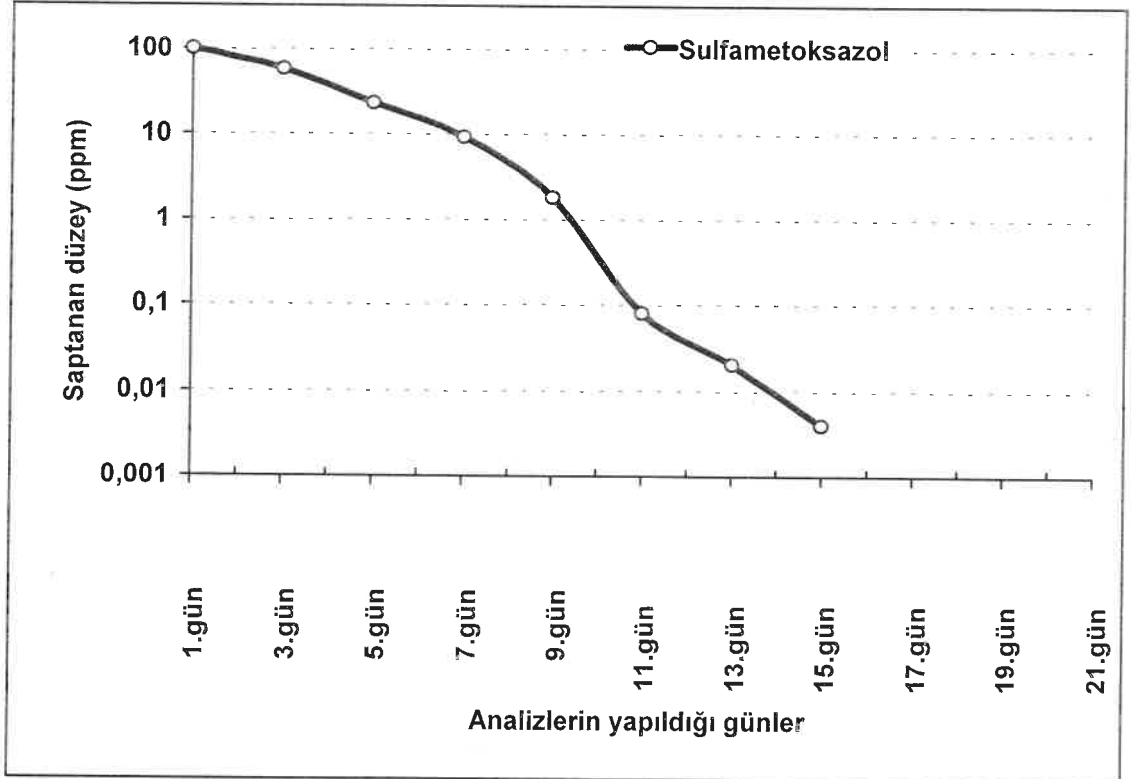
Şekil 3: Sulfadiazin düzeylerinin günlere göre dağılımı.



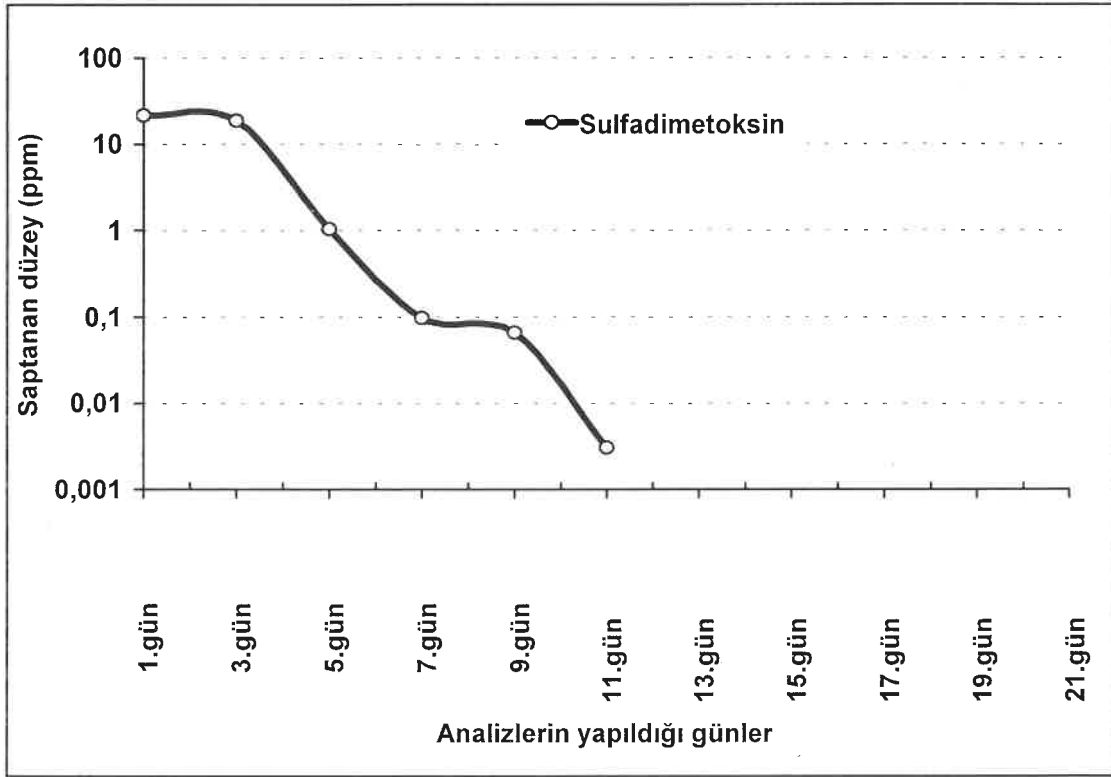
Şekil 4: Sulfamerazin düzeylerinin günlere göre dağılımı.



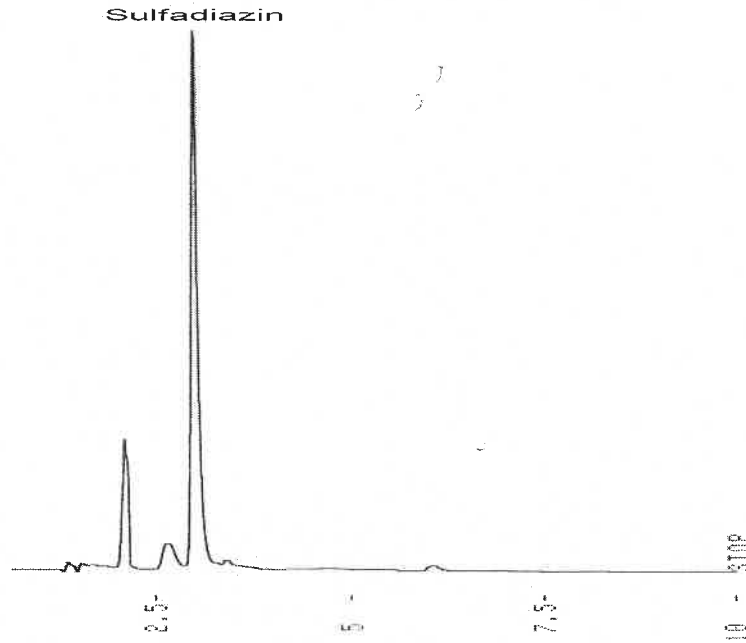
Şekil 5: Sulfametazin düzeylerinin günlere göre dağılımı.



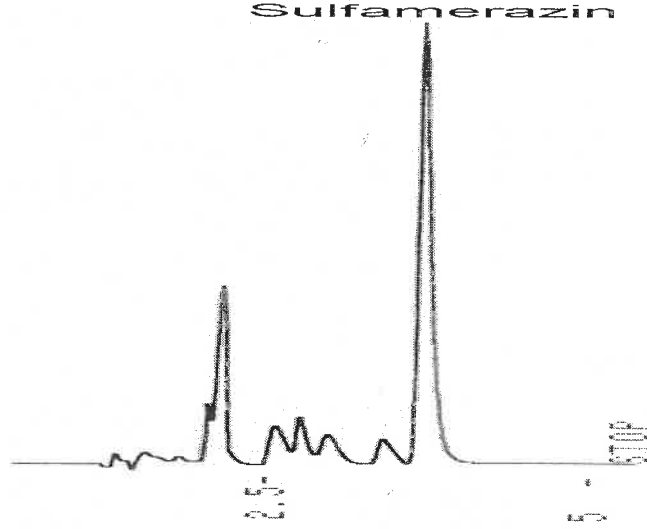
Şekil 6: Sulfametoksazol düzeylerinin günlere göre dağılımı.



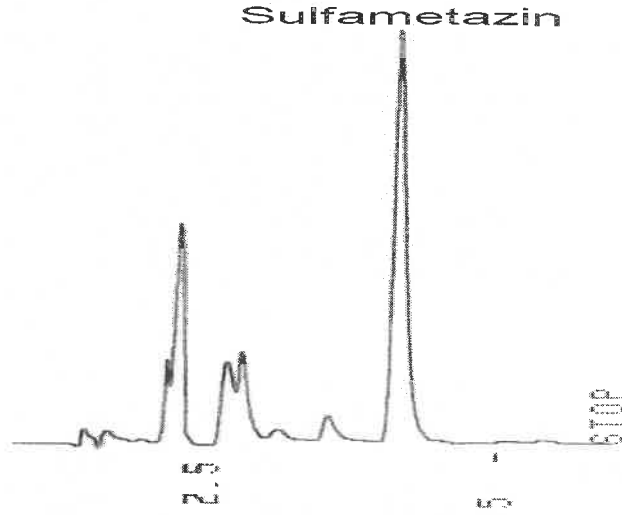
Şekil 7: Sulfadimetoksin düzeylerinin günlere göre dağılımı.



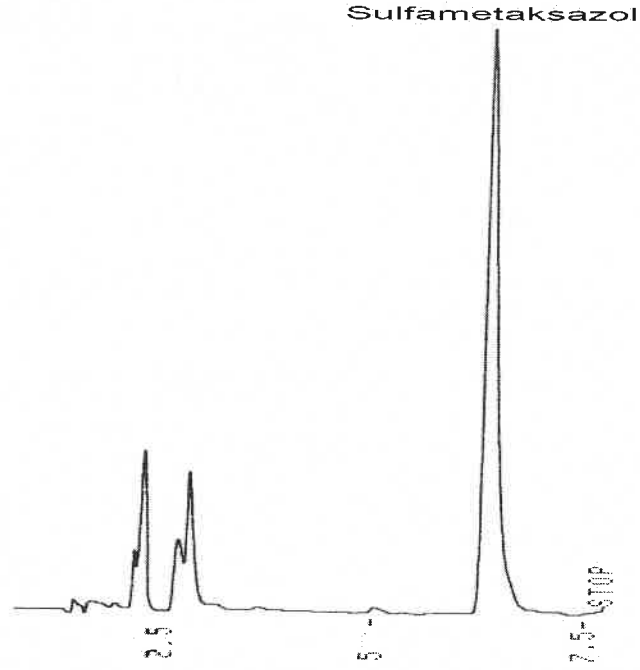
Şekil 8: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfadiazin kromatogramına örnek.



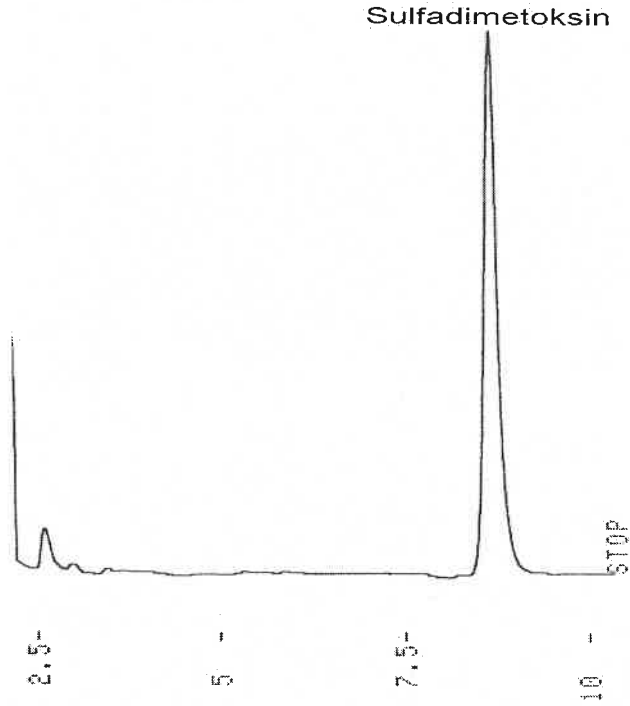
Şekil 9: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfamerazin kromatogramına örnek.



Şekil 10: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfametazin kromatogramına örnek



Şekil 11: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfametaksazol kromatogramına örnek.



Şekil 12: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfadimetoksin kromatogramına örnek.

Tartışma ve Sonuç

Hayvansal besinlere yansıyan antibakteriyel ilaç kalıntılarının tüketici insanlarda başlıca akut ve kronik toksisite, allerjik, teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etki riski yaratmasından kaynaklanan sakıncalar söz konusu olur. Antibakteriyel ilaçlar hayvansal besinlere yansıyan kalıntılarıyla çok yönlü toksisite riski yaratması bakımından çok önemli bir konuma sahiptir. Dolayısıyla hemen her tür hayvansal besinde endüstriyel ölçekte ve yaygın nitelikli kirlenme kaynağı oluşturabilir. Ayrıca antibakteriyel ilaç çeşitleri biyolojik yönden çok etkin oldukları için, çok düşük kalıntı düzeylerinde bile sağlık sakıncası oluşturabilir (21-26).

Tüketime sunulan hayvansal gıdalarda, insan sağlığı açısından ihmal edilemeyecek sıklıkta ve boyutlarda özgün bileşik ve etkin metabolitler halinde sulfonamid türevi kalıntılarının bulunabileceği anlaşılmıştır. Besinlere yansıyan veya hayvan dışkılarıyla çevreye yayılan sulfonamid türevleri ve etkin metabolitleri ısıl işlemlere ve çevre koşullarına çok dayanıklı olduklarından, özellikle besin ve çevre kirlenmesi yönünden önem taşırlar (25).

İnsanlar arasında sulfonamid türevlerine karşı aşırı duyarlılık yönünden önemli bireysel ayrımlar bulunmaktadır. Bununla beraber gerek sağıtım amacıyla ve gerekse besin kirliliği halinde sulfonamid alımına bağlı olarak, sulfonamidlere maruz kalan insanlarda % 1.5-2 sıklıkla çeşitli deri ve mukoz membran lezyonları ile serum hastalığı şeklinde sulfonamid allerjilerinin gelişebileceği anlaşılmıştır. Ayrıca, önceden sulfonamidlere duyarlı hale gelmiş bireylerde anafilaktoid tipte reaksiyon gelişebileceğine ilişkin raporlar bulunmaktadır (12,23,24,25).

Long ve arkadaşları da (15) antibakteriyel ilaçlarla sağıtılan hayvanlardan elde edilen ürünlerin maksimum kalıntı limitleri saptansa dahi, piyasadaki bu ürünlerde ilaç kalıntılarının bulunmadığının kabul edilemeyeceğini belirtmektedirler.

FDA, ABD'inde kültür balıkçılığının önemli bir kısmını oluşturan Kanal Yayın balıklarındaki sulfadimetoksin kalıntıları için tolerans limitini 100 ng/g olarak belirlemiştir (2,3).

Avustralya'da sığır ve domuz kas dokusunda, sulfametazin ve sulfadiazin için maksimum kalıntı limiti 0.1 ppm olarak kabul edilmiştir (29).

Kanada ve ABD'de Som balığını da içine alan yenilebilir hayvansal dokularda sulfonamidler için resmi tolerans limitinin, 0.1 ppm olduğuna dikkat çekilmiştir (4).

Belçika ve Japonya'da, yenilebilir hayvan dokularında sulfonamidler için sıfır tolerans düzeyi kabul edilmektedir (17,30,31). ABD, İsviçre ve İngiltere'de yasal düzenlemelere göre yenilebilir hayvan dokularında 0.1 ppm sulfonamid kalıntılarını tolerans düzeyleri olarak kabul etmektedir (17). Bu tolerans düzeyleri aynı zamanda Avrupa Ekonomik Topluluğu tarafından da kabul edilmektedir (27,28).

Sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksin uygulanmış Gökkuşluğu alabalıklarının kas dokusunda tesbit edilen sulfonamid kalıntılarının günlere göre dağılımı Tablo 6.1.1'de verilmiştir. Deneme sonunda sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin ve sulfametaksazolun 11. günde, sulfadimetoksinin ise 7. günde tolerans limitinin altına indiği saptanmıştır.

Bazı araştırmacılar Kanal Yayın balıklarında ve Som balıklarında sağıtım dozunda kullanılan sulfadimetoksinin vücuttan atılma periyodunu sırasıyla 3 gün ve 6 hafta olarak saptamışlardır (4,6). Sulfonamid uygulamasının durdurulmasını takiben balıkların 15 gün geçmeden (32,33), alabalıkların sulfametazin için 21 gün geçmeden (34) tüketime sunulmaması gerektiği bildirilmiştir. Bununla birlikte su sıcaklığı ve ilaç katılan yemlerin alımındaki değişimi içine alan bazı faktörler, en fazla ilaç uygulanmış balıkların kas dokularındaki sulfadimetoksin kalıntı seviyesini etkileyebilir (6).

Nizamlıoğlu (35) tarafından Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile yapılan çalışmada, Broyler piliçlerinin kırmızı kas dokusundaki sulfadoksinin 6. günde tolerans limitinin altına düştüğü belirlenmiştir.

Tarafımızdan yapılan bu çalışmada ise, balık kas dokusunda sulfadiazin 17. günde 18 ppb, sulfamerazin 19. günde 10 ppb, sulfametazin 17. günde 10 ppb, sulfametaksazol 15. günde 4 ppb, sulfadimetoksin ise 11. günde 3 ppb düzeyinde saptanmıştır.

Araştırmacılar HPLC ile yapmış oldukları sulfonamid analizlerinde saptama limitini et, süt ve yumurtada 2 ppb (14,36), 2-20 ppb (37), 10-20 ppb (29,38); balda 50 ppb (39); sütte 5 ppb (40), 10 ppb (41,42); hayvan yemlerinde 20 ppb (43) olarak saptanmıştır.

Kitts ve arkadaşları (4), Som balıklarına 5 gün süreyle 40 mg/kg dozda Romet-30 (sulfadimetoksin: ormetoprim, 5: 1) uygulayarak yaptıkları bir çalışmada HPLC ile Charm II test metodunu karşılaştırmışlardır. Sulfadimetoksin için elde edilen sonuçlar sırasıyla 1. günde 3.24, 2.62 ppm; 4. günde 2.46, 1.54 ppm; 7. günde 1.02, 0.52 ppm ve 10. günde 0.60, 0.44 ppm düzeyinde bulmuşlardır. Bu çalışmada HPLC metodunun duyarlılığı 50 ppb, Charm II test metodunun duyarlılığının ise 10 ppb düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlarda bireysel olarak balıklardaki ilaç birikim düzeyinin büyük oranda farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Horie ve arkadaşları (30) tarafından HPLC ile Gökkuşluğu alabalıklarında yapılan çalışmada sulfadimetoksin, sulfamonometoksin ve sulfisozol için tesbit limitini 50 ppb, rekoveri analizlerinde ise geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 82.7, % 84.2 ve % 83.2 olarak hesaplamıştır.

HPLC ile Ikai ve arkadaşları (31) Gökkuşluğu alabalıklarında 0.5 ppm'le yaptıkları rekoveri analizlerinde sulfatiazol, sulfadiazin, sulfamerazin, sulfadimidin, sulfametokspiridazin, sulfamonometoksin, sulfisozol, sulfametoksazol, sulfadimetoksin ve sulfakinoksalin için geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 89.2, % 95.6, % 97.6, % 74.7, % 91.5, % 93.7, % 95.1, % 95.0, % 92.8 ve % 91.1 olarak hesaplamışlardır. Rutin analizlerde sulfonamidlerin 50 ppb'ye kadar rahatlıkla ölçülebileceğini, eluatın 100 µl sulandırılmasıyla 10 ppb'ye kadar saptanabileceğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar Gümüş balıklarında aynı sulfonamidlerin geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 85.6, % 92.2, % 95.4, % 79.8, % 89.5, % 93.5, % 92.7, % 91.8, % 90.2 ve % 87.1 olarak saptamışlardır.

Özkazanç ve Kaya (44) tarafından uyarlanmış Spektrofotometrik - İnce Tabaka Kromatografik Metoda göre dana ve kanatlılara ait 93 doku örneğinde yapılan rekoveri analizlerinde, 0.1 ppm sulfonamid kalıntısının güvenle ölçülebileceğini, 0.05 ppm sulfonamid kalıntısının da bu metotla tesbit edilebileceğini bildirmişlerdir. Analiz materyali olarak kullandıkları karaciğer, kas ve böbrekte dört farklı sulfonamid türevinin 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm düzeyinde geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 90.6, % 89.7 ve % 90.8 olarak hesaplamışlardır.

Nose ve arkadaşları (45) tarafından HPLC ile Gökkuşluğu alabalıklarında yapılan rekoveri analizlerinde sulfamerazin, sulfamonometoksin, sulfisozol ve sulfadimetoksin için geriye kazanç oranları sırasıyla % 76.5, % 77.9, % 81.3 ve % 91.8 olarak hesaplanmıştır. Saptama limitlerini ise sulfamerazin için 40 ppb, sulfamonometoksin, sulfisozol ve sulfadimetoksin için 60 ppb olarak belirlemişlerdir.

Gehring ve arkadaşları (7) HPLC ile yaptıkları çalışmada Coho salmon'larda sulfadiazinin duyarlılığını 1 ppb, Atlantik Salmon'larda ise 10 ppb seviyesinde olduğunu tesbit etmişlerdir. Ayrıca Coho Salmon'larda yapmış oldukları rekoveri çalışmalarında sulfadiazinin 1, 5, 10 ve 20 ppb'sinin geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 84.5, % 85.0 ve % 83.9, Atlantik Salmon'ların 10 ppb'sinde ise % 82.6 olduğunu saptamışlardır.

Hormazabal ve Rogstad (20) tarafından HPLC ile Atlantik salmon'ların kas, karaciğer ve plazmalarında yapılan sulfadiazinin rekoveri analizlerinde geriye kazanç oranı % 80, % 74 ve % 92 olarak hesaplanmıştır.

Sıvı Kromatografik Metotla Som balığı kas dokusunda Reimer ve Suarez (46) tarafından yapılan analizlerde, sulfapridin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfadimetoksin ve sulfadiazin için saptama limiti sırasıyla 48, 66, 228, 150 ve 100 ppb olarak belirlenmiştir. Ayrıca sulfonamidlerin rekoveri analizlerinde geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 66, % 71, % 82, % 75 ve % 66 olarak hesaplanmıştır. Aynı araştırmacılar İnce Tabaka Kromatografik Metotla Som balığı kas dokusundaki aynı sulfonamidlerin geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 57, % 63, % 60, % 63 ve % 61 olarak hesaplamışlar ve tesbit limitini ise sulfamerazin için 100 ppb, diğer sulfonamidler için 40 ppb olarak saptamışlardır (47).

Kanal Yayın balıkları kas dokularında Long ve arkadaşları (48) tarafından Sıvı Kromatografik Metotla yapılan rekoveri analizlerinde, sulfadimetoksinin 50, 100, 200, 400, 800 ve 1600 ppb düzeyinde, geriye kazanç oranları ortalama olarak % 101.1 olarak hesaplanmıştır.

Walker ve Barker (2), Kanal Yayın balıklarında Sıvı Kromatografik Metotla yapmış oldukları çalışmada sulfadimetoksinin saptama limitini kas dokusunda 26 ppb, plazmada ise 33 ppb olarak belirlemişlerdir."

Şanlı ve arkadaşları (49) Spektrofotometrik Metotla sulfakinoksalin ve sulfadimetoksinin yumurtaya geçme özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada, ilaç uygulamasının kesilmesini izleyen 5. günde yumurta akına geçen sulfakinoksalin kalıntısının 0.1 ppm düzeyine inmesine karşın, yumurta sarısına geçen ilaç kalıntısı 12. günde 0.1 ppm düzeyinin altına inmiştir. Sulfadimetoksin kalıntısının yumurta

akında 8. günde 0.1 ppm'lik değerlerin altına inmesine karşın, yumurta sarısındaki ilaç kalıntısının 12. günde 0.1 ppm düzeyinin altına indiği saptanmıştır. Her iki sulfonamid türevinin de saptama limiti 0.03 ppm olarak belirlenmiştir.

HPLC ile Diserens ve arkadaşları (36) tarafından çeşitli sulfonamid türevlerinde 10 - 100 µg/kg arasında et, süt ve yumurta da yapılan rekoveri analizlerinde geriye kazanç oranları sırasıyla sulfadiazin için % 88, % 70, % 83, sulfamerazin için % 90, % 88, % 85, sulfamerazin için % 92, % 88, % 85, sulfametoksazol için % 96, % 84, % 83 ve sulfadimetoksin için ise % 88, % 89, % 86 olarak hesaplanmıştır.

Takatsuki ve Kikuchi (50), GC - MS metoda göre Silver Salmon'ların kas dokusu örneklerinde yaptıkları rekoveri analizlerinde sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksin için 1 ve 0.2 ppm düzeyinde geriye kazanç oranlarını herbir ilaç için sırasıyla %96 ve %78, %99.7 ve %86.1, %97.3 ve %101.9, %92.2 ve %84.2 olarak hesaplamışlardır.

Van Poucke ve Van Petechem (28), domuzlara 5 gün süreyle 80 mg/kg dozda, günde bir kez uygulanan sulfatiazol ve sulfametazinin HPTLC metoduyla yapılan kalıntı analizlerinde 10. günde 100 ppb seviyesine düştüğünü, 14. günde enjeksiyon bölgesinde 25 ppb konsantrasyonundan daha fazla sulfametazinin bulunduğunu saptamışlardır.

Bui (51) tarafından Sıvı Kromatografik Metotla değişik hayvanların doku örneklerinde yapılan rekoveri analizlerinde 50 ppb düzeyindeki sulfonamid kalıntılarının rahatlıkla ölçülebileceği gösterilmiştir. Saptama limitinin ise 20 ppb olduğu belirlenmiştir.

İnsan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri sebebiyle, insan tüketimine sunulan hayvansal gıdalarda ilaç kalıntılarının belirli tolerans limitlerinin altında olması gerekmektedir. Değişik hayvansal gıdalarda ilaç kalıntılarının belirlenen tolerans limitlerinin altına düşmesi için gerekli bekleme zamanlarının da belirlenerek gıdaların buna uygun olarak insan tüketimine sunulması gerekmektedir.

Gökkuşağı alabalıklarının sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin ve sulfametoksazol için 11. günden, sulfadimetoksin için ise 7. günden sonra tüketime sunulabileceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Kaya, S. Hayvansal üretimde gelişmeyi hızlandırıcı maddeler ve sakıncaları. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 31(3), 410-423 (1984).
2. Walker, C.C. and Barker, S.A. Extraction and liquid chromatographic analysis of sulfadimethoxine and 4-N-acetylsulfadimethoxine residues in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) muscle and plasma. J. AOAC Int., 77(6), 1460-1466 (1994).
3. Milner, N.P., Johnson, M.R. and Perry, K.J. Determination of sulfadimethoxine and ormetoprim residues in channel catfish filets after treatment with romet and evaluation of a commercially available rapid diagnostic test for drug residues in fish filets. J. AOAC Int., 77(4), 875-881 (1994).
4. Kitts, D.D., Zheng, M., Burns-Flett, E. and Mcerlane, K.M. Comparison of sulfadimethoxine residue analyses in salmon muscle using HPLC and Charm II test. J. Food Protec., 58(6), 678-682 (1994).
5. Boison, J.O. and Keng, L.J.Y. Determination of sulfadimethoxine and sulfamethazine residues in animal tissues by liquid chromatography and thermospray mass spectrometry. J. AOAC Int., 78(3), 651-658 (1994).
6. Walker, C.C. and Barker, S.A. Extraction and Enzyme immunoassay of sulfadimethoxine residues in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) muscle. J. AOAC Int., 77(4), 908-916 (1993).
7. Gehring, T.A., Rushing, L.G. and Thompson, H.C. Liquid chromatographic determination of sulfadiazine in salmon by postcolumn derivatization and fluorescence detection. J. AOAC Int., 78(5), 1161-1164 (1995).
8. Çetinkaya, O. Su Ürünleri ve Hastalıkları Ders Notları. Y.Y.Ü. Vet. Fak. (1996).
9. Austin, B. and Austin, D.A. Bacterial Fish Pathogens. Ellis Horwood Ltd., England (1987).
10. Roberts, R.J. and Shepherd, C.J. Handbook of Trout and Salmon Disease. The Alden Press, Oxford (1990).
11. Nouws, J.F.M., Mevius, D., Vree, T.B., Baakman, M. and Degen, M. Pharmacokinetics, metabolism, and renal clearance of sulfadiazine, sulfamerazine, and sulfamethazine and of their N₄-acetyl and hydroxy metabolites in calves and cows. Am. J. Vet. Res., 49(7), 1059-1065 (1988).
12. Franco, D.A., Webb, J. and Taylor, C.E. Antibiotic and sulfonamide residues in meat: Implications for human health. J. Food Protec., 53(2), 178-185 (1990).
13. Long, A.R., Hsieh, L.C., Malbrough, M.S., Short, C.R. and Barker, S.A. Multiresidue method for the determination of sulfonamides in pork tissue. J. Agric. Food Chem., 38, 423-426 (1990).
14. Boison, J.O.K. and Keng, L.J.Y. Determination of sulfamethazine in bovine and porcine tissues by reversed-phase liquid chromatography. J. AOAC Int., 77(3), 558-564 (1994).
15. Long, A.R., Hsieh, L.C., Malbrough, M.S., Short, C.R. and Barker, S.A. A multiresidue method for the isolation and liquid chromatographic determination of seven sulfonamides in infant formula. J. Liquid Chromatog., 12(9), 1601-1612 (1989).
16. Charm, S.E., Zomer, E. and Salter, R. Confirmation of widespread sulfonamide contamination in Northeast U.S. market milk. J. Food Protec., 51(12), 920-924 (1988).
17. Van Poucke, L.S.G., Depourcq, G.C.I. and Van Peteghem, C.H. A quantitative method for the detection of sulfonamide residues in meat and milk samples with a high-performance thin-layer chromatographic method. J. Chromatog. Sci., 29, 423-427 (1991).
18. Tömek, S. Su ürünleri işleme teknolojisi ders notları. E.Ü. Su Ürünleri Fak., Bornova-İzmir (1990).
19. Matusik, J.E., Guyer, C.G., Geleta, J.N. and Barnes, C.J. Determination of desaminosulfamethazine, sulfamethazine, and N⁴-Acetylsulfamethazine by gas chromatography with electron capture detection and confirmation by gas chromatography-chemical ionization mass spectrometry. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70(3), 546-553 (1987).

20. Hormazabal, V. and Rogstad, A. Simultaneous determination of sulphadiazine and trimethoprim in plasma and tissues of cultured fish for residual and pharmacokinetic studies. *J. Chromatog.*, 583, 201-207 (1992).
21. Kaya, S. ve Şahal, M. Besinlerimizdeki ilaç kalıntıları, bunlara ilişkin tolerans düzeyleri, ilaç verilmiş hayvanlarda uyulması gereken kesim öncesi bekleme veya sütün kullanılmasına süreleri. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 36(2), 390-403 (1989).
22. Kaya, S., Yavuz, H., Akar, F., Liman, B.C. ve Filazi, A. Mezbahadan sağlanan sığır et, karaciğer ve böbrek örneklerinde antibiyotik kalıntıları. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 39(1-2), 13-29 (1992).
23. Dayan, A.D. Allergy to antimicrobial residues in food: assessment of the risk to man. *Vet. Microbiol.*, 35, 213-226 (1993).
24. Van Dresser, W.R. and Wilcke, J.R. Drug residues in food animals. *JAVMA*, 194(12), 1700-1710 (1989).
25. Şanlı, Y. Hayvan yetiştiriciliğinde antibakteriyel ilaç kullanımı ve çok yönlü sakıncaları. Türkiye'de Veteriner İlaçları Üretimi, Pazarlanması, Güvenle Kullanımı ve Kalıntı Sorunları Sempozyumu, 13-14 Ekim 1994, s. 33-61, Ankara (1994).
26. FAO Residues of Veterinary drugs in foods. Report of joint FAO/WHO Expert Consultation, Rome, 29 October-5 November 1984, FAO Food and Nutrition paper No: 32. pp. 1-54 (1985).
27. Horie, M., Saito, K., Hoshino, Y., Nose, N., Nakazawa, H. and Yamane, Y. Simultaneous determination of residual synthetic antibacterials in fish by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatog.*, 538, 484-491 (1991).
28. Ikai, Y., Oka, H., Kawamura, N., Hayakawa, J., Yamada, M., Harada, K., Suzuki, M. and Nakazawa, H. Improvement of chemical analysis of antibiotics: XVII. Application of an amino cartridge to the determination of residual sulfonamide antibacterials in meat, fish and eggs. *J. Chromatog.*, 541, 393-400 (1991).
29. Horwitz, W. Analytical methods for sulfonamides in foods and feeds. II. Performance characteristics of sulfonamide methods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 64(4), 814-824 (1981).
30. Van Poucke, L.S.G. and Van Peteghem, C.H. Pharmacokinetics and tissue residues of sulfathiazole and sulfamethazine in pigs. *J. Food Protec.*, 57(9), 796-801 (1994).
31. Walker, L.V., Walsh, J.R. and Webber, J.J. High-performance liquid chromatography of sulfonamides extracted from bovine and porcine muscle by solid-phase dispersion. *Journal of Chromatography*, 595, 179-184 (1992).
32. Kaya, S., Baydan, E ve Özdemir, M. Balık hastalıklarının sağlığında ilaç kullanımı. *Türk Vet. Hek. Derg.*, 9(1), 34-42 (1997).
33. Aoki, T. Chemotherapy and drug resistance in fish farm in Japan. In: "Diseases in Asian aquaculture 1" Ed. M. Shariff, R.P. Sabasinghe and J.P. Arthur, 519-528, Fish Health Section, Asian Fisheries Society (1992).
34. Booth, N.H. Toxicology of drug and chemical residues. In: "Veterinary pharmacology and Therapeutics" Ed. N.H. Booth, and L.E. McDonald, 1149-1204, Iowa State Univ Press. Ames (1988).
35. Nizamlioğlu, F. Sulfonamid - trimetoprim kombinasyonu uygulanan broyler piliçlerin plazma, kırmızı kas ve karaciğer ilaç düzeyleri ve atılma sürelerinin araştırılması. *Veterinarium*, 3(2), 22-26 (1992).
36. Diserens, J.M., Renaud-Bezot, C. and Savoy-Perroud, M.C. Simplified determination of sulfonamides residues in milk, meat and eggs. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 87(7), 205-211 (1991).
37. Aerts, M.M.L., Beek, W.M.J. and Brinkman, U.A.Th. Monitoring of veterinary drug residues by a combination of continuous flow techniques and column switching high-performance liquid chromatography: 1. Sulfonamides in egg, meat and milk using post-column derivatization with dimethylaminobenzaldehyde. *J. Chromatog.*, 435, 97-112 (1988).
38. Horii, S., Momma, C., Miyahara, K., Maruyama, T. and Matsumoto, M. Liquid chromatographic determination of three sulfonamides in animal tissue and egg. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(6), 990-992 (1990).
39. Horie, M., Saito, K., Nose, N. and Nakazawa, H. Simultaneous determination of sulfonamides in honey by liquid chromatography. *J. AOAC Int.*, 75(5), 786-789 (1992).
40. Weber, J.D. and Smedley, M.D. Liquid chromatographic determination of sulfamethazine in milk. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72(3), 445-447 (1989).
41. Hoffmeister, A., Suhren, G. and Heeschen, W. High-pressure liquid chromatographic determination of sulfadimidine residues in milk - Incidence in consumer milk from various European countries. *Milchwissenschaft*, 46(12), 770-774 (1991).
42. Smedley, M.D. Liquid chromatographic determination of multiple sulfonamide residues in bovine milk: Collaborative study. *J. AOAC Int.*, 77(5), 1112-1122 (1994).
43. Torel, J., Cillard, J., Cillard, P. and Vie, M. Simultaneous analysis of three antimicrobial agents in feed premix by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 323, 447-450 (1985).
44. Özkazanç, N. ve Kaya, S. Hayvanların pişmemiş yenilebilir dokularında sulfonamid analizi. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 30, 624-638 (1983).
45. Nose, N., Hoshino, Y., Kikuchi, Y., Horie, M., Saitoh, K. and Kawachi, T. Simultaneous liquid chromatographic determination of residual synthetic antibacterials in cultured fish. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70(4), 714-717 (1987).
46. Reimer, G.J. and Suarez, A. Liquid chromatographic confirmatory method for five sulfonamides in salmon muscle tissue by matrix solid-phase dispersion. *J. AOAC Int.*, 75(6), 979-981 (1992).
47. Reimer, G.J. and Suarez, A. Development of a screening method for five sulfonamides in salmon muscle tissue using thin-layer chromatography. *J. Chromatog.*, 555, 315-320 (1991).
48. Long, A.R., Hsieh, L.C., Malbrough, M.S., Short, C. and Barker, S.A. Matrix solid phase dispersion isolation and liquid chromatographic determination of sulfadimethoxine in catfish (*Ictalurus punctatus*) muscle tissue. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(6), 868-871 (1990).
49. Şanlı, Y., Kaya, S. ve Özkazanç, N. Tavukçulukta kullanılan bazı sulfonamid türlerinin yumurtaya geçme özellikleri üzerinde araştırmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 34(1), 16-30 (1987).
50. Takatsuki, K. and Kikuchi, T. Gas chromatographic-mass spectrometric determination of six sulfonamide residues in egg and animal tissues. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(6), 886-892 (1990).
51. Bui, L.V. Liquid chromatographic determination of six sulfonamide residues in animal tissues using postcolumn derivatization. *J. AOAC Int.*, 76(5), 966-975 (1993).

A Retrospective Study on Inter-Estrous Intervals and Annual Distribution of Estruses in Anatolian and German Shepherd Dogs

İbrahim TAŞAL¹ Ayhan BAŞTAN² Muhammet ALAN¹
Fetih GÜLYÜZ³ Engin KIRMIZI⁴

Summary

The objective of this study was to evaluate inter-estrous intervals and annual distribution of estrous periods of Anatolian and German Shepherd Dogs. During a period of 13 years estrous records of 118 Anatolian and 434 German Shepherd Dogs were reviewed. Average length of inter-estrous interval in Anatolian and German Shepherd bitches conceived were 241.6 ± 8.7 and 221.5 ± 4.9 days, respectively. In non-pregnant Anatolian and German Shepherd bitches inter-estrous intervals were 178 ± 10.8 and 169 ± 5.2 days, respectively.

The total number of estrous periods was the highest in April with a rate of 14.1 % and the lowest in November with a rate of 5.81 %. The difference in estrus occurrence between April and November was statistically significant ($P < 0.01$). If seasons are considered the number of estrous periods observed was the highest with a rate of 30.5 % in Spring and the lowest with a rate of 20.5 % in Autumn ($P < 0.01$). Estrous occurrence was not statistically different between Winter and Summer.

In conclusion, Anatolian and German Shepherd Dogs may exhibit estrus in any month of the year. The length of inter-estrous interval was longer in pregnant bitches compared to the non-pregnant females.

Key Words: Dog, Breeding season, Inter-estrous intervals.

Özet

Türk Çoban ve Alman Çoban Köpeklerinde Östrüs Periyotları Arası Süreler ve Östrüslerin Aylara Dağılımları Üzerine Bir Araştırma

Bu araştırma, Türk Çoban (TÇK, Anadolu, Sivas, Kangal) ve Alman Çoban (AÇK) köpeklerinde östrüs periyotları arası süreleri ve östrüslerin aylara dağılımlarını belirlemek amacıyla yapıldı. Bu amaçla 118 TÇK, 434 AÇK' nin 13 yıllık kayıtları değerlendirildi. Hayvanların gebe kaldıkları östrüs periyotları arasındaki sürelerin Türk Çoban Köpeklerinde 241.6 ± 8.7 , Alman Çoban Köpeklerinde 221.5 ± 4.9 gün olduğu saptandı. Her iki ırka ait köpeklerin gebe kalmadıkları östrüs periyotları arasındaki süreler ise sırasıyla, 178.2 ± 10.8 ve 169.0 ± 5.2 gün olarak belirlendi.

Östrüslerin %14.1 oranla en çok Nisan ayında ve %5.8 oranla en düşük Kasım ayında meydana geldiği izlendi. Nisan ve Kasım aylarında görülen östrüs oranları arasındaki farkın istatistik yönden önemli olduğu bulundu ($P < 0.01$). Mevsimler dikkate alındığında östrüslerin % 30.5 oranla en yüksek İlkbahar ve % 20.5 oranla en düşük Sonbahar aylarında şekillendiği görüldü. Bu iki mevsimde görülen östrüs oranları arasındaki farkın önemli olduğu ($P < 0.01$), Kış ve Yaz mevsimlerinde görülen östrüs oranlarının ise istatistik açıdan farklı olmadığı tespit edildi.

Sonuç olarak, Türk ve Alman Çoban Köpeklerinin yılın her ayında östrüs gösterebildikleri ve gebelik şekillenen östrüs periyotları arası sürelerin gebelik şekillenmeyenlere göre biraz daha uzun olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Köpek, Çiftleşme sezonu, Östrüsler arası süre.

Introduction

Bitch is considered a monestrous animal which has only one estrous cycle occurring in a year (1-5). An even distribution of estrous periods throughout the year in well-fed bitches was shown, although there is definite pattern of increased incidence of estrus from late winter through early spring (3,6,7). It was reported that (4), 38.1 % of 1561 estrous period observed in various breed of bitches was concentrated between February and May. It is assumed that day light length is very effective on the commencement and duration of the cyclic activity of ovaries. Estrous cycles are commenced by increased length of day light during spring and ceased by shortened day light length during autumn and winter (3,7,8). Average duration between estrous periods in the bitch is 200 ± 45 days (9-11). Durations shorter than four mounts and longer than eight mounts are generally regarded as abnormal (7,9). Johle and Anderson (1) expressed that inter-

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, VAN.

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun' i Tohumlama Anabilim Dalı, VAN.

⁴Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkez Komutanlığı, Gemlik-BURSA.

estrous interval may vary between 26 to 34 weeks.

This study was conducted to evaluate inter-estrous interval and annual distribution of estrous periods of Anatolian and German Shepherd Dogs.

Material and Methods

The material was consisted of 118 Anatolian Shepherd Dog (TSD) and 434 German Shepherd Dog (GSD) reared in the Military Research Institute in Bursa, Turkey. The age of the animals was between one to nine years. Estrus records of dog breeding during a period of thirteen years were evaluated. Totally 1719 estrous record was considered (369 periods in 118 Anatolian Shepherd Dog and 1350 periods in 434 German Shepherd Dog). Annual distribution of estrous periods and the length of inter-estrous interval in pregnant and non-pregnant bitches were determined and the data was analysed by means of Student's t test (11).

Results

Annual distribution of 1719 estrous periods observed in Anatolian and German shepherd bitches are illustrated in figure 1 and 2. Seasonal distribution of estrous periods in bitches are seen in figure 3 and figure 4.

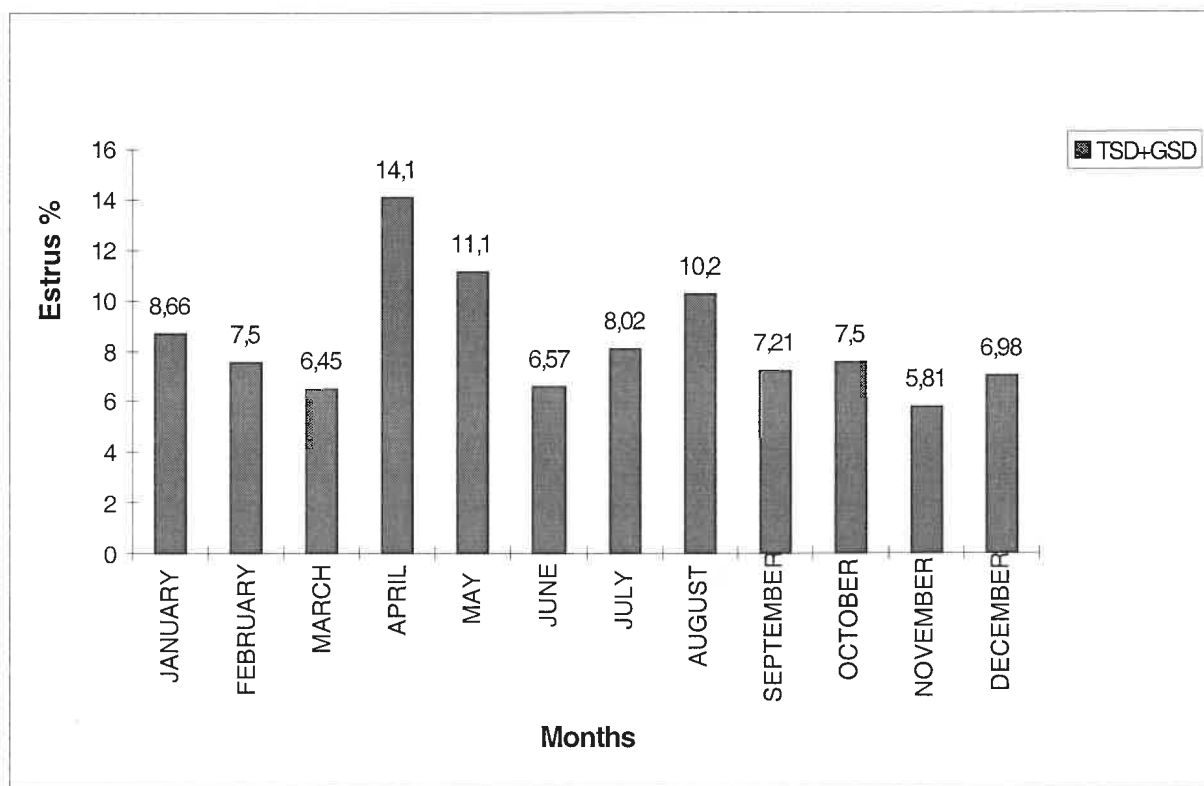


Figure 1: Annual distribution of 1719 estrous periods observed in Anatolian and German shepherd bitches.

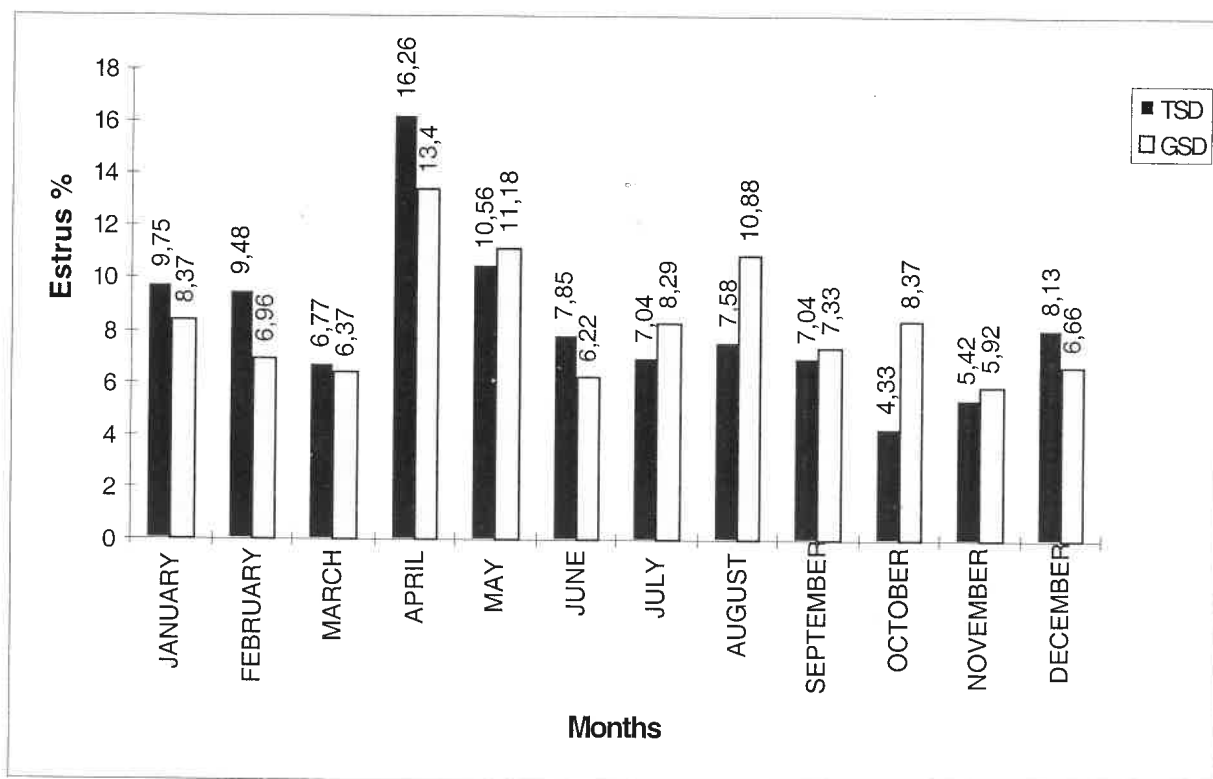


Figure 2: Annual distribution estrous periods observed in Anatolian and German shepherd dogs.

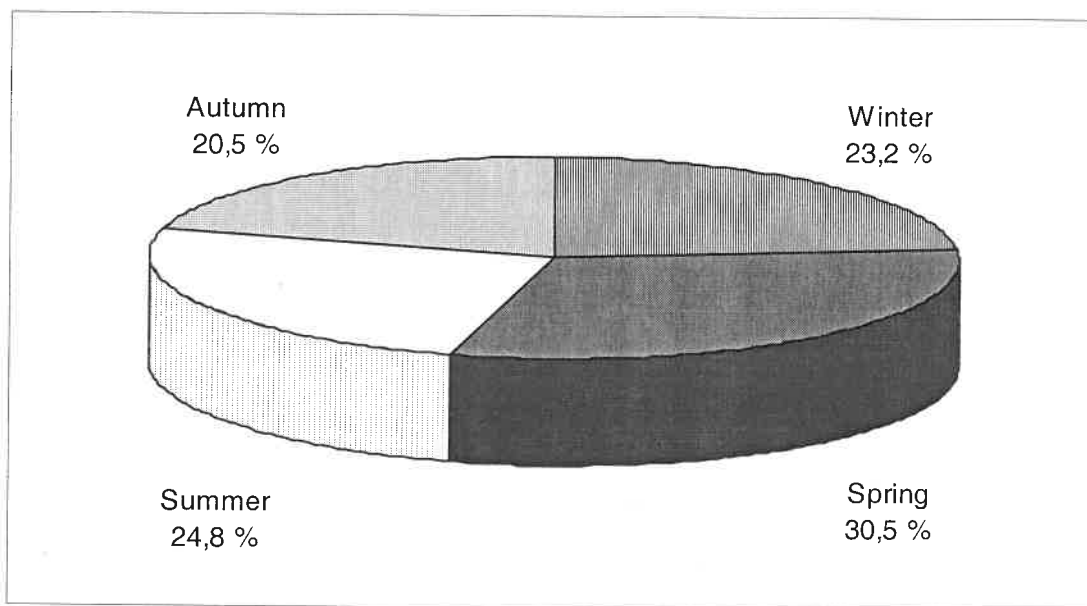


Figure 3: Seasonal distribution of estrous periods in bitches.

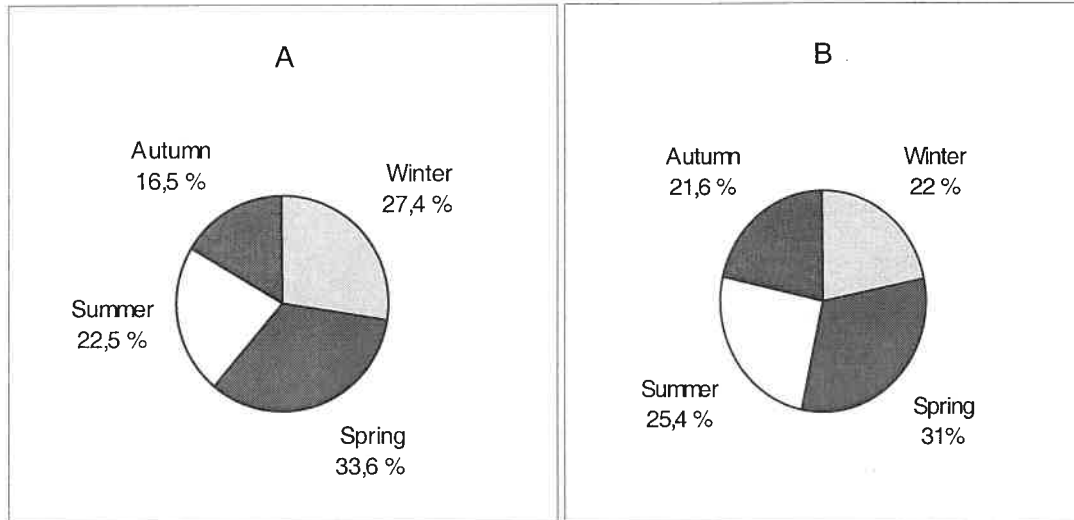


Figure 4: Seasonal distribution of estrous periods in Anatolian (A) and German shepherd (B) dogs.

Estrous number was the highest (n:241) with a rate of 14.1 % in April and the lowest (n: 100) with a rate of 5.81 % in November (Table 1). The difference in estrus occurrence in April and November was statistically significant ($P < 0.01$). If seasons are considered estrus occurrence was the highest (n:542) with a rate of 30.5 % in Spring (included March, April, May) and the lowest (n: 353) with a rate of 20.5 % in Autumn (included September, October, November) (Figure 3). The difference in estrus occurrence between Spring and Autumn was statistically significant ($P < 0.01$). However, there is no significant difference between the number of estrous periods detected in Winter (n: 398, 23.2 %) and Summer (n: 426, 24.8 %).

Inter-estrous interval in the bitches conceived were 241.6 ± 8.7 and 221.5 ± 4.9 days for Anatolian and German shepherd dog, respectively. Inter-estrous intervals in non-pregnant bitches were 178 ± 10.8 and 169 ± 5.2 days for Anatolian and German shepherd dog, respectively.

Discussion

Bitch is considered a monestrous animal displaying estrous activity concentrated around February (1,3,4,6,7,8). Contrarily, estrous activity was detected throughout the year, being the most in April in the present study. The difference between the present study and the previous papers (3,6,11) may be resulted from feeding, geographic and environmental differences.

Daylength is considered as an important factor effecting the ovarian functions. Estrous activity is induced by increased daylength and depressed by decreased daylength. Therefore, estrous activity are generally observed between February and May (3, 7, 8). Similarly to these reports, incidence of estrus was the highest in Spring (especially in April) and the lowest in Autumn (especially in November) in this study. This result emphasizes the importance of daylength on the commencement of estruses in bitches.

Çoyan (10), reported that bitches can exhibit estrus throughout the year without a prominent effect of seasons. Some the other researchers (3,7,9), also indicated estruses scattered to all year but generally to the late winter or Spring. Small breeds which have good care, nutrition and environment may exhibit estrus in any month in a year (11). Alike the others (3,7,9,10,11) estruses were determined in every month but more in some months than the others in this study (Table 1, Figure 1 and 2).

It is reported that intervals between estruses may be 200 ± 45 days (3,7,11) and it is not effected from pregnancy (1) but there may be difference among breeds (3). In this study intervals between estrous periods in which pregnancy was positive (241.6 days in TSD and 221.5 in GSD) is nearly as the same as the others (3,10,11). But as contrary to the literature (10), if pregnancy is negative this interval was shorter (178.2 days in TSD and 169.0 in GSD).

In conclusion, Anatolian and German Shepherd Dogs may exhibit estrus in any month of the year. In addition to the highest in Spring (especially in April) and the least in Autumn (especially in November).

The length of inter-estrous interval was longer in pregnant bitches compared to the non-pregnant females.

References

- 1- Jöhle W., Anderson A.C.: The Oestrus Cycle In The Dog: A Review, Clarification and Contribution. *Theriogenology* 7, 113-140, (1977).
- 2- Arthur G.H., Noakes D.E., Pearson H.: *Veterinary Reproduction and Obstetrics (Theriogenology)*, p 401-403, Bailliera Tindall, London, (1982).
- 3- Christiansen J.I.: *Reproduction in the Dog and Cat*. p 6 -13, Bailliera Tindall, London, (1984).
- 4- Christie D.W., Bell E.T.: Some observations on the seasonal incidence and frequency of oestrus in breeding bitches in Britain., *J. Small Anim. Pract.*, 12, 159-167, (1971).
- 5- Olson P.N., Nett T.M.: *Reproductive Endocrinology and Physiology of The Bitch*. DA Morrow (ed): *Current Therapy In Theriogenology*, p 453-456, W.B.Saunders Company, Philadelphia, (1986).
- 6- Jöhle W.: *The Sexual Cycle In Bitch*. p 617-624, Wolfgang Jöhle Associates Inc. Denville, (1987).
- 7- Felman E.C., Nelson R.W.: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, p 399-476, Philadelphia, W. B. Saunders Comp., (1987).
- 8- Hafez E.S.E.: *Reproduction in Farm Animals*. p 409-422, Lea Febiger, (1987)
- 9- Bouchard G., Youngquist R.S., Vaillancourt D., Krause G.F., Guay P., Paradis M.: Seasonality and Variability of the Interestrous Interval in the Bitch. *Theriogenology* 36,1, 41-50, (1991).
- 10- Çoyan K.: Evcil Hayvanlarda Seksüel Sikluslar. E. Alaçam (ed): *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Suni Tohumlama Doğum ve İnfertilite*, s 25-36, Konya, Dizgievi, (1994).
- 11- Dinç D.A.: Karnivorlarda İnfertilite. E. Alaçam (ed): *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Suni Tohumlama Doğum ve İnfertilite*. s 315-339, Konya, Dizgievi, (1994).
- 12- Kutsal A., Alpan O., Arpacık R.: *İstatistik Uygulamalar*. s 11-50, Bizim Büro Basımevi, Ankara, (1990).

Yersinia enterocolitica'dan İleri Gelen Gıda Zehirlenmeleri

Şahsene ANAR¹ Recep ÇIBIK¹

Özet

Bu makalede insan sağlığı açısından önem taşıyan Y.enterocolitica ile ilgili bilgiler verilmiştir. Bakterinin özellikleri yanı sıra epidemiyolojisi, patojenitesi ve enfeksiyon semptomları tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Y. enterocolitica

Summary

Yersinia enterocolitica Cause Food Poisoning

In this review some informations have been given according to Y.enterocolitica. In addition to general characteristic of the bacterium, the epidemiology, pathogenicity and the symptoms of infection were discussed.

Key Word: Y.enterocolitica

Giriş

Yersinia cinsi ilk olarak 1894 yılında Fransız bakteriyolog A.J.E. Yersinia tarafından keşfedilmiştir. Thal, 1954 yılında bu cinsin Enterobacteriaceae familyasına dahil olduğunu saptamıştır. Yersinia'ların ortak enterobakteriyel antijenlere sahip olması, bu familyaya dahil edilmelerinde önemli bir etkidir (1).

Yersinia cinsine bağlı türler Y. pestis, Y. pseudotuberculosis, Y. frederiksenii, Y. ruckeri ve Y. enterocolitica'dır (2,3,4). Önceleri hayvanlardan izole edilerek P. pseudotuberculosis rodentium, P. pseudotuberculosis type B, Pasteurella X, P. pseudotuberculosis atypique, Germe X ve Yersinia X şeklinde isimlendirilen Y. enterocolitica son yıllarda, insanlarda oluşturduğu gastroenteritler nedeniyle büyük önem kazanmıştır (1,5).

Özellikleri:

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan Y.enterocolitica Gram negatif, fakültatif anaerob, oxidase negatif, katalaz pozitif, 1.0-3.5 x 0.5-11.5 µm. boyutlarında tek olarak kısa zincir şeklinde veya yığımlar halinde bulunan bir bakteridir (2,6,7,8). 37 °C 'de hareketsiz olmasına rağmen, 25 °C'de peritrik flagelları ile hareketlidir. Bunlara ilaveten üre pozitif, H₂ S negatif, mannitolü fermente edip, glukozdan asit üretilip gaz oluşturmaz (1,6,9,10). Yersinia enterocolitica'nın üremesi için gerekli olan pH 4.6 ile 9.0 arasındadır. Optimum pH 7 ile 8 arasında olup, % 5 NaCl varlığında üremesini sürdürmesine rağmen, % 7'nin üzerindeki tuz konsantrasyonunda ve 0.945 a_w değerinin altında üreyememektedir (6,11).

Y.enterocolitica 0-5 °C'ler arasında, yani buzdolabı sıcaklığında gelişebilen ve insanlar için patojen olabilen az sayıdaki bakterilerden birisidir. Bu nedenle buzdolabında muhafaza edilen gıda maddeleri etkenin insanlara bulaşmasını sağlaması yanı sıra, etkenin üremesi için de uygun bir ortam teşkil eder (2,5,7,12,13).

İnsan, hayvan, çevre gibi değişik kaynaklardan izole edilen Y.enterocolitica suşları arasında biyokimyasal farklar vardır. Bu farklılıklardan dolayı çeşitli biyotiplendirmeler yapılmıştır. Halen bu bakteriye ait 6 biovar kabul edilmektedir.

Tablo 1'de Watures ve arkadaşları tarafından yeniden düzenlenmiş biyotiplerin ayrımı görülmektedir (14).

¹Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, BURSA.

Tablo 1. Y. enterocolitica Biovarlarının Ayırımı

	Biovar						
	1 A	1 B	2	3	4	5	6
Lipaz (Tween esterase)	+	+	-	-	-	-	-
İndol	+	+	(+)	-	-	-	-
Ksiloz	+	+	+	+	-	* D	+
Trehaloz	+	+	+	+	+	-	+
Prazinamidaz	+	-	-	-	-	-	+
B-D Glükozidaz	+	-	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	(+)	-
Prolin peptide	d	-	-	-	-	-	+
Esculin/salicin	+/-	-	-	-	-	-	-
24 saat							

d: değişken (+):zayıf pozitif +/-:gecikmiş pozitif

Y. enterocolitica'nın antijenleri diğer enterik bakterilerin antijenik yapısına benzerlik göstermektedir. Isı ve alkole dayanıklı somatik "O" antijenleri, ısıya dayanıksız olan ve bakteri yüzeyinde bulunan kapsüller "K" antijenleri ve flagellar "H" antijenlerine sahiptir. Somatik "O" antijenleri lipopolisakkarid, flagellar "H" antijenleri ise protein tabiatındadır (26).

Y. enterocolitica ve benzeri bakterilerin (Y.kristensenii, Y. Fredrikxenii, Y. Interredic) serotiplere ayrılması somatik "O" antijenlerine göre yapılmaktadır (16,17).

Y.enterocolitica O:3 ve O:5 suşlarından ısıya dayanıklı bir enterotoxin (YeST) izole edilmiştir. Bu toxin E.coli tarafından üretilen enterotoksine benzerlik göstermekte ve onunla ortak bir fragman içermektedir. İnsanlarda hastalık yapabilme özelliğine sahip suşların büyük bir kısmı (%90-%100) enterotoxin üretme yeteneğine sahiptir (15).

Yayılışı ve Epidemiyolojisi:

Y. enterocolitica A.B.D.'de, Japonya'da, Kanada'da, Güney Afrika'da, komşu ülkelerimizde ve ülkemizde izole edilmiştir (1,2,5,6,8,16). A.B.D.'de 1976,1981 ve 1982 yıllarında Y.enterocolitica'ya bağlı çikolotalı süt, süt tozu, tofu ve pastörize süttten kaynaklanan zehirlenme olayları gözlenmiştir (16).

Almanya, Japonya, Kanada, Norveç ve Danimarka'da insan ve domuzlarda Y. Enterocolitica prevalansının kışın yüksek olduğu bildirilmektedir (18). Müslüman ülkelerde ise Y. Enterocolitica enfeksiyonuna az rastlanması domuz etinin bulaşmada önemli bir kaynak olduğunu göstermektedir. Yine Kanada'da 4 saat oda ısısında tutulan sütü içen çocuklarda Y. enterocolitica enteritisi saptanmıştır (19).

İngiltere'de de pastörize süttten kaynaklanan gıda zehirlenmesi bildirilmiş ve bazı hastalardan Y. enterocolitica ve Y. frederiksenii izole edilmiştir (27).

Kontaminasyon Kaynakları:

a-İnsanlar: Belçika ve Japonya'da yapılan çalışmalarda insanlardan Y.enterocolitica suşları izole edilmiştir. Ayrıca insanlar arasında kontakt yolla Yersiniozis'in bulaştığı gösterilmiştir (1).

b-Hayvanlar: Y.enterocolitica köpek, kedi, sığır, at gibi evcil hayvanların yanısıra tilki, maymun, kobay, kemiriciler, balık, kurbağa, yılan ve pire gibi hayvanlardan da izole edilmiştir (6,7,13,15). Bununla birlikte virulent yersiniozis'in başlıca kaynağı veya rezervuarı domuzlardır. Virulent suşlar genellikle domuzların ağız boşluğunda veya gastrointestinal sisteminde bulunur (6,7,11,21-25).

c-Su: Y.enterocolitica çeşitli su kaynaklarından izole edilmiştir (2,13,14).

d-Besin Maddeleri: *Y. enterocolitica* infeksiyonlarının insanlara bulaşmasında kontamine gıda maddeleri çok önemlidir. *Y. enterocolitica*'nın domuz mezbahalarından ve kasap tezgahlarından çok sık izole edildiği bildirilmektedir (11,21,22). Çiğ sığır eti, kuzu eti ve tavuk etlerinden de *Y. enterocolitica* izole edilmiştir (1,11). Yapılan bir çalışmada tavuk karkasları, butları, kanatları, boyunları ve göğüs kısmı ile, tavuk sucuğu, kızarmış tavuk ve chicken burgers materyal olarak kullanılmış ve %68 oranında *Y. enterocolitica* pozitif bulunmuştur (11). Çiğ sığır ve domuz etlerinde normal et mikroflorasının varlığında *Y. enterocolitica* kolayca üreyebilmektedir (7). 4-5 °C'de depolanan domuz etine 300-3000 kob/g. *Y. enterocolitica* inokule edildiğinde iki haftadan daha kısa bir süre içinde 10^8 kob/g.'a ulaştığı bildirilmiştir (13).

Yersiniozis'in bulaşmasında süt çok önemli bir yere sahiptir (1). Kanada, Avustralya, Danimarka ve Fransa'da çiğ süttten *Y. enterocolitica* izole edilmiştir(13,23). Araştırmacıların çoğu pastörizasyon işleminin *Y. enterocolitica*'nın inhibisyonu için yeterli olduğunu ileri sürmektedir. Zira etken 60°C'de 1-3 dakika ısıtılmakla harap olmaktadır (1,6,18). Ancak özellikle çikolata pastörize süttten kaynaklanan ve *Y. enterocolitica*'nın neden olduğu bir çok zehirlenme olayları gözlenmiştir (1,5,7,13,25).

Yapılan bir çalışmada, pastörize sütlere *Y. enterocolitica* izole edilmiştir. Araştırmacılar bunu pastörizasyonun yetersiz yapılmasına, pastörize sütlere çiğ süttün karışmasına, pastörizasyon sonrası oluşabilecek bulaşmalara ve mikroorganizmanın pastörizasyon işlemi sonrası canlı kalabileceğine bağlamaktadırlar (26,27). Ancak pastörize sütlere *Y. enterocolitica* bulunması olasılığının çiğ sütlere göre oldukça düşük olduğu da belirtilmektedir (1,5).

Çiğ süt dışında, peynir, tereyağı, pastörize krema, dondurma ve yoğurt gibi süt ürünlerinden de *Y. enterocolitica* izole edildiği belirtilmiştir (1). *Y. Enterocolitica*, cottage peynirlerinin %7'sinde, lor peynirlerinin %9.2'sinde bulunmuştur. Yurdumuzda yapılan çalışmalarda da pastörize sütler ile beyaz peynir ve kaşar peynirlerinde *Y. enterocolitica* saptanmıştır (5,8). Mısır'da Kareish peynir örneklerinin %67'sinde *Y. enterocolitica* saptanmıştır (26). Hollanda'da Camambert ve Brie peyniri ile, blue ve ined peynirlerinde *Y. enterocolitica* izole edilmiştir (5,28,29).

Klinik Tablo:

İnsanlar için patojenik önemi olan yersinia'lar için özel serogrup/biovar kombinasyonları izole edilmiştir. En önemli serogrup/biovar kombinasyonları şunlardır:

- Serogrup O:3 / biovar 4
- Serogrup O:9 / biovar 2
- Serogrup O:8 / biovar 1B
- Serogrup O.5.27 / biovar 2 (6).

Avrupa'da ve dünyanın büyük bir bölümünde O:9 ve O:3 serogrupları önemlidir (6,16).

Yersinia enterocolitica'ya bağlı zehirlenmeler mevsimlere göre farklılık göstermektedir. İlkbaharda artan zehirlenme olayları yaz mevsiminde azalır, Ekim-Kasım aylarında ise en yüksek seviyeye ulaşır (13).

Y. enterocolitica bakterileri yaşa, cinse, organizmanın direncine ve bakterilerin virulansına bağlı olarak insanlarda çok çeşitli klinik tablolar oluşturabilirler (9). Yersiniozisin klinik olarak başlıca semptomları apendisitle karıştırılabilen şiddetli karın ağrısı, ateş, baş ağrısı, kusma ve diarreidir. İnkübasyon periyodu 24-36 saat olup, bazen daha da uzun sürebilir (11). Hastaların %3-15'inde karın ağrıları bedenin sağ alt kısmında olup, yanlış apendisit teşhisi konulmasına neden olur. Yapılan bir çalışmada *Y. enterocolitica*'ya bağlı zehirlenme semptomları apendisit semptomlarına çok benzediği için hastaların %3-8'inin apendisitleri alınmıştır (1).

Y. enterocolitica'nın neden olduğu gastroenteritisin başlangıç döneminde bacaklarda ve gövdenin alt kısımlarında erythema nodosum denen ağrılı kabarcıklar ve lekeler, artritis, poliartritis ve septisemi gibi değişik semptomlar da ortaya çıkabilir.

Atipik olarak subakut hepatitis, organ apseleri, meningitis, üretritis de görülebilir. Atipik olaylar daha ziyade zayıf bünyeli kişilerde rastlanmaktadır (1,13).

Korunma ve Sağaltım:

Korunmada hastaların tanısı ve ayrılması, yiyecek ve içeceklerle uğraşanların eğitimi ve denetimi önem taşımaktadır. Hastalığın sağaltımında kökenlere göre değişmek üzere gentamisin, streptomycin, tetrasiklinler ve kloramfenikol etkilidir (9).

Yersinia İzolasyonunda Kullanılan Yöntemler:

Gıdalarda *Y. enterocolitica*'nın kalitatif olarak saptanmasında Norveç Besin Analizleri Komitesi'nin önerdiği yöntem üç aşamadan oluşmaktadır.

A- %2 sorbitol ve % 0.15 safra tuzu içeren fosfat buffer salin (pH: 7,6) (PSB) de 20-25 °C'de 3 saat canlandırma.

B- PSB'da 4°C'de 8 gün ön zenginleştirmeyi takiben, modifiye Rappaport broth 'da (MRB) 20-25 °C'de 4 gün selektif zenginleştirme.

C- PSB'de 4 °C'de 3 hafta soğuk zenginleştirme.

Her safhadan sonra kültürden Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin Agar (CIN)'a geçilir (6).

Wauters ve arkadaşlarının (6) önerdiği yöntemle göre ise; örnek Fosfat Buffer Saline (PBS)'de homojenize edildikten sonra 2-3 gün 24 °C'de ITC broth'da selektif zenginleştirme işlemine tabi tutulur. Bunu takiben SSDC Agar'a (%1 sodyum deoxycholat ve %0.1 CaCl₂) içeren ekim yapılmaktadır.

Kaynaklar

- 1-Gilmour, A., Walker, S.J. Isolation and Identification of *Yersinia enterocolitica* and the *Yersinia enterocolitica*-like bacteria. Journal of Applied Bacteriology Symposium supplement, 213-236, (1988).
- 2-Cunningham, F.E., Cox, N.A. The Microbiology of Poultry Meat Products. Academic Press, INC. San Diego, (1987).
- 3-Krieg, N.R., Holt, J.G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1, 498-506. (1984).
- 4-Lyxell, G., Bernellvall, Y., Danielsson, M. *Yersinia enterocolitica*-En livsmedelsburen patojen. Svensk Veterinär tidning, Vol.42, Nr 14, 599-602, (1990).
- 5-Özbaş, Z. Y., Aytaç, S.A.: Beyaz peynir ve pastörize sütlerden izole edilen virulent ve virulent olmayan *Yersinia enterocolitica* izolatlarının ayrımı. Gıda Tek. Dem. Derg. 17, 3, 197-202, (1992).
- 6-Nesbakken, T. Epidemiological and food hygienic aspect of *Yersinia enterocolitica* with special reference to the pig as a suspected source of infection. Department of Food Hygiene Norwegian College of Veterinary Medicine, Oslo, 7-41, (1992).
- 7-Palumbo, S.A. Is refrigeration enough to restrain food-borne pathogens? Journal of Food Protection, Vol.49, 12, 1003-1009, (1986).
- 8-Sağun, E., Ergun, Ö. İstanbul piyasasında tüketime sunulan Türk tipi beyaz ve kaşar peynirlerinde *Yersinia enterocolitica*'nın varlığı, S.Ü.Tıp Fak.Derg. 8, 2, 181-185, (1992).
- 9-Bilgehan, H. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 66-81, (1990).
- 10-Nesbakken, T., Kapperud, G. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria in Norwegian Slaughter Pigs. Int. J. Food Microbiol., 1, 301-309, (1984).
- 11-Oliver, O.D. Foodborne Disease. Academic Press, INC. San Diego, (1991).
- 12-Cox, N.A., Bailey, J.S., Corral, F., Shotts, E.B. Comparison of enrichment and plating media for isolation of *Yersinia*. Poultry Science, 69: 686-693, (1990).
- 13-Stern, N.J., Pierson, M.D. *Yersinia enterocolitica*: A review of the psychrotrophic water and foodborne pathogen. J. Food Sci. 44 (6):1736-1742, (1979).
- 14-Wauters, G., Kandolo, K., Janssens, M. Revised biogrowing schema of *Yersinia enterocolitica*. Cont. Microbiol. Immunol. S., 14-21, (1987).
- 15-Özsan, K. *Yersinia enterocolitica*, Arizona, Hinshawaii, Edwarsiella tarda ve enfeksiyonları. XXIII. Türk Mikrobiyoloji Dem. Kongresi. (1989).
- 16-Schmann, D.A. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. In: Food Born Bacterial Patogens. M.P., ed. Doyle. PP.601-672, Marcel Dekker Inc. Newyork (1989).
- 17-Akan, E. Tıbbi Mikrobiyoloji. Oba Kitap evi, Konya, (1986).
- 18-Tauxe, R.V., Wauter, G., Goossens, V. *Yersinia enterocolitica* infections and pork: The missing link. Cancet, 16: 1129-1132, (1987).
- 19-Bryan, F.L. Epidemology of milk-borne diseases. J. Food Protect. 46 (7), 637-649, (1983).
- 20-Kwaga, O., Iversen, J.O., Saunders, J.R. Comparison two enrichment protocols for the detection of *Yersinia* in slaughtered pigs and pork products. J. Food Protect. Vol. 53, No.12, 1047-1049, (1990).
- 21-Boer, E., Nouws, J.F.M. Slaughter pigs and pork as a source of human pathogenic *Yersinia enterocolitica*. Int. J. Food Microbiol., 395-378, (1991).
- 22-Nesbakken, T., Gondrosen, B., Kapperud, G. Investigation of *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia enterocolitica*-like bacteria and Thermotolerant Campylobacters in Norwegian Pork Products. Int. J. Food Microbiol., 1. 311-320, (1985).
- 23-Nesbakken, T. Comparison of sampling and isolation procedures for recovery of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 from the Oral Cavity of Slaughter Pigs. Acta Vet. Scand., 26, 127-135, (1985).
- 24-Fukushima, H., Maryama, K., Omori, I. Role of the contaminated skin of pigs in fecal *Yersinia* contamination of pig carcasses at slaughter. Fleischwirtsch. 69(3), 369-372, (1989).
- 25-Donnelly, C.W. Concerns of microbial pathogens in association with dairy foods. J. Dairy Sci. 1656-1661, (1990).

Gıdalarda Nitrat Nitrit Kalıntıları ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Nurşen BAYRAKTAR¹

Ramazan GÖKÇE²

Özer ERGÜN²

Özet

Gıdaların istenilen özelliklerde üretilmesi ve uzun süre dayanıklı kılınması, ancak bazı katkı maddeleri sayesinde mümkündür. Kendileri gıda özelliğinde olan (süt tozu, soya unu, nişasta vs.) katkı maddelerinin sağlık açısından bir sakıncası olmamakla beraber, kimyasal katkıların insan vücuduna zararlı etkileri olabilmektedir. Bu çalışmada et ve süt sektöründe vazgeçilmez katkı maddelerinden olan nitrat ve nitrit üzerinde durulmuş ve kalıntılarının insan sağlığına etkileri incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Nitrat, Nitrit, Nitrozamin.

Summary

The Residues of Nitrate Nitrite in the Foods and Their Effects on Human Health.

To produce foods at desirable specificities and to preserve them for a long time could be possible with some food additives. Food additives, from foods (for instance, milk powder, soybean flour and starch) have no harm on health. On the other hand, food additives, from chemicals, could be harmful for human health. In this study, nitrate and nitrite which are commonly used in meat and milk industry have been considered and the effects of their residues on human health has been investigated.

Key Words: Nitrate, Nitrit, Nitrosamine.

Giriş

Gıdalarda kullanılan katkı maddeleri tüketici sağlığına hiçbir şekilde zarar vermeyen bileşikler olmalıdır. Bu nedenle katkı maddelerinin genel anlamda şu özellikleri taşıması gerekir:

- Gıdalara katıldıkları miktarlarda devamlı alındıklarında hiçbir kötü etkisi veya yan tesiri söz konusu olmamalıdır.
- Tek başlarına veya başka katkılarla beraber kullanıldığında gıdalarda veya canlı organizmalarda oluşabilecek parçalanma ürünleri de zararsız olmalıdır.
- Akut, subakut ve kronik hiçbir toksisite göstermemeli, kanserojen olmamalıdır.
- Biyokimyasal olarak ve beslenme fizyolojisi bakımından (örneğin respirasyon, madde alışverişi, bağırsak fonksiyonları gibi) riziko taşımamalıdır.

Yüksek miktarlarda nitrat ve nitrit kalıntısı taşıyan gıdalar tüketicilerde akut veya kronik zehirlenme riski oluşturur. Nitrit, nitrata nazaran 10 misli daha zehirlidir (1). Nitratın potasyumlu tuzlarının da, sodyum tuzlarına göre toksik olduğu bildirilmiştir (2).

Nitratın İnsan Vücudundaki Metabolizması ve Sağlığa Olan Zararları: Gıdalarla alınan nitrat daha ağız boşluğunda iken ağız florasını oluşturan bakteriler tarafından kısmen nitrite indirgenir. Kalanı mide-barsak sistemine geçer. Dolaşıma karışan nitratın bir bölümü tükürük bezleri vasıtasıyla tekrar ağız boşluğuna salgılanır ve nitrite indirgenmesi devam eder. Bu mekanizma ile vücuda alınan nitratın % 20'sinin nitrite dönüştürüldüğü bildirilmektedir (3,4). Oluşan nitrit kandaki hemoglobini methemoglobine (hemiglobin) dönüştürerek, O₂ transport fonksiyonunu bloke eder. Bunun neticesinde de methemoglobinemi meydana gelir (5-7). Bu nedenle nitrat taşıyan peynir altı suyundan elde edilen toz ürünlerin bebek gıdası olarak kullanılması uygun değildir. Bebeklerde görülen çeşitli

¹TÜBİTAK, Marmara Bilimsel Araştırma Merkezi, Gebze-KOCAELİ.

²İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar-İSTANBUL.

methemoglobinemi olaylarına sebep olarak süt ürünlerinden ziyade, çözüldürüldükleri nitrat değeri yüksek sular gösterilmektedir (8). Nitrit kalıntılara karşı çok hassas olan süt çocuklarının her kilogram vücut ağırlığına 5 mg nitrit düşmesi halinde methemoglobin oluşacağı bildirilmiştir (9, 10).

Gıdalara katılan nitrat ve nitrit, toksik tesirlerini hayvansal ürünlerdeki sekonder aminlerle birleşerek oluşturdukları nitrozaminlerle de gösterirler (11-13) Nitrozaminlerin hem insanlar ve hem de hayvanlarda karsinojenik tesirli olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından bildirilmiştir (14-17). Nitrozaminlerin mutajenik ve teratojenik etkileri de sözkonusudur (18).

Nitritin birleşerek nitrozamin oluşturduğu sekonder aminler, proteinlerin parçalanma ürünlerinden kaynaklanır. Nitrozaminlerin oluşumunda bakteriler, pH değeri ve ısı dereceleri (100-185 °C) önemli rol oynar (19). Bazı araştırmacılar uygun fizyolojik şartlarda kimyasal reaksiyon veya bakteriyel faaliyetlerle midede nitrozamin şekillendiğini bildirmektedirler (12, 20).

Möhler ve El-Refai (21) 10-100 mg/kg miktarlarında nitrozamin taşıyan mısır silajı yedirilen hayvanların sütlerinde nitrozamin kalıntılarını bulamamışlardır.

Nitrozamin oluşumu ortamda bulunan iyon ve diğer bileşikler tarafından da etkilenmektedir. Örneğin askorbik asit nitrozamin oluşumunu engellerken, thiocyanat iyonu bu oluşumu hızlandırır. Bilhassa haşlanmış et ürünlerine katılan nitritin müsaade edilen miktarının neden olduğu dimetilnitrozaminin miktarının çok düşük olduğu, ancak üretimde uygulanan teknolojik işlemlere (sıcak dumanlama vb.) bağlı olarak değişebileceği belirtilmektedir (22). Nitrat ve nitritin tüketici sağlığına olan bu zararlarından dolayı kg vücut ağırlığına düşen günlük maksimum değerler Dünya Sağlık Örgütü'nce (WHO) şu şekilde belirtilmiştir (22):

	Zararsız miktar	Özel şartlarda
Nitrat (Na veya K)	0-5 mg	5-10 mg
Nitrit (Na veya K)	0-0.5 mg	0.4-0.8 mg

Ancak yine de vücuda alınan günlük miktarın nitrat için 50-120 mg'ı, nitrit için de 2-5 mg'ı geçmemesi gerektiği bildirilmektedir (16, 23). Bräthen (24)'in hesap ettiği senelik nitrat miktarı 28400 mg, nitrit (NaNO₂) miktarı da 68 mg'dır.

Çeşitli Ürünlerde Bulunuşu ve Alınan Miktarları:

Et ve et ürünlerinde nitrat ve nitrit kalıntıları: Nitrat ve nitrit et ve et ürünlerinde vazgeçilmez katkı maddelerindedir. Ancak öngörülen dozdan daha yüksek oranlarda ilave edildiklerinde ortaya çıkabilecek zararlı etkilerinden korunmak için bazı ülkelerde (örneğin Norveç) nitrat ve nitrit kullanımı tamamen yasaklanmıştır. Diğer ülkelerde de kullanıma belli dozda olmak şartıyla izin verilmiştir (25,26). Et ürünlerindeki kalıntı nitrit miktarı Avrupa Topluluğu standartlarında 15 ppm, Codex Alimentarius'ta da 30 ppm'den fazla olmamalıdır (27). Ülkemizde de Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde et ve et ürünleri için kullanımına müsaade edilen nitrit (KNO₂) ısı işlemleri görmüş et ürünlerinde 125 mg/kg, nitrat (KNO₃) miktarı da fermente ürünlerde 500 mg/kg, ısı işlemleri görenlerde 300 mg/kg olarak belirtilmektedir (28).

Et ürünlerinde nitrat ve nitritin fonksiyonları şu şekilde sıralanabilir:

- Parçalanma ürünü NO'in myoglobin ile birleşerek oluşturduğu nitrozomyoglobin arzu edilen parlak kırmızı-pembe rengin oluşumunu sağlar. Bu rengin oluşabilmesi için 35-50 ppm nitrit yeterli olmaktadır (29).
- Metabolitlerine parçalanması esnasındaki reaksiyonların bakterisid ve bakteriyostatik etkileri nedeniyle antimikrobiyel özellik gösterir. Özellikle *Clostridium*'lar üzerine olan etkileri çok önemlidir. *C. botulinum*'un inhibisyonu için gerekli nitrit dozunun 150 ppm olduğu bildirilmektedir (25).
- Ürünlerin sabit tat, koku ve aromada daha uzun süre muhafaza edilmeleri sağlar.
- Antioksidan etkileri nedeniyle oksidasyon sonucu oluşabilecek ransiditeyi engeller.

Et ürünlerinde kullanılan nitrat ve nitritin az olması bazı olumsuz renk değişikliklerine ve mikrobiyel bozulmalara sebep olurken, fazla olması da kalıntı nitrat miktarının artmasına ve nitrozaminlerin teşekkülüne neden olmaktadır. Wirth (30) yaptığı çalışmada, fermente et ürünlerinde sağlıklı bir fermentasyonla tüketim aşamasına gelmiş bir üründe 10 mg/kg'dan daha fazla nitrit olamayacağını ortaya koymuştur. Fermentasyonun sözkonusu olmadığı salam ve sosislerde ilave edilen nitritin tamamen parçalanamaması ve dolayısıyla da nitrozaminlerin oluşumu sözkonusu olabilir. Bu yüzden salam ve sosis yapılacak et kuşbaşı yapıp tuz ve nitritle karıştırılarak bir gece soğuk depoda bekletilir (31).

Süt Ürünlerinde Nitrat ve Nitrit Kalıntıları: Amariglio ve Imbert (32) bazı süt ürünlerinde nitrat ve nitrit kalıntıları üzerine yaptıkları çalışmada şu sonuçları bulmuşlardır; Nitrat ve nitrit kalıntıları peynir örneklerinin % 81'inde 5 mg/kg'ın, toz halindeki süt ürünlerinin % 93'ünde 30 mg/kg'ın altındadır. Sadece bazı süt tozu örneklerinde 100 mg/kg miktarları tespit edilmiştir.

Genelde günlük hayatta alınan nitrat dozu 49 mg/kişi olarak bildirilmektedir. Bu miktar baz alındığında bunun % 10-20'sinin et ve et ürünlerinden, % 70-80'inin tahıl, sebze ve meyvelerden, %1'inin de süt ve süt ürünlerinden kaynaklandığı belirlenmiştir (23).

Süt ve süt ürünlerinden kaynaklanan nitrat kalıntıları tüketici sağlığı açısından diğer ürünlere göre daha az bir risk taşımaktadır. Tablo 1'de Almanya'da çeşitli süt örneklerinde nitratın sağlık yönünden değerlendirilmesi yapılmıştır.

Tablo 1. Almanya'da çeşitli süt örneklerinde nitratın sağlık yönünden değerlendirilmesi (33).

Ürün Çeşidi	Günlük Tüketilen Miktar (g)	Günlük tolere edilebilir NO ₃ dozu (mg/kg)	Alınan doz (mg/gün)
Krema	13	0.43	0.0060
Ekşi krema	1	0.38	0.0004
Yoğurt	18	0.54	0.0100
Camembert	4	0.83	0.0030

Luf ve Brandl (34)'ün süt ve süt ürünleri tüketimi ile nitrat alınması üzerine Avusturya'da yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçlar Tablo 2'de topluca gösterilmiştir.

Tablo 2. Avusturya'da süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile alınan nitrat miktarları (34).

Ürün Çeşidi	Günlük Tüketim (g)	Ortalama NO ₃ miktarı (ppm)	Alınan doz
İçme sütü	158.0	0.31	49.0
UHT süt	7.5	0.48	3.6
Kondanse süt	5.7	0.37	2.1
Krema	5.6	0.60	3.4
Yayık altı	9.3	0.34	3.3
Ayran	9.3	0.35	3.3
Yoğurt	7.2	0.72	5.2
Quark	7.0	0.63	4.4
Cottage	1.5	12.09	6.9
Beyaz peynir	1.5	1.50	2.3
Emmental	4.1	0.25	1.0
Süt Tozu	2.6	5.40	13.9

Sonuç

Çeşitli araştırmacılar (35,36) gıdalarla gelen nitrit kalıntılarının sebep olduğu zararlı tesirlerden korunmada şu tedbirleri önermektedirler:

- a. Yüksek miktarda nitrat taşıyan sebze yetiştiriciliğinde fazla azotlu gübre kullanılmamalı ve sebzelerdeki maksimum nitrat miktarı 300 ppm olmalıdır.
- b. İçme sularındaki nitrat miktarı 50 mg/L'yi geçmemelidir.
- c. Gıdaların ve mamaların hazırlanmasında kullanılan su nitrat yönünden güvenilir olmalıdır.
- d. Nitrat bakteriyel faaliyetler neticesinde nitrite dönüştüğünden, yemekler buzdolabında muhafaza edilmelidir.

Kaynaklar

1. Awort O.C., Hicks J.R., Lee C.Y., Minnoti P.L.: Effects and controled atmospheres on postharvest nitrate-nitrite conversion in spinach, *J Food Sci* 46(2): 321-327, (1980).
2. Üçüncü M: Süt Teknolojisi (2. Bölüm) E.Ü. Müh. Fak. Çoğaltma yayın, No. 88, Bornova. İzmir (1980).
3. Croll B.T., Hayes C.R.: Nitrate and water supplies in the United Kingdom *Enviromental Pollution* 50: 163-187, (1980).
4. Karakaya E.A.: Dimetilamin grubu içeren bazı antibiyotiklerden, mide şartlarında nitrit etkileşmesi ile dimetilnitrozamin şekillenmesinin araştırılması, Doçentlik tezi, A.Ü. Ecz. Fak Ankara, (1981).
5. Acar J: Zum Problem der Nitritbildung bei Tiefgefrier-Gemuseprodukten unter besondorer Berücksichtigung der Temperatur und der nitritbildenden Mikroorganismen, Diss beim Fachbreich Umweltsicherung der justus Liebig Universitaet Giessen, 111s, (1975).
6. Klettner P.G.: Werminderung der Zugabe von Nitrat und Nitrit zu Pökelfleischwaren, *Fleischwirtschaft* 59(2): 178-181, (1979).
7. Turner C.A., Keinholz E.W.: Nitrate Toxicity, *Feedsufs.* 27: 28-30, (1964).
8. Renner E.: Milch und milch-produkte in der Ernährung des Menschen, *Wolkwirtschaftlicher*, Kempten, s 395-396, (1974).
9. Bornef J.: Hygiene, Georg Thime Verlag, Stuttgart, (1971).
10. Diraman H.: Trakya Bölgesi'nde üretilen çeşitli tip peynitlerde nitrit aranması üzerine bir araştırma, *Gıda* 18 (5): 293-295, (1993).
11. Liepe H.U., Pfeil E.: Nitrate, nitrite und nitrosamine, *Fleischwirtschaft* 59 (6): 826-830, (1979).
12. Pedersen E., Meyland I.: Nitrate, Nitrite, and volatile nitrosamines in pickled fish prepared with addition of nitrate, *Z Lebensm. Unrters-Forsch.* 173: 359-361, (826-830).
13. Sen N.P., Donaldson B.: Verbesserte Colorimetrische Methode zur Bestimmung von Nitrat und Nitrit in Lebensmitteln, *JAOAC* 61 (6): 1389-1394, (1978).
14. Kahraman M.: Nitrat ve nitritin farelerde immunosupresif etkileri üzerine araştırmalar, *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1988)
15. Kaya S.: Yem ve yem hammaddeleri ile bazı biyolojik sıvılarda nitrit ve nitrat analizi, *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* 31 (1): 15-27, (1987).
16. Prinççi İ., Acet A.: Yemlerde nitrat ve nitrit düzeyleriyle ilgili çalışmalar, *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 31 (1): 41-52, (1984).
17. Tesch J.W., Reh W.R., Sievers R.E.: Microdetermination of nitrates and nitrites in saliva, blood water and suspended particulates in air by gas chromatography, *J. chromatography.* 112: 719-727, (1976).
18. Toth L.: Nitrite reactions during the curing of meat products, *Fleischwirtschaft* 63: 208-211, (1983).
19. Özçelik S.: Bazı gıdalarda nitrit ve nitrozaminlerin oluşumu ve sağlığa zararlı etkileri, *Gıda* 7 (4): (1982).
20. Klein D., Gacannet N., Beaufrand M.J., Debry G.: Formation de nitrosamines dans le tractus digestif humain, *Ann. Nutr. Alim.* 30: 813-821, (1976).
21. Möhler K., El-Refai E.M.: Das nitrosamin problem in der menschlichen Umwelt, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 172: 449-453, (1981).
22. Yıldırım Y.: Nitrat ve nitritin et ürünlerine katılma oranlarının sınırlandırılması, *Gıda Bil. ve Tekn. Derg.* II (1): 71-77, (1979).
23. Selenka F.: Sanitray evaluation of nitrate in drinking water, *Zentrald Bacteria Microbiol. Hyg., Abst. 1 Orig., B*, 172 (1-3) 44-58, (1980).
24. Brathen G.: Nitrat und Nitrit in käse: Toxicologie, Wirkung und Analyse, *Meieriposten* 64 (8): 243-248, (1975).
25. Öztan A., Vural H., Helvacı R.: Sosis üretiminde nitrozomyoglobin ve kalıntı nitrit miktarlarını etkileyen faktörler, *Gıda* 16 (2): 117-121, (1991).
26. Öztan H., Vural H.: Et ürünlerinde nitrozamin oluşumunun laktik asit bakterileri kullanımıyla önlenmesi, *Gıda* 16 (4): 237-240, (1991).
27. Wirth F.: Curing colour formation and colour retention in frankfurter type sousages, *Fleischwirtschaft* 66 (3): 354-358, (1986).
28. Anonim: Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, 20541 sayılı Resmî Gazete, (1990).
29. Wirth F.: Frankfurter type sausages water binding, fat binding development of structure, *Fleischwirtschaft* 65 (8): 937-941, (1985).
30. Wirth E.: Technologische Bewertung der neuen Pökelfeststoffregelung, *Fleischwirtschaft* 63: 532-534, 537-542, (1983).
31. Yıldırım Y.: Et Endüstrisi, Yıldırım Matbaası, Ankara, (1992).
32. Amariglio S., Imbert A.: Untersuchung zum nitrat-nitrit-gehalt einiger milchprodukte, *Milchwissenschaft*, 37 (10), 637, (1982).
33. Nijhuis V.H., Heeschen W., Blüthgen A., Tolle A.: Zur vorkommen von nitrat und nitrit in milch und milchherzeugnissen eine Situationsanalyse, *Milchwissenschaft* 35 (11): 678, (1980).
34. Luf W., Brandl E.: Die aufnahme von nitrat und nitrit bei konsum von milch und milchherzeugnissen, *Deutsche Milchwirtschaft* 38(5): 116-119, (1980).
35. Kampe W.: Stickstoffdüngung und gesundheit, *Gemüse* 17 (5): 195-196, (1981).
36. Müller G: Grundlagen der Lebensmittelmicrobiologie, Steinkopf Verlag Darmstadt s. 146,173,179, (1977).