

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)
ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 69 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2012

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

T.R.
THE MINISTRY OF HEALTH
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)

ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 69 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2012

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu adına
On behalf Public Health Institution of Turkey

Mustafa AKSOY, Başkan
Mustafa AKSOY, President

EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Demet CANSARAN-DUMAN
Yavuz UYAR

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Sühendan ADIGÜZEL
Fatih BAKIR
Mehmet Kürşat DERİCİ
Mestan EMEK
Arşun ESMER
Sibel KARACA
Pınar KAYNAR
Özcan ÖZKAN
Pınar ÜNAL
Gerard A. van ZOELLEN

TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Ahmet Murad BAYRAM
Murat DUMAN
Zeynep KÖSEOĞLU
Selahattin TAŞOĞLU

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY
ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayınlanır / Published four times per year
Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

Tasarım - Dizgi / Design - Editing :
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu / Public Health Institution of Turkey
Destek Hizmetleri / Supportive Services
Satınalma ve İdari İşler Daire Başkanlığı /
Purchasing and Administrative Affairs Department

Baskı ve Cilt / Press and Binding :
Kayihan Ajans
Hoşdere Cad. No: 201/9 Çankaya-ANKARA
Tel: +90 312 442 72 72
e-posta: kayihanajans@gmail.com

Yayın Türü / Type of Publication :
Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

Basım Tarihi / Date of Publication :
Aralık 2012 / December 2012

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Adil ALLAHVERDİYEV, Yıldız Tek. Üniv., Kimya Fak., İstanbul

Ahmet ÇARHAN, Türk Akreditasyon Kurumu, Ankara

Ahmet KART, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Abant İzzet Baysal Üniv., Tıp Fak., Bolu

Ali ALBAY, GATA, Ankara

Ali MİRAZİMİ, Swedish Inst. for Infect. Dis. Control, Sweden

Alper AKÇALI, 18 Mart Üniv., Tıp Fak., Çanakkale

Anna PAPA, Aristotle Univ., Medical School, Thessaloniki, Greece

Aşkın YAŞAR, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Ayhan FİLAZİ, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara Üniv., Vet Fak., Ankara

Ayşen GÜNEL-ÖZCAN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Aziz SANCAR, Univ. North Carolina, Dep Bipchem & Biophysics, USA

Bahadır GÖNENÇ, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Banu ÇAKIR, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Berrin ESEN, RSHMB, Ankara

Bülent ALTEN, Hacettepe Üniv., Fen Fak., Ankara

Celal GÖKÇAY, ODTÜ, Çevre Müh., Ankara

Çağatay GÜLER, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Daniel MOTLHANKA, Botswana College of Agriculture, Botswana

Delia Teresa SPONZA, Dokuz Eylül Üniv., Çevre Müh., İzmir

Diler ASLAN, Pamukkale Üniv., Tıp Fak., Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Dürdal US, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Dwight D. BOWMAN, Cornell Univ., College of Vet. Med., USA

Ender YARSAN, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Fatih KÖKSAL, Çukurova Üniv., Tıp Fak., Adana

Gönül ŞAHİN, Hacettepe Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Gülberk UÇAR, Hacettepe Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Gülnur TARHAN, Ahievran Üniv., Sağlık MYO, Kırşehir

Hakan LEBLEBİCİOĞLU, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun

Haluk VAHABOĞLU, Kocaeli Üniv., Tıp Fak., Kocaeli

Hürrem BODUR, Numune Eğ. & Arş. Hast., Ankara

İşıl MARAL, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

Iva CHRISTOVA, NCIPD, Sofia, Bulgaria

İ.Mehmet Ali ÖKTEM, Dokuz Eylül Üniv., Tıp Fak., İzmir

İrfan EROL, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

İsmail CEYHAN, RSHMB, Ankara

Johan LINDH, Swedish Ins. for Infections Dis. Cont., Sweden

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Hebrew Univ., Hadassah Med. Sch. Israel

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Levent AKIN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mahinur AKKAYA, ODTÜ, Kimya Müh., Ankara

Manfred WEIDMANN, Göttingen Univ., Virology Ins., Germany

Mehmet Ali ONUR, Hacettepe Üniv. Fen Fak., Ankara

Metin KORKMAZ, Ege Üniv., Tıp Fak., İzmir

Mithat ŞAHİN, Kafkas Üniv., Vet. Fak., Kars

Murat DİZBAY, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

Murat GÜLMEZ, Kafkas Üniv., Vet. Fak., Kars

Murat GÜNAYDIN, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun

Murat HÖKELEK, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun

Murat ÖZSAN, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mustafa KAVUTÇU, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mükerrem KAYA, Atatürk Üniv., Ziraat Fak., Erzurum

Nazmi ÖZER, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, RSHMB, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara Üniv., Fen Fak., Ankara

Oğuz GÜRSOY, Pamukkale Üniv., Gıda Müh., Denizli

Orhan BAYLAN, GATA, Ankara

Orhan YILMAZ, KBB, Dışkapı Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Osman GÜNAY, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri

Paul HEYMAN, Queen Astrid Military Hospital, Belgium

Pauline MWINZI, Medical Research Inst., Kenya

Pınar OKYAY, Adnan Menderes Üniv., Tıp Fak., Aydın

Rahmet ÇAYLAN, Atatürk Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Recep AKDUR, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara

Recep ÖZTÜRK, İstanbul Üniv., Cerrahpaşa Tıp Fak., İstanbul

Rıza DURMAZ, İnönü Üniv., Tıp Fak., Malatya

Roberto Canete VILLAFRANCA, Centre for Hygiene, Cuba

S. Aykut AYTAÇ, Hacettepe Üniv. Gıda Müh., Ankara

Sami AYDOĞAN, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri

Sema BURGAZ, Gazi Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Sercan ULUSOY, Ege Üniv., Tıp Fak., İzmir

Sıraç DİLBER, Karolinska Univ., Medical School, Sweden

Suzan ÖZTÜRK-YILMAZ, Sakarya Üniv., Müh. Fak., Sakarya

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Celal Bayar Üniv., Tıp Fak., Manisa

Takashi AKAMATSU, Prof. Emeritus, Japan

Tevfik PINAR, Kırıkkale Üniv., Tıp Fak., Kırıkkale

Yesim ÖZBAŞ, Hacettepe Üniv. Gıda Müh., Ankara

Yeşim ÇETİNKAYA-ŞARDAN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Yeşim TUNÇOK, Dokuz Eylül Üniv., Tıp Fak., İzmir

Zafer KARAER, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

2012 YILI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU EK ÜYELERİ / ADDITIONAL MEMBERS OF SCIENTIFIC ADVISORY BOARD IN 2012

Abbas Yousefi RAD, Tobb Etü Hast., Klinik Mikrobiyoloji Lab., Ankara

Abdullah KARAER, İnönü Üniv., Tıp Fak., T. Özal Tıp Merkezi, Malatya

Ali ACAR, Gata Haydarpaşa Eğt.Hst. Enf. Hast. ve Klinik Mik.Serv., İstanbul

Ali ERGÜL, Ankara Üniv., Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

Ayça Arzu SAYINER, Dokuz Eylül Üniv., Tıp Fak., İzmir

Ayhan ŞENKARDEŞLER, Ege Üniv., Fen Fak., İzmir

Ayşe Dilek AZAZ, Balıkesir Üniv., Fen-Edebiyat Fak., Balıkesir

Bekir ÇELEBİ, T. Halk Sağlığı Kur., Mikrobiyoloji Ref. Lab. D.B., Ankara

Berkan ÇELİKTEK, Ankara Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ankara

Cahfer GÜLOĞLU, Dicle Üniv., Tıp Fak. Acil Tıp AD., Diyarbakır

Cahit BABÜR, T. Halk Sağlığı Kur., Mikrobiyoloji Ref. Lab. D.B., Ankara

Can ERGÜN, Bahçeşehir Üniv., İstanbul

Demet CANSARAN-DUMAN, Ankara Üniv., Biyoteknoloji Enst., Ankara

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK, T. Halk Sağlığı Kur., Mikrobiyoloji Ref. Lab. D.B., Ankara

Emine SÜMER-ARAS, Ankara Üniv., Fen Fak., Ankara

Ergin HAMZAOĞLU, Gazi Üniv., Biyoloji Böl., Ankara

Esra GÜNDÜZ, Fatih Üniv., Tıp Fak., Ankara

Fatma AYERDEN-EBİNC, Kırıkkale Devlet Hast., Kırıkkale

Fatma Duygu ÖZEL-DEMİRALP, Ankara Üniv., Biyoteknoloji Enst., Ankara

Gerard Van ZOELLEN, Swedish Ins. for Infections Dis. Cont., Sweden

Görkem Mergen, Ankara Üniv., Adli Bilimler Enst., Ankara

Gülden SÖNMEZ-TAMER, Kocaeli Üniv., Tıp Fak., Kocaeli

Hakan ERGÜN, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara

Hülya ŞİMŞEK, T. Halk Sağlığı Kur., Mikrobiyoloji Ref. Lab. D.B., Ankara

İştar Güllü DOLAPÇI, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mehmet BİNGÖL, T. Halk Sağlığı Kur., Tüketici Güv. Lab. D.B., Ankara

Mehmet DOĞANAY, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri

Melike DOĞANAY, Z. Tahir Burak K. Sağ. Eğitim ve Araş. Hast., Ankara

Meral AKSOY, Hacettepe Üniv., Ankara

Müjgan İZGÜR, Ankara Üniv., Veteriner Fak., Ankara

Nurhan ALBAYRAK, T. Halk Sağlığı Kur., Mikrobiyoloji Ref. Lab. D.B., Ankara

Özcan ÖZKAN, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kur., Ankara

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

2012 YILI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU EK ÜYELERİ / ADDITIONAL MEMBERS OF SCIENTIFIC ADVISORY BOARD IN 2012

Pınar IŞKIN-ZARAKOLU, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Sumru ÇITAK, Gazi Üniv., Fen-Edebiyat Fak., Ankara

Pınar KAYNAR, T. Halk Sağlığı Kur., Tüketici Güv. Lab. D.B., Ankara

Şaban GÜRCAN, Trakya Üniv., Tıp Fak., Edirne

Pınar ÜNAL, Z. Tahir Burak K. Sağ. Eğitim ve Araş. Hast., Ankara

Şule ŞENSES, T. Halk Sağlığı Kur., Tüketici Güv. Lab. D.B., Ankara

Polat DURUKAN, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Hast.,Kayseri

Y. Sedat VELİOĞLU, Ankara Üniv., Gıda Mühendisliği A.D., Ankara

Saime ŞAHİNÖZ, Gümüşhane Meslek Y. O., Gümüşhane

Yavuz UYAR, T. Halk Sağlığı Kur., Mikrobiyoloji Ref. Lab. D.B., Ankara

Salih KUK, Fırat Üniv., Parazitoloji A.D., Elazığ

Yunsur ÇEVİK, Etlik İht. E. ve Araş. Hast., Acil Tıp Kliniği, Ankara

Selçuk KILIÇ, T. Halk Sağlığı Kur., Mikrobiyoloji Ref. Lab. D.B., Ankara

Yusuf KURTULMUŞ, Tepecik E. ve Araş. Hast., Biyokimya Lab., İzmir

Selma AY, İnönü Üniv., Tıp Fak., Malatya

Zeynep CEREN, Ankara Üniv., Ankara

Semra SOYDAM-AYDIN, Niğde Üniv., Niğde

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayınlanmak üzere gönderilen makaleler, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Başvurular www.turkhijyen.org adresinden "Çevrimiçi Makale Gönder, Takip Et, Değerlendir Programı" aracılığıyla online olarak yapılabilir.

Gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallar aranır:

1- "Telif hakkı devir formu" (Copyright Release Form) tüm yazarlarca imzalanarak onaylandıktan sonra Dergimize iletilmelidir. Bu forma www.turkhijyen.org adresinden ulaşılabilir.

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

a) Yazının başlığı kısa olmalı ve büyük harfle yazılmalıdır.
b) Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
c) Akademik unvan kullanılmadan meslek unvanı belirtilebilir.
d) Makale birden fazla yazar tarafından yazılmış ise, aynı üniteye çalışan yazarların kurumlarının sıralaması göz önünde bulundurularak soyadları sonuna numara verilmelidir (Örnek; Duman 1, Yılmaz 2, Çetin 1,).

e) Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

f) Makale, kongre/sempozyumda sunulmuşsa sunum türü ile birlikte dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

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

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

5- Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri "The Systême International" (SI)'e göre verilmelidir.

6- Yazılar bir zorunluluk olmadıkça "mişli geçmiş" zaman edilgen kip ile yazılmalıdır.

7- A4 kağıtların yalnız bir yüzü kullanılmalı, her bir kenarlarından 2,5'ar cm boşluk bırakılmalıdır. 12 punto, "Times New Roman" yazı karakteri ve iki satır aralığı (double space) kullanılmalıdır.

8- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, yazarlardan araştırma ve yayın etiğine uyumlu olunmasını istemektedir. İnsan araştırmalarında, çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş olurun (yazılı veya sözlü) alındığının gereç ve yöntem bölümünde belirtilmesi gerekmektedir. Gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedürlerin özelliği tümüyle anlatıldıktan sonra, kendilerinin bilgilendirilip onaylarının alındığını gösterir bir cümle bulunmalıdır. Yerel etik kurullarına sahip olmayan yazarlar, Helsinki Bildirgesinde (www.wma.net/e/policy/pdf/17c.pdf) ana hatlarını çizen ilkeleri izlemelidirler. Yazarlar, bu tür bir çalışma söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve "İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik" ve daha sonra yayınlanan diğer yönetmelik ve yazılarda belirtilen hükümlere uyulduğunu belirtmeli ve kurumdan aldıkları "Etik Kurul Onayı"nı göndermelidirler.

9- Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar için de gereken izinler alınmalı; yazıda deneklere ağrı, acı ve rahatsızlık verilmemesi için neler yapıldığı açık bir şekilde belirtilmelidir.

10- Hasta kimliğini tanıttak fotoğraf kullanıldığında, hastanın yazılı onayı gönderilmelidir.

11- Makale yazımında dikkat edilecek hususlar şunlardır:

a) **Araştırma yazıları;** Türkçe Özet, İngilizce Özet, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır. Bu bölümler, sola yaslanacak şekilde büyük harflerle katın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde Türkçe Başlık ve Özet bulunmalıdır.

Türkçe Özet: Amaç, Yöntem, Bulgular ve Sonuç alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 250, en fazla 400 sözcük içermelidir. Kısa raporlarda sözcük sayısı en az 100, en fazla 200 olmalıdır.

İngilizce Özet (Abstract): Başlığı İngilizce olmalıdır. Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde "Objective, Method, Results, Conclusion" olarak yapılandırılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Türkçe ve İngilizce özetlerin altında verilmelidir. Anahtar kelime sayısı 3-8 arasında olmalı ve Tıp Konuları Başlıkları (Index Medicus Medical Subject Headings-MeSH)'nda yer alan sözcükler kullanılmalıdır. MeSH için şu internet adresine başvurulabilir: www.nlm.nih.gov/mesh MBrowser.html

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

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

Bulgular: Sadece elde edilen bulgular açık bir şekilde belirtilmelidir.

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

Teşekkür Bölümü: Teşekkür bölümü, ana metnin sonunda kaynaklardan hemen önce yer almalı ve bir paragrafı geçmemelidir.

Kaynaklar: Yazarlar kaynakların eksiksiz ve doğru yazılmasından sorumludur. Kaynaklar, metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımı ile ilgili aşağıda örnekler verilmiştir. Daha detaylı bilgi için "Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals" (J Am Med Assoc 1997; 277: 927-934) (<http://www.nejm.org/general/text/requirements/1.htm>) bakılmalıdır.

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

• Standart dergi makalesi için örnek: Demirci M, Ünlü M, Şahin Ü. A case of hydatid lung cyst diagnosed by kinyoun staining of bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.

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

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

Kitap: Yazar(lar)ın soyadı adının baş harf(ler)i. Kitabın adı. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

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

Kitap bölümü: Bölüm yazar(lar)ın soyadı adının başharf(ler)i. Bölüm başlığı. İt: Editör(ler)in soyadı adının başharf(ler)i ed/eds. Kitabın adı. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı: Bölümün ilk ve son sayfa numaraları.

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

Web adresi: Eğer doğrudan "web" adresi referans olarak kullanılacaksa adres ile birlikte parantez içinde bilgiye ulaşılan tarih de belirtilmelidir. Web erişimli makalelerin referans olarak metin içinde verilmesi gerektiğinde DOI (Digital Object Identifier) numarası verilmesi şarttır.

Kongre bildirisi: Entrala E, Mascaro C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October,10-14, Izmir-Turkey. 1994.

Tez: Bilhan Ö. Labirent savakların hidrolik karakteristiklerinin deneysel olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.

GenBank/DNA dizisi analizi: Gen kalıtım numaraları ve DNA dizileri makale içinde kaynak olarak gösterilmelidir. Konuyla ilgili ayrıntılı bilgi için "National Library of Medicine" adresinde "National Center for Biotechnical Information (NCBI)" bölümüne bakınız.

Şekil ve Tablolar: Her tablo veya şekil ayrı bir sayfaya basılmalı, alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara sütun çizgileri içermelidir. Tablolar, "Tablo 1." şeklinde numaralandırılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır. Açıklayıcı bilgiye başlıkta değil dipnotta yer verilmeli, uygun simgeler (*,+,,+, v.b.) kullanılmalıdır. Fotoğraflar "jpeg" formatında ve en az 300 dpi olmalıdır. Baskı kalitesinin artırılması için gerekli olduğu durumlarda fotoğrafların orijinal halleri talep edilebilir.

b) **Derleme türü yazılarda;** tercihen yazar sayısı ikiden fazla olmamalıdır. Yazar(lar) daha önce bu konuda çalışma ve yayın yapmış olmalı; bu deneyimlerini derleme yazısında tartışmalı ve kaynak olarak göstermelidir. Derlemelerde Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet (en az 250, en fazla 400 sözcük içermelidir) ve anahtar sözcükler bulunmalıdır.

c) **Olgu sunumlarında;** metin yedi sayfayı, kaynak sayısı 20'yi aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet (en az 100, en fazla 200 sözcük) ve anahtar sözcükler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır.

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

12- Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

13- Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 54 55

e-posta : turkhijyen@thsk.gov.tr

WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Articles should be prepared according to the writing rules of the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Submissions can be made online at the address www.turkhijyen.org through the "Online Manuscript Submission, Track, Evaluation Program".

Manuscripts are sought according to the following rules:

1- The "Copyright transfer form" (Copyright Release Form) should be sent to the Journal and signed by all authors. This form can be downloaded from www.turkhijyen.org

2- The title page should consist of the article title, English title, short title, author name(s), names of the institutions and the departments of the authors, full address, telephone numbers (fixed and mobile) and mail address of the correspondence author:

- The title should be short and in capitals.
- The short title should not exceed 40 characters.
- Occupational titles can be stated without the use of academic titles.
- If the article is written by multiple authors and the authors work in the same Department, then according to their institutional orders, numbers should be given after their surname (e.g., Duman1, Yılmaz2, Çetin1,).
- Studies supported by a fund or organisation must be mentioned in a footnote or in the acknowledgements.
- Articles presented in a conference / symposia must be mentioned with the type of presentation in footnotes or in the acknowledgements.

3- Terms used in articles should be in Turkish and Latin as much as possible, according to the latest dictionary of the "Turkish Language Institution". Importance should be given to use pure Turkish language and as many as Turkish references.

4- Latin names of microorganisms used for the first time in the text have to be written in full. If these names are used later, they should be abbreviated in accordance to international rules. The original Latin names of microorganisms should be written in Italic: for example, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa*. Genus names like staphylococcus and streptococcus that have settled into our language can be written in Turkish. Names of antibiotics should be written as they are read in terms of language integrity. Names of antibiotics should be abbreviated in accordance with international standards.

5- Symbols of the units mentioned in the text should be according to "The Système International (SI)".

6- Articles should be written in one of the "past perfect, present perfect or past" tenses and in the passive mode.

7- Only one side of A4 paper should be used and should have a 2.5 cm margin on each side. 12 pt, Times New Roman font and double line space should be used.

8- The Turkish Journal of Hygiene and Experimental Biology expects the authors to comply with the ethics of research and publication. In human research, a statement of the informed consent of those who participated in the study is needed in the section of the "Materials and method. In case of procedures that will apply to volunteers or patients, it should be stated that the study objects have been informed and given their approval before the study started. In case the authors do not have a local ethics committee, the principles outlined in the Declaration of Helsinki should have been followed. Authors, who do not have a local ethics committee, should declare that they have followed the internationally accepted guidelines, the "Pharmaceutical Research and Regulation" legislation and other related regulations.

9- In case animal studies, approval also is needed; it should be stated clearly that the subjects will be prevented as much as possible from pain, suffering and inconvenience.

10- In case patient photos are used which shows his/her ID, a written informed consent of the patient on the use of the photos must be submitted.

11- When writing an article the following items should be considered:

a) Research papers should consist of Turkish abstract, English abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and References section. These sections should be written in bold capital letters and aligned left. English articles should have a Turkish abstract and title in Turkish.

Turkish abstracts should be structured and consist of subheadings (Objective, Methods, Results and Conclusion) and at least have 300 words, and should contain no more than 500 words.

English abstract: The title should be in English, and structured like the Turkish abstract (Objective, Methods, Results, and Conclusion).

Key words should be given under Turkish and English.

The number of keywords should be between 3-8 and the terminology of the Medical Subjects Headings (Index Medicus Medical Subject Headings-MeSH) should be used. These MeSH terms can be found at the following Internet address: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>

Introduction: The aim of the study, and references given to similar studies should be presented briefly and should not exceed more than two pages.

Materials and Methods: The date of the study and institution that performed the study, and materials and methods should be clearly presented. Statistical methods should be clearly stated.

Results: The findings should be stated clearly.

Conclusions: In this section, the study findings should be compared with findings of other researchers. Investigators should mention their comments in this section.

Acknowledgements should be placed at the end of the main text and before the references, and should not exceed more than one paragraph.

References: Authors are responsible for supply complete and correct references. References should be numbered according to the order used in the text. Numbers should be given in brackets and placed at the end of the sentence. Examples are given below on the use of references. Detailed information can be found in "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (J Am Med Assoc 1997 277: 927-934) and at <http://www.nejm.org/general/text/requirements/1.htm>

Periodicals: Author(s) Last Name initial(s) name of author(s) (if there are six or fewer authors, all authors should be written; if the number of authors are seven or more, only the first six of the authors should be written and the rest as "et al"). The title of the article, the abbreviated name of the journal according to the Index Medicus, Year; Volume (Issue): The first and last page numbers.

• Example of standard journal article: Demirci M, Celebrity M, Sahin U. A case of hydatid cyst diagnosed by kinyoun staining of lung bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.

• Example of an article with authors unknown: Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J*, 1981; 283:628.

• Example of journal supplement: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: Demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood*, 1979; 54 (Suppl 1): 26a.

Books: Surname of the author(s) initial name(s) of author(s). The name of the book. The edition number. Place of publication: Publisher, Publication year.

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

Book chapters: The author(s) surname of the chapter initial(s) letter of the name. Section title. In: Surname of editor(s) initial (s) letter of first name(s) ed / eds. The name of the book. Edition number. Place of publication: Publisher, year of publication: The first and last page numbers of the chapter.

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

Web address: If a "web" address is used as the reference address, the web address date should be given in brackets with the address. The DOI (Digital Object Identifier) number must be provided, when a web access article used in the text as a reference.

Congress papers: Entrala E, Mascaro C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, Izmir-Turkey. 1994.

Thesis: Bilhan Ö. Experimental investigation of the hydraulic characteristics of labyrinth weir. Master Thesis, Science Institute of Firat University, 2005.

GenBank / DNA sequence analysis: DNA sequences of genes and heredity numbers should be given as references in the article. For more information, check "National Library of Medicine" and "National Center for Biotechnical Information (NCBI)".

Figure and Tables: Each table or figure should be printed on a separate sheet, the top and bottom lines and if necessary column lines must be included. Tables should be numbered like "Table 1." and the table title should be written above the top line of the table. Explanatory information should be given in footnotes, not in the title and appropriate icons (*,+,++, etc.) should be used. Photos should be in "jpeg" format. In case the quality of the photos is not good for publication, the originals can be requested.

b) In reviews, it is preferred to have not more than two authors. Author(s) must have done research and published articles previously on this subject; they should discuss their experience and use as reference in the review. Reviews should have Turkish and English titles, abstracts and key words.

c) Case reports should have a maximum of seven pages of text and the number of references should not exceed 20. Case report should have a Turkish and English title, abstract, keyword(s) and also introduction, case description and discussion sections should be given.

d) Letters written to make criticisms, contributions or to give news related to previously published articles will be published in the "Letters to the Editor" section after review and assessment of the Editorial Board. Letters should not exceed one page of text and must be supported with up to five references.

12- The articles which do not comply with the journal rules are not accepted.

13- Authors should keep a copy of the article that they submit.

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Public Health Institution of Turkey

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 54 55

e-mail : turkhijyen@thsk.gov.tr

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

YAYIN İLKELERİ

- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu yayın organıdır. Dergi üç (3) ayda bir çıkar ve dört (4) sayıda bir cilt tamamlanır.
- Dergide mikrobiyoloji, immünoloji, farmakoloji, toksikoloji, parazitoloji, entomoloji, biyokimya, gıda güvenliği, çevre sağlığı, halk sağlığı, epidemiyoloji, patoloji, fizyopatoloji, moleküler biyoloji ve genetik ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu, derleme, editöre mektup türündeki makaleler Türkçe ve İngilizce olarak yayımlanır.
- Dergide, daha önce başka yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan makaleler yayımlanır.
- Dergi Yayın Kurulu ve Bilimsel Danışma Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili en az iki Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden olumlu görüşü alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
- Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir.
- Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.
- Dergide yayınlanan yazıların yayın hakkı Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

- Bütün yazarlarca isim sırasına göre imzalanmış telif hakkı devir formu eksiksiz olarak dolduruldu.
 - Yazar isimleri açık olarak yazıldı.
 - Her yazarın bağlı bulunduğu kurum adı, yazar adının yanına numara verilerek başlık sayfasında belirtildi.
 - Yazışmalardan sorumlu yazarın adı, adresi, telefon-faks numaraları ve e-posta adresi verildi.
 - Türkçe ve İngilizce başlıklar ile kısa başlık yazıldı.
 - Türkçe ve İngilizce özetlerin kelime sayısı (300-500 arası) kontrol edildi.
 - Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler (MeSH'e uygun) verildi.
 - Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standart olmayan kısaltmalar düzeltilti.
 - Metin içerisinde geçen orijinal Latince mikroorganizma isimleri italik olarak yazıldı.
 - Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri the Système International (SI)'e göre verildi.
 - Yazılar "miş'li geçmiş" zaman edilgen kip ile yazıldı.
 - Metnin tamamı 12 punto Times New Roman karakteri ile çift aralıkla yazıldı.
 - Metin sayfanın yalnız bir yüzüne yazılarak her bir kenardan 2,5 cm boşluk bırakıldı.
 - Tablolar, şekiller yazım kurallarına uygun olarak ve her biri ayrı bir sayfada verildi.
 - Fotoğraflar JPEG formatında aktarıldı.
 - Kaynaklar cümle sonlarında parantez içinde ve metin içinde kullanım sırasına göre ardışık sıralandı.
 - Kaynaklar, makale sonunda metin içinde verildiği sırada listelendi.
 - Kaynaklar gözden geçirildi ve tüm yazar adları, ifade ve noktalamalar yazım kurallarına uygun hale getirildi.
- Ayrıca aşağıda belirtilen maddeleri dikkate alınız.**
- Etik kurul onayı alındı.
 - Bilimsel kuruluş ve/veya fon desteği belirtildi.
 - Kongre/Sempozyumda sunumu ve sunum türü belirtildi.
 - Varsa teşekkür bölümü oluşturuldu.

EDITORIAL POLICY

- The Turkish Journal of Hygiene and Experimental Biology, is a publication of the Public Health Institution of Turkey. The Journal is published every three months and one volume consist of four numbers.
- The journal publishes microbiology, immunology, pharmacology, toxicology, parasitology, entomology, biochemistry, food safety, environmental health, public health, epidemiology, pathology, pathophysiology, molecular biology and genetics in the field of original research, case reports, reviews, and letters to the editor. Articles are published in Turkish and English.
- Articles which are not previously published in another journal or are not currently under evaluation elsewhere can be published in the journal.
- Articles approved by the Scientific Committee and Editorial Board are eligible to be released when received at least two positive opinions from the Scientific Committee members. Those committees have the authority to make all corrections and abbreviations but not to change the content of the article.
- The authors have the all the scientific and legal responsibilities of the articles.
- The authors should obey the ethics of research and publication.
- The copyright of the article published in the Bulletin of Experimental Hygiene belongs to the Journal. Copyright fee is not paid to the authors.

CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

- Copyright transfer form is completed in full and signed by all authors according to the name order.
 - Author names are written clearly.
 - Affiliated institutions of the all authors are given on the title page by the number stated after the author's name.
 - The name, address, phone-fax numbers and mail address of the author responsible for correspondence are given.
 - Turkish, English titles and short title are written.
 - The number of words in Turkish and English abstracts (between 300-500) is checked.
 - Turkish and English keywords (according to MeSH) are given.
 - All abbreviations are reviewed and non-standard abbreviations are corrected
 - Original Latin names of microorganisms are written in italic.
 - Symbols are mentioned according to the units in the Syst me International (SI).
 - The article is written in passive mode and given one of the “past perfect, present perfect or past ” tenses.
 - Text is written in 12 pt Times New Roman characters and with double line spacing.
 - Text is written only on one side of the page and has 2.5 cm space at each side.
 - Tables and figures are given on each separate page according to the writing rules.
 - Photos are in JPEG format.
 - References are given at the end of the sentence in brackets and are listed in order of use in the text.
 - References are listed at the end of the article in the order given in the text.
 - References are reviewed, and the name of all authors, spelling and punctuation are controlled according the writing rules.
- Furthermore, please check.**
- “Ethics Committee Approval” is given.
 - Support to a study by a fund or organization is mentioned.
 - Congress / Symposium presentations and the type of presentation are stated.
 - Acknowledgement is given, if there is.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne
www.turkhijyen.org adresinden online olarak makale gönderilebilir.

Submissions can be made online at the address www.turkhijyen.org
to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi;

CABI Index		Ulrichsweb and Serials Solutions		ULRICHSWEB™ GLOBAL SERIALS DIRECTORY
Chemical Abstracts Service (CAS)		TURK MEDLINE		
DOAJ		Türkiye Atıf Dizini		
Index Copernicus		Genamics JournalSeek		
Google Scholar		NewJour		
Open J-Gate		TUBİTAK-ULAKBİM		
Academic Journals Database		BASE		
Scirus Scientific Database		Ovid LinkSolver		
Libsearch				

tarafından dizinlenmektedir.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (Turk Hij Den Biyol Derg) is indexed in CAB Abstracts, Index Copernicus, Google Scholar, DOAJ (Directory of Open Access Journals), Open J-Gate, CAS (Chemical Abstracts Service), Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Libsearch, BASE, Ovid LinkSolver, TUBİTAK-ULAKBİM, TÜRKİYE ATIF DİZİNİ and TURK-MEDLINE.

İLETİŞİM

CORRESPONDENCE

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Public Health Institution of Turkey
Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. Nu: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye/ANKARA

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 54 55

e-posta: turkhijyen@thsk.gov.tr

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

www.turkhijyen.org

İÇİNDEKİLER

Araştırma Makalesi

- 1. Karabük Demir Çelik Fabrikası etrafından toplanan beş biyomonitor liken türünün ağır metal akümüasyonu ve karşılaştırmalı analizi** 179 - 192
Demet CANSARAN-DUMAN, Sümer ARAS
- 2. Yatan hastaların idrar örneklerinden izole edilen Gram-negatif bakterilerin tür dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları** 193 - 200
Tuba DAL, Alicem TEKİN, Recep TEKİN, Özcan DEVECİ, Şükran CAN, Tuncer ÖZEKİNCİ, Saim DAYAN
- 3. Çoklu ilaç dirençli Salmonella suşlarının tanısı** 201 - 212
Burcu YENER, Nefise AKÇELİK, Pınar ŞANLIBABA, Mustafa AKÇELİK
- 4. Maternal kanda AFP, hCG ve ankonjuge östriol düzeylerinin gebelik komplikasyonları ile ilişkisi** 213 - 218
Fatih BAKIR, H. Tuğrul ÇELİK, Özhan ÖZDEMİR, M. Metin YILDIRIMKAYA
- 5. Kıl demeti dizaynı ve diş macununun diş fırçalarındaki mikrobiyal kontaminasyona etkisi** 219 - 224
Nursen TOPCUOĞLU, Oya BALKANLI, Dilek YAYLALI, Güven KÜLEKÇİ
- 6. Walker 256 tümörlü ratlarda Argininle takviye edilen diyetin hayatta kalmaya etkisi** 225 - 228
Maria Rita Carvalho Garbi NOVAES, Fabiani Lage Rodrigues BEAL, Roberto Cañete VILLAFRANCA

Olgu Sunumu

- 7. Bir olgu nedeniyle tüberküloz spondilodiskit** 229 - 234
Reyhan YİŞ, Hadiye DEMİRBAKAN, Nuran AKMİRZA-İNCİ, Erdal YAYLA

Derleme

- 8. Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları** 235 - 253
Rasim HAMUTOĞLU, Adnan Berk DİNÇSOY, Demet CANSARAN-DUMAN, Sümer ARAS

CONTENTS

Original Article

- 1. Heavy metal accumulation of five biomonitor lichen species in the vicinity of the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük, Turkey and their comparative analysis** 179 - 192
Demet CANSARAN-DUMAN, Sümer ARAS
- 2. The distribution according to the species of Gram-negative bacteria isolated from hospitalized patients's urine specimens and their antimicrobial susceptibility** 193 - 200
Tuba DAL, Alicem TEKİN, Recep TEKİN, Özcan DEVECİ, Şükran CAN, Tuncer ÖZEKİNCİ, Saim DAYAN
- 3. Identification of multi drug resistant Salmonella strains** 201 - 212
Burcu YENER, Nefise AKÇELİK, Pınar ŞANLIBABA, Mustafa AKÇELİK
- 4. The relationship between pregnancy complications and AFP, hCG and unconjugate estriol level in maternal serum** 213 - 218
Fatih BAKIR, H.Tuğrul ÇELİK, Özhan ÖZDEMİR, M.Metin YILDIRIMKAYA
- 5. The effects of the tuft design and toothpaste on the residual microbial contamination of toothbrushes** 219 - 224
Nursen TOPCUOĞLU, Oya BALKANLI, Dilek YAYLALI, Güven KÜLEKÇİ
- 6. Survival of rats with walker 256 tumor after oral supplementation of arginine in the diet** 225 - 228
Maria Rita Carvalho Garbi NOVAES, Fabiani Lage Rodrigues BEAL, Roberto Cañete VILLAFRANCA

Case Report

- 7. A case of tuberculous spondylodiscitis** 229 - 234
Reyhan YIŞ, Hadiye DEMİRBAKAN, Nuran AKMİRZA-İNCİ, Erdal YAYLA

Review

- 8. Biosorption, adsorption, phytoremediation methods and applications** 235 - 253
Rasim HAMUTOĞLU, Adnan Berk DİNÇSOY, Demet CANSARAN-DUMAN, Sümer ARAS

Karabük Demir Çelik Fabrikası etrafından toplanan beş biyomonitor liken türünün ağır metal akümülyasyonu ve karşılaştırmalı analizi

Heavy metal accumulation of five biomonitor lichen species in the vicinity of the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük, Turkey and their comparative analysis

Demet CANSARAN-DUMAN¹, Sümer ARAS²

ÖZET

Amaç: Beş biyomonitor liken türünün (*Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria*, *Usnea hirta*) ağır metal biriktirebilme yetisini incelemek amacıyla Karabük Demir Çelik fabrikası ile Yenice Ormanı arasındaki 10 istasyondan farklı beş liken türüne ait 10 örnek araştırılmıştır.

Yöntem: Beş biyomonitor liken örneğinin her biri Karabük Demir Çelik fabrikası ile Yenice Ormanı arasındaki alandan her beş km'de bir alınmıştır. Çalışılan beş farklı liken türüne ait 10 liken örneğinde Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (AAS) cihazı kullanılarak sekiz ağır metal; Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Zn analiz edilmiştir.

Bulgular: Karabük Demir Çelik Fabrikası etrafından toplanan beş biyomonitor liken örneğinde atmosferdeki iz elementlerin akümülyasyon kapasitesi karşılaştırılmıştır. İstasyon 1, 2, 7 ve 10 insan yoğunluğunun ve trafiğin fazla olduğu şehir merkezine en yakın olan yerdir. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile yapılan analiz sonuçlarına göre, Zn elementi için *P. furfuracea* liken türünde istasyon yedi (40,628 µg/g) ve 10 (53,802 µg/g)'da çalışılan diğer liken örneklerine göre daha fazla ağır metal

ABSTRACT

Objective: To investigate the suitability of five biomonitor lichen species (*Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* and *Usnea hirta*) that were collected from Yenice Forest to the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük, Turkey, from 10 sites.

Method: Each of the five biomonitor lichen species was collected from every 5 kms starting from Yenice forest to iron steel factory. Accumulation of eight heavy metals Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn in examined lichen species were analyzed by Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS).

Results: We have compared the capacity of five biomonitor lichen species to accumulate trace elements from the atmosphere which were collected from around the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük, Turkey. Sites 1, 2, 7 and 10 were in the central parts of the city where human activities and density of traffic are very intense. Analytical studies by AAS demonstrated that the heavy metal accumulation capacity of *P. furfuracea* was significantly higher than other examined lichen species at sites 7 (40.628 µg/g) and 10 (53.802 µg/g)

¹ Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, ANKARA

² Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji ABD, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 312 222 58 20-120

E-posta / E-mail : dcansaran@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 17.01.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 24.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.52714

Cansaran-Duman D, Aras S. Karabük Demir Çelik Fabrikası etrafından toplanan beş biyomonitor liken türünün ağır metal akümülyasyonu ve karşılaştırmalı analizi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(4): 179-92.

akümülasyonu olduğu gözlenmiştir. Sekizinci istasyonda *H. physodes* (4,56 µg/g) ve *E. prunastri* (4,65 µg/g) liken türlerinde Cr konsantrasyonu benzer miktarlarda tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları açığa çıkarmıştır ki; *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* ve *Usnea hirta* liken türleri incelenen tüm elementleri ciddi oranda biriktirme eğilimi gösterdiğini açığa çıkarmıştır. Bu çalışma ile seçilen liken türlerinin ağır metal biriktirebilmede ne kadar önemli oldukları gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Hava kirliliği, ağır metal akümülasyonu, liken

by considering Zn accumulation. At the site no 8, Cr concentrations of *H. physodes* (4.56 µg/g) and *E. prunastri* (4.65 µg/g) were observed at similar levels.

Conclusion: Our results revealed that, *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* and *Usnea hirta* lichen species showed severe accumulation of all elements. This study demonstrated the importance of heavy metal accumulation in the selected lichen species.

Key Words: Air pollution, heavy metal accumulation, lichen

INTRODUCTION

According to the Environmental Protection Agency (USA), air pollution is a mixture of solid particles and gases in the air. Car emissions, chemicals from factories, dust, pollen and mold spores may be suspended as particles in the air (1). Some air pollutants are poisonous and inhaling them can increase human health problems. Air pollution represents a serious threat to both the environment and living organisms. Millions tons of toxic pollutants are released into the air each year. The following activities are major reasons of air pollution; vehicles (cars, buses, trucks, etc.) and industrial sources (factories, refineries, power plants, etc.) (2). Coal is recognized as the primary source of energy in Turkey, and its utilization in power generation is emerging as the biggest environmental problem as it emits fly ash, acid precursors, green house gases, non-combustible hydrocarbons, heavy metals and particulates. These pollutants can be carried a long distance by wind and ultimately have a negative impact on both biotic and abiotic environments (3).

Monitoring air pollution is a complex process because of the high number of potentially dangerous

substances, the difficulty of estimating their synergistic or antagonistic effects, the large spatial and temporal variation of pollution phenomena, the high cost of recording instruments, and hence the low sampling density of a purely instrumental approach. For these reasons it is hard to establish a region-wide monitoring system to reveal environmental risk assessment levels. Increasing awareness of the potential hazards of large scale contamination of ecosystems by pollutants has highlighted the need for continuous monitoring of the levels of contaminants in the environment (4).

A large number of pollution studies are available in which lichens are used as bioindicators (5-7). Due to their peculiar anatomical, morphological and physiological characteristics lichens are one of the most valuable biomonitors of atmospheric pollution. They can be used as sensitive indicators to estimate the biological effects of pollutants by recording changes at the community and as accumulative monitors of persistent pollutants, which can be estimated by assaying their trace element contents (7). The epiphytic lichens have been used extensively

to monitor air quality around urban areas, industrial sites and to document spatial distribution and accumulation of air borne pollutants (8-10). Lichens are used as passive pollution monitors because they accumulate a variety of pollutants in their thalli at levels well above environmental concentrations and their own physiological needs. They lack a root system and therefore intercept only allogenic atmospheric matter included in wet precipitations, dry depositions and gaseous emissions (10). The use of lichens as biomonitors of geothermal air pollution was initiated by Bargagli-Petrucci who reported the absolute absence of lichens in the geothermal area of Italy around 5 km vicinity (11). A lot of passive as well as active (transplant) biomonitoring studies using lichen have been carried out in India by several studies in different climatic regions of the country against various pollution sources (12-19).

The suitability of various lichen species in monitoring heavy metal air pollution has become of special interest to determine which species is the

most suitable as a bimonitor of an environmental condition (20-21). Recently, many papers have been published on heavy metal monitoring using lichens in Turkey (22-31).

The main objective of the present study is to determine the most suitable lichen species among *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf, *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach. and *Usnea hirta* (L.) Weber ex F.H.Wigg. species for different air pollution sources by comparing heavy metal accumulations from Karabük Iron and Steel Factory in Karabük, Turkey.

MATERIALS and METHODS

Study area

The study area is located between 44.6218° N, and 45.7356° E in the western part of the Black Sea Region, and belongs to Yenice district in the province of Karabük (Fig. 1). From Yenice Forest to the Karabük Iron and Steel Factory, ten samples (site no 1-10)



Figure 1. Regional map of the study area.

each of *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* and *Usnea hirta* were collected from every 5 km. Control sample (site no 11) was taken from the south of Karabük, 30 km away from any source of pollution. Yenice Forest area was specifically chosen because of the species abundance and therefore the collection of samples caused a very low impact on the natural population density.

Lichen sampling and preparation

Lichen sampling and preparations were conducted according to the protocol given by 32. *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* and *Usnea hirta* samples were collected from Yenice Forests near the village of Yenice in Karabük province and from around the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük (44.6218° N and 45.7356° E, Anatolia, Turkey, leg.-det. D. Cansaran-Duman), approximately 400 m above sea level. Lichen samples were collected in July 2006 and all samples are stored at University of Ankara Herbarium.

All five biomonitor lichen species (*Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* and *Usnea hirta*) were air-dried and carefully cleaned with plastic tweezers under a binocular microscope (Olympus) to remove dead and as much extraneous materials (adhering bark, mosses, soil and rock particles, etc.) as possible. For the analysis, only the outermost parts of the thallus were used. These were pulverized and homogenized with an agate mortar and pestle. Aliquots of about 500 mg of lichen were kept in the laboratory for analyzing metals. The solutions and standards were prepared using double-deionized water. All the reagents used were of analytical grade (Merck).

Determination of heavy metal concentration

Determination of element content was performed

according to the protocol defined by Cansaran-Duman et al., 2009. Analysis were conducted after extraction with a mixture of 2.0 ml 63% HNO₃, and 1.0 ml H₂O₂ was added on 50 mg lichen sample and melted in teflon-coated pots in a milestone-mark microwave oven. 5.0 ml deionized water were added to the melted solution and distilled through blue band paper. It was completed with deionized water until the final volume was 10.0 ml.

Atomic absorption spectrophotometry (AAS) was used for analyzing heavy metals. Calibration curves of Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn metals were obtained with samples of various concentration (0.25; 0.50; 1.00; 2.00; 4.00 ppm) using linear regression analysis. Calibration curves of Cd and Cr metals were obtained with samples of various concentration (10; 25; 40; 60; 80 ppm) using linear regression analyses. Heavy metal concentration in these materials was determined using FAAS (flame atomic absorption spectroscopy- Instrument PM Avarta model Atomic absorption spectrometry) and ETAAS (electro thermal atomic absorption spectroscopy).

Statistical analysis

Statistical analyses were based on the mean value of determinations performed on each sampling point. The samples were studied three replicates. Results were given standart deviation.

RESULTS

The trace element concentrations measured in the lichen samples are given in Table 1. Accumulation of eight heavy metals Zinc (Zn), Copper (Cu), Manganase (Mn), Iron (Fe), Lead (Pb), Nickel (Ni), Chromium (Cr) and Cadmium (Cd) in thalli of five biomonitor species were evaluated by using AAS. The diversity of examined lichen species (*Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* and *Usnea hirta*) in 10 monitoring sites around iron steel factory is presented in Figure 2.

Table 1. Heavy metal concentration of *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *R. pollinaria* and *Usnea hirta* (4, 22).

HM	LS no	Control	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 6	Site 7	Site 8	Site 9	Site 10
Zn	1	28.640 ±0.174	26.28 ±0.158	25.680 ±0.316	24.410 ±0.095	30.162 ±3.455	25.610 ±0.063	28.078 ±0.040	40.628 ±0.561	32.360 ±0.158	31.362 ±0.119	53.802 ±0.340
	2	12.543 ±0.332	46.698 ±0.058	43.359 ±0.772	24.139 ±0.826	16.532 ±0.058	21.895 ±0.261	17.891 ±0.029	16.215 ±0.161	19.055 ±0.008	17.860 ±0.555	15.526 ±0.316
	3	18.375 ±0.675	28.432 ±0.158	26.168 ±0.192	28.102 ±0.420	33.155 ±0.271	30.151 ±0.105	29.404 ±0.121	29.975 ±0.844	30.255 ±0.045	22.366 ±0.012	28.896 ±0.327
	4	10.710 ±0.482	21.126 ±0.049	10.938 ±0.111	19.008 ±0.188	18.807 ±0.624	21.427 ±0.163	15.764 ±0.108	21.258 ±0.298	14.986 ±2.041	20.677 ±0.480	18.848 ±0.185
	5	5.919 ±0.039	10.483 ±0.025	11.885 ±0.209	9.648 ±0.077	14.846 ±0.068	16.215 ±0.047	16.658 ±0.229	24.092 ±0.012	20.467 ±0.064	19.375 ±0.084	13.195 ±0.011
Cu	1	1.810 ±0.010	3.090 ±0.111	2.050 ±0.100	1.940 ±0.032	2.770 ±0.047	3.350 ±0.190	3.300 ±0.016	2.990 ±0.551	4.450 ±0.047	3.550 ±0.016	4.560 ±0.047
	2	1.469 ±0.032	3.673 ±0.007	3.002 ±0.025	1.903 ±0.190	1.549 ±0.007	1.724 ±0.082	1.558 ±0.021	2.022 ±0.019	2.693 ±0.014	1.601 ±0.009	1.551 ±0.015
	3	1.590 ±0.022	3.075 ±0.292	2.482 ±0.054	2.893 ±0.047	2.966 ±0.038	2.769 ±0.029	2.964 ±0.050	2.895 ±0.162	3.948 ±0.051	2.792 ±0.058	2.449 ±0.029
	4	1.594 ±0.022	1.939 ±0.044	1.364 ±0.133	1.669 ±0.016	1.776 ±0.007	2.123 ±0.064	1.863 ±0.031	3.116 ±0.033	1.780 ±0.005	1.676 ±0.024	1.983 ±0.113
	5	0.378 ±0.006	1.489 ±0.022	0.905 ±0.044	1.226 ±0.003	1.369 ±0.022	1.273 ±0.007	1.353 ±0.008	1.384 ±0.042	2.129 ±0.010	1.800 ±0.055	1.435 ±0.013
Mn	1	42.250 ±0.965	45.496 ±3.197	32.500 ±0.174	41.730 ±2.103	56.290 ±0.142	119.860 ±0.380	92.950 ±0.016	71.890 ±1.059	112.970 ±1.091	31.720 ±2.087	54.080 ±0.190
	2	28.830 ±0.172	34.425 ±5.665	44.185 ±0.641	32.201 ±0.706	30.428 ±2.646	77.026 ±1.209	73.773 ±2.687	57.955 ±1.699	82.773 ±0.685	26.333 ±1.409	54.663 ±2.812
	3	44.805 ±0.134	51.511 ±1.870	195.880 ±7.041	98.433 ±3.383	202.73 ±0.606	183.029 ±5.389	168.602 ±1.289	110.977 ±6.409	161.922 ±3.630	106.100 ±1.243	154.840 ±0.157
	4	19.323 ±0.970	24.267 ±2.272	66.608 ±0.535	195.926 ±1.550	150.30 ±1.851	45.561 ±0.156	124.556 ±0.165	92.839 ±0.331	37.934 ±0.998	22.954 ±0.242	92.311 ±1.196
	5	8.838 ±0.013	22.283 ±0.233	31.904 ±0.849	14.215 ±1.060	20.779 ±1.403	21.247 ±0.147	27.662 ±1.061	16.147 ±0.472	73.266 ±0.272	21.578 ±0.008	11.729 ±0.577
Fe	1	918.452 ±7.47	2379.00 ±44.19	1273.03 ±17.0	356.460 ±7.906	965.25 ±15.8	766.350 ±15.8	199.030 ±3.162	1558.96 ±46.83	3016.00 ±13.83	1560.13 ±6.665	1185.60 ±39.84
	2	460.228 ±0.30	943.032 ±5.238	443.061 ±0.41	1023.90 ±3.069	540.79 ±6.83	419.541 ±11.8	775.832 ±8.405	1289.00 ±11.76	2187.20 ±71.98	786.969 ±0.638	827.505 ±32.554
	3	1337.50 ±50.	1258.60 ±15.17	1371.40 ±5.7	1679.00 ±305.5	272.96 ±24.9	1287.70 ±4.2	1505.90 ±31.82	2576.40 ±15.66	3173.40 ±18.38	2587.70 ±33.84	1823.70 ±16.46
	4	495.356 ±1.76	552.004 ±7.740	916.673 ±43.417	574.742 ±1.709	649.22 ±4.30	653.943 ±2.96	583.804 ±14.403	1568.40 ±17.33	582.886 ±0.300	541.560 ±17.666	589.875 ±0.630
	5	515.734 ±38.727	999.509 ±19.349	487.966 ±5.369	703.250 ±0.537	652.42 ±4.30	653.943 ±10.171	463.078 ±10.127	592.600 ±13.934	1932.80 ±2.610	1148.70 ±16.867	560.891 ±18.523

1. *P. furfuracea*, 2. *E. prunastri*, 3. *H. physodes*, 4. *U. hirta*, 5. *R. pollinaria*, HM: Heavy metal, LS: Lichen species

Table 1. Heavy metal concentration of *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *R. pollinaria* and *Usnea hirta* (4, 22).

HM	LS no	Control	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 6	Site 7	Site 8	Site 9	Site 10
Pb	1	4.000	7.200	4.900	5.100	6.000	4.130	4.130	3.150	4.700	4.600	9.750
		±0.035	±0.158	±0.158	±0.152	±0.073	±0.095	±0.095	±0.080	±0.160	±0.158	±0.128
	2	1.315	5.171	0.316	1.037	0.958	1.011	1.011	3.087	1.606	2.863	1.030
		±0.292	±0.236	±0.005	±0.033	±0.092	±0.097	±0.097	±0.886	±0.473	±0.578	±0.264
	3	1.76	1.80	4.08	3.38	3.39	2.42	2.42	2.68	3.37	4.16	2.94
		±0.10	±0.16	±0.06	±0.11	±0.06	±0.15	±0.15	±0.25	±0.27	±0.60	±0.22
	4	1.323	8.780	1.397	7.675	2.542	6.234	6.234	2.248	5.780	2.042	4.666
		±0.006	±0.105	±0.028	±0.089	±0.015	±0.178	±0.178	±0.061	±0.159	±0.054	±0.009
	5	0.833	1.263	1.038	1.119	0.881	0.817	0.817	0.975	1.733	1.167	0.656
		±0.006	±0.011	±0.006	±0.009	±0.008	±0.009	±0.009	±0.006	±0.008	±0.009	±0.008
Ni	1	2.100	5.170	2.090	1.490	2.350	1.974	1.450	1.240	2.490	1.880	4.190
		±0.100	±0.079	±0.063	±0.063	±0.158	±0.052	±0.079	±0.159	±0.063	±0.063	±0.079
	2	0.594	7.819	2.665	4.627	1.862	1.970	0.950	1.830	2.290	2.426	2.312
		±0.037	±0.201	±0.010	±0.082	±0.073	±0.071	±0.137	±0.485	±0.445	±0.375	±0.209
	3	4.83	6.07	4.95	10.81	3.92	3.71	4.34	5.64	6.27	4.91	3.74
		±0.17	±0.11	±0.10	±0.29	±0.15	±0.10	±0.19	±0.29	±0.15	±0.19	±0.34
	4	1.162	6.169	2.464	1.566	5.250	1.695	1.602	1.919	4.516	8.668	3.728
		±0.011	±0.056	±0.046	±0.065	±0.026	±0.220	±0.093	±0.056	±0.210	±0.053	±0.08
	5	0.010	2.265	3.039	1.474	0.260	0.356	0.568	2.169	0.561	0.101	2.888
		±0.001	±0.006	±0.009	±0.007	±0.013	±0.011	±0.009	±0.006	±0.011	±0.009	±0.006
Cr	1	2.280	4.540	2.950	2.730	3.242	2.940	2.730	2.620	4.100	3.440	3.390
		±0.007	±0.047	±0.032	±0.031	±0.024	±0.016	±0.007	±0.032	±0.063	±0.063	±0.079
	2	1.694	2.719	2.718	3.364	1.801	1.821	2.329	5.752	4.650	2.851	2.395
		±0.029	±0.017	±0.029	±0.011	±0.007	±0.017	±0.013	±0.012	±0.091	±0.096	±0.011
	3	2.37	2.86	3.07	3.26	3.79	2.60	2.95	3.86	4.56	3.58	3.31
		±0.02	±0.04	±0.01	±0.04	±0.03	±0.02	±0.02	±0.08	±0.04	±0.02	±0.04
	4	1.968	2.050	1.970	2.067	2.019	6.751	4.189	3.154	2.178	2.168	2.066
		±0.010	±0.015	±0.023	±0.006	±0.008	±0.057	±0.103	±0.048	±0.011	±0.014	±0.005
	5	1.748	1.999	1.740	1.733	1.706	1.751	1.757	1.727	2.728	2.203	1.672
		±0.010	±0.030	±0.023	±0.011	±0.042	±0.059	±0.011	±0.010	±0.068	±0.043	±0.010
Cd	1	0.630	0.725	0.690	0.490	0.706	0.618	0.632	0.668	0.671	0.720	0.770
		±0.007	±0.002	±0.008	±0.019	±0.007	±0.005	±0.004	±0.002	±0.003	±0.006	±0.007
	2	0.306	0.620	0.644	0.604	0.682	0.624	0.505	0.630	0.696	0.560	0.609
		±0.006	±0.001	±0.002	±0.004	±0.001	±0.006	±0.003	±0.003	±0.003	±0.018	±0.003
	3	0.733	0.854	0.616	0.769	0.692	0.742	0.773	0.669	0.843	0.626	0.875
		±0.078	±0.002	±0.004	±0.002	±0.013	±0.008	±0.007	±0.005	±0.010	±0.002	±0.002
	4	0.171	0.472	0.494	0.526	0.612	0.386	0.535	0.492	0.303	0.500	0.435
		±0.015	±0.026	±0.034	±0.007	±0.007	±0.008	±0.010	±0.012	±0.018	±0.031	±0.052
	5	0.062	0.262	0.048	0.020	0.390	0.243	0.265	0.222	0.403	0.237	0.207
		±0.015	±0.026	±0.001	±0.001	±0.028	±0.004	±0.010	±0.012	±0.018	±0.008	±0.009

1. *P. furfuracea*, 2. *E. prunastri*, 3. *H. physodes*, 4. *U. hirta*, 5. *R. pollinaria*, HM: Heavy metal, LS: Lichen species

Comparative heavy metal analyses of five biomonitor lichen species, maximum Zn concentration (53.80 µg/g) was reported in *P. furfuracea* in site no 10 where it takes place in the vicinity of iron steel factory (Table 1). High levels of Pb (9.75 µg/g) and Zn (53.80 µg/g) were measured in *P. furfuracea* in site no 10 (Table 1). On the other hand, minimum accumulation of Zn (10.48 µg/g) was reported for *R. pollinaria* in site no 1 and lower values of Pb (0.31 µg/g) was observed in *E. prunastri* in site no 2 (Fig. 2). The reason for higher concentration of Pb and Zn around the iron-steel factory may be due to heavy vehicular activity and other anthropogenic activities. Apart from engine emissions, Ni, Pb, Zn and Cr enter the surrounding environment due to abrasion of metallic vehicle parts. Pb mainly originates from automobile exhausts whereas Zn may be emitted by automobile tires and brake pads (33, 34). Various interactions are known to occur when plants are exposed to unfavorable concentrations of more than one trace metal. Such combination effects were categorized by Berry and Wallace as independent, additive, synergistic or antagonistic (34).

Among all the metals Ni was found to have the lowest concentration in all sites. The maximum level of Ni (10.81 µg/g) was reported in site no 3 in *H. physodes* but sites 4 (0.26 µg/g) and 9 (0.10 µg/g) had the minimum level in *R. pollinaria* (Fig 2). *H. physodes* exposed at site no 3 (10.81 µg/g) had significantly higher content of Ni, but other biomonitor lichen species are in the similar range for all other sites (Fig 2). Merely, Ni content was higher in *U. hirta* species from site no 9 (8.66 µg/g) than the other examined lichen species (Table 1). The highest value of Cu (4.56 µg/g) was measured in *P. furfuracea* thalli from site no 10 (Table 1). Wind direction may be a probable reason for dumping of this metal from outside the source. Minimum concentration of the Cu (0.90 µg/g) was reported in *R. pollinaria* in site no 2 (Table 1). Ni and Cu are both large particle metals

emitted in the immediate vicinity of the station and are incapable of long-range dispersion (35). Both of the metals; Ni and Cu were accumulated to a maximum level at sites 3 and 10 in all examined lichen species (Fig. 2).

According to Fernandez et al., Cr and Fe are normally associated with the coarsest fraction of fly ash, which tends to fallout close to the source (36). In the present study the collected samples from every 5 km around iron steel factory the show higher accumulation of Cr. High Cr concentrations in *U. hirta* (6.75 µg/g) at site no 5 was recorded, although it was not found high at the samples from other sites (Table 1). But interestingly at the site no 8, Cr concentrations of *H. physodes* (4.56 µg/g) and *E. prunastri* (4.65 µg/g) revealed similar levels (Fig. 2). Fe metal at site no 8 in *H. physodes* (3173.40 µg/g) had a similar level with *P. furfuracea* species (3016.00 µg/g) from the same site (Fig. 2). The highest Fe concentration was found in *H. physodes* (3173.40 µg/g) at site no 8, while Fe concentration of *U. hirta* (582.88 µg/g) and *R. pollinaria* (592.60 µg/g) were minimum at the same site (Fig 2).

The order of magnitude of Mn accumulation at 2nd, 4th and 10th sites were; *H. physodes* > *U. hirta* > *P. furfuracea* > *E. prunastri* > *R. pollinaria*. Although *U. hirta* showed the highest levels of Mn (195.92 µg/g) at site no 3, *H. physodes* was accumulated higher amount of metal than the examined lichen species at sites 2 (195.88 µg/g) and 4 (202.73 µg/g) (Fig 2). Mn could be tracer of both eolic dust particles as well as vehicular traffic, since this element has recently been used as a substitute for Pb in additives (37). The mean Cd concentration at sites 1 (0.85 µg/g), 8 (0.84 µg/g) and 10 (0.87 µg/g) were found to have the maximum level in *H. physodes* (Table 1).

In the present study *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *R. pollinaria* and *Usnea hirta* employed, indicated that following exposure, accumulation or severe accumulation of

all elements have occurred. This study demonstrated the importance of heavy metal accumulation on the selected lichen species. Heavy metals had highest concentration in the samples from around the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük.

DISCUSSION

Recent literature indicates that lichen biomonitoring is often used as receptor based method in air quality studies. It can be useful in risk assessment for human health and it can be a powerful tool for administrators involved in environmental planning.

In the present study, heavy metal concentration results of five biomonitor species collected from around an iron steel factory were reported. According to results especially, *P. furfuracea* accumulated significantly higher levels of heavy metal than other examined lichen species at sites 7 and 10 (Fig. 2). Sites 1, 2, 7 and 10 were the central part of the city where human activities and density of traffic are very intense (Fig. 1).

According to Garty et al., the pattern of increase near the source of metal/ash content and of decrease away from the source, is relevant to the particulate nature of metals accumulated in lichen thalli (8).

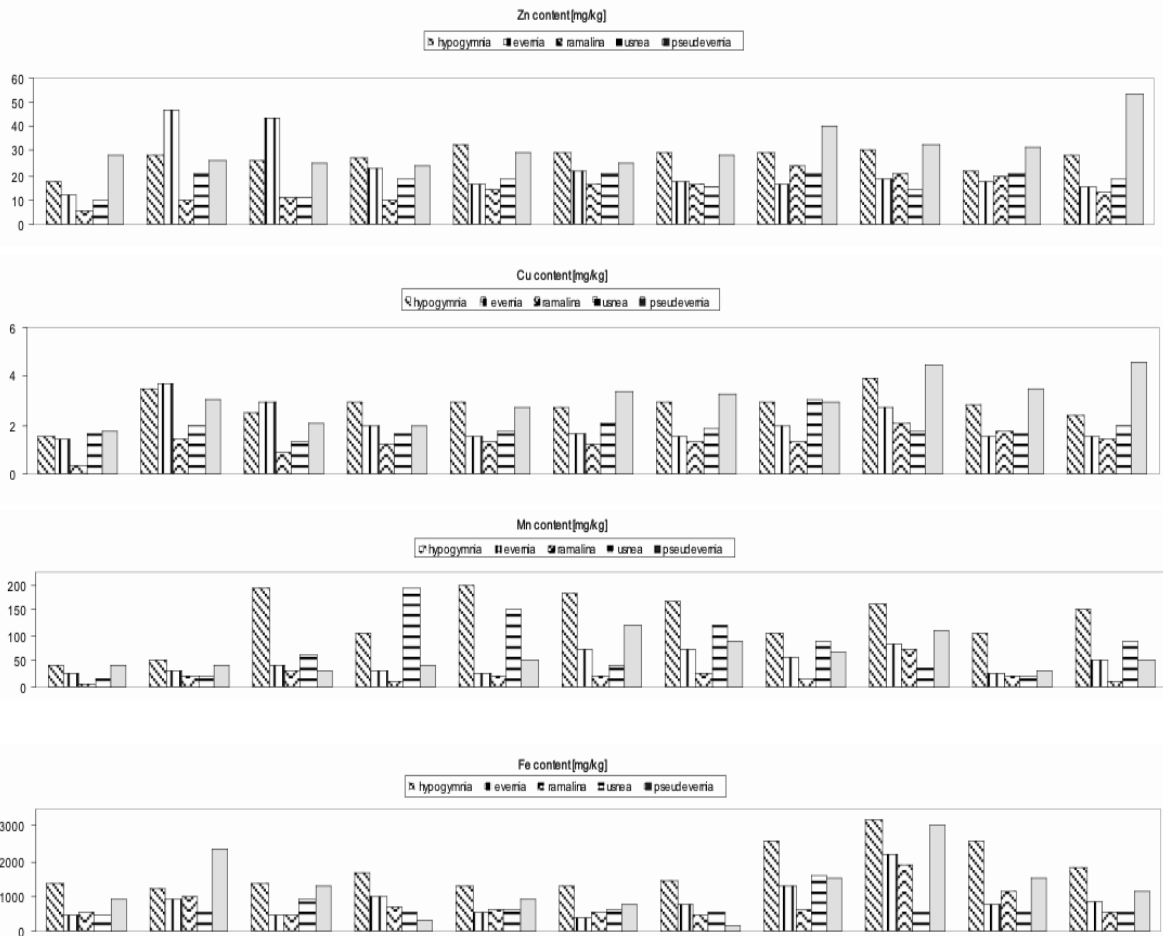


Figure 2. Comparison of *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* and *Usnea hirta* heavy metal accumulation.



Other studies detected a decrease of metal content at a distance of few kilometers from the source of pollution or even at a greater distance from emission points (38-40).

Cadmium has known to be associated with catalytic converters and auto exhaust (41). In the study by Uluözülü et al., the lowest and highest Cd levels in lichen species were 0.10 µg/g in *Peltigera membranacea* and 0.64 µg/g in *Xanthoparmelia conspersa* (29). Cadmium contents of other examined lichen samples have been reported to be 0.24-1.4 µg/g, 0.191 µg/g, 0.26-2.08 µg/g, 0.047-0.162 µg/g, 0.97-1.26 µg/g (42-46). Results indicate that, the

maximum level of Cd (0.875 µg/g) was at site no 10 in *Hypogymnia physodes*.

Lead concentration of *P. furfuracea* (9.75 µg/g) was higher than other lichen species in site no 10. For *U. hirta* the highest concentration of Pb (8.78 µg/g) was observed at site no 1 which can be related to a selective cationic uptake as was informed (Fig 2). This finding might represent a greater affinity between Pb cations and the lichen cell wall exchange sites that are probably strongly attached to binding sites. On the other hand, lead contents in lichen samples have been reported to be 27.3-50.8 µg/g, 4.9-19.2 µg/g, 15.9 µg/g, 1.06-4.29 µg/g, 4.6-12.5 µg/g, 78-177

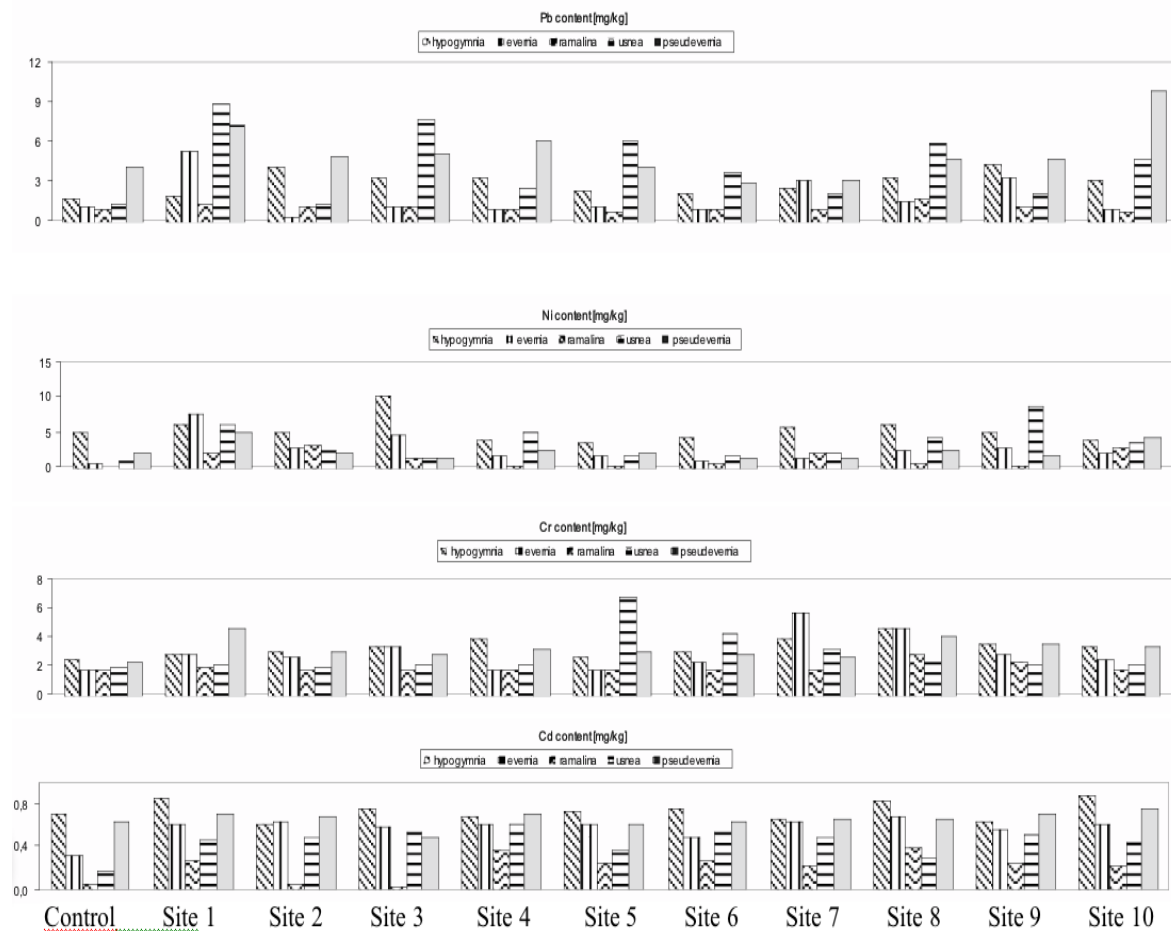


Figure 2. Comparison of *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina pollinaria* and *Usnea hirta* heavy metal accumulation.

µg/g (43-48). The main source of lead from traffic is probably caused by automobile emissions. According to the Divrikli et al. about 75 % of the lead added to petrol is emitted through the exhaust and dispersed as an aerosol to the atmosphere (49). The lead contents in environmental samples from heavy traffic may be due to the exhaust of old motor vehicles because of the usage of leaded petrol in automobiles in Turkey. Generally, lead concentrations are higher in lichen samples close to the roadside (29). Our lead values in sites 1 and 10 were similar to previous studies conducted by other researchers (29, 49).

The lowest and highest copper contents in lichen species were 0.90 µg/g in *R. pollinaria* and 4.56 µg/g *P. furfuracea*, respectively. Cu contents in lichen samples in East Black Sea Region, Turkey have been reported to be 7.19 µg/g and 22.4 µg/g (29). Copper from traffic comes from corrosion of metallic parts of cars (29). According to the heavy metal results in our study, copper values in five biomonitor lichen species are in agreement with the reported values in literature.

In the current study, zinc concentration was measured as 53.80 µg/g in *P. furfuracea* at site no 10 which is located at close vicinity of the iron and steel factory. Zn contents in lichen samples have been reported to be 6.48-36.9 µg/g, 35-204 µg/g, 37-101 µg/g, and 23.7-76.1 µg/g in another study (42, 44, 45, 48). Results obtained in this study were similar to the results of other studies (42).

Iron contents in lichen samples have been reported to be 54.3-598.4 µg/g, 75.1-192.1 µg/g, 182-737 µg/g, 1800 µg/g, 1282-23035 µg/g, and 676-1220 µg/g (42-48). Fe concentrations of five biomonitor lichen species were higher than the previously reported values (Table 1).

Chromium is an essential nutrient for plant and animal metabolism. At the same time, chromium is a major water pollutant, usually as a result of some industrial pollution in tanning factories, steel works,

industrial electroplating, wood preservation, and artificial fertilizers. At high levels it can cause several disorders, including lung cancer (29). Chromium contents in lichen samples have been reported to be 2.62-6.69 µg/g, 111-244 µg/g, 3.6 µg/g, 1.6-39.3 µg/g, 1.6-4.7 µg/g (42-44, 46, 48). The highest concentrations of Cr in *U. hirta* (6.75 µg/g) was measured at site no 5.

Nickel contents in lichen samples have been reported to be 2.6-11.4 µg/g, 1.1-1.8 µg/g, 0.83-10.20 µg/g (42, 45, 50). The maximum level of Ni (10.81 µg/g) was reported at site no 3 in *H. physodes*.

Pignata et al. and Wannaz et al. demonstrated that Zn was related to urban and industrial areas and Mn to agricultural activity (51, 52). High Zn content in thallus is due to motor vehicle traffic and also industrial and agricultural activities (53, 54).

Aslan et al. reported higher concentrations of Ca, Ti, Fe and Ba elements in *H. physodes* in Ordu province (26). The higher metal concentrations in *H. physodes* may be the result of a larger intercellular space in the medulla and cortex in this species (26).

Gailey and Lloyd measured the heavy metal content in *Lecanora conizaeoides* collected from Armadale (Central Scotland) and detected Zn in the range of 50-641 µg/g, depending on the distance and wind direction from a steel foundry (55). The authors found that only Fe and Zn were detected in the lichens collected from the peripheral sites of the town. Authors emphasized that the steel foundry is the main source of metal pollution in the town (55).

Several researches have evaluated bioaccumulation of heavy metals in different lichen species (20, 21, 56-58). Results are different because responses differ among species, threats differ among metals and environmental influences. Bergamaschi et al. measured twenty-nine elements (Al, As, Br, Ca, Cd, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Hg, I, K, La, Mg, Mn, Ni, Pb, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Th, Ti, V and Zn) in *H. physodes*, *P. furfuracea*, *U. hirta* and

P. sulcata in Italy (21). Bergamaschi et al. found that, in general elements did not exhibit well defined trends, but rather showed fluctuations, and indicated that *H. physodes*, *P. furfuracea*, *U. hirta* have a similar accumulation capacity, while that of *Parmelia sulcata* is lower.

In our study, generally *P. furfuracea* as a passive biomonitor in an iron steel factory in the province of Karabük showed higher concentrations than other examined lichen species. According to our observations, accumulation capacities of heavy metal of *P. furfuracea* have comparable to *H. physodes* lichen species. Several studies revealed that lichens may selectively accumulate extracellular elements and metabolize or eliminate those elements that enter the cell wall (39, 40). Aslan et al. mentioned the heavy metal accumulation of *P. furfuracea* species from around the Karabük Iron and Steel Factory, Karabük (22). Results obtained in Zschau et al. suggest that lichen species can be successfully used to monitor air pollution (41). However, several other factors should be considered before taking a decision on the preferred biomonitor species, such as background elemental

concentration, selective uptake or detoxificant mechanisms.

Finally, in this article we have compared the capacity of five biomonitor lichen species to accumulate trace elements from the atmosphere around the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük, Turkey. This study demonstrated the importance of heavy metal accumulation in the selected lichen species. Results revealed that heavy metal accumulation in five of the biomonitor species was the highest around the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük (Sites 1, 7, 10). According to the results, higher heavy metal concentrations were found at the sites closer to the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük, among the five biomonitor species (Sites 1, 7, 10). When all elements were considered, *P. furfuracea* species showed higher heavy metal concentrations than *U. hirta*. *P. furfuracea* and *H. physodes* lichen species were close quarters to heavy metal accumulation in the iron-steel factory (Fig. 2). Data obtained indicate that particularly *P. furfuracea* and *H. physodes* are the suitable lichen species for the detection of air quality. This research confirms the idea that lichen species could be successfully used to monitor air pollution.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Ankara University, Management of Scientific Research Projects with no. 2003-0705080. The authors are thankful to Prof.Dr. Ender YURDAKULOL and Prof.Dr. Orhan ATAKOL for their support in every aspect of the study.

REFERENCES

1. Forman-Richard TT, Alexander LE. Roads and their major ecological effects. *Annu Rev Ecol S*, 1998; 29: 207-31.
2. Wolterbeek B. Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives. *Environ Pollut*, 2002; 120: 11-21.
3. Çiçek A, Koparal AS, Çatak S, Uğur S. The level of some heavy metals and nutritional elements in the samples from soils and trace levels growing in the vicinity of Seyitomer Thermal Power Plant in Kutahya (Turkey). In: Topcu S, et al., eds. *Air Quality Management at Urban, Regional and Global Scales*, Istanbul, Turkey, 2001: 157-62.
4. Aras S, Cansaran-Duman D, Kanlıtepe Ç, Başaran E. Comparative analysis of bioindicator and genotoxicity indicator capacity of lichens exposed to air pollution. In: Moldoveanu AM, ed. *Air pollution new developments*, InTech, Romania, Moldoveanu AM, 4-9, 2011: 205-26.
5. Conti ME, Cecchetti G. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment-a review. *Environ Pollut*, 2001; 114: 471-92.
6. Kircher G, Daillant Q. The potential of lichens as long term bioindicators of natural and artificial radionuclides. *Environ Pollut*, 2002; 120: 145-50.
7. Pirintsos SA, Loppi S. Biomonitoring atmospheric pollution: the challenge of times in environmental policy on air quality. *Environ Pollut*, 2008;151: 269-71.
8. Garty J. Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: theory and application, *Crit Rev Plant Sci*, 2001; 20-4: 309-71.
9. Carignan J, Simonetti A, Garipey C. Dispersal of atmospheric lead in North eastern North America as recorded by epiphytic lichens. *Atmos Environ*, 2002; 36: 3759-66.
10. Purvis OW, Chimonides PJ, Jones GC, Mikhailova IN, Sipro B, Weiss DJ, Williamson B.J. Lichen biomonitoring near Karabash smelter town, Ural Mountains, Russia, one of the most polluted areas in world. *Proc R Soc Lond*, 2004; 271: 221-26
11. Bargagli-Pertrucci G. Studi sulla flora microscopica della regione boracifera dellaToscana. La vegetazione cirittogamica nella regione boracifera. *Giorn Bot Ital*, 1915; 22: 409-11.
12. Upreti DK, Pandey V. Determination of heavy metals in lichens growing on different ecological habitats in Schirmacher Oasis, East Antarctica. *Spectros Lett*, 2000; 33-3: 435-44.
13. Pandey V, Upreti DK, Pathak R, Pal A. Heavy metal accumulation in lichens from the Hetauda Industrial area Narayani zone, Mahwanpur district Nepal. *Environ Monit Assess*, 2002; 73: 221-28.
14. Bajpai R, Upreti DK, Mishra SK. Pollution monitoring with the help of lichen transplant technique (LTT) at some residential sites of Lucknow. *J Environ Biol*, 2004; 25-2: 191-95.
15. Saxena S, Upreti DK, Sharma N. Heavy metal accumulation in lichens growing in north side of Lucknow city, India. *J Environ Biol*, 2007; 28-1: 49-51.
16. Shukla V, Upreti DK. Physiological response of lichen *P. hispidula* (Ach.) Essl. to the urban environment of Pauri and Srinagar (Garhwal), Himalaya. *Environ Pollut*, 2007; 150-3: 295-99.
17. Shukla V, Upreti DK. Effect of metallic pollutions on the physiology of lichen, *P. subcinerea* Stirton in Garhwal Himalayas. *Environ Monit Assess*, 2008; 141: 237-43.
18. Bajpai R, Upreti DK, Dwivedi SK. Arsenic accumulation in lichens of Mandav monuments, Dhar district, Madhya Pradesh. *Environ Monit Assess*, 2009; 159: 437-42.
19. Bajpai R, Upreti DK, Dwivedi SK. Passive monitoring of atmospheric heavy metals in a historical city of central India by *Lepraria lobificans* Nyl. *Environ Monit Assess*, 2010; 166-1/4: 477-84.
20. Cercasov V, Pantelica V, Sa la gean M, Caniglia G, Scarlat A. Comparative study of the suitability of three lichen species to trace-element air monitoring. *Environ Pollut*, 2002; 119: 129-39.

21. Bergamaschi L, Rizzio E, Giaveri G, Loppi S, Gallorini M. Comparison between the accumulation capacity of four lichen species transplanted to a urban site. *Environ Pollut*, 2007; 148: 468-76.
22. Aslan A, Çiçek A, Yazici K, Karagöz Y, Turan M, Akkuş F et al. The assessment of lichens as bioindicator of heavy metal pollution from motor vehicles activities. *African J Agri Res*, 2011; 6-7: 1698-1706.
23. Aslan A, Apaydin G, Yazici K, Cengiz E, Atlıkçı V, Tıraşoğlu E. Analysis of trace element concentrations of some lichens of Turkey. *Asi J Chem*, 2010; 22: 389-400.
24. Çiçek A, Koparal A, Aslan A, Yazıcı K. Accumulation of heavy metals from motor vehicles in transplanted lichens in an urban area. *Comm Soil Sci Pl Anal*, 2008; 39: 168-76.
25. Yazıcı K, Aslan A. Distribution of epiphytic lichens and air pollution in the city of Trabzon, Turkey. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2006; 77-6: 838-45.
26. Aslan A, Budak G, Tıraşoğlu E, Karabulut A. Determination of elements in some lichens growing in Giresun and Ordu province (Turkey) using energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. *J Quan Spect Rad Tran*, 2006; 97-1: 10-9.
27. Aslan A, Budak G, Karabulut A. The amounts Fe, Ba, Sr, K, Ca and Ti in some lichens growing in Erzurum province (Turkey). *J Quan Spect Rad Tran*, 2004; 88-4: 423-31.
28. Aslan A, Budak G, Tirasoglu E. Analysis of elements in some lichens by radioisotope X-ray fluorescence spectrometry. *Fresenius Environ Bull*, 2004; 13-8: 740-7.
29. Uluözlü ÖD, Kınalıoğlu K, Tüzen M, Soylak M. Trace metal levels in lichen samples from roadsides in East Black Sea Region, Turkey. *Biomed Environ Sci*, 2007; 20: 203-7.
30. Kınalıoğlu K, Bayrak Özbucak T, Kutbay HG, Hüseyinova R, Bilgin A, Demirayak A. Biomonitoring of trace elements with lichens in Samsun City, Turkey. *Ekoloji*, 2010; 19-75: 64-70.
31. Öztetik E, Çiçek A. Effects of urban air pollutants on elemental accumulation and identification of oxidative stress biomarkers in the transplanted lichen *Pseudevernia furfuracea*. *Environ Toxicol Chem*, 2011; 30-7: 1629-36.
32. Cansaran-Duman D, Atakol O, Atasoy I, Kahya D, Aras S, Beyaztaş T. Heavy metal accumulation in *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf from the Karabük Iron-steel Factory in Karabük, Turkey. *Z Naturforsch C*, 2009; 9/10-64c: 717-23.
33. Ward NI. Multi element contamination of British motor way environments. In: Vernet JP, eds. *Heavy Metals in the Environment*. International Conference. Geneva, CEP, Edinburgh, 279-282. 1989.
34. Berry WL, Wallace A. Toxicity: The concept and relationship to the close response curve. *J Plant Nutr*, 1981; 3: 13-9.
35. Loppi S, Chiti F, Corsini A, Bernardi L. Lichen biomonitoring of trace metals in the Pistoria area (Italy). *Environ Monit Assess*, 1994; 29: 17-7.
36. Fernandez MA, Martinez L, Segarea M, Garcia JC, Espella F. Behavior of heavy metals in the combustion gases of urban waste incinerators. *Environ Sci Technol*, 1992; 26: 1040-7.
37. Ardeleanu A, Loranger S, Kennedy G, Gareau L, Zayed J. Emission rates and physicochemical characteristics of Mn particulates emitted by vehicles using Methylcyclopentadienyl Manganese Tricarbonyl (MMT) as an Octan Improver. *Water, Air and Soil Pollut*, 1999; 115: 411-27.
38. Fahselt W, WaT W, Matt B. Trace element patterns in lichens following uranium mine closures. *Bryologist*, 1995; 98: 228-34.
39. Branquinho C, Brown DH, Catarino F. The cellular locations of Cu in lichens and its effects on membrane integrity and chlorophyll fluorescence. *Environ Exp Bot*, 1997; 38: 165-79.
40. Nieboer E, Ahmed HM, Puckett KJ, Richardson DHS. Heavy metal content of lichens in relation to distance from Ni smelter in Sudbury Ontario. *Lichenologist*, 1972; 5: 292-04.

41. Zschau T, Getty, Y Ameron, A Zambrano, TH Nas III. Historical and current atmospheric deposition to the epilithic lichen *Xanthoparmelia* in Maricopa County, Arizona. *Environ Pollut*, 2003; 125: 21-30.
42. Mendil D, Tüzen M, Yazıcı K, Soylak M. Heavy metals in lichens from roadsides and an industrial zone in Trabzon, Turkey. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2005; 74: 190-4.
43. Loppi S, Pirintsos S A, De Dominicis V. Soil contribution to the elemental composition of epiphytic lichens (Tuscany, Central Italy). *Environ Monit Assess*, 1999; 58: 121-31.
44. Loppi S, Putorti E, Pirintsos S A, Dominicis V De. Accumulation of heavy metals in epiphytic lichens near a municipal waste incinerator (Central Italy). *Environ Monit Assess*, 2000; 61: 361-71.
45. Riget F, Asmund G, Astrup P. The use of lichen (*Cetraria nivalis*) and moss (*Rhacomitrium lanuginosum*) as monitors for atmospheric deposition in Greenland. *Sci Total Environ*, 2000; 245: 137-48.
46. Jeran Z, Racimovic R, Batic F. Lichens as integrating air pollution monitors. *Environ Pollut*, 2002; 120: 107-13.
47. Tuzen M. A Comparison of sample preparation procedures for the determination of heavy metals in lichen samples by GFAAS. *Anal Lett*, 2002; 35(10): 1667-76.
48. Pandey V, Upreti D K, Pathak R, Pal A. Heavy metal accumulation in lichens from the Hetauda industrial area Narayani zone Makwanpur district, Nepal. *Environ Monit Assess*, 2002; 73: 221-28.
49. Divrikli U, Soylak M, Elci L, Doğan M. Trace heavy metal levels in street dust samples from Yozgat city center, Turkey. *J Trace Microprobe Techniques*, 2003; 21(2): 351-61.
50. Allen-Gil S M, Ford J, Lasorsa B K, Monetti M. Heavy metal contamination in the Taimyr Peninsula, Siberian Arctic. *Sci Total Environ*, 2003; 301: 119-38.
51. Pignata ML, Gudino GL, Wannaz ED, Pla RR, Gonzalez CM, Carreras HA, Orellana L. Atmospheric quality and distribution of heavy metals in Argentina employing *Tillandsia capillaris* as a biomonitor. *Environ Pollut*, 2002; 120: 59-8.
52. Wannaz ED, Carreras HA, Perez CA, Pignata ML. Assessment of heavy metal accumulation in two species of *Tillandsia* in relation to atmospheric emission sources in Argentina. *Sci Total Environ*, 2006; 361: 267-78.
53. Pignata ML, Gonzalez CM, Wannaz ED, Carreras HA, Gudino GL, Martinez MS. Biomonitoring of air quality employing in situ *Ramalina celastri* in Argentina. *Int J Environ Pollut*, 2004; 22: 409-29.
54. Pignata ML, Pla RR, Jasan RC, Martinez MS, Rodriguez JH, Wannaz ED, Gudino G L et al. Distribution of atmospheric trace elements and assessment of air quality in Argentina employing the lichen *Ramalina celastri* as a passive biomonitor: detection of air pollution emission sources. *Int J Environ Health*, 2007; 1: 29-46.
55. Gailey FAY, Lloyd OL. Methodological Investigations in to low technology monitoring of atmospheric metal pollution: Part 1- the effects of sampler size on metal concentrations. *Environ Pollut (Series B)*, 1986; 12: 41-9.
56. Conti ME, Pino A, Botre F, Beatrice B, Alimonti A. Lichens *Usnea barbata* as biomonitor of airborne elements deposition in the province of Tierra del Fuego (southern Patagonia, Argentina). *Ecotox Environ Safe*, 2009; 72: 1082-89.
57. Bermudez GMA, Rodriguez JH, Pignata ML. Comparison of the air pollution biomonitoring ability of three *Tillandsia* species and the lichen *Ramalina celastri* in Argentina. *Environ Res*, 2009; 109: 6-14.
58. Mendil D, Çelik F, Tuzen M, Soylak M. Assessment of trace metal levels in some moss and lichen samples collected from near the motorway in Turkey. *J Haz Mat*, 2009; 166: 1344-50.

Yatan hastaların idrar örneklerinden izole edilen Gram-negatif bakterilerin tür dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları

The distribution according to the species of Gram-negative bacteria isolated from hospitalized patients's urine specimens and their antimicrobial susceptibility

Tuba DAL¹, Alicem TEKİN¹, Recep TEKİN², Özcan DEVECİ², Şükran CAN¹, Tuncer ÖZEKİNCİ¹, Saim DAYAN²

ÖZET

Amaç: Bu retrospektif çalışmada; hastanemizde yatan hastalarda gelişen üriner sistem enfeksiyonlarının ampirik tedavi yaklaşımına katkıda bulunabilmek için üriner sistem enfeksiyonu gelişen yatan hastaların idrar kültürlerinden izole edilen Gram-negatif bakterilerin tür dağılımını ve antimikrobik duyarlılık paternlerini belirlemeyi amaçladık.

Yöntemler: Ocak 2006 ve Eylül 2011 tarihleri arasında, üriner sistem enfeksiyonu gelişen yatan hastaların idrar kültürlerinden elde edilen toplam 3.548 Gram-negatif izolatın identifikasyonu geleneksel yöntemler ve BD PhoenixTM 100 (Becton Dickinson, MD, ABD) tam otomatik mikrobiyoloji sistemi tarafından yapılmıştır. İzolatların antimikrobiyal duyarlılık testi Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) kriterlerine göre çalışılmıştır. Ayrıca, baskın üropatojen bakterilerin genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi çift-disk sinerji yöntemi ile araştırılmıştır.

Bulgular: Bu çalışmada, erkeklere göre kadınlarda önemli ölçüde daha yüksek üriner sistem enfeksiyonu insidansı gözlenmiştir, sırasıyla; 1.303 (%36,7) ve 2.245 (%63,3). *Escherichia coli*'nin baskın patojen bakteri olduğu belirlendi ve üriner sistem enfeksiyonu gelişen

ABSTRACT

Objective: In this retrospective study, we aimed to determine the distribution according to the species of Gram-negative bacteria in isolates obtained from urine cultures of hospitalized patients with urinary tract infections and to detect their antimicrobial susceptibility pattern for contribute to empirical treatment approach to urinary tract infections in our hospital.

Methods: Between the dates of January 2006 and September 2011, a total of 3,548 Gram-negative isolates obtained from urine cultures of hospitalized patients with urinary tract infection were identified by conventional methods and the BD PhoenixTM 100 (Becton Dickinson, MD, USA) fully automated microbiology system. Antimicrobial susceptibility testing of isolates was performed by Kirby-Bauer's disk diffusion method according to the Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) criteria. In addition, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production of predominant urinary pathogenic bacteria was detected by the double-disk synergy method.

Results: In this study, a significantly higher incidence of urinary tract infection was observed in females compared with males; 2,245 (63.3%) and 1,303 (36.7%), respectively. *Escherichia coli* was the predominant pathogenic bacterium and accounted for

¹ Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

² Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

İletişim / Corresponding Author : Alicem TEKİN

Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR
Tel : +90 412 248 80 01-4331 E-posta / E-mail : alicemtekin@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 03.12.2011
Kabul Tarihi / Accepted : 24.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.93823

Dal T, Tekin A, Tekin R, Devci Ö, Can Ş, Özekinci T, Dayan S. Yatan hastaların idrar örneklerinden izole edilen Gram-negatif bakterilerin tür dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(4): 193-200.

toplam 3.548 yatan hastanın 2.341 (%65,8)'inde sorumlu etken olduğu bulundu. Ayrıca, 679 (%19,1)'unda *Klebsiella pneumoniae*, 177 (%5)'sinde *Acinetobacter* spp., 176 (%5)'sında *Enterobacter* spp., 142 (%4)'sinde *Pseudomonas aeruginosa* ve 38 (%1,1)'inde diğer Gram-negatif bakterilerin sorumlu etken olduğu saptandı. İdrar kültürlerinden izole edilen Gram-negatif bakterilerin antimikrobik duyarlılık oranları seftazidim, trimetoprim-sülfametoksazol, siprofloksasin, piperasilin-tazobaktam, sefoperazon-sülbaktam, amikasin, imipenem ve meropenem için sırasıyla; %34,5, %38, %42, %50, %70, %87, %90 ve %92 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* oranları da sırasıyla; %38 ve %36 olarak bulunmuştur.

Sonuç: Bu çalışma ve diğer çalışmaların sonuçları yakın gelecekte, sefalosporinler, karbapenemler ve florokinolonlar gibi geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde direnç gelişiminin mümkün olduğunu ve tedavi seçeneklerimizin her zamankinden daha sınırlı hale gelebileceğini göstermektedir. Seftazidim, siprofloksasin ve trimetoprim-sülfametoksazole karşı gelişen yüksek düzey direnç nedeniyle, üriner sistem enfeksiyonlarının ampirik tedavisi için bu antibiyotiklerin kullanılmamasını öneririz.

Anahtar Sözcükler: Üriner sistem enfeksiyonu, antimikrobik duyarlılık, Gram-negatif bakteriler, *Escherichia coli*, GSBL

2,341 (65.8%) of 3,548 hospitalized patients with urinary tract infections. In addition, *Klebsiella pneumoniae* accounted for 679 (19.1%), *Acinetobacter* spp. for 177 (5%), *Enterobacter* spp. for 176 (5%), *Pseudomonas aeruginosa* for 142 (4%), and other Gram-negative bacteria for 38 (1.1%). Antimicrobial susceptibility rates of Gram-negative bacteria isolated from urine cultures for ceftazidime, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin, piperacillin-tazobactam, ceftoperazone-sulbactam, amikacin, imipenem, meropenem were detected as 34.5%, 38%, 42%, 50%, 70%, 87%, 90%, and 92%, respectively. In addition, the rates of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were detected as 38% and 36%, respectively.

Conclusion: The present study and the other studies show that in the near future it is possible our therapeutic options may become more limited than ever due to the development of high-level resistance against broad-spectrum antibiotics such as cephalosporins, carbapenems and fluoroquinolones. Due to the high-level resistance to ceftazidime, ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole, we recommend that these antibiotics should not be used for the empirical treatment of urinary tract infections.

Key Words: Urinary tract infection, antimicrobial susceptibility, Gram-negative bacteria, *Escherichia coli*, ESBL

INTRODUCTION

Urinary tract infections (UTIs) are one of the most common infections both community-acquired and hospital-acquired (nosocomial) in our country, as all over the world. UTIs are approximately 25-40% of nosocomial infections worldwide. However this rate varies according the region, hospital and clinic those microorganisms isolated from UTIs (1, 2). Most patients with nosocomial UTIs have either had genitourinary or urological manipulation or permanent urethral catheterization. Most catheter-associated UTIs derive from the patient's own colonic

flora. The distribution according to the species of pathogenic bacterium that caused UTIs and their antimicrobial susceptibility pattern varies according to the regions. Gram-negative bacteria especially *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* are the most frequent urinary pathogenic microorganisms isolated from UTIs in hospitalized patients (3-6).

Over the past years antimicrobial drug resistance of the causative urinary pathogenic bacteria have increased rapidly in nosocomial infections. Today, because of the rapidly increasing antimicrobial drug

resistance, we are encountering great difficulties in the treatment of UTIs developing in especially hospitalized patients. Therefore, it is essential to detect the distribution according to the species and antimicrobial susceptibility of gram-negative urinary pathogenic bacteria for optimizing the use of empirical antimicrobial treatment in UTIs (7, 8). The aim of this study was to determine the distribution according to the species of gram-negative bacteria among the UTIs isolates and to detect their antimicrobial susceptibility pattern in hospitalized patients in our hospital. In the light of our data, we want to contribute to the current treatment approach of UTIs in our hospital.

MATERIALS AND METHODS

The present study is a cross-sectional study of nosocomial and non-nosocomial infections in hospitalized patients diagnosed with UTI in our hospital between the dates of January 2006 and September 2011.

The urine cultures were performed from mid-stream specimens of urine sent to a clinical microbiology laboratory. The mid-stream specimens of urine were obtained from hospitalized patients with a preliminary diagnosis of UTI. The urine specimens were inoculated quantitatively onto 5% sheep blood agar and Eosin-Methylen Blue agar (EMB) (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) media plates. Then, these media plates were aerobically incubated at $35 \pm 2^\circ\text{C}$ for 18-24 hours. We included a total of 3.548 urinary pathogenic Gram-negative isolates with urine cultures yielding growth of pathogenic bacteria $\geq 10^5$ colony forming units/mL (CFU/mL) from mid-stream specimens of urine in this study. Identification of urinary pathogenic isolates was performed by conventional methods and the BD PhoenixTM 100 (Becton Dickinson, MD, USA) fully automated microbiology system. Antimicrobial susceptibility testing of isolates was determined by measuring the diameter of inhibition zone around

the antibiotic discs with using the Kirby-Bauer's disc diffusion method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) susceptibility interpretive breakpoints (9). A pure culture of the pathogenic Gram-negative bacteria which had been grown onto 5% sheep blood agar and EMB agar plates was suspended in normal sterile saline to form direct colony suspension equivalent to 0.5 McFarland opacity standards. The bacterial suspension was then inoculated onto Mueller-Hinton agar (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) plates. Antibiotic impregnated discs (Oxoid, Basingstoke, UK) were placed 20 mm apart onto Mueller-Hinton agar plates in a straight line, with the amoxicillin-clavulanic acid disc in the center. Then, Mueller-Hinton agar plates were aerobically incubated at $35 \pm 2^\circ\text{C}$ for 16-18 hours. Inhibition zone diameters were measured and interpreted for susceptibility according to the CLSI breakpoint criteria (9). In addition, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) activity was investigated by double-disc synergy method with using amoxicillin-clavulanic acid (20/10 μg), cefotaxime (30 μg), and ceftazidime (30 μg) (Oxoid, Basingstoke, UK) impregnated disks (10). *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 (for ESBL-producing strains), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 reference strains were used for the quality control of fully automated microbiology system, antimicrobial susceptibility test and double-disc synergy method.

RESULTS

Gender and age groups distribution of patients

In this study, the most hospitalized patients of UTIs were recorded among young and middle age (among 20-59 years, 2.176 patients, 61.3%). Pediatric patients (0-19 years) comprised 857 (24.2%) and elderly (> 60) constituted 515 (14.5%) of the total number of UTIs. Urinary tract infections were observed more frequently in females compared with males, 2.245 (63.3%) and 1.303 (36.7%), respectively (figure 1).

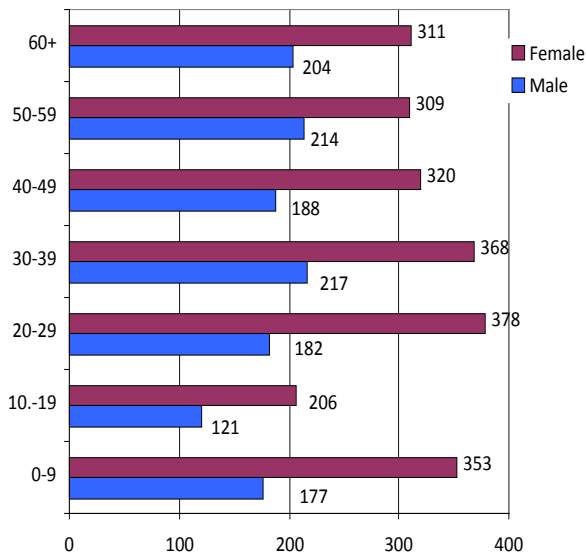


Figure 1. Distribution according to the gender and age groups of hospitalized patients with UTIs.

Species distribution of isolates

E. coli was the predominant urinary pathogenic bacterium and accounted for 2.336 (65.8%) of a total of 3.548 hospitalized patients with UTIs. *K. pneumoniae* was accounted for 679 (19.1%), *Acinetobacter spp.* for 177 (5%), *Enterobacter spp.* for 176 (5%), and *P. aeruginosa* for 142 (4%). The other Gram-negative bacteria were accounted for 38 (1.1%) of a total of 3.548 hospitalized patients with UTIs. The detailed analysis of the etiological pathogens is shown in Figure 2.

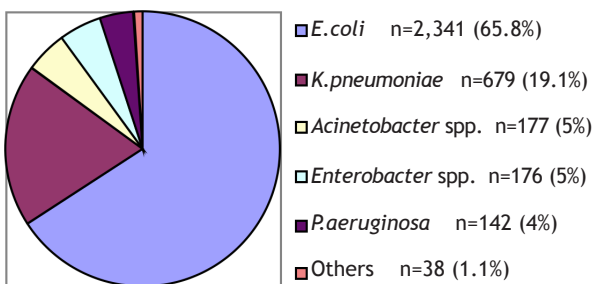


Figure 2. Distribution according to the species of Gram-negative bacteria.

Antimicrobial susceptibility pattern

In this study, the antimicrobial susceptibility rates of Gram-negative bacteria were 34.5% (1.224) for ceftazidime, 38% (1.348) for trimethoprim-sulfamethoxazole, 42% (1.490) for ciprofloxacin, 50% (1.774) for piperacillin-tazobactam, 70% (2.484) for cefoperazone-sulbactam, 87% (3.087) for amikacin, 90% (3.193) for imipenem, and 92% (3.264) for meropenem, respectively. Antimicrobial susceptibility rates (%) according to the species of Gram-negative bacteria were shown in Table 1. In addition, the rates of extended-spectrum beta-lactamase producing *E. coli* and *K. pneumoniae* were determined as 38% and 36%, respectively.

DISCUSSION

UTIs are one of the most common infections in hospitalized patients. The majority of UTIs in hospitalized patients associated with urinary catheter (11). The bacterial spectrum of UTIs in hospitalized patients is very extensive, including *Enterobacteriaceae* family, non-fermenters and Gram-positive bacteria. Among these causative agents, the most frequently encountered microorganisms are Gram-negative bacilli, especially *E. coli* and *K. pneumoniae*.

In this study, *E. coli* was the most common (65.8%) Gram-negative urinary pathogenic bacterium isolated from urine cultures of hospitalized patients with UTI and it is followed by *K. pneumoniae* (19.1%). The first finding is in keeping with the big majority of studies from the data where *E. coli* was the predominant urinary pathogenic bacteria. However, distribution of Gram-negative bacteria obtained from UTIs may vary according to the gender, age groups, underlying risk factors, regions, and hospitals.

According to a study carried out by SENTRY Participant Group the order of isolation the remaining Gram-negative bacteria were: *E. coli* (46.9%), *Klebsiella spp.* (11%), *P. aeruginosa* (7.5%), *Proteus mirabilis* (5%), *Enterobacter spp.* (3%),

Table 1. Distribution according to the species of antimicrobial susceptibility rates of Gram-negative bacteria

Name of microorganisms	Ceftazidime (%)	Trimethoprim-sulfamethoxazole (%)	Ciprofloxacin (%)	Piperacillin-tazobactam (%)	Cefoperazone-sulbactam (%)	Amikacin (%)	Imipenem (%)	Meropenem (%)
<i>Escherichia coli</i>	34	38	38	55	78	98	99	99
<i>Klebsiella pneumonia</i>	42	48	64	39	67	95	98	98
<i>Acinetobacter</i> spp.	13	29	15	14	54	40	44	44
<i>Enterobacter</i> spp.	42	42	49	36	62	91	94	96
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34	3	40	73	50	68	74	75
Other gram-negatives	35	39	41	55	68	80	90	93

Citrobacter spp. (2%) (12). SENTRY group was also detected the distribution of Gram-negative bacteria as the order of *E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, and *P. mirabilis* in UTIs in another study (13).

In a study from Korea it was investigated the results of urine cultures according to the voiding method over 10 years in patients with spinal cord injury and it was detected causative microorganisms were mostly Gram-negative bacteria (84%), including *P.aeruginosa* (22.9%), *E. coli* (21.1%), *Klebsiella* spp. (6.7%), and *Citrobacter* spp. (6.3%) (14).

In another study from Nigeria distribution of bacterial pathogens in UTIs in pregnant women was accounted for 38.1% for *K. oxytoca*, (31.3%) for *E. coli*, 9.3% for *P. aeruginosa*, and 6.8% for *P. mirabilis* (15).

In a retrospective study from Istanbul, causative agents of 3.739 patients with UTIs between January 2005 and April 2008 were investigated. *E. coli* was accounted for 49.6%, *P. aeruginosa* for 10.5%, *K. pneumoniae* for 5.3% and *P. mirabilis* for 4.3% (16).

In a study from Diyarbakir, the most frequently isolated Gram-negative agents from UTIs specimens were *E. coli*, *Klebsiella* species, *Enterobacter* species, *P. aeruginosa*, respectively (17).

In our study, we determined that the number of patients with UTI in 10-19 age groups had been lower according to the number of patients in other age groups. Because, most of the patients with UTI in 10-19 age groups are sent to other hospitals. The patients with UTI admitted to our hospital are usually complicated.

In current study, for the culture positive urine specimens, 63.3% were from females and 36.7% from males, which is a finding similar to studies from the different regions of the world (13, 18). These findings are to be expected as women are more prone to UTIs than men. In present study, the common Gram-negative isolates had a very high-level resistance to ceftazidime, ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole. In addition the rates of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* were

determined as > 30%. In addition, these common Gram-negative bacteria displayed much lower resistance to amikacin, imipenem and meropenem. Amikacin and carbapenems were also found the most effective agents against Gram-negative bacteria in a surveillance study of Geyik et al. in Dicle University Hospital in 2008 (19).

The high levels of resistance obtained from our study against ceftazidime, ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole may be associated with the frequent use of these antibiotics for treatment and prophylaxis in our hospital. However, antimicrobial susceptibility testing findings vary according to the regions and hospitals and increase over the years.

In a SENTRY Antimicrobial Surveillance Program's study between 1997 and 2000, antimicrobial susceptibility rates of piperacillin-tazobactam, aztreonam, extended-spectrum cephalosporins, carbapenems, nitrofurantoin and amikacin were reported as > 87.0%. In addition, antimicrobial resistance rates to fluoroquinolones and trimethoprim-sulfamethoxazole were observed as 17.5-18.9% and > 45.0%, respectively. In the same study, due to the high number of ESBL-producing isolates (> 30%), the carbapenems were detected the only effective therapeutic option against *Klebsiella* spp. infections. Fluoroquinolones showed limited activity against *Klebsiella* spp. (72.1-88.6% susceptible) and the *P. aeruginosa* isolates showed high resistance rates to most antimicrobial agents tested in this study (13).

In another large-scale study from 1993 to 2004 of SENTRY group, antibiotic resistance/intermediate resistance rates of *E. coli* to ceftazidime, imipenem, amikacin, ciprofloxacin were detected as 0.9/1.1%, 0.2/0.3%, 0.4/0.4%, 0.2/16.3%, respectively in UTIs. These rates were 1.4/2.9%, 0.5/0.2%, 3.4/2.3%, 1.1/16.1% for *K. pneumoniae*, 10.5/22.8%, 1.8/8.8%, 5.3/31.6%, 0/74.5% for *A. baumannii*, 4.1/3.1%, 3.1/13.4%, 7.8/4.7%, 2.1/41.9% for *P. aeruginosa*, respectively (20).

The Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trend (SMART) program detected the rate of ESBL as 17.9% of *E. coli* in UTIs of hospitalized patients and the highest ESBL rate was from the Asia/Pacific region between countries worldwide (27.7%). According to the data of this study from 2009 to 2010, ertapenem and imipenem were the most active agents tested, inhibiting > 98% of all *E. coli* phenotypes. Overall, amikacin and piperacillin-tazobactam achieved 90% inhibition levels only for ESBL-negative isolates. Ciprofloxacin and levofloxacin were not effective for ESBL-positive isolates, with only 14.6% and 15.9% susceptible, respectively (21). In a comprehensive study from Turkey, the rate of ampicillin-resistant *E. coli* accounted for 73.8% of all *E. coli* isolated from UTIs. According to this study, 8.2% and 24.6% of *E. coli* were resistant to quinolones and ceftriaxone, respectively. There was no resistance to carbapenems in *E. coli* but 6.3%, 40.6%, 59.4% of *Klebsiella* spp. was resistant to carbapenems, quinolones and ceftriaxone, respectively (22).

In our hospital *Acinetobacter* spp. isolates have lower susceptibility to all tested antibiotics similar to the other studies from the world. In a Surveillance Network (TSN) study in the USA a large number of *Acinetobacter* spp. isolates were tested between 2002 and 2008 and the rates of resistance to ceftazidime, ciprofloxacin, amikacin, imipenem were determined as 70%, 66%, 57%, 36%, respectively (23). In the studies from Korea between 2002 and 2009, similar results to USA study were detected (24, 25).

As a conclusion, we aimed to have an opinion about distribution according to the species and antimicrobial susceptibility of Gram-negative urinary pathogenic bacteria and contribute to the current therapeutic approach in our hospital. The present study and the other studies show that in the near future it is possible the development of high-level resistance against broad-spectrum antibiotics such as cephalosporins, carbapenems are fluoroquinolones will limit our therapeutic options more than ever.

Due to the high-level resistance to ceftazidime, ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole, we recommend that these antibiotics should not be used for the empirical treatment of UTIs. Fosfomycin and nitrofurantoin should be considered as an option in empirical treatment.

Our study clearly demonstrates once again that culture and antimicrobial susceptibility testing should be prompt to the patients with suspected urinary tract infection.

REFERENCES

1. Devrajani BR, Shah SZ, Devrajani T, Qureshi GA. Nosocomial Infections in Medical Ward (Four Months Descriptive Study in a Tertiary Care Hospital). *World J Med Sci*, 2009; 4(1):13-7.
2. Üstün C et al. Surveillance of Nosocomial Infections in General Surgery Unit: Data of Ten Years Period. *Düzce Tıp Dergisi*, 2010; 12(3):1-6.
3. Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*, 2005; 41(6):848-54.
4. Goldstein FW. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections in France. *European J Clin Microbiol&Infect Dis*, 2000; 19(2):112-7.
5. Schitoa GC, Naberb KG, Bottoc H, Paloud J, Mazzeie T, Gualcoa L, et al. The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*, 2009; 34(5):407-13.
6. Kayaş L, Yolbaş İ, Ece A, Kayaş Y, Balık H, Kocamaz H. Causative agents and antibiotic susceptibilities in children with urinary tract infection. *J Microbiol Infect Dis* 2011; 1(1):17-21.
7. Al-Benwan K, Al-Sweih N, Rotimi VO. Etiology and antibiotic susceptibility patterns of community- and hospital-acquired urinary tract infections in a general hospital in Kuwait. *Med Princ Pract*, 2010; 19(6):440-6.
8. Kang CI, Chung DR, Son JS, Ko KS, Peck KR, Song JH. Korean Network for Study of Infectious Diseases. Clinical significance of nosocomial acquisition in urinary tract-related bacteremia caused by gram-negative bacilli. *Am J Infect Control*, 2011; 39(2):135-40.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-first Informational Supplement. Document M100-S21. Wayne, PA 2011.
10. Jarlier V, Nicolas M, Fournier G, Philippon A. Extended spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*, 1988; 10:867-78.
11. (http://www.rshm.gov.tr/enfeksiyon/dosya/analiz_2010.pdf).
12. Mathai D, Jones RN, Pfaller MA, and the SENTRY Participant Group. North America. Epidemiology and frequency of resistance among pathogens causing urinary tract infections in 1510 hospitalized patients: a report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2001; 40(3):129-36.
13. Galesa AC, Sader HS, Jones RN and the SENTRY Participants Group (Latin America). Urinary tract infection trends in Latin American hospitals: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2002; 44(3):289-99.
14. Ryu KH, Kim YB, Yang SO, Lee JK, Jung T. Results of urine culture and antimicrobial sensitivity tests according to the voiding method over 10 years in patients with spinal cord injury. *Korean J Urol*, 2011; 52(5):345-9.
15. Kehinde A, Adedapo K, Aimakhu C, Odukogbe AT, Olayemi O, Salako B. Urinary pathogens and drug susceptibility patterns of urinary tract infections among antenatal clinic attendees in Ibadan, Nigeria. *J Obstet Gynaecol Res*, 2011; 37(5):1-5.

16. Rifaioğlu MM, Yıldırım A, Başok EK, Keskin SK, Özgüneş N, Tokuç R. Changing pattern of antibiotic resistance of bacteria's isolated from urine cultures in the last four years. Turkish Journal of Urology, 2009; 35(3): 201-9.
17. Temiz H, Akkoç H, Gül K. Laboratuvarımızda idrar kültürlerinden izole edilen gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç. Dicle Tıp Dergisi, 2008; 35(4): 234-9.
18. Dielubanza EJ, Schaeffer AJ. Urinary tract infections in women. Med Clin North Am, 2011; 95(1): 27-41.
19. Geyik MF, Hoşoğlu S, Ayaz C, Çelen MK, Üstün M. Surveillance of Nosocomial Infections in Dicle University Hospital: a Ten-Year Experience. Turk J Med Sci 2008; 38(6): 587-93.
20. Lockhart SR, Abramson MA, Beekmann SE, Gallagher G, Riedel S, Diekema DJ, et al. Antimicrobial Resistance among Gram-Negative Bacilli Causing Infections in Intensive Care Unit Patients in the United States between 1993 and 2004. J Clin Microbiol, 2007; 45(10): 3352-9.
21. Hoban DJ, Nicolle LE, Hawser S, Bouchillon S, Badal R. Antimicrobial susceptibility of global inpatient urinary tract isolates of *Escherichia coli*: Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program: 2009-2010. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011; 70(4): 507-11.
22. Leblebicioglu H, Esen S and Turkish Nosocomial Urinary Tract Infection Study Group. Hospital-acquired urinary tract infections in Turkey: a nationwide multicenter point prevalence study. J Hosp Infect, 2003; 53(3): 207-10.
23. Mera RM, Miller LA, Amrine-Madsen H, Sahm DF. *Acinetobacter baumannii* 2002-2008: increase of carbapenem-associated multiclass resistance in the United States. Microb Drug Resist, 2010; 16(3):209-15.
24. Lee K, Lee MA, Lee CH, Lee J, Roh KH, Kim S, et al. Increase of ceftazidime- and fluoroquinolone-resistant *Klebsiella pneumoniae* and imipenem-resistant *Acinetobacter spp.* in Korea: analysis of KONSAR study data from 2005 and 2007. Yonsei Med J, 2010; 51(6): 901-11.
25. Lee K, Yong D, Jeong SH, Chong Y. Multidrug-Resistant *Acinetobacter spp.*: Increasingly Problematic Nosocomial Pathogens. Yonsei Med J, 2011; 52(6): 879-91.

Çoklu ilaç dirençli Salmonella suşlarının tanısı

Identification of multi drug resistant Salmonella strains

Burcu YENER¹, Nefise AKÇELİK¹, Pınar ŞANLIBABA², Mustafa AKÇELİK³

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Ankara başta olmak üzere, Türkiye'nin değişik bölgelerindeki çeşitli market ve üreticilerinden alınan toplam 217 gıda örneğinde *Salmonella* sp. varlığı araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan Salmonella suşları, farklı bölgelerde bulunan kasap ve marketlerde satışı sunulan gıda örneklerinden izole edilmiştir. Kullanılan bu hayvansal kaynaklı gıda örnekleri dana eti (99 örnek), koyun eti (13 örnek), tavuk eti (104 örnek) ve süttür. İzole edilen suşlar biyokimyasal testlerle doğrulanmıştır. Salmonella tanısı konulan ve kültür koleksiyonuna alınan örneklerde antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: *Salmonella* sp. varlığı, Uluslararası Standartlar Ofisi'nin önerdiği yöntem (ISO6972: 2002) kullanılarak araştırılmıştır. API 20E testleri sonucunda toplam 41 izolat *Salmonella* sp. olarak tanımlanmıştır. Salmonella suşlarının antibiyotik dirençlilik profilleri disk difüzyon ve kritik dilüsyon testleri kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışmalar sonucunda 41 farklı örnekte Salmonella izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu 41 izolatın %25' inin kaynağı dana eti, %75' inin kaynağı

ABSTRACT

Objective: In this study, a total of 217 food samples obtained from various grocery stores and manufacturers found in different regions in Turkey, especially in Ankara, were analysed for presence of *Salmonella* sp. *Salmonella* strains used in this study were isolated from the food samples sold in butchers and supermarkets located at different regions. Food samples which are of animal origin are veal (99 samples), mutton (13 samples), chicken (104 samples) and milk samples. Isolated strains were confirmed by biochemical tests. We aimed to determine the antimicrobial susceptibility levels of samples against antimicrobial agents, identified as *Salmonella* and placed into the culture collection.

Method: Presence of *Salmonella* sp. was analysed according to the method determined by International Standards Office (ISO6972: 2002). As a result of API 20E tests, totally 41 isolates were identified as *Salmonella* sp. Antibiotic resistance pattern of the *Salmonella* strains were revealed by using disc diffusion and critical dilution tests.

Results: As a result of study *Salmonella* isolation was performed with 41 different samples. While the 25% of these 41 isolates were source of veal, the other 75%

¹ Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, ANKARA

² Ankara Üniversitesi, Kalecik Meslek Yüksekokulu, ANKARA

³ Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Burcu YENER

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, ANKARA

Tel : +90 312 222 58 24

E-posta / E-mail : akcelik@science.ankara.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 20.03.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 24.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.15046

Yener B, Akçelik N, Şanlıbaba P, Akçelik M. Çoklu ilaç dirençli Salmonella suşlarının tanısı. Türk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(4): 201-12.

ise tavuk eti örnekleridir. Aynı zamanda bu 41 izolatın tamamı çoklu ilaç dirençlilik profili sergilemiştir. Tüm suşlarda en yüksek dirençlilik düzeyleri kanamisin ($R>512 \mu\text{g/mL}$) ve nalidiksik asit ($R>512 \mu\text{g/mL}$)'e karşı tespit edilmiştir.

Sonuç: Piyasada açıkta satışa sunulan et örneklerinde Salmonella bulunma sıklığı, tavuk etlerinde diğer örneklere oranla çok yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, açıkta satılan özellikle tavuk etlerinin sınırlandırılması ve ayrıca hijyen kontrollerinin daha sık yapılması zorunluluğuna işaret etmektedir. Türkiye'de piyasaya sunulan et örneklerinden izole edilen 41 Salmonella suşunun tamamının çoklu ilaç dirençlilik özelliği göstermesi, bu sorunun ülkemiz için ne derece önemli olduğuna işaret etmektedir. Özellikle hayvan beslemede antibiyotik kullanımının kontrolsüz oluşu, bu sorunun ana kaynağını teşkil etmektedir. Bu sonuçlar; gıda üretiminde antibiyotiklerin kullanımının kontrolünde yeni stratejilerin gerekliliğini ön plana çıkarmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Salmonella, tanı, çoklu ilaç dirençlilik

were source of chicken samples. At the same time all of these tested 41 strains exhibited a multi-drug resistance profile. The highest resistance levels at all tested strains were determined against kanamycin ($R>512 \mu\text{g/mL}$) and nalidixic acid ($R>512 \mu\text{g/mL}$) for all strains.

Conclusion: The frequency of Salmonella in the chicken meat was found higher compared to the other meat samples offered for sale in the market. These findings suggest the limitate open meat sold, especially the chicken meat, and also points obligation of frequent hygiene controls. Showing the feature of multiple drug resistance of all 41 Salmonella strains isolated from the meat samples offered to the market in Turkey, indicates that how important is this problem for our country. Especially, the uncontrolled use of antibiotics in animal nutrition constitutes the main source of this problem. These results show the need for new strategies for controlling the use of antibiotics in food production.

Key Words: Salmonella, identification, multi drug resistance

GİRİŞ

Patojenik Salmonella suşları insan ve diğer birçok memeli türünde hastalık etkenidir. Salmonella serotipleri; gastroenteritden, tifo, bakteremi, fokal enfeksiyonlar ve yaşam boyu taşıyıcı duruma kadar geniş bir hastalık spektrumuna yol açabilmektedir. Tifoid olmayan Salmonella enfeksiyonları, ülkemizde ve dünya genelinde en önemli gıda enfeksiyonlarından biridir. Hastalık şiddetli karın ağrısı, ateş, diyare, bulantı ve bazen kusma ile kendini göstermekte, çocuklarda ve yaşlılarda aşırı su kaybına bağlı olarak hayati tehlike yaratmaktadır.

Salmonellozun kontrolü ve tedavisinde karşılaşılan en ciddi sorun giderek artan ilaç dirençlilik özelliği ve buna paralel olarak gelişen çoklu ilaç dirençli

epidemik tiplerdir. Özellikle bakteriyel patojenlerde, tedavide yaygın antimikrobiyel ajan kullanımına bağlı olarak direnç gelişimi teşvik edilmekte ve bu durum salgınların kontrolünü zorlaştırmaktadır. Gerek mutasyonlar ve gerekse de yatay gen transferi ile antimikrobiyel ajanlara karşı direnç kazanan bakteriler, ortamda bulunan antibiyotikten etkilenmeksizin gelişmekte ve popülasyonda baskın hale gelmektedir. Özellikle plazmidler, transpozonlar ve integronlar aracılığı ile meydana gelen yatay gen transferi, kazanılan antibiyotik dirençliliğinin hızla yayılmasına neden olmaktadır.

Salmonella'da ilk dönemlerde tanımlanan kloramfenikol, kanamisin, streptomisin, sulfonamid

ve tetrasiklin dirençlilik, kinolonlar ve üçüncü jenerasyon sefalosporinlere karşı da kazanılarak hızlı bir gelişme göstermiştir. İlk çoklu ilaç fenotipi *S. typhi*'de kloramfenikol, ampisilin ve ko-trimoksazole (trimetoprim-sulfametoksazole) karşı tanımlanmıştır. Antibiyotik kullanımındaki değişikliğin yönlendirmesiyle, *S. typhi*'de çoklu ilaç dirençliliği (MDR) fenotipi, her direnç tipi birbirinden bağımsız ve aşamalı olarak ortaya çıkmıştır (1, 2).

Ülkemizde *Salmonella*'da enfeksiyon ajanlarının serotip düzeyinde tanısı daha çok tifoid (*S. typhi*) izolatlarında gerçekleştirilmiş olup, tifoid olmayan tiplerin epidemisi üzerinde çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar, çoklu ilaç dirençlilik özelliğinin tifoid olmayan *Salmonella* izolatlarında da hızlı bir şekilde yayıldığına işaret etmektedir (3-5). Son çalışmalarda özellikle çoklu ilaç dirençli ve tifoid olmayan bazı Türkiye kökenli *Salmonella* izolatlarında, çoklu ilaç dirençlilik fenotipinin *Shigella*'dan kazanılmış plazmidler üzerinde kodlandığının belirlenmesi, yatay gen transferinin bölgesel olarak farklı epidemik türlerin kaynağına işaret etmesi bakımından büyük önem taşımaktadır. Aynı çalışmalarda, Türkiye kökenli tifoid olmayan *Salmonella* suşlarının sınırlı klonal grup belirlemesi de gerçekleştirilmiştir. Bu klonal grupların özellikle Avrupa'daki temel tiplerle farklılık göstermesi, söz konusu çalışmaların Türkiye'nin tamamına yayılarak genişletilmesi zorunluluğuna işaret etmektedir (6).

Çalışmamızda, Ankara başta olmak üzere, Türkiye'nin değişik illerindeki çeşitli market ve üreticilerden 2009-2010 yılları arasında alınan tavuk eti ve kırmızı et örneklerinde *Salmonella* varlığı araştırılmış, elde edilen suşlar biyokimyasal testlerle doğrulanmıştır. *Salmonella* tanısı konulan ve kültür koleksiyonuna alınan örneklerde antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık düzeyleri belirlenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

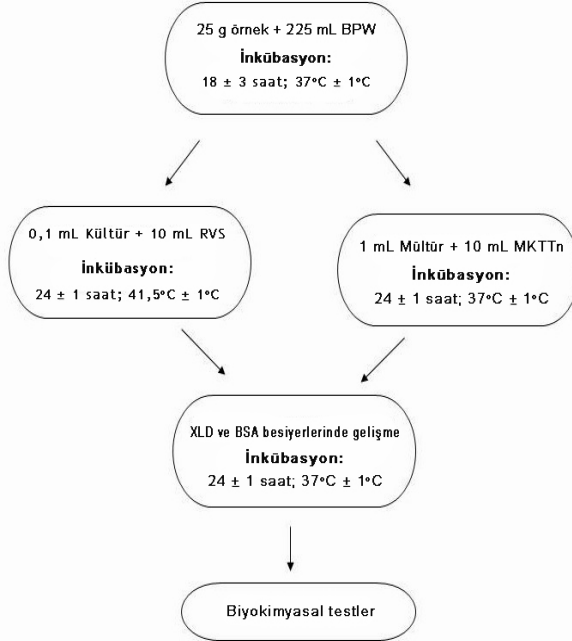
Çalışmada kullanılan *Salmonella* suşları, farklı bölgelerde bulunan kasap ve marketlerde satışı sunulan gıda örnekleri steril kaplara alınarak soğuk zincir ile laboratuvar ortamına taşınmış ve izolasyon işlemi gerçekleştirilene kadar +4 °C' de saklanmıştır.

Kullanılan bu hayvansal kaynaklı gıda örnekleri dana eti (99), koyun eti (13), tavuk eti (104) ve süttür. Araştırmada kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri ve konsantrasyonları

Antibiyotik (Sembol)	Antibiyotik Grubu	Disk Konsantrasyonu (µg)
Ampisilin (AMP)	Beta-laktam	10
Amoksisilin/ klavulanik asit (AMC)	Beta-laktam	30
Florfenikol (FFC)	Fenikol	30
Gentamisin (GEN)	Aminoglikozid	10
Kanamisin (KAN)	Aminoglikozid	30
Kloramfenikol (CHL)	Fenikol	30
Nalidiksik asit (NAL)	Kinolon	30
Neomisin (NEO)	Aminoglikozid	10
Seftiofur (EFT)	Beta-laktam	30
Siprofloksasin (CIP)	Kinolon	5
Spektinomisin (SPT)	Aminoglikozid	10
Streptomisin (STR)	Aminoglikozid	10
Sulfonamid (SUL)	Sulfonamid	300
Tetrasiklin (TET)	Tetrasiklin	30
Trimetoprim (TMP)	Antifolat	5
Trimetoprim/ sulfametoksazol (SXT)	Antifolat/ Sulfonamid	25

Çalışmada kullanılan gıda materyallerinden *Salmonella* sp.'in izolasyonu Şekil 1'de verilen yöntem kullanılmak suretiyle 4 basamakta gerçekleştirilmiştir (ISO 6579 : 2002).



Şekil 1. Salmonella izolasyonunun şematik sunumu

1. Seçici olmayan besiyerinde ön zenginleştirme:

25 gr tartılan gıda örneği 225 mL tamponlanmış peptonlu suya (BPW) inoküle edilip (1/10, w/v), statik inkübatörde (Binder, USA) 37°C ± 1 C' de 18 ± 1 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Salmonella için seçici olmayan bu uygulama; gıdaların prosesleri sırasında uygulanan işlemler, gıda katkıları, gıda koruma yöntemleri ya da çevresel faktörler nedeniyle zarar görmüş bakterilerin aktiveleştirilmesi için gereken bir aşamadır.

2. Seçici besiyerinde zenginleştirme:

Ön zenginleştirme ortamından elde edilen kültürlerden Rappaport-Vassiliadis (RVS) ve Müller-Kauffmann-Tetrazyonot/novobiosin (MKTTn) sıvı ortamlarına paralel ekimler yapılmıştır. 0,1 mL kültür 10 mL RVS brotha inoküle edilip, 41,5°C ± 1°C'de 24 ± 3 saat inkübe edilirken, buna paralel olarak;

1 mL kültür 10 mL MKTTn brotha inoküle edilip 37°C ± 1°C'de 24 ± 3 saat inkübe edilmiştir.

3. Seçici katı besiyerinde gelişme ve koloni seçimi:

Zenginleştirme ortamında gelişen kültürler Ksiloz Lizin Deoksikolat (XLD) Agar ve Bizmut Sülfid Agar (BSA) olmak üzere iki seçici besiyerine inoküle edilmiş ve 37°C ± 1°C' de 24 ± 3 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Inkübasyondan sonra XLD agar üzerinde siyah merkezli etrafı saydam kırmızımsı zonlu, BSA agar üzerinde ise metalik parlaklığa sahip siyah renkli tipik Salmonella kolonileri seçilmiştir.

4. Kolonilerin doğrulanması:

Salmonella olduğu tahmin edilerek seçilen saf koloniler Luria Bertani (LB) broth ortamında çalkalamalı inkübatörde (Thermo, USA) 37°C'de 200 rpm hızda 18 saat süre ile geliştirilmiştir. Kolonilerin *Salmonella* sp.'ye ait olup olmadığı gram boyama, oksidaz testi ve diğer biyokimyasal testler ile kontrol edilmiştir. Gram boyama sonucu Gram negatif, oksidaz testi sonucu oksidaz negatif olan suşlara diğer biyokimyasal testler API 20E test kiti (bioMérieux, Inc., France) ile uygulanarak doğrulama testleri tamamlanmıştır. Kültürlerin salin süspansiyonları üretici firmanın yönlendirmelerine göre plastik stripteki 20 mini test tüpüne inoküle edilmiştir. Birkaç tüp (CIT, VP ve GEL) tamamen doldurulurken, bazı tüplerin (ADH, LDC, ODC, H2S, URE) üstü aneorobik reaksiyonların gerçekleşmesi için mineral yağ ile doldurulmuştur (Şekil 2).

37°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra kitte görülen reaksiyonlar renk değişimlerine göre okunmuştur. Bu bilgiler üretici firmanın veri tabanı ile analize tabi tutulmuş ve ≥%89 olasılıklı pozitif sonuçlar Salmonella olarak kabul edilmiştir. Doğrulanmış Salmonella kültürleri %60 gliserol içeren LB broth ortamında -80°C stoğuna alınmıştır.

Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi için ise kültürler steril öze aracılığı ile 4 mL LB broth ortamına



Şekil 2. API 20E test kitindeki tipik *Salmonella* reaksiyonları

inoküle edilmiş ve çalkalamalı (200 rpm) inkübatörde 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, steril saf su ile 1:100 (hacim:hacim) oranında dilüe edilen örneklerden 100 µL Müller Hinton (Oxoid, UK) agar plakları üzerine yayma ekim yapılmıştır. Antimikrobiyal ajanlar (Oxoid, UK) emdirilmiş 6 mm'lik steril kağıt diskler, agar yüzeyine yerleştirilmiş ve 37 °C'de 18 saat inkübe edilmiştir. Disk difüzyon yöntemi için, 16 farklı antimikrobiyal madde kullanılmıştır. Kullanılan antimikrobiyal diskler ve içerikleri Tablo 1'de verilmiştir. İnkübasyon sonrası, disklerin etrafındaki zon çapları ölçülmüş ve Klinik Laboratuar Standartları Enstitüsü (CLSI)'nün belirlediği sınırlar ile karşılaştırılarak suşlar duyarlı (S), orta dirençli (I) ve dirençli (R) olarak belirlenmiştir (7).

Antibiyotiklerin minimal inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) saptanması için mikroorganizmaların, LB broth sıvı besiyerinde üretilmiş kültürlerinden steril serum fizyolojik solüsyonu içerisinde McFarland 0.5 (108 hücre/mL) yoğunluğunda örnekler hazırlanıp 1:100 oranında dilüe edilmek suretiyle 106 hücre/mL içeren mikroorganizma süspansiyonları elde edilmiştir. Bakterilerin üretilmesi amacıyla Müller Hinton Broth (MHB) (Oxoid, UK) besiyerleri kullanılmıştır. MİK'lerin tespit edilebilmesi için 96 kuyucuklu mikropaklarda mikrodilüsyon yöntemi, CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, 2008) M27-A protokolüne göre çalışılmıştır (7). 100 µL MHB besiyerini içeren kuyuların

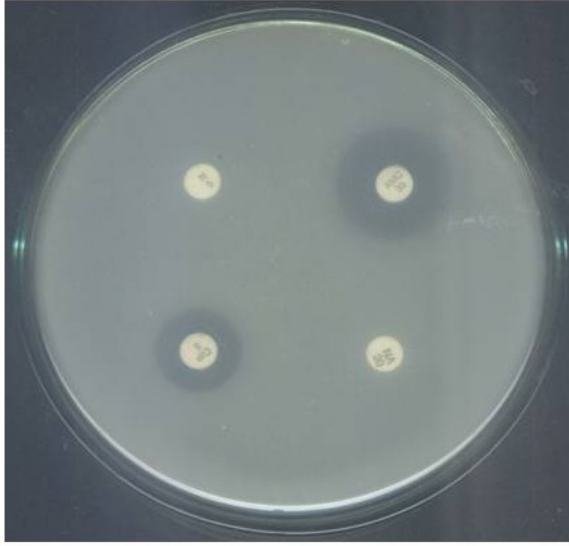
ilk sırasına her antibiyotik için son konsantrasyon 512 µg/mL olacak şekilde 1024 µg/mL stok çözeltilerden eklenmiştir. İlk kuyucuktan başlanarak bir sonraki kuyuya 100 µL aktarılmış ve son kuyucuktan 100 µL alınarak dilüsyon işlemi tamamlanmıştır. Dilüsyon sonrasında tüm kuyucuklara 10 µL bakteri süspansiyonu (106 hücre/mL) eklenerek 37°C'de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Mikroorganizma üremesinin gözlemlenmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Türkiye'de farklı bölgelerde satışa sunulan 217 adet hayvansal kaynaklı gıda kullanılarak yürütülen çalışmalar sonucunda 41 farklı örnekte *Salmonella* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu 41 izolatın yaklaşık %25 (10 izolat) 'inin kaynağı dana eti, %75 (31 izolat)'inin kaynağı ise tavuk etidir. Biyokimyasal test sonuçları, izolatların %89,4 - %99,9 olasılıkla *Salmonella* cinsine ait suşlar olduğunu göstermiştir (Tablo 2).

Piyasada açıkta satışa sunulan et örneklerinde *Salmonella* bulunma sıklığı, tavuk etlerinde diğer örneklere oranlara çok yüksek bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan 41 adet *Salmonella* suşunun antibiyotik duyarlılık profilleri öncelikle yapay ve doğal antibiyotik gruplarının tümünü temsil edecek şekilde seçilen 16 farklı antibiyotik diski kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Disk difüzyon yöntemi

Bu denemede antibiyotik dirençlilik fenotipi gösteren suşların duyarlılık düzeyleri, minimal inhibisyon konsantrasyonlarının (MİK) kritik dilüsyon yöntemi ile araştırılması sonucu saptanmıştır. Suşların antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 3 ve MİK değerleri ise Tablo 4'de verilmiştir.

Suşların %59'unun, beş ya da daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. İzolatların tümü ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, florfenikol, gentamisin (dört izolat dışında), kloramfenikol (iki izolat dışında), seftiofur antibiyotiklerine karşı duyarlı; %49'u siprofloksasin, %39'u kanamisin, %59'u nalidiksik asit, %98'i neomisin, %54'ü spektinomisin, %51'i streptomisin, %100'ü sulfonamid, %66'sı tetrasiklin, %49'u trimetoprim, %51'i trimetoprim/sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur. En yüksek dirençlilik düzeyi kanamisin ($R > 512 \mu\text{g/mL}$) ve nalidiksik asit ($R > 512 \mu\text{g/mL}$) antibiyotiklerine karşı tanımlanırken, bunu spektinomisin ($R > 256 \mu\text{g/mL}$) ve sulfonamid ($R > 128 \mu\text{g/mL}$) izlemiştir.

Tablo 2. ISO 6579 : 2002 yöntemi ile izole edilen suşların biyokimyasal analiz sonuçları

SUŞ	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	BİLGİSAYAR ANALİZİ
IS2	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %89,4
IS4	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %99,9
IS6	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %89,4
IS20	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %99,9
IS23	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %89,4
IS46	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %89,4
IS52	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %99,9
IS53	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %99,9
IS58	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %99,9
IS63	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %89,4
IS64	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %89,4
IS69	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %99,9
IS72	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	Salmonella spp. %89,4



Tablo 2. ISO 6579 : 2002 yöntemi ile izole edilen suşların biyokimyasal analiz sonuçları (devam)

SUŞ	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	BİLGİSAYAR ANALİZİ
IS73	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %89,4
IS80	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS81	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS83	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS84	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS89	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS91	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %89,4
IS96	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS97	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS98	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS100	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS101	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS104	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS107	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %89,4
IS112	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS117	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS124	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS128	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS134	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS135	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS137	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS140	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %89,4
IS141	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS148	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %89,4
IS162	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS163	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,9
IS174	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %89,4
IS177	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	Salmonella spp. %99,4

ONPG: B-galaktozidaz; ADH: Arjinin dihidrolaz; LDC: Lizin dekarboksilaz; ODC: Ornithin dekarboksilaz; CIT: Sitrak kullanımı; H₂S: H₂S üretimi; URE: Üre hidrolizi; TDA: Deaminaz; IND: İndol üretimi; VP: Asetoin üretimi; GEL: Jelatinaz; GLU: Glukoz; MAN: Mannitol; INO: İnozitol; SOR: Sorbitol; RHA: Ramnoz; MEL: Melitbiöz; AMY: Amigdalın; ARA: Arabinoz-fermentasyon/oksidasyon.

Tablo 3. Salmonella suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

SUŞ	Antibiyotikler (µg/mL)*															
	AMP	AMC	CHL	CIP	EFT	FFC	GEN	Kann	NAL	NEO	SPE	STR	SUL	TET	TMP	SXT
IS2	S	S	S	I	I	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS4	S	S	S	I	I	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS6	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS20	S	S	S	R	I	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
IS23	S	S	S	I	I	I	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S
IS46	S	S	S	I	I	I	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS52	S	S	S	I	I	I	S	S	R	R	R	S	R	R	S	S
IS53	S	S	I	R	I	I	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R
IS58	S	S	S	R	I	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R
IS63	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS64	S	S	S	I	I	S	S	I	S	R	S	S	R	S	S	S
IS69	S	S	S	R	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS72	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS73	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS80	S	S	I	R	I	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
IS81	S	S	S	R	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS83	S	S	R	R	I	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
IS84	S	S	S	R	I	S	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R
IS89	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	S
IS91	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S
IS96	S	I	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R
IS97	I	S	S	I	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
IS98	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R
IS100	S	S	S	I	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS101	I	S	S	R	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS104	S	S	I	R	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS107	I	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS112	I	S	S	R	I	S	S	S	R	R	S	S	R	I	S	S
IS117	I	S	S	R	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS124	I	S	S	R	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS128	S	S	I	R	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS134	S	S	I	R	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS135	S	I	S	R	I	S	I	I	S	R	S	R	R	R	S	S
IS137	S	I	I	R	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS140	S	S	S	I	I	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S
IS141	S	S	I	R	I	S	S	S	R	R	I	R	R	R	S	I
IS148	S	I	R	I	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS162	S	S	S	I	I	S	S	S	R	R	I	S	R	I	S	S
IS163	S	S	I	R	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS174	S	S	S	I	I	S	I	I	S	R	S	S	R	S	S	S
IS177	S	S	S	I	I	S	S	S	R	R	S	S	R	I	S	S

*AMP: Ampisilin; AMC: Amoksisilin/klavulanik asit; CHL: Kloramfenikol; CIP: Siprofloksasin; EFT: Seftiofur; FFC: Florfenikol; GEN: Gentamisin; KAN: Kanamisin; NAL: Nalidiksik asit; NEO: Neomisin; SPE: Spektinomisin; STR: Streptomisin; SUL: Sulfonamid bileşikleri; TET: Tetrasiklin; TMP: Trimetoprim; SXT: Sulfametoksazol/Trimetoprim; S: Duyarlı; I: Orta dirençli; R: Dirençli

Tablo 4. Salmonella suşlarında antibiyotik dirençlilik düzeyleri

SUŞ	Antibiyotikler (µg/mL)*														
	AMP	AMC	CHL	CIP	EFT	FFC	GEN	Kann	NAL	NEO	SPE	STR	SUL	TET	TMP
IS2	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	S(<16)	R(>16)	S(<16)	S(<8)	R(>64)	S(<4)	S(<8)
IS4	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	S(<16)	R(>16)	S(<16)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS6	S(<8)	S(<8)	S(<8)	S(<1)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	S(<8)	R(>16)	S(<8)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS20	S(<8)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	I(>8)	S(<4)	S(<16)	R(>512)	R(>16)	R(>256)	R(>32)	R(>128)	R(>32)	R(>64)
IS23	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	I(>8)	S(<4)	S(<16)	S(<16)	R(>16)	S(<32)	S(<8)	R(>128)	R(>32)	S(<8)
IS46	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	I(>8)	S(<4)	S(<16)	S(<16)	R(>16)	S(<16)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS52	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	I(>8)	S(<4)	S(<16)	R(>512)	R(>16)	R(>128)	S(<8)	R(>128)	R(>32)	S(<8)
IS53	S(<8)	S(<8)	I(>16)	R(>4)	I(>4)	I(>8)	S(<4)	R(>512)	R(>512)	R(>32)	R(>128)	S(<8)	R(>128)	R(>32)	S(<8)
IS58	S(<8)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	R(>512)	R(>512)	R(>32)	R(>256)	S(<8)	R(>64)	R(>32)	R(>32)
IS63	S(<8)	S(<8)	S(<8)	S(<1)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	S(<16)	R(>16)	S(<32)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS64	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	I(>32)	S(<16)	R(>16)	S(<8)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS69	S(<8)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	R(>512)	R(>512)	R(>32)	R(>256)	R(>16)	R(>128)	R(>32)	R(>32)
IS72	S(<8)	S(<8)	S(<8)	S(<1)	S(<2)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	S(<16)	R(>16)	S(<16)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS73	S(<8)	S(<8)	S(<8)	S(<1)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	S(<8)	R(>16)	S(<16)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS80	S(<8)	S(<8)	I(>16)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<8)	R(>512)	R(>16)	R(>256)	R(>16)	R(>128)	R(>64)	R(>64)
IS81	S(<8)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	R(>512)	R(>512)	R(>32)	R(>256)	R(>16)	R(>128)	R(>32)	R(>64)
IS83	S(<8)	S(<8)	R(>32)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<8)	R(>512)	R(>16)	R(>256)	R(>16)	R(>128)	R(>64)	R(>64)
IS84	S(<8)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<8)	R(>512)	R(>16)	R(>256)	S(<8)	R(>128)	R(>32)	R(>64)
IS89	S(<8)	I(>16)	S(<8)	S(<1)	S(<2)	S(<4)	S(<4)	S(<8)	S(<16)	R(>16)	S(<16)	R(>32)	R(>128)	R(>32)	S(<8)
IS91	S(<8)	I(>16)	S(<8)	S(<1)	S(<2)	S(<4)	S(<4)	S(<8)	S(<16)	R(>16)	S(<16)	S(<8)	R(>128)	R(>16)	S(<8)
IS96	S(<8)	I(>16)	S(<8)	S(<1)	S(<2)	S(<4)	S(<4)	R(>512)	S(<16)	R(>16)	R(>128)	R(>16)	R(>64)	R(>16)	R(>16)
IS97	I(>16)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	S(<2)	S(<4)	S(<4)	R(>64)	R(>256)	R(>16)	R(>128)	R(>16)	R(>64)	R(>16)	R(>16)
IS98	I(>16)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	S(<2)	S(<4)	S(<4)	R(>256)	S(<16)	S(<8)	R(>128)	R(>16)	R(>64)	R(>32)	R(>16)
IS100	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	S(<2)	S(<4)	S(<4)	R(>512)	R(>128)	R(>16)	R(>128)	R(>16)	R(>128)	R(>64)	R(>64)
IS101	I(>16)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	R(>128)	R(>256)	R(>32)	R(>128)	R(>16)	R(>128)	R(>64)	R(>64)
IS104	S(<8)	S(<8)	I(>16)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	R(>128)	R(>256)	R(>32)	R(>256)	R(>64)	R(>128)	R(>64)	R(>128)
IS107	I(>16)	S(<8)	S(<8)	S(<1)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	S(<16)	R(>32)	S(<32)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS112	I(>16)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	R(>256)	R(>16)	S(<16)	S(<8)	R(>128)	I(>8)	S(<8)
IS117	I(>16)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	R(>128)	R(>128)	R(>128)	R(>128)	R(>16)	R(>128)	R(>64)	R(>32)
IS124	I(>16)	S(<8)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	R(>128)	R(>256)	R(>32)	R(>128)	R(>16)	R(>64)	R(>64)	R(>64)
IS128	S(<8)	S(<8)	I(>16)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	R(>16)	R(>512)	R(>256)	R(>32)	R(>128)	R(>16)	R(>64)	R(>16)	R(>32)
IS134	S(<8)	S(<8)	I(>16)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	R(>16)	R(>512)	R(>256)	R(>32)	R(>128)	R(>16)	R(>128)	R(>64)	R(>64)
IS135	S(<8)	I(>16)	S(<8)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	I(>8)	I(>32)	S(<8)	R(>16)	S(<8)	R(>16)	R(>128)	R(>32)	S(<8)
IS137	S(<8)	I(>16)	I(>16)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	R(>16)	R(>64)	R(>256)	R(>32)	R(>256)	R(>16)	R(>128)	R(>64)	R(>64)
IS140	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	S(<8)	R(>16)	S(<16)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS141	S(<8)	S(<8)	I(>16)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	R(>256)	R(>16)	I(>64)	R(>16)	R(>128)	R(>32)	S(<8)
IS148	S(<8)	I(>16)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	S(<4)	R(>16)	R(>64)	R(>256)	R(>64)	R(>128)	R(>16)	R(>128)	R(>32)	R(>64)
IS162	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	R(>256)	R(>16)	I(>64)	S(<8)	R(>128)	I(>8)	S(<8)
IS163	S(<8)	S(<8)	I(>16)	R(>4)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	R(>64)	R(>256)	R(>32)	R(>128)	R(>16)	R(>128)	R(>64)	R(>64)
IS174	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	S(<4)	I(>8)	I(>32)	S(<16)	R(>16)	S(<32)	S(<8)	R(>128)	S(<4)	S(<8)
IS177	S(<8)	S(<8)	S(<8)	I(>2)	I(>4)	S(<4)	S(<4)	S(<16)	R(>256)	R(>16)	S(<32)	S(<8)	R(>128)	I(>8)	S(<8)

*AMP: Ampisilin; AMC: Amoksisilin/klavulanik asit; CHL: Kloramfenikol; CIP: Siprofloksasin; EFT: Seftiofur; FFC: Florfenikol; GEN: Gentamisin; KAN: Kanamisin; NAL: Nalidiksik asit; NEO: Neomisin; SPE: Spektinomisin; STR: Streptomisin; SUL: Sulfonamid bileşikleri; TET: Tetrasiklin; TMP: Trimetoprim; S: Duyarlı; I: Orta dirençli; R: Dirençli

TARTIŞMA

Günümüzde enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde en önemli sorun çoklu etken bakterilerde antibiyotik dirençlilik gelişimidir (8-10). Bu nedenle özellikle hayvancılıkta, besleme ve koruma amacı ile antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımına yönelik önlemler tüm dünyada alınmış ve güçlü takip yöntemleri geliştirilmiştir (11-16). Türkiye’de piyasaya sunulan et örneklerinden izole edilen 41 Salmonella suşunun tamamının çoklu ilaç dirençlilik özelliği göstermesi, bu sorunun ülkemiz için ne derece önemli olduğuna işaret etmektedir. Özellikle hayvan beslemede antibiyotik kullanımının kontrolsüz oluşu, bu sorunun ana kaynağını teşkil etmektedir. Zira kontrolsüz antibiyotik kullanımının dirençliliğin gelişiminde seçici baskı oluşturduğu moleküler genetik ve biyokimyasal araştırmalar sonucu tespit edilmiştir (6, 17, 18). Özellikle gelişmiş ülkelerdeki bulgularla karşılaştırıldığında Türkiye’den izole edilen suşlarda çok daha yüksek oranda çoklu ilaç dirençlilik fenotipine sahip Salmonella suşlarının tanımlanması, bu kontrolsüz antibiyotik kullanımına bağlı seçici baskının rolünü açıkça ortaya koymaktadır (19-25). Bu sonuçlar; gıda üretiminde antibiyotikler başta olmak üzere, gıda koruyucularının kullanımının kontrolünde yeni stratejilerin gerekliliğini ön plana çıkarmaktadır.

Çalışmada elde edilen bulgular doğrultusunda, açıkta satışa sunulan tavuk etlerinden, dana etlerine kıyasla daha yüksek oranda Salmonella izolasyonunun yapılmış olması hem Türkiye’de hem de dünyada

yürütülen izolasyon çalışmaları ile paralellik göstermektedir (3-5, 26, 27). Kümes hayvancılığı ürünlerinin, Salmonella kontaminasyonlarının başlıca kaynaklarından biri olması nedeniyle, özellikle tavuk etlerinin açık satışa sunumu, bu çalışmada da tespit edildiği üzere ciddi bir tüketici sağlığı riskini ortaya çıkarmaktadır. Diğer yandan açıkta satılan büyük baş hayvan etlerinde de tanımlanan oranın (%25), daha önce yürütülen araştırmalar dikkate alındığında yüksek olduğu ortaya çıkmaktadır (4, 28-30). Tüm bu bulgular, açıkta satılan etlerin sınırlandırılması ve hijyen kontrollerinin daha sık yapılması zorunluluğuna işaret etmektedir.

Ülkemiz için bir diğer kritik nokta ise; Salmonella suşlarının serovaryete düzeyinde tanısının rutin olarak yapıldığı herhangi bir laboratuvarın bulunmamasıdır. Gıda örneklerinde Salmonella analizleri sadece “var”, “yok” testleri ile gerçekleştirilmektedir. Ancak serovaryete düzeyinde tanı, gerek antibiyotik direnç gelişiminin kökeni ve gerekse klonal yayılmanın düzeyini göstermesi açısından vazgeçilmez bir öneme sahiptir. Bu bilgiler ışığında Salmonella enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisinde etkin çözümler geliştirilebilir. Bu nedenle serotiplendirmelerin rutin olarak yapılacağı ve kontrollerin bu doğrultuda yönlendirileceği laboratuvarların kurulması ve geliştirilmesi zorunludur. Bu konuda öncülük Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ile Sağlık Bakanlığı tarafından gerçekleştirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. White DG, Zhao S, Sudler R, Ayers S, Friedman S, Chen S, et al. The isolation of antibiotic resistant Salmonella from retail ground meat. *N Engl J Med*, 2001; 345: 1147-54.
2. Carattoli A, Tosini F, Giles WP, Rupp ME, Hinrichs SH, Angulo FJ, et al. Characterization of plasmids carrying CMY-2 from expanded-spectrum cephalosporin-resistant Salmonella strains isolated in the United States between 1996 and 1998. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002; 46: 1269-72.
3. Erol İ. Hayvansal gıdalardan kaynaklanan Salmonella infeksiyonları. *İnfeks. Derg*, 1999; 13: 123-127.
4. Erdem B, Ercis S, Hascelik G, Gur D, Gedikoglu S, Aysev AD, ve ark. Antimicrobial resistance patterns and serotype distribution among *Salmonella enterica* strains in Turkey, 2000-2002. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005; 24: 220-5.
5. Yazıcıoğlu N, Kaya K, Ayaz K, Şen S, Özkök S, Aksoy M, et al. Kanatlı kesimhanelerinin parçalama ünitelerinden alınan boyun ve kanat örneklerinden Salmonella izolasyonu, serotiplerme ve antibiyotik dirençliliğinin araştırılması. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 2005; 16: 23-36.
6. Aşaroğlu MD, Helmuth R, Junker E, Hertwig S, Schroeter A, Akçelik M, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance conferred by qnrS1 in *Salmonella enterica* serovar Virchow isolated from Turkish food of avian origin. *J Antimicrob Chemother*, 2007; 60: 1146-50.
7. Anonymous. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), PA, USA. 18th informational supplement, 2008; M100-S18 940.
8. Schwarz S, Chaslus-Dancla E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res*, 2001; 32 (3-4): 201-25.
9. Stürenburg E, Mack D. Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect*, 2003; 47(4): 273-95.
10. Batchelor M, Clifton-Hadley FA, Stallwood AD, Paiba GA, Davies RH, Liebana E. Detection of multiple cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from a cattle fecal sample in Great Britain. *Microb Drug Resist*, 2005; 11 (1) :58-61.
11. Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJV and Woodward MJ. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. *J Antimicrob Chemother*, 2004; 53: 208-16.
12. Poirel L, Leviandier C and Nordmann P. Prevalence and genetic analysis of plasmid mediated quinolone resistance determinants qnrA and qnrS in *Enterobacteriaceae* in a French University Hospital. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006; 50: 3992-7.
13. Chen YT, Shu HY, Li LH, Liao TL, Wu KM, Shiao YR, et al. Complete nucleotide sequence of pK245, a 98-kilobase plasmid conferring quinolone resistance and extended-spectrum-beta-lactamase activity in a clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006; 50: 3861-6.
14. Kehrenberg C, Friederichs S, de Jong A, Michael GB and Schwarz S. Identification of the plasmid-borne quinolone resistance gene qnrS in *Salmonella enterica* serovar Infantis. *J Antimicrob Chemother*, 2006; 58: 18-22.
15. Chessa D, Winter MG, Nuccio S, Tükel Ç and Bäuml AJ.. RosE represses Std fimbrial expression in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Mol Microbiol*, 2008; 68 (3): 573-87.
16. Chessa D, Dorsey CW, Winter M and Bäuml AJ. Binding Specificity of Salmonella Plasmid-encoded Fimbriae Assessed by Glycomics. *J Biol Chem*, 2008; 283 (13): 8118-24.
17. Ngwai YB, Adachi Y, Ogawa Y and Hara H. Characterization of biofilm-forming abilities of antibiotic-resistant *Salmonella Typhimurium* DT104 on hydrophobic abiotic surfaces. *J Microbiol Immunol Infect*, 2006; 39 (4): 278-291.
18. Lapierre L, Cornejo J, Borie C, Toro C and San Martin B. Genetic Characterisation of Antibiotic Resistance Genes Linked to Class 1 and Class 2 Integrons in Commensal Strains of *Escherichia coli* isolated from Poultry and Swine. *Microb Drug Resist*, 2008; 14: 265-72.
19. Liebana E, Clouting C, Cassar CA, Randall LP, Walker RA, Threlfall EJ, et al. Comparison of gyrA mutations, cyclohexane resistance, and the presence of class I integrons in *Salmonella enterica* from farm animals in England and Wales. *J Clin Microbiol*, 2002; 40 (4): 1481-6.

20. Malorny B, Schroeter A, Guerra B and Helmuth R. Incidence of quinolone resistance in strains of *Salmonella* isolated from poultry, cattle and pigs in Germany between 1998 and 2001. *Veterinary Record*, 2003; 22: 643-8.
21. Marimón JM, Gomáriz M, Zigorraga C, Cila G and Perez-Trallero E. Increasing Prevalance of Quinolone Resistance in Human Nontyphoid *Salmonella enterica* Isolates Obtained in Spain from 1983 to 2003. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004; 48: 3789-93.
22. Şenses Z, Baysallar M, Aydoğan H, Güçlü AU ve Doğanç L. Kan ve dışkı örneklerinden izole edilen *Salmonella* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri. *Gülhane Tıp Derg*, 2007; 49: 141-6.
23. Nógrády N, Tóth A, Kostyák A, Pászti J and Nagy B. Emergence of multidrug-resistant clones of *Salmonella* Infantis in broiler chickens and humans in Hungary. *J Antimicrob Chemother*, 2007; 60: 645-8.
24. Nógrády N, Kardos G, Bistyák A, Turcsányi I, Mészáros J, Galántai Z, et al. Prevalence and characterization of *Salmonella* Infantis isolates originating from different points of the broiler chicken-human food chain in Hungary. *Int J Food Microbiol*, 2008; 127: 162-7.
25. Shahada F, Sugiyama H, Chuma T, Sueyoshi M and Okamoto K. Genetic analysis of multi-drug resistance and the clonal dissemination of β -lactam resistance in *Salmonella* Infantis isolated from broilers. *Vet Microbiol*, 2009; in Press.
26. Schroeter A, Hoog B and Helmuth R. Resistance of *Salmonella* isolates in Germany. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 2004; 51: 389-92.
27. Helms M, Ethelberg S, Molbak K and the DT104 Study Group. International *Salmonella* Typhimurium DT104 Infections, 1992-2001. *Emerg Infect Dis*, 2005; 11 (6): 859-67.
28. Serdaroğlu E, Ersoy B, Atlıhan F, Aydoğan A ve Serçin B. *Salmonella* enfeksiyonlu 127 olgunun değerlendirilmesi. *İnfeksi. Derg*, 1996; 10: 333-6.
29. Küplülü Ö. Sığır karkaslarında *Salmonella* kontaminasyonu ve serotip dağılımı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 1999; 46: 25-34.
30. Anđ-Küçüker M, Tolun V, Helmuth R, Rabsch W, Boral Ö, Akbulut D, et al. Phage types, antibiotic susceptibilities and plasmid profiles of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* strains isolated in İstanbul, Turkey. *Clin Microbiol Infect*, 2000; 6: 593-9.

Maternal kanda AFP, hCG ve ankonjuge östriol düzeylerinin gebelik komplikasyonları ile ilişkisi

The relationship between pregnancy complications and AFP, hCG and unconjuge estriol level in maternal serum

Fatih BAKIR¹, H.Tuğrul ÇELİK¹, Özhan ÖZDEMİR², M.Metin YILDIRIMKAYA¹

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Ankara İli ve çevresindeki gebe populasyonunda, maternal kanda yüksek AFP, yüksek hCG, düşük AFP ve düşük ankonjuge östriol değerleri ile gebelik komplikasyonları arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Sağlık Bakanlığı, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde üçlü tarama testi yapılan 951 hastanın, gebelik sırasındaki komplikasyon oranları retrospektif olarak incelenmiştir. Her gebeden venöz kan örneği alınarak hCG, uE3 ve AFP testleri Ankara Numune Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında, Immulite One cihazında kompetitif immunoassay yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar lisanslı PRISCA programı kullanılarak, gebelik haftalarına göre daha önceden belirlenen düzeltilmiş ortancanın katları (multiple of median: MoM) değeri olarak rapor edilmiştir. Hastanın yaşı, ırkı, kilosu, sigara ve diyabet öyküsü, IVF gebelik, örnek alınma tarihi, ultrasonografi tarihindeki BPD (bi-parietal diameter) ölçümü veya son adet tarihine göre risk hesabı yapılmıştır. Maternal kanda yüksek AFP (>2 MoM), yüksek HCG (>2 MoM), düşük AFP (<0,5 MoM) ve düşük ankonjuge östriol (<0,5 MoM) değerleri bulunan hastalar MoM değerleri açısından normal olanlarla karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Toplam 951 hasta içerisinde yukarıda sayılan kriterlerden herhangi birini taşıyan 161

ABSTRACT

Objective: The aim of the study was to determine the relationship of pregnancy complications with high low AFP, high HCG and low estriol levels detected in maternal serum in the Ankara regions pregnancy population.

Method: 951 patients who had undergone triple test during pregnancy for complication rates at T.C.S.B. Ankara Numune Education and Research Hospital were determined retrospectively. Venous blood samples were taken from each patient, Beta hCG, uE3 and AFP tests performed at Ankara Numune Hospital Biochemistry laboratory by using Immulite One® system which was based competitive immunassay methods. Obtained results reported corrected multiple of the median (median multiple of: MoM) values according to pregnancy weeks by using licenced computer program (Prisca®). The risk calculation was made by Patient's age, race, weight, smoking and diabetes, history of IVF pregnancies and sampling date, using either BPD (bi-parietal diameter) measurement at ultrasound date or last menstrual period. The patients with high AFP levels (>2 MoM), high HCG levels (>2 MoM), low AFP levels (<0.5 MoM) and low estriol levels (<0.5 MoM) were compared to those with normal levels. The relationship of pregnancy complications and our findings examined.

Results: Among 161 patients of whose files were useful for inclusion criteria, nine of 30 patients of

¹ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, ANKARA

² Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Fatih BAKIR

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 312 508 40 95

E-posta / E-mail : fbakir71@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 10.08.2010

Kabul Tarihi / Accepted : 24.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.96967

Bakır F, Çelik HT, Özdemir Ö, Yıldırım Kaya MM. Maternal kanda AFP, hCG ve ankonjuge östriol düzeylerinin gebelik komplikasyonları ile ilişkisi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(4): 213-18.

hastadan, üçlü tarama testi 1/250 eşik değerin üstünde çıkan 30 hasta değerlendirilmiş ve işlemi kabul eden dokuzuna amniyosentez uygulanmıştır. Amniyosentez yapılan dokuz hastanın birinde 47XXY Trizomi 21 tespit edilmiştir. Diğer amniyosentez yapılan hastalardan sadece birinde (8, 22) inversiyon tespit edilmiştir. Bu hastanın double test riski 1/239 ve yaşı 35 idi. Üçlü test sonucu yüksek olarak değerlendirilen diğer 20 hastadan hiçbirinde amniyosentez ile ya da doğum sonrası yapılan değerlendirmede, Down sendromu tespit edilmemiştir. Üçlü test sonucu riskli verilen hastalardan birinde gestasyonel diyabet, diğerinde de Rh uyumsuzluğu tespit edilmiştir. Kayıtlarına ulaşılan tüm hastaların 16'sında yüksek AFP (>2 MoM), 48'inde yüksek hCG (>2 MoM), 21'inde düşük AFP (<0.5 MoM) ve 11'inde düşük ankonjuge östriol (<0.5 MoM) değerleri bulunmuştur.

Sonuç: Günümüzde gebelik takibinde rutin olarak istenen üçlü tarama testi sonuçları ve MoM değerlerinin diğer gebelik komplikasyonları açısından da yol gösterici olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gebelik Komplikasyonları, AFP, hCG, Ankonjuge UE3

whom tripple test results were over the critical limit; 1/250 had undergone amniosynthesis. one of those 30 had Down syndrome. No other Down syndrome detected in other 29 patients who had a risky tripple test result neither with amniosynthesis nor in delivery. There were 16 patients with high AFP (>2 MoM), 48 patients with high HCG (>2 MoM), 21 patients with low AFP (<0.5 MoM) and 11 patients with low estriol levels (<0.5 MoM) among the patients those included to the study group.

Conclusion: Down Syndrome Screening tests routinely ordered for pregnancy follow-up in daily practise. In the study, It was concluded that AFP, hCG and unconjuge estriol levels would be valuable for pregnancy complications detection.

Key Words: Pregnancy Complications, AFP, hCG, Unconjuge Estriol

GİRİŞ

Kromozomal anormalilerin doğum öncesi tanısı yaklaşık 40 yıldır yapılmaktadır. Down sendromu en sık rastlanan kromozomal problemdir. Bununla birlikte, doğum öncesi tanının ufukları sürekli genişletilmekte ve daha hızlı, daha az masraflı, gerek anne gerekse bebeğe daha az zararlı yöntemlerin geliştirilmesine çalışılmaktadır (1).

Tüm yeni doğanların %3'ünde doğumsal defektler görülmektedir. Hepsi olmasa bile çok ciddi doğumsal defektler tarama testi ile yakalanabilmektedir. Tarama programlarının çoğunun yakalamayı hedeflediği ana defektler; Nöral tüp defekti (NTD), Down Sendromu ve

Trizomi 18'dir. Anne serumunda yapılan taramaların amacı fetüste bulunabilecek bir anomalinin erken dönemde fark edilmesidir. 1970'li yılların başlarında açık nöral tüp defekti bulunan fetüs taşıyan annelerin amniyon ve serum AFP düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Bir gebenin serum AFP düzeyi sonucu o kişinin açık nöral tüp defekti bulunan fetüs dünyaya getirme riskini öngörmek için kullanılabilir. İkinci trimesterde tarama testi olarak kullanılan ve üçlü test adıyla anılan test maternal kanda bakılan alfa-feto protein (AFP), insan koryonik gonadotropini (hCG), unkonjuge Estriol (uE3) seviyelerinin kombinasyonu

ile oluşmaktadır. (2) Üçlü tarama testi ile öncelikle Down Sendromu ve NTD taraması amaçlandığı halde başta trizomi 18 olmak üzere, başka bazı genetik hastalıkların ve malformasyonların da belirlenmesine olanak sağlayabileceğine dair çeşitli veriler mevcuttur (3, 4).

Mental retardasyonun en sık nedeni ve doğumda en fazla görülen kromozom anomalisi olarak kabul edilen Down Sendromuna (Trizomi 21) sekiz yüz doğumda bir rastlandığı bildirilmektedir. Down Sendromu görülme oranının yaşla arttığı bildirilmektedir. Buna göre 35 yaşında bir kadında ikinci trimesterde bu risk 1/270, termde 1/380'dir. Aynı oranlar 40 yaş için 1/74 ve 1/106'dır. (5). Trizomi 18 ise her ne kadar 8000 doğumda bir görülse de, döllenme sırasında en sık görülen kromozom defektidir. Üçlü test kullanılarak anne serumunda yapılan tarama testlerinde, alfa - fetoprotein (AFP), hCG ve uE3'ün genellikle düşük olduğu görülür (2).

Bu çalışmada Ankara İli ve çevresinde yaşayan gebelerin oluşturduğu popülasyonda, maternal kanda yüksek AFP, yüksek hCG, düşük AFP ve düşük uE3 değerlerinin her biri ile gebelik komplikasyonları (intrauterin ölüm, prematürite intrauterin gelişme geriliği, surmaturite, preeklamsi) arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

MATERYAL METOD

Sağlık Bakanlığı Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde üçlü tarama testi yapılan 951 hastanın gebelik sırasındaki komplikasyon oranlarını retrospektif olarak incelenmiştir. Gebelik süresince ve sonrasında tanı konan fetal anomaliler ile ilgili kayıtlı hasta dosyalarından ulaşılmış yetersiz olanlara ise telefon edilerek bilgiler tamamlanmıştır. Maternal kanda üçlü test riski 1/250'nin üzerinde olan 30 hasta, double test riski 1/250'nin üzerinde olan 32 hasta, AFP MoM değeri 2'nin üzerinde olan 16 hasta, HCG MoM değeri 2'nin üzerinde olan 48 hasta, unkonjuge estriol MoM değerleri 0,5'in altında olan 11 hastanın

MoM değerleri ile normal olanlarla karşılaştırılmış ayrıca fetal komplikasyonlar açısından bilgileri değerlendirilmiştir.

Gebelerin yaşları, son adet tarihine ve ultrasonografiye göre gestasyon haftaları, maternal sistemik hastalık, ailede genetik hastalık olup olmaması ve daha önceki gebelikleri ile ilgili bilgileri retrospektif olarak incelenmiştir. Prematürite sınırı olarak 37 haftayı doldurmamış canlı gebelik sonlanmaları, surmatürite için ise beklenen doğum tarihinden 15 gün ve daha fazla bir süre geçmesi esas alınmıştır. İntra-uterin gelişme geriliği tanısı için gebelik haftasına göre bebeğin sahip olması gereken ağırlığın iki standart sapma altında olması ve en az üç haftalık izlem süresince büyüme eğrisinden progresif sapma kriteri aranmıştır. Çoğul gebeliği olanlar çalışmaya alınmamıştır.

Her gebeden venöz kan örneği alınarak hCG, uE3 ve AFP testleri Ankara Numune Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında, Immulite One cihazında kompetitif immunoassay yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar lisanslı PRISCA programı kullanılarak gebelik haftalarına göre daha önceden belirlenen düzeltilmiş ortancanın katları (multiple of median: MoM) değeri olarak rapor edilmiştir. Test hesabı için hastanın yaşı, ırkı, kilosu, sigara ve diyabet öyküsü, IVF gebelik, örnek alınma tarihi, ultrasonografi tarihi kullanılarak ya BPD (bi-parietal diameter) ölçümü veya son adet tarihine göre risk hesabı yapılmıştır.

Tarama testinin yapıldığı gebelik haftaları 15 ile 20. gebelik haftalarıydı.

BULGULAR

Toplam 951 hastadan yukarıda sayılan kriterlerden herhangi birini taşıyan 161 hastadan, 3'lü tarama testi 1/250 eşik değerinin üstünde çıkan 30 hasta değerlendirilmiş ve işlemi kabul eden dokuzuna amniyosentez uygulanmıştır.

Amniyosentez yapılan dokuz hastanın birinde 47XXY Trizomi 21 tespit edilmiştir. Diğer amniyosentez yapılan hastalardan sadece birinde

(8, 22) inversiyon tespit edilmiştir. Bu hastanın double test riski 1/239 ve yaşı 35 idi. Üçlü test sonucu yüksek olarak değerlendirilen diğer 20 hastadan hiçbirinde amniyosentez ile ya da doğum sonrası yapılan değerlendirmede Down sendromu tespit edilmemiştir. Doğum sonrası yapılan incelemelerde; bir hastada Rh uyuşmazlığı, sekiz hastada gestasyonel diyabet, bir hastada preeklamsi, bir hastada sağ renal grade 1 hidronefroz, bir hastada HELLP sendromu olduğu görülmüştür. Üçlü test sonucu riskli verilen hastalardan birinde gestasyonel diyabet, diğerinde ise Rh uyuşmazlığı tespit edilmiştir. Kayıtlarına ulaşılan tüm hastaların 16'sında yüksek AFP (>2 MoM), 48'inde yüksek HCG (>2 MoM), 21'inde düşük AFP (<0.5 MoM) ve 11'inde düşük unkonjuge estriol (<0.5 MoM) değerleri bulunmuştur.

Tablo 1. Hastalara ait ortalama değerler

Yaş ortalaması	Gestasyonel yaş ortalaması	AFP MoM	hCG MoM	uE3 MoM
38,7	17,32 hafta	1,501	1,67	1,256

TARTIŞMA

Gebeliğin ikinci trimesterinde AFP düzeyi kullanılarak yapılan Down sendromu ve nöral tüp defekti tarama programlarında yanlış pozitif sonuçların komplikasyonlu gebelikler ile birlikte olduğuna dair veriler mevcuttur (6). Özellikle yüksek AFP ve hCG seviyelerinin spontan gebelik kaybı, erken doğum, intrauterin gelişme geriliği (IUGR), ablasyo plasenta, erken membran rüptürü, inutero-fetus ölümü, gebeliğin indüklediği hipertansiyon ve düşük doğum ağırlığı gibi gebelik komplikasyonları ile birlikte olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (7-12). Bizim çalışmamızda da doğum sonrası yapılan incelemelerde bir hastada Rh uyuşmazlığı, sekiz hastada gestasyonel diyabet, bir hastada preeklamsi, bir hastada sağ renal grade 1 hidronefroz, bir hastada HELLP sendromu olduğu görülmüştür. Seppala ve Rouslahti, Rh ve ABO izoimmunizasyonu bulunan

gebelerde hem AS-AFP hem de MSAFP düzeylerin yükseldiğini bulmuşlar ve bu artışı karaciğerde AFP sentezi yapan hepatositlerin diferansiasyonunun gecikmesine bağlamışlardır (13). Bizim çalışmamızda Rh uyuşmazlığı olan hastanın Seppala ve Rouslahti ve arkadaşlarının bulgularına zıt olarak AFP MoM değeri (1, 32) değil hCG MoM değeri (4, 56) yüksek tespit edilmiştir. Lieppman ve arkadaşları ise ikinci trimester üçlü teste artmış hCG (>2 MoM) ile erken doğum, düşük doğum ağırlığı ve IUGR arasında ilişki bulunduğunu belirtmektedirler (14). Yüksek AFP veya yüksek hCG yanı sıra aşırı düşük estriol seviyesi plasental sülfataz eksikliği, fetal hipofiz/adrenal aksındaki defekt veya bazı dermatolojik problemleri düşündürmelidir. Pergament ve arkadaşları üçlü testteki uE3 seviyesi ile obstetrik komplikasyonlar arasında yakın ilişki olduğunu saptamışlardır (15). Diğer bir çalışmada üçlü tarama testinde serum AFP ve beta-hCG seviyelerinin 2.5 MoM'un üzerinde veya uE3 seviyesinin 0.50 MoM'un altında olması durumunda plasental fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak gebeliğin indüklediği hipertansiyon, intrauterin gelişme geriliği, inutero fetus ölümü gibi obstetrik komplikasyonların arttığını belirtilmektedir. (11, 12, 16-18)

Bizim çalışmamızda da literatüre uygun olarak 2,5 üzerindeki hCG MoM değerine sahip gebeliklerde gebelik komplikasyonlarının arttığı dikkati çekmektedir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada konjenital santral sinir sistemi anomalisi görülme oranı %0.12 - 3 (19), bir başka çalışmada %0.3 ve anensefali görülme oranı ise %0.2 olarak bulunmuştur (20). Bizim çalışmamızda ise konjenital santral sinir sistemi anomalisi görülmemiştir. Normal gebeliklerdeki AFP ortalaması 1.0 MoM olarak alınırsa açık spina bifidalarda ortalama AFP 3.8 MoM, anensefalide 6.5 MoM olarak tespit edilmiştir. Amniyosentez yapılmamış bir hastanın spina bifida ve chari malformasyonuna sahip olduğu bulunmuştur. Bu hastanın üçlü test sonucunda AFP MoM (3, 94) değerindeki dört katlık artış literatür ile uyumludur.

Sonuç olarak günümüzde gebelik takibinde rutin olarak istenen üçlü tarama testi sonuçları ve MoM

değerlerinin gebelik koplasyonları açısından yol gösterici olabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Ogilvie CM. Prenatal diagnosis for chromosome abnormalities: Past, present, future. *Pathol Biol.* 2003;51: 156- 60.
- Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, and David E. Burns. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Fourth Edition*, St. Louis, MO, Elsevier Saunders, 2006: 2167-86
- Simpson JL, Elias S. Pre-natal diagnosis of genetic disorders. In: Creasy, R.K. Creasy and Resnik's maternal-fetal medicine: principles and practice, 4th edition, Philadelphia, PA, Saunders/Elsevier, 2004: 61-88
- Cuckle H. Time for total shift to first trimester Down's screening. *Lancet*, 2001;358: 1658-9.
- Evans, Mark I, et al. Alpha-fetoprotein and biochemical screening. *Reproductive Risks and Prenatal Diagnosis: Norwalk, Appleton & Lange*, 1992: 233-5.
- Crandall BF, Robinson, Grau P. Risks associated with an elevated maternal serum alpha-fetoprotein. *Am J Obstet Gynecol*, 1991; 165: 58-6.
- Dungan JS, Shulman LP, Philips OP, et al. Positive serum screening for fetal Down syndrome does not predict adverse pregnancy outcome in absence of fetal aneuploidy. *J Soc Gynecol Invest*, 1994; 1: 55-8.
- Hsieh TT, Hung TH, Hsu JJ, et al. Prediction of adverse perinatal outcome by maternal serum screening for Down syndrome in an Asian population. *Obstet Gynecol*, 1997; 89: 937-40.
- Spencer K. Aneuploidy screening in the first trimester. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*, 2007; 145C: 18-32.
- Saller Jr, Devereux N, Jacob A. Canick. Current methods of prenatal screening for Down syndrome and other fetal abnormalities. *Clinical obstetrics and gynecology*, 2008; 51(1): 24-36.
- Gerald J. Mizejewski. Physiology of Alpha-Fetoprotein as a Biomarker for Perinatal Distress: Relevance to Adverse Pregnancy Outcome. *Experimental Biology and Medicine*, September 2007: 232: 993-1004
- Walton DL, Norem CT, Schoen EJ, Ray GT, Colby CJ. Second-trimester serum chorionic gonadotropin concentrations and complications and outcome of pregnancy. *N Engl J Med*, 1999; 341: 2033-8.
- Seppala M, Rouslahti E. Alpha-fetoprotein in Rh-immunized pregnancies. *Obstet Gynecol*, 1973; 42(5):637-794
- Lieppman RE, Williams MA, Cheng EY, et al. An association between elevated levels of human chorionic gonadotropin in the midtrimester and adverse pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol*, 1993; 168: 1852-7.
- Pergament E, Stein AK, Fiddler M, Kupfermanc MJ. Adverse pregnancy outcome after a false positive screen for Down Syndrome using multiple markers. *Obstet Gynecol*, 1995: 86: 255-8.
- Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, et al. Secon-trimester maternal serum marker screening: Maternal serum a-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, estriol, and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol*, 1999; 181: 968-74.
- Haddow JE. Prenatal screening for open neural tube defects, Down's Syndrome and other major fetal disorders. *Semin Perinatol*, 1990; 14: 488-503

18. Smith GC, Shah I, White IR, Pell JP, Crossley JA, Dobbie R. Maternal and biochemical predictors of antepartum stillbirth among nulliparous women in relation to gestational age of fetal death. BJOG. 2007; 114: 705-14.
19. Say B. Türk halkında çeşitli konjenital malformasyonların görülme sıklığı. Tez, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1969
20. Atasü T, Kösebay D, Palandöken N. Anensefal çocuk ve doğum. Cerrahpaşa Tıp Fak Mec, 1973; 4 : 36

Kıl demeti dizaynı ve diş macununun diş fırçalarındaki mikrobiyal kontaminasyona etkisi

The effects of the tuft design and toothpaste on the residual microbial contamination of toothbrushes

Nursen TOPCUOĞLU¹, Oya BALKANLI¹, Dilek YAYLALI¹, Güven KÜLEKÇİ¹

ÖZET

Amaç: Diş fırçaları ilk kullanımlarından itibaren ağız ve çevre yüzeylerde bulunan mikroorganizmalarca kontamine olurlar. Fırça kıllarının dizaynı ve diş macunu kullanımı bakterilerin kıllara tutunmasını etkileyebilir. Çalışmamızda; kıl demeti dizaynının ve diş macununun diş fırçalarındaki çürük yapıcı mikroorganizma kontaminasyonuna etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada; tükürük *mutans streptokok* düzeyi $>10^6$ cfu/mL olan toplam 11 diş hekimliği öğrencisi dişlerini bir hafta aralıkla ve birer kez kılları farklı tasarlanmış iki ayrı fırça ile fırçalamışlardır. Deney triklosanlı bir diş macunu kullanılarak tekrar edilmiştir. Fırçalar kullanıldıktan sonra 10 saniye musluk suyu ile yıkanmış ve her fırçadan dörder kıl demeti kopartılarak, kantitatif kültür teknikleri ile total bakteri, *mutans streptokokları*, laktobasiller ve maya yönünden incelenmiştir. İstatistiksel değerlendirme Wilcoxon testi ile yapılmıştır.

Bulgular: Her iki fırça tipinde de streptokoklar; *mutans*, *laktobasil*, *maya* ve toplam bakteri tutuculuğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Macun kullanımı ile fırça

ABSTRACT

Objective: Toothbrushes may become contaminated after a single use by a wide array of microorganisms which are present both in the oral cavity and in the external environment. The retention and survival of microorganisms may depend on brush design and toothpaste usage. We aimed to investigate the effect of the brush tuft design and the use of toothpaste on the cariogenic microbial contamination of toothbrushes.

Method: Totally 11 dental students whose salivary *mutans streptococci* levels were $>10^6$ cfu/mL, brushed their teeth using toothbrushes with two different tuft design using once at one-week intervals. The experiment was also repeated using a triclosan-containing toothpaste. After use, each toothbrush was rinsed under running tap water for 10 s and four tufts were processed for total bacteria, *mutans streptococci*, *lactobacilli* and yeast counts using culturing techniques. Microbial colony-forming units for a given brush type for the same volunteers were compared using Wilcoxon test.

Results: No statistically significance was found in terms of *mutans streptococci*, *lactobacilli*, yeast and total bacteria adhesion between the two types of toothbrushes ($p>0.05$). Brushing with toothpaste,

¹ İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, İSTANBUL

İletişim / Corresponding Author : Nursen TOPCUOĞLU

İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, İSTANBUL

Tel : +90 212 414 25 95

E-posta / E-mail : nurtopcu@istanbul.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 10.08.2010

Kabul Tarihi / Accepted : 24.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.69672

Topcuoğlu N, Balkanlı O, Yaylalı D, Külekçi G. Kıl demeti dizaynı ve diş macununun diş fırçalarındaki mikrobiyal kontaminasyona etkisi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(4): 219-24.

üzerindeki bakteri sayıları belirgin olarak azalmış ($p<0,05$), maya sayısında belirgin fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Sonuç: Ağız mikroorganizmaları diş fırçalarına kolaylıkla kolonize olabilmektedir. Diş macunu diş fırçası kontaminasyonunu belirgin olarak azaltırken, bu çalışmada kullanılan kıl demeti dizaynlarının kontaminasyonda etkisi bulunamamıştır. Diş fırçalarındaki mikroorganizma yükünü azaltmak için geliştirilmeye çalışılan yeni teknolojilere rağmen, triklosanlı diş macunu kullanımının bu konuda etkili ve kolay bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çürük yapıcı mikroorganizmalar, diş fırçası, diş macunu, kıl demeti dizaynı

significantly decreased the bacteria on toothbrush bristles ($p<0.05$); while it did not effect the yeast counts ($p>0.05$).

Conclusion: The oral microorganisms can quickly colonize on toothbrushes. Toothpastes can significantly reduce contamination of toothbrushes but the tuft design of the toothbrushes used in this study does not affect their amount. Despite trying to develop new technologies, the use of triclosan-containing toothpaste seems to be an effective and easy way of reducing microbial load on the toothbrushes.

Key Words: Cariogenic microorganisms, toothbrush, toothpaste, tuft design

INTRODUCTION

Toothbrushes may become contaminated after a single use by a wide array of microorganisms which are present both in the oral cavity and in the external environment (1-3). Microorganisms can remain viable on toothbrush bristles for periods ranging from 4 hours to 7 days (4-6). Therefore, the routine use of contaminated toothbrushes might contribute to disseminate microorganisms within the oral cavity (7).

Caries risk is high at the individuals with high salivary *mutans streptococci* (MS), *lactobacilli* (LB) and *yeast* levels. The survival of the cariogenic microorganisms on the brushes of these persons can cause the persistence of caries risk by reinoculation. The retention and survival of microorganisms may depend on brush design and the quality of the plastic and bristles. The influence of brush design and quality of the bristles on the microbial retention was investigated in several studies (7, 8). But there is no study which shows the effect of the tuft design on microbial contamination of toothbrushes.

In response to these reports, several studies have focused on methods of toothbrush disinfection.

A simpler way of reducing the microbial load on a toothbrush is by using toothpaste. Recently, antimicrobial toothpastes that contain triclosan have been introduced; triclosan is a compound commonly used for disinfection. To date, there are only few studies on these toothpastes which show their effect on the residual microbial contamination of toothbrushes (4-6).

We aimed to investigate and compare the retention of cariogenic species on two types of toothbrushes manufactured by the same company with different tuft design and the impact of triclosan-containing toothpaste on the microbial contamination.

MATERIAL AND METHODS

Study population

The study was performed at Istanbul University Faculty of Dentistry, in 2008. Totally 11 dental students (five girls, six boys) with a mean age 19.5 years (range 19-21) whose salivary *mutans streptococci* levels were $>10^6$ cfu/ml were included in this study. Written informed consent was obtained from all volunteers which was approved by the Local

Ethics Committee of Istanbul University Faculty of Medicine No: 2008/1210.

Experimental design

At first, paraffin stimulated whole saliva was collected for five minutes in order to determine the salivary *mutans streptococci* (MS), *lactobacilli* (LB) and yeast levels of the volunteers.

The study protocol was carried out as a four-stage changeover system with a one-week interval between each stage. A new (unused) toothbrush manufactured by the same company (Colgate-Palmolive Company) was used once. A straight (Colgate Twister) and circular (Colgate 360° sensitive) tuft designed toothbrushes (referred to hereafter as brushes A and B, respectively), and a NaF (0.14w/v) toothpaste containing sodium laurel sulfate, PVM/MA copolymer and triclosan (Colgate Total) were used for the study. The toothbrushes without and with toothpaste were used, respectively. In each stage, the volunteers brushed their teeth for two minutes using Bass' method. After brushing, the bristles were rinsed under running tap water for 10s and transported to the laboratory at room temperature in a dry environment.

Laboratory procedures

Four tufts of each toothbrush were cut and suspended in 1 ml sterile saline for microbial analysis. After homogenized by vortexing for 30s, serial 10-fold dilutions of all samples were prepared. Aliquots of 0.1 ml of appropriate dilutions were then plated on blood agar (trypticase-soy-agar, Merck KgaE, Darmstadt, Germany) supplemented with %5 defibrinated sheep for total bacteria; on Mitis Salivarius Bacitracin agar (MSB) (Acumedia Man Inc., Baltimore, Maryland) for *mutans streptococci*; on Rogosa Agar (Merck) for *lactobacilli* and on Sabouraud Dextrose Agar (Merck) for yeast counts (9, 10). MSB Agar and Rogosa Agar plates were incubated in air supplemented with 10% CO₂, while the blood agar plates were incubated

anaerobically in GasPak jars (Gas Generation kit, Oxoid Ltd, Basingstone, Hampshire, UK) and Sabouraud Dextrose Agar plates were incubated aerobically. After 48 h incubation at 37 °C, the colonies were counted and results were expressed as the total number of colony-forming units (cfu/ml).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 17.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Microbial colony-forming units for a given brush type for the same volunteers were compared using Mann-Whitney test. The level of significance was defined as $p < 0.05$.

RESULTS

All the volunteers harbored high salivary MS ($>10^6$ cfu/ml), LB ($>10^5$ cfu/ml) and yeast ($>10^3$ cfu/ml) levels.

Isolation frequencies for the microorganisms observed in each groups are shown in Table 1. Average mean counts expressed as cfu/ml for the microorganisms for positive samples after the brushing without toothpaste are shown in Table 2. As the measurements for the same volunteers were correlated, no statistical significance was found in terms of *mutans streptococci* (MS), *lactobacilli* (LB), yeast and total bacteria adhesion between the two types of toothbrushes ($p > 0.05$).

Table 1. Isolation frequencies of toothbrush contamination by *mutans streptococci* (MS), *lactobacilli* (LB) and yeasts after brushing with/without toothpaste (n=11).

	Brush A		Brush B	
	Without paste	With paste	Without paste	With paste
MS	11 (100%)	5 (45.5%)	11 (100%)	1 (9.1%)
LB	11 (100%)	2 (18.2%)	9 (81.8%)	3 (27.3%)
Yeast	4 (36.4%)	1 (9.1%)	6 (54.5%)	0 (0.0%)

MS= *Mutans streptococci*, LB= *Lactobacilli*
Detection limit= 10 cfu/mL

The detection frequencies of *Mutans streptococci* (6/22 versus 22/22), *lactobacilli* (5/22 versus 18/22) and yeasts (1/22 versus 10/22) were lower in all types of toothbrushes after brushing with toothpaste (Table 1). The toothbrushes, without distinction, harbored significantly lower numbers of bacteria ($p < 0.001$) and yeasts ($p < 0.05$) after brushing with toothpaste than brushing without toothpaste using the same brush type (Table 2).

Table 2. Median values for the microorganisms on the brush tufts according to the brush type after brushing with/without using toothpaste (n=11).

	Brush A		Brush B	
	Without paste	With paste	Without paste	With paste
MS	9.000	0 *	0	29.1+69.3 *
LB	1.000	0 *	10	1.0+3.0x10 ^{2**}
Yeast	0	0	20	0
TVC	2.400.000	4.000 *	13.000.000	2.000 *

MS= *Mutans streptococci*, LB= *Lactobacilli*,

TVC= total viable count for the bacteria.

*, ** Significantly lower numbers according to the same brush ($p < 0.001$, $p < 0.05$)

DISCUSSION

According to the results of this study, new toothbrushes harbor a high number of bacteria, including cariogenic bacteria and yeasts, immediately after first brushing. The immediate contamination of toothbrushes has also been shown in previous studies (4-6,11). Bacterial counts tend to increase with repeated use. Used toothbrushes have been shown to reveal bacterial contamination with various microorganisms which colonize in the oral cavity, related to dental status of the patients (2, 12, 13). Müller et al., examined toothbrushes from juvenile periodontitis patients infected by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and found 69% of the brushes harbored this species (14). Svanberg investigated toothbrushes used by people who

were severely infected with *Mutans streptococcus* (15). Toothbrushes were still contaminated with *M. streptococcus* even after being stored in dry air for 24 hours. In our study, we selected the patients with high salivary MS level which has an important role in the development and progression of dental caries (16). In this study, all the toothbrushes, without toothpaste, contaminated with MS after only one use. Besides two, all the toothbrushes also harbored LB (91%), while ten (45%) harbored yeasts. The total cultivable bacteria counts were $>10^5$ cfu/ml. These findings were nearly similar for each of the toothbrushes examined in our study.

Manual toothbrushes can be classified according to a number of features including the hardness, shape and type of bristles, as well as handle design. Consumers may have difficulty in selecting a proper toothbrush, owing to a plethora of products that are being marketed with the claims of superiority in size, design, hardness and plaque removal efficacy (17).

The influence of brush design and quality of the bristles on the microbial retention was investigated in several studies. *Porphyromonas gingivalis* and *M. streptococcus* retention were conversely better in two different toothbrushes in an in-vitro study (7). Wetzel et al. showed that the toothbrushes made with the technique of individual in-mold placement of the filaments retained the least amount of microorganism compared to other toothbrushes made with different anchoring techniques (staple-set and in-mold tufting) (8). It has been shown that the anchoring part of the tufts was not the primary niche for microorganisms on the toothbrush (5). In our study, we investigated the toothbrushes with “anchorless” manufacturing technologies. There were no significant differences between the mean numbers of microorganisms attached to and surviving on the two types of tested toothbrushes with different tuft design.

There have been several studies that have examined different ways of reducing contamination of toothbrushes. Some reported decontamination

via antiseptics, others by coating toothbrush filaments with antiseptic substances (3, 4, 6, 18, 19). While coated tufts failed to limit the bacterial contamination, decontamination via antiseptics was reported to be successful in these studies.

A simpler way of reducing the microbial load on a toothbrush is by using toothpaste. There are studies that have shown positive results after use of toothpaste during brushing. Quirynen et al. reported that the use of detergent containing toothpaste had reduced the bacterial survival rate by 2 logs (5). This result was significant, where toothpaste without detergent only had an insignificant bactericidal effect. Toothpastes containing amine fluoride, stannous fluoride and triclosan were also shown to have strong impacts on reducing microbial load of the toothbrushes (4, 6). The results of our study agree with those of the above studies. The mean number of the bacteria attached to the toothbrushes, was significantly reduced after the use of toothpaste with triclosan, which have well known antimicrobial effects. Only six (27%), five (23%) and one (5%) of the 22 toothbrushes revealed *MS*, *LB* and *yeasts* after using toothpaste, respectively. Distinct from

those above studies, Warren et al. reported that the isolation frequencies of toothbrush contamination by *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* were not significantly different between brushing without and with triclosan-containing toothpastes (20).

Toothpaste, in general, has an impact on the bacterial contamination of toothbrushes. The cariogenic microorganisms on toothbrushes are inhibited by triclosan-containing toothpaste.

CONCLUSIONS

We isolated cariogenic microorganisms from toothbrushes after one-time brushing. The brush tuft design of the toothbrushes used in the study did not affect their amount while triclosan-containing toothpaste significantly inhibited the cariogenic microorganisms. Long-term use of a toothbrush with toothpaste may result in findings different from those of our study, which involved one-time brushing with a new toothbrush.

Despite trying to develop new technologies, the use of triclosan-containing toothpaste seems to be an effective and easy way of reducing microbial load on the toothbrushes.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank Ozge Demirci and Merve Kavakci for their assistance in patient selection.

REFERENCES

1. Glass RT, Jensen HG. More on the contaminated toothbrush: the viral story. *Quintessence Int*, 1988; 19 (10): 713-6.
2. Glass RT, Lare MM. Toothbrush contamination: a potential health risk? *Quintessence Int*, 1986; 17: 39-42.
3. Nelson-Filho P, Faria G, da Silva RA, Rossi MA, Ito IY. Evaluation of the contamination and disinfection methods of toothbrushes used by 24- to 48-month-old children. *J Dent Child (Chic)*, 2006; 73 (3): 152-8.
4. Efstratiou M, Papaioannou W, Nakou M, Ktenas E, Vrotsos IA, Panis V. Contamination of a toothbrush with antibacterial properties by oral microorganisms. *J Dent*, 2007; 35 (4): 331-7.
5. Quirynen M, De Soete M, Pauwels M, Goossens K, Teughles W, Van Eldere J, et al. Bacterial survival rate on tooth and interdental brushes in relation to the use of toothpaste. *J Clin Periodontol*, 2001; 28: 1106-14.

6. Quirynen M, De Soete M, Pauwels M, Gizani S, Van Meerbeek B, Van Steenberghe D. Can toothpaste or a toothbrush with antibacterial tufts prevent toothbrush contamination? *J Periodontol*, 2003; 74 (3): 312-22.
7. Bunetel L, Tricot-Doluex S, Agnani G, Bonnaure-Mallet M. In vitro evaluation of the retention of three species of pathogenic microorganisms by three different types of toothbrush. *Oral Microbiol Immunol*, 2000; 15 (5): 313-6.
8. Wetzel W-E, Schaumburg C, Ansari F, Kroeger T, Sziegoleit A. Microbial contamination of toothbrushes with different principles of filament anchoring. *J Am Dent Assoc*, 2005; 136 (6): 758-65.
9. Gold OG, Jordan HV, Van Houte J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol*, 1973; 18 (11): 1357-64.
10. Rogosa M, Mitchell JA, Wiseman RF. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli. *J Bacteriol*, 1951; 62 (1): 132-3.
11. Nelson-Filho P, Ispier AR, Assed S, Faria G, Ito IY. Effect of triclosan dentifrice on toothbrush contamination. *Pediatr Dent*, 2004; 26 (1): 11-6.
12. Malmberg E, Birkhed D, Norvenius G, Norén JG, Dahlén G. Microorganisms on toothbrushes at day-care centers. *Acta Odontol Scand*, 1994; 52 (2): 93-8.
13. Verran J, Leahy-Gilmartin AA. Investigations into the microbial contamination of toothbrushes. *Microbios*, 1996; 85 (345): 231-8.
14. Müller HP, Lange DE, Müller RF. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* contamination of toothbrushes from patients harbouring the organism. *J Clin Periodontol*, 1989; 16 (6): 388-90.
15. Svanberg M. Contamination of toothpaste and toothbrush by *Streptococcus mutans*. *Scand J Dent Res*, 1978; 86 (5): 412-4.
16. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev*, 1986; 50 (4): 353-80.
17. Sasan D, Thomas B, Mahalinga BK, Aithal KS, Ramesh PR. Toothbrush selection: a dilemma? *Indian J Dent Res*, 2006; 17 (4): 167-70.
18. Caudry SD, Klitorinos A, Chan EC. Contaminated toothbrushes and their disinfection. *J Can Dent Assoc*, 1995; 61 (6): 511-6.
19. Nelson-Filho P, Macari S, Faria G, Assed S, Ito IY. Microbial contamination of toothbrushes and their decontamination. *Pediatr Dent*, 2000; 22 (5): 381-4.
20. Warren DP, Goldschmidt MC, Thompson MB, Adler-Storthz K, Kene HJ. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *J Am Dent Assoc*, 2001; 132 (9): 1241-5.

Walker 256 tümörlü ratlarda Argininle takviye edilen diyetin hayatta kalmaya etkisi

Survival of rats with walker 256 tumor after oral supplementation of Arginine in the diet

Maria Rita Carvalho Garbi NOVAES¹, Fabiani Lage Rodrigues BEAL², Roberto Cañete VILLAFRANCA³

ÖZET

Amaç: Bu çalışma Walker 256 tümörlü ratların %8'lik arginin içeren diyetle sağ kalım sürelerinin arttırılmasını değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Bu çalışma deneysel, rastgele ve çift kör metodla yapılmıştır. Denede ratlar 3 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba (placebo) walker 256 tümör aşılmasından 7 gün önce sonda yardımı ile su verilmiştir. İkinci grup tümör aşılmasından 48 saat sonra %8'lik arginin solüsyonu almıştır. Üçüncü grup ise tümör aşılmasından 7 gün önce %8'lik arginin solüsyonu ile beslenmeye başlanmıştır.

Bulgular: Tümoral aşılamaadan 7 gün önce beslenmeye başlayan üçüncü grup diğer iki gruba nazaran daha fazla hayatta kalmıştır. (21 gün p=0.0001) Aşılamaadan 48 saat sonra beslenen grupta hayatta kalma süresi (20 gün p=0.0001) placebo grubuna nazaran daha fazladır.

Sonuç: Sonuçlar göstermektedir ki Arginin takviyesi alan iki grup placebo grubuna nazaran hayatta kalma süresi açısından bundan fayda görmüşlerdir. Ayrıca arginin takviyesine tümör aşılmasından önce başlayan grupta bu etki daha fazladır.

Anahtar Kelimeler: Arginin, kanser, hayatta kalım, Walker 256 tümörü.

ABSTRACT

Objective: This study was undertaken to assess the effect of L-arginine at 8% on extended survival of rats with Walker 256 tumor.

Method: The study is experimental, randomized, double blind. The animals for this experiment were divided in 3 groups. The first group (placebo) received gavage with water, seven days before the inoculation of Walker 256 tumor. The second group received 8% L-arginine solution of caloric ingestion 48 hours after the tumoral inoculation. The third group received 8% L-arginine solution of total caloric ingestion, initiated seven days before the tumoral inoculation.

Results: The third group, supplemented seven days before the tumoral inoculation, presented greater extended survival (21 days, p=0.0001) when compared to animals from the other two. Animals supplemented 48 hours after the tumoral inoculation presented greater extended survival (20 days, p=0.0001) when compared to the placebo group (19 days, p=0.0001).

Conclusion: The results suggest that both groups supplemented with 8% L-arginine presented beneficial results in respect to extended survival when compared to the placebo group, and better yet if the amino acid was administered before the tumoral inoculation.

Key Words: Arginine, cancer, survival, Walker 256 tumor.

¹ School of Medicine, Escs/fepecs, BRAZIL

² Nutrition Institute, Catholic University, Brasília, BRAZIL

³ Centre of Hygiene, Epidemiology and Microbiology, Matanzas City, Cuba. Cuban Institute of Gastroenterology, Havana City, CUBA

İletişim / Corresponding Author : Maria Rita Carvalho Garbi NOVAES

School of Medicine, Escs/fepecs, BRAZIL

Tel : 71 625 060

E-posta / E-mail : ritanovaes@ig.com.br

Geliş Tarihi / Received : 25.04.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 24.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.48344

Novaes MRCG, Beal FLR, Villafranca RC. Walker 256 tümörlü ratlarda Argininle takviye edilen diyetin hayatta kalmaya etkisi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(4): 225-8.

INTRODUCTION

Many investigations are underway to prevent cancer, increase life expectancy and improve the patient's quality of life (1-4). The pursuit of these goals has stimulated the search for new drugs and supported traditional and non-traditional pharmacological therapies with certain nutrients, among which Arginine, for its known influence on the immunological system. These nutrients seem to stimulate the production of T lymphocytes, cytokines, nitric oxide, and polyamines. Studies report that dietary supplementation with Arginine in adult cancer patients may have positive effects through a decrease of tumoral growth and extent of life expectancy (5).

Over the last years many studies have been carried out with the intention of defining one or more substances that are proved to perform this function. Revised studies suggest that dietary arginine supplementation in adult cancer patients presents possible effects on the immunologic system, mainly concerning the alteration of tumoral growth and life expectancy of patients (6-8). There are controversies concerning the pharmacological effect of nutritional supplementation with arginine in the immunologic system of cancer bearers. In clinical and experimental studies, arginine has increased immunity through the association of several mechanisms: release of growth hormone, stimulation of nitric oxide, hydroxyproline, cytokines and polyamines. The regulatory mechanism of the metabolism of this amino acid in tumoral tissues has fundamental importance to evaluate therapeutical elements that effectively prevent tumor genesis (9-14).

The objective of this work is to evaluate the effect of L-arginine at 8% on the extended survival of young rats, when administered 7 days before and 48 hours after the inoculation of solid Walker 256 tumor.

METHODS AND MATERIALS

Experimental design

The study was carried out with double-blind, placebo-controlled, with random sampling. Male

young rats (n=60) were divided into three groups (placebo, 8% arginine 48 hours after tumoral inoculation and 8% arginine seven days before tumoral inoculation). All groups were submitted to the same intervention, with solution administered every 12 hours, by esophageal gavages, initiated 12 hours after the inoculation, kept until life was interrupted. The experimental group received arginine (arginine cloridrate, Laboratory Ajinomoto Brazil) at 8% dosage of the total amount of calories estimated in a young rat by gavages, in two daily administrations, until their death. The placebo group received a solution without arginine. The start point for counting down the survival of the animals was immediately after the tumoral inoculation until death. The project has been approved by the Ethics Committee in Animals Studies of the University of Brasília, Brazil, and the protocol of the General United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research was followed.

Preparation of animals

Rats Wistar (n=60), males, isogenic, age ranging from 40 to 50 days, were kept under identical temperature, artificial light exposure for 12 hours a day in alternated cycles, and identical amount of food and water (Labina-Purina, Brazil) ad libitum.

Inoculated tumor

The Walker 256 tumor (W256 tumor) was kindly provided by the Department of Physiology, IB/ UNICAMP. The line originally came from the National Cancer Institute Bank, Cambridge, MA, USA. The tumor is currently kept under liquid N₂ and is maintained through intraperitoneal passages in rats. Rats received four inoculations on the lumbar region of 5×10^6 tumor cells each in 0.25ml of Ringer-lactate.

STATISTICAL ANALYSIS

Data was analyzed with software SAS (Statistical Analysis System), using variance analysis procedures (ANOVA) and Student's test - and later with Duncan's and Student- Newman-Keules tests. Statistically $p < 0,05$ was considered significant.

RESULTS

Effects on the survival of animals supplemented with L-arginine.

Table 1 shows the results in time of the survival of each group of animals after the tumoral inoculation, starting the day animals begin to diet.

The table demonstrates that animals belonging to the placebo group, on the 1st day of inoculation the probability of survival is 100%; on the 17th after the inoculation this probability drops to 80%; on the 18th day it drops to 37,5%; on the 19th the probability is 22,5%; and on day 20 no animals from this group will be alive.

It was also observed that animals belonging to the group supplemented 48 hours after the tumoral inoculation, on day one of the inoculation the probability of survival is 100%; on the 19th day after the inoculation this probability is of 75; on the 20th day it drops to 27,5; on day 21 the probability is that no animals of this group will be alive.

As for animals from the group supplemented seven days before the tumoral inoculation, around day 20 after the inoculation, 42,5% of them have the probability of being alive. The probability drops to 20% on day 21; and on day 22 after the inoculation no animals from this group will be alive.

Analyzing the survival of the three groups through the Kaplan-Meir curve, we found the following results regarding the survival of rats studied after day 20th:

- a- the probability that rats from the group supplemented seven days before the inoculation the survival beyond this period is 42,5%;
- b- rats belonging to the group supplemented 48hs after the inoculation presented 27,5% survival percentage after the 20th day of inoculation; and
- c- For rats belonging to the placebo group, the probability of survival after 20 days is zero.

Comparing the curves of survival (Table 1), we see that rats of the placebo group tend to live less than the group supplemented 48 hours after inoculation, this one tend to live less than the group supplemented seven days before the tumoral inoculation ($p=0,0001$).

Table 1. Survival probability (%) of rats with Walker 256 tumor with oral supplementation with arginine 8% in the diet

Group	Day						
	0	17	18	19	20	21	22
Placebo	100,0	80,0	37,5	22,5	0,0	0,0	0,0
Arginine 8%, 48hr after	100,0	100,0	100,0	75,0	27,5	0,0	0,0
Arginine 8%, 7 days before	100,0	100,0	100,0	100,0	42,5	20,0	0,0

$p = 0,0001$

DISCUSSION

The present study has demonstrated a positive and significant correlation among the groups supplemented with L-arginine at 8% of VCT when compared with the placebo group. Also, among controlled groups there were significant differences, the greatest survival period being presented by the animals of the group supplemented with L-arginine at 8% of total caloric value seven days before tumoral inoculation.

The use of supplements being able to increase immunologic response in preoperative tests, cancer patients, trauma and sepsis, suggests a positive response from those individuals. Experiments indicate that the administrations of immune-nutrients before and after the surgery, in case of trauma, sepsis or cancer, can induce to better results. The same prognosis has been observed in studies with cancer patients and in studies with radio and chemotherapy (15-19).

The majority of works found in science literature relates that supplementation with L-arginine in preoperative stage should be ministered between 7 to 10 days before the event to guarantee effective stimulation of the immune system through the production of cytokines and polyamines (20-22). The collected data in this study corroborates with findings in the literature which demonstrate that when supplementation with L-arginine occurs around the 7th day before the tumoral inoculation, there is a better immune response of the subject under aggression that may be tumoral, trauma or sepsis, such response being a longer survival with less

complications (23-24). The findings leads us to believe that supplementation with arginine at 8% beginning seven days before and 48 hours after the tumoral

inoculation, have presented beneficial effects on the survival of animals in the controlled groups compared to the placebo group.

REFERENCES

1. Novaes MRCG, Beal FLR. Pharmacology of L-arginine in cancer patients. *Rev Bras Cancerol*, 2004; 50 (4): 321-5.
2. Novaes MRCG, Pantaleão C. Pharmacological effects of nutritional supplementation of arginine in gastrointestinal cancer patients. *Brazilian Journal of Clinical Nutrition*, 2004; 19(1): 26-31.
3. Organización Panamericana De La Salud, Programa Especial De Análisis De Salud. *Iniciativa Regional de Datos Básicos en Salud; Sistema de Información Técnica en Salud*. Washington DC, 2001. Available in: <<http://www.paho.org/Spanish/sha/coredata/tabulador/newTabulador.htm>> Access in: Feb. 2004.
4. Novaes MRCG, Lima LAM. Effect of dietetic supplementation with L-arginine in cancer patients. A review of the literature. *Arch Latinoamer Nutr*, 1999; 49: 301-6.
5. Novaes MRCG, Lima LAM, Novaes LCG, Souza MV. Metabolic and hemathological effects of dietary supplementation with arginine on rats bearing ascitic Walker 256 tumor. *Ann Nutr Metab*, 2004; 48: 404-8.
6. Poulin, E. Prophylactic nutrition. *Can J Surg*, 1991; 34 (6): 555-9.
7. Braga M, Gianotti L, Vignali A, Cestari A, Bisagni P, Di Carlo V. Immunonutrition in gastric cancer surgical patients. *Nutrition*, 1998; 14: 831-5.
8. Atkinson F, Sieffert E, Bihari D. A prospective, randomised, double-blind, controlled clinical trial of enteral immunonutrition in the critically ill. *Crit Care Medicine*, 1998; 26(7): 1164-72.
9. Mainous MR, Deitch E. Nutrition and infection. *Surg. Clin. North Am.* 1994; 74(3):659-76.
10. Saunders C, Nishikama R, Wolfe B. Surgical nutrition: a review. *J. R. Coll Surg Edin*, 1993; 38(4): 195-204.
11. Brennan MF. Malnutrition in patients with gastrointestinal malignancy. Significance and management. *Dig Dis Sci*, 1986; 31: 77-99.
12. Novaes, MRCG, Lima LAM, Sousa MV. Maillard's reaction in parenteral solutions supplemented with arginine. *Arch Latinoamer Nutr*, 2001; 51: 265-8.
13. Novaes, MRCG, Pantaleão CM. Arginine biochemistry, physiology, and therapeutic implications in gastrointestinal cancer patients. *Rev Cienc Med*, 2005; 14(1): 67-77.
14. Novaes MRCG, Lima LAM, Ribeiro JEG, Magalhães AV, Sousa MV, Morhy L. Pharmacological effects of arginine supplementation in rats with Walker 256 solid tumor. *Arch Latinoamer Nutr*, 2000; 50: 230-6.
15. De Luis DA, Arranz M, Aller R, Izaola O, Cuellar L, Terroba MC. Immunoenhanced enteral nutrition, effect on inflammatory markers in head and neck cancer patients. *Eur J Clin Nutr*, 2005; 59 (1): 145-7.
16. Barbul A. Arginine: Biochemistry, physiology and therapeutic implications. *J Parenter Enteral Nutr*, 1986; 10: 227-38.
17. Gianotti L, Braga M, Nespole L, Radaelli G, Beneduce A, Di Carlo V. A randomized controlled trial of preoperative oral supplementation with a specialized diet in patients with gastrointestinal cancer. *Gastroenterology*, 2002; 122 (7): 1763-70.
18. Heslin MJ, Brennan MF. Advances in perioperative nutrition: cancer. *World J Surg*, 2000; 24 (12): 1477-85.
19. Heyland DK, Novak F, Drover JW, Jain M, Su X, Suchner U. Should immunonutrition become routine in critically ill patients? A systematic review of evidence. *JAMA*, 2001; 286 (8): 944-53.
20. Van Borkhorst-De Van Der Schueren MAE, Quak JJ, von Blomberg-van der Flier BME, Kuik DJ, Langendoen SI, Snow GB et al. Effect of perioperative nutrition, with and without arginine supplementation, on nutritional status, immune function, postoperative morbidity, and survival in severely malnourished head and neck cancer patients. *Am J Clin Nutr*, 2001; 73 (2): 323-32.
21. Tachibana L, Mukai K, Moriguchi S, Takama S, Kishino Y. Evaluation of the effect of arginine-enriched amino acid solution on tumor growth. *J Parenter Enteral Nutr*, 1985; 9: 428-34.
22. Webster NR, Galley HF. Nutrition in the critically ill patient. *J R Coll Surg Edimb*, 2000; 45(6): 373-9.
23. Reynolds JV, Daly JM, Shou J, Sigal R, Ziegler MM, Naji A. Immunological effects of arginine supplementation in tumor bearing and non tumor bearing hosts. *Ann Surg*, 1990; 211: 202-10.
24. Nitenberg G, Raynard B. Nutritional support of the cancer patients: issues and dilemmas. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2000; 34 (2): 137-68.

Bir olgu nedeniyle tüberküloz spondilodiskit

A case of tuberculous spondylodiscitis

Reyhan YİŞ¹, Hadiye DEMİRBAKAN², Nuran AKMİRZA-İNCİ³, Erdal YAYLA⁴

ÖZET

Akciğer dışı tüberküloz (ADTB) gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, akciğer tüberkülozu (TB) gibi önemli bir sağlık sorunudur. ADTB primer enfeksiyondan yıllar sonra ortaya çıkabileceği gibi hızla ilerleyerek akut bir tablo ile de kendini gösterebilir. TB tanısı genellikle aside dirençli basil (ARB) boyama, radyografi bulguları gibi geleneksel yöntemler ve kültür ile konulmaktadır. Mevcut tanı yöntemleri örnekteki düşük mikobakteri seviyeleri veya zaman alıcı prosedürler nedeniyle yetersiz kalmaktadır. Bu yazıda TB PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile tanı konmuş bir ADTB vakası sunulmaktadır. Radyolojik ve patolojik bulgular TB için kuşkulandırıcı olsa da ARB incelemesinde ve TB kültüründe pozitiflik saptanmamıştır. 34 yaşında kadın hasta, 3-4 yıldır var olan ve son 10 günde artış gösteren bel ağrısı yakınması ile başvurmuştur. Hasta beyin cerrahisi kliniğine spondilodiskit öntanısı ile yatırılmıştır. Öyküsünde ateş ve gece terlemesi olmadığı ancak iştahsızlık ve son birkaç ayda kilo kaybı olduğu öğrenilmiştir. Direkt akciğer grafisi ve toraks bilgisayarlı tomografisi (BT) normal olarak saptanmıştır. Çekilen kontrastlı lomber magnetik rezonans (MR) grafisinde L2-3 seviyesinde, psoas kasında yoğun kontrast tutulumu, lomber BT'de L2-3 vertebra korpus ve posterior elemanlarda kemik destrüksiyonu tesbit edilmiştir. Hastaya tanı ve tedavi amacı ile planlanan cerrahi operasyon esnasında abse drenajı yapılmıştır. Örneğin mikroskopik incelemesinde ARB negatif olarak saptanmıştır.

ABSTRACT

Extrapulmonary tuberculosis (EPTB) is an important health problem like pulmonary TB in both developing and developed countries. EPTB may occur years after the primary infection or it may manifest itself as a rapidly progressive disease. TB is generally diagnosed by traditional methods, such as expectorate smear microscopy, chest radiography findings and expectorate culture. Current diagnostic procedures remain inadequate due to low mycobacteria levels in sample and/or time consuming procedures. We presented a case of EPTB who was diagnosed with TB polymerase chain reaction (PCR). Although the radiological and pathological findings were suspicious for TB, searching for acido-resistant bacilli (ARB) and TB culture did not reveal a positivity. A 34 year old woman patient presented with 3-4 years history of waist pain which increased in the last 10 days. The patient was admitted to neurosurgery clinic with a prediagnosis of spondylodiscitis. The past history revealed that she had no fever and night sweating but she had decreased appetite and weight loss in the last few months. X-ray chest graphy and computed tomography of the thorax were normal. While lomber magnetic resonance (MR) with contrast revealed dense contrast involvement in psoas muscle, lomber CT revealed bone destruction in corpus and posterior element of vertebra at L2-3 level. Abscess drainage was performed during surgery which was done for diagnosis and treatment. While no bacteria was grown

¹ İzmir Menemen Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, İZMİR

² Gaziantep Şehit Kamil Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, GAZİANTEP

³ Gaziantep Şehit Kamil Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları, GAZİANTEP

⁴ Gaziantep Şehit Kamil Devlet Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi, GAZİANTEP

İletişim / Corresponding Author : Reyhan YİŞ

İzmir Menemen Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, İZMİR

Tel : +90 232 832 58 59-1487

E-posta / E-mail : reyhanyis@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 29.03.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 28.08.2012

LJ (Lowenstein- Jensen) besiyerinde gerçekleştirilen TB kültüründe de üreme gözlenmemiştir. Patolojik incelemede kronik inflamasyon, fibrozis ve granümatöz reaksiyon gözlenmiştir. Aynı örnekten Real-Time PCR yöntemi ile çalışılan TB PCR sonucu ise pozitif olarak bulunmuştur. Son yıllarda ADTB’de tanısal dezavantajlar moleküler testlerin kullanımı ile azalmıştır. Bu da ADTB’de erken tanı konarak, erken tedaviye başlanmasına ve dolaylı olarak da morbidite ve mortalite oranlarında azalmaya yol açacaktır. Sonuç olarak ADTB tanısında konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda moleküler testlerin kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Tüberküloz, Spinal, Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

in the bacterial and tuberculous cultures of sample, ARB was also negative. Pathologic examination revealed chronic inflammation, fibrosis and granulomatous reaction. TB PCR result of the same sample has been found positive by Real-Time PCR. In recent years, diagnostic disadvantages are decreased with the usage of molecular tests. This will provide early diagnosis, treatment and decreased morbidity and mortality in EPTB. We suggest that molecular tests should be used in the situations where conventional microbiologic methods failed.

Key Words: Tuberculosis, Spinal, Real-Time Polymerase Chain Reaction

GİRİŞ

Tarihin en eski hastalıklarından olan akciğer TB son derece bulaşıcı olup, tüm dünyada önemli oranda morbidite ve mortaliteye neden olmaya devam etmektedir. TB’den her yıl yaklaşık üç milyon kişi ölmekte ve sekiz milyondan fazla yeni vaka ile karşılaşmaktadır. Dünya nüfusunun yaklaşık olarak üçte biri *Mycobacterium tuberculosis* ile enfekte olup; %10’u her an aktif hastalık gelişme açısından risk altındadır. Her ne kadar *M. tuberculosis* enfeksiyonu genellikle akciğer TB ile sonuçlansa da, diğer organ ve dokuların etkilenmesi akciğer dışı veya diseminat TB neden olmaktadır (1-2).

ADTB; ise gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde akciğer TB’ne benzer şekilde önemli bir sağlık sorunudur. Türkiye 70 milyonun üzerinde nüfusa sahip gelişmekte olan bir ülke olup, her yıl yaklaşık 20.000 yeni TB vakası bildirilmektedir. Ülkemizdeki tüm TB vakaları arasında ADTB oranı 1996-2007 yılları arasında %19,6’dan %32,5’e yükselmiştir (3, 4).

TB, her doku ve organı tutabilir ve çok geniş bir klinik spektruma sahiptir. ADTB, çeşitli doku ve organlara yerleşerek, primer enfeksiyondan yıllar sonra ortaya çıkabileceği gibi, hızla ilerleyerek akut bir tablo ile de kendini gösterebilir (5).

Sağlık Bakanlığının 2009 yılında yayınladığı verilere göre TB akciğerlerden sonra en sık plevrayı tuttuğu (%38,3), iskelet sistemi tutulumunun ise daha nadir nedenler arasında yer aldığı belirtilmiştir (4). İskelet sistemi TB hastaların yaklaşık yarısında vertebral tutulum gözlenmektedir. Vertebral yerleşim gösteren iskelet sistemi TB “Pott Hastalığı” olarak da bilinmekte ve TB olguların %1’inden daha azında görülmektedir (6). Olgularda erken dönemde sırt ağrısı, paravertebral kas spazmı ve buna bağlı hareket kısıtlılığı ortaya çıkmaktadır. Ateş, gece terlemesi gibi sistemik belirtiler ise nadiren ortaya çıkmakta olup tüm hastalarda görülmeyebilir (6, 7).

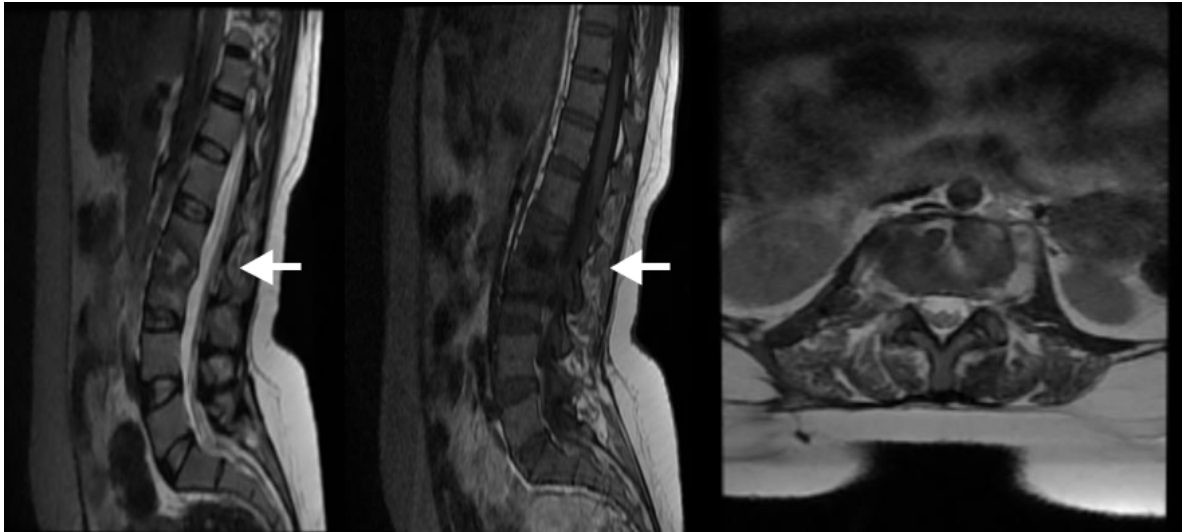
TB tanısı genellikle ARB boyama, radyografi bulguları gibi geleneksel yöntemler ve kültür ile konulmaktadır (8). Ancak mevcut metodolojiler, örnekteki düşük mikobakteri seviyeleri veya zaman alıcı prosedürler nedeniyle yetersiz kalmaktadır (9). Oysa TB için doğru ve erken tanı, etkin yaklaşım ve zamanında tedaviye başlanması açısından büyük önem taşımaktadır. Mevcut nükleik asit amplifikasyon bazlı yöntemler, özellikle yayma negatif örneklerde, 1-10 basil gibi yüksek saptama oranları ile tanısal problemleri ortadan kaldırmış, yüksek derecede

duyarlılığı ve özgülüğü ile ADTB'da en uygun seçim halini almaya başlamıştır (10, 11). Çalışmamızda ARB ve TB kültürü negatif, ancak radyolojik bulguları ve patoloji sonucu şüpheli olan hasta için tüberküloz PCR'nin tanı koydurucu olması nedeniyle sunumu uygun bulunmuştur.

OLGU SUNUMU

34 yaşında kadın hasta 3-4 yıldır var olan ve son 10 gündür artış gösteren bel ağrısı yakınması ile başvurdu. Hasta aldığı fıtık öntanısı nedeniyle çok sayıda ağrı kesici kullandığını belirtti. Özgeçmişinde bir yıl önce lomber bölgeden lipom nedeniyle opere olması, sonrasında yara yeri enfeksiyonu gelişmiş olması ve iki hafta antibiyotik kullanmış olması dikkat çekmektedir. Beyin cerrahisi polikliniğine başvuran hastanın lomber MR'ı çekilmiş, MR rapor sonucu "L₂₋₃ diskinde T2 ağırlıklı kesitlerde sinyal artışı ve end platelerde minimal kontrastlanma izlenmektedir. L₂₋₃ düzeyinde paravertebral alanlarda T1A'da hipointens, T2A'da hiperintens sinyal değişikliği gösteren, çevresel tarzda kontrastlandığı izlenen abse formasyonları dikkat çekmektedir. L₂ düzeyinden S₁

düzeyine dek sağ posterior paravertebral yağ planına uzanan T1A'da ve T2A'da hipointens sinyal değişikliği gösteren granülasyon dokusu ile uyumlu olabilecek yumuşak doku alanı mevcut olup, L₄ düzeyinde bu yumuşak doku alanının posteriorunda çevresel tarzda kontrastlandığı izlenen şüpheli abse formasyonu da dikkat çekmektedir." olarak verilmiştir. L₂₋₃ disk yüksekliğinde azalma ve disk bulging, posterosantral protrüzyon, annüler yırtık, tekal saka bası ve anterior paravertebral yağ planlarında psoas kaslarında sınırları ayırt edilemeyen yumuşak doku alanları saptanması üzerine spondilodiskit öntanısı ile beyin cerrahisi kliniğine yatırıldı (Şekil 1). Enfeksiyon hastalıkları kliniğinden istenen konsültasyon üzerine değerlendirilen olgunun özgeçmişinde lipom operasyonu dışında özellik yoktu. Anamnezinde ateşi ve gece terlemesi olmadığı ancak iştahsızlığı ve son birkaç ayda kilo kaybı olduğu öğrenildi. Fizik muayenesinde genel durumu iyi olan hastanın, bel hareketlerinin ağrılı olması dışında lomber hassasiyet, motor duyu defisiti ve idrar ve gaita inkontinansı saptanmamış olup diğer sistem muayeneleri normaldi. Tetkiklerinde lökosit 9490/mm³ (%70 nötrofil, %21 lenfosit, %7,6 monosit), trombosit 383.000/mm³,



Şekil 1. Hastanın lomber MR görüntüsü. L₂₋₃ diskinde T2 ağırlıklı kesitlerde sinyal artışı ve end platelerde minimal kontrastlanma izlenmektedir. L₂₋₃ düzeyinde paravertebral alanlarda T1A'da hipointens, T2A'da hiperintens sinyal değişikliği gösteren, çevresel tarzda kontrastlandığı izlenen abse formasyonları dikkati çekmektedir.

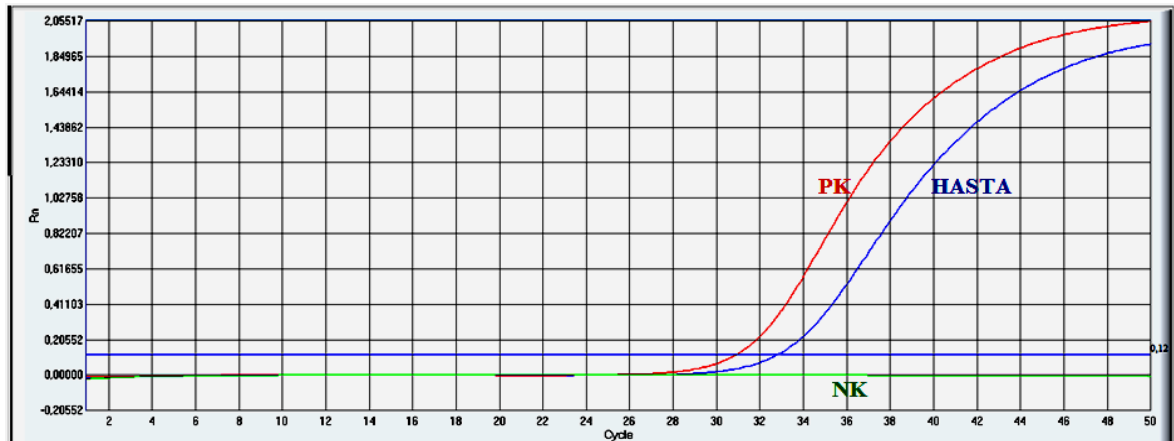
hemoglobin 12,8 g/dl, biyokimya değerleri normal, C-reaktif protein 11,4 mg/dl, sedimentasyon 12 mm/s, tam idrar tetkiki normal saptandı. Servis takipleri sırasında ateşi olmadı. Salmonella tüp aglütinasyon, Brucella tüp aglütinasyon ve Brucella coombs testleri negatif sonuçlandı. HBs Ag, Anti HBs, Anti HCV, Anti HIV testi sonuçları negatifti. Direkt akciğer grafisi normal olan olguya toraks BT çekildi ve normal olarak sonuçlandı. Çekilen lomber BT'de L₂₋₃ vertebra korpus ve posterior elemanlarda kemik destrüksiyonu, kontrastlı lomber MR grafisinde L₂₋₃ seviyesinde psoas kasında yoğun kontrast tutulumu ayrıca disk mesafesinde diskitis lehine kontrastlanma izlendi. Hastanın intraoperatif cerrahi eksplorasyonunda L₂₋₃ vertabralarında destrüksiyon ve instabilite tesbit edildi. Bunun üzerine posterior antibakteriyel özellikte stabilizasyon sistemi takıldı. Hastaya ampirik olarak intravenöz (IV) genta 1x180 mg ve IV sefazolin 3x1 gr başlandı. Tedavisinin 3. gününde tanı ve tedavi amacı ile planlanan cerrahi operasyon esnasında abse drenajı yapıldı. Cerrahi sırasında alınan örnekten bakteriyolojik kültür, TB kültürü, ARB boyama, histopatolojik inceleme ve TB PCR gibi tetkikler çalışılması için ilgili laboratuvarlara gönderildi Bakteriyolojik kültür amacıyla örnek %5 koyun kanlı agar, EMB agar ve çukulata agara, TB kültürü amacıyla LJ besiyerine ekim yapıldı,

Kinyoun boyama tekniğiyle ARB boyama yapıldı, Real-Time PCR yöntemiyle moleküler çalışma gerçekleştirildi.

TARTIŞMA

Vertebra, TB'den en sık etkilenen kemik bölgesi olup, kemik tutulumu olan olguların %50'sini oluşturmaktadır (6). Alt torakal ve üst lomber vertebralara en fazla etkilenmekte ve birinci lomber vertebra sıklıkla tutulum göstermektedir (6, 12). Tek vertebra tutulumu, farklı seviyelerde tutulum (%4), posterior elemanların tutulumu (%2-10) ve intervertebral diskin korunması gibi formlar atipik tutulum formları olup nadir olarak görülmektedir (6, 13). Hastamızda L₂₋₃ seviyesinde ve atipik olarak posterior elemanlarda tutulum saptanmıştır.

TB spondilodiskit, genellikle sinsi başlangıçlı ve yavaş seyirlidir. Gece ağrısı, kas spazmı gibi lokal semptomlara neden olur. Bel ağrısının nadir fakat morbidite oranı yüksek nedenlerinden biri olup, spesifik semptomların olmaması nedeniyle hemen tüm hastalar geç tanı almaktadırlar (10). Vertebral basya bağlı iskemik değişiklikler sonucu paraparezi, parapleji, spastisite, derin tendon reflekslerinde artma, çeşitli derecelerde motor bozukluk, mesane ve anorektal fonksiyon bozuklukları ortaya çıkar.



Şekil 2. Hastadan alınan örneğin Fluorion detection System (FDS) ile çalışılmış Real-Time PCR test sonucu. Pozitif kontrol [(PK) (kırmızı)], Negatif kontrol [(NK) (yeşil)] ve hasta (lacivert) amplifikasyon eğrileri görülmektedir.

Tanıda geç kalınması nörolojik defisit ve spinal deformitenin ilerlemesine yol açmaktadır (12). Hastamız tanı öncesi 3-4 yıl boyunca bel ağrısı yakınmasıyla defalarca değişik ağrı kesiciler kullanmış, etiyoloji belirlenemediği için tanı gecikmiştir. Buna rağmen yapılan fizik muayenede bel hareketlerinin ağrılı olması dışında lomber hassasiyet, motor duyu defisiti ve idrar ve gaita inkontinansı saptanmamış olması sevindiricidir.

TB'da vertebral etkilenme şiddeti hakkında özellikle BT ve MR görüntüleme erken dönemde ve detaylı bilgi sağlamaktadır. Pott hastalığında iki komşu vertebra korpusu ile birlikte intervertebral disk tutulumu da gözlenmektedir (6). Hastamızın lomber MR grafisinde L_{2,3} seviyesinde disk mesafesinde diskitis lehine kontrastlanma, lomber BT'de L_{2,3} vertebra korpus destrüksiyonu saptanmıştır.

TB spondilodiskitin ayırıcı tanısında *S. aureus*, *Cryptococcus*, *Actinomycosis*'e bağlı pyojenik ve fungal enfeksiyonlar, Sarkoidoz, Bruselloz gibi diğer granümatöz hastalıklar ve tümörler (metastaz, myelom, lenfoma) yer almaktadır. Görüntüleme yöntemleriyle ayırıcı tanı yeterli düzeyde yapılamadığı için bakteriyolojik veya histolojik doğrulama gerekmektedir. TB kültürü tanıda altın standart olup özgüllüğü %100'e yakındır. Ancak, deneyimli personel gereksinimi nedeniyle ülkemizde belirli merkezlerde çalışılabilmektedir. Moleküler yöntemlerin kullanımı ise özellikle erken tanı açısından büyük önem taşımaktadır (4, 7, 10, 14). Örnekleme için hastamıza intraoperatif abse drenajı yapılmış ve alınan abse materyali bakteriyolojik kültür, TB kültürü, ARB boyama, patolojik inceleme ve TB PCR çalışması amacıyla laboratuvara gönderilmiştir. Bakteriyolojik kültürde ve TB kültüründe üreme saptanmazken, ARB sonucu da negatif olarak bildirilmiştir. Patolojik incelemede kronik inflamasyon, fibrozis ve granümatöz reaksiyon gözlenmiştir. Vertebral lezyonlarda basil sayısının az olması nedeniyle ARB sonucunun ve TB kültürünün negatif olarak bildirilmesi doğal bir sonuç

olarak yorumlanabilir. Aynı örnekten Real- Time PCR yöntemi ile yapılan çalışma sonucu ise pozitif olarak saptanmıştır. QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda ekstraksiyonu gerçekleştirilen örnekten, Fluorion MTBC Real- Time PCR Kit, MTBC QLP 2.1 (Iontek, İstanbul, Turkey) kullanılarak, Fluorion Detection System (Iontek, İstanbul, Turkey) ile pozitif *M. tuberculosis* complex sonucu alınmıştır. Fluorion Detection System (FDS) ile çalışılmış olan Real- Time PCR sonucuna göre pozitif kontrol (PK) 32. siklusta, *M. tuberculosis* DNA'sının oluşturduğu hasta örneği 33. siklusta amplifiye olmakta, negatif kontrol (NK) amplifikasyon göstermemektedir (Şekil 2). Klinik bulgu ve semptomlar, görüntüleme bulguları ve Real- Time PCR sonucu ile hastaya TB spondilodiskit tanısı konularak dörtlü TB tedavisi (INH 300 mg/gün, Rifcap 600 mg/gün, Embutol 2 gr/gün, Prozinamid 2 gr/gün) başlanmıştır. Hastanın bir ay sonraki kontrolünde sedimentasyon, CRP değerleri normal olarak bulunmuş, nörolojik muayenesinde nörolojik defisit saptanmamış olup tedavisi devam etmektedir.

ADTB'de klinik tanı, radyolojik bulgular ve konvansiyonel mikrobiyolojik metodlar olan ARB ve *M. tuberculosis* kültürünün duyarlılık ve özgüllüğü yeterli değildir. ARB pozitifliği incelenen örneklerin 1 ml'sinde 5.000-10.000 basil bulunması durumunda, kültür pozitifliği ise en az 100 basil bulunması durumunda elde edilebilmektedir. ADTB odağında basil sayısının az olması, hem ARB hem de kültür pozitifliğinin saptanmasında önemli bir dezavantajdır. Ek olarak *M. tuberculosis* kültürü zaman alıcı bir yöntem olup 4-8 haftada sonuçlanmaktadır (15-17). Moleküler yöntemler kullanılarak farklı klinik örneklerde 1-10 basil saptama sınırı ile erken ve hızlı tanı mümkün olmaktadır. PCR; ADTB'de, özellikle de spinal TB'da yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip hızlı bir yöntem olup, ARB negatif örneklerde klinik ve radyolojik bulgular ile birlikte değerlendirildiğinde duyarlılık oranı oldukça artmaktadır (14, 17).

TB'un endemik olduğu ülkelerde hemen her enfeksiyonun ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken ADTB, gelişen cerrahi teknikler ve etkin antitüberküloz kemoterapotiklere rağmen bugün bile hayatı tehdit edebilen ciddi bir hastalıktır. Ancak son yıllarda ADTB'de tanısız dezavantajlar, moleküler testlerin kullanımı ile azalmıştır. Yakın gelecekte bu testlerde standardizasyonun sağlanması ve tanı algoritmaları oluşturulması ile daha büyük avantajlar elde edilebilecektir. PCR sonucu klinik

ve radyolojik bulgulara destek bilgi sağlayarak erken tanı konmasına yardımcı olacaktır. Bu durum erken tedaviye başlanmasına ve dolaylı olarak da morbidite ve mortalite oranlarında azalmaya yol açacaktır. Her hastada maliyet etkin olmamakla birlikte, klinik semptomların ve radyolojik bulguların kuvvetle düşündürdüğü, ancak tanısız mikrobiyolojik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda moleküler testlerin kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization: Global tuberculosis control: Surveillance, Planning, Financing. Geneva, WHO Report, 2008.
2. Sreeramareddy CT, Panduru KV, Verma SC, Joshi HS, Bates MN. Comparison of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in Nepal-a hospital based retrospective study. *BMC Infect Dis*, 2008; 8: 8.
3. Cailhol J, Decludt B, Che D. Sociodemographic factors that contribute to the development of extrapulmonary tuberculosis were identified. *J Clin Epidemiol*, 2005; 58: 1066-71.
4. Bozkurt H, Turkkani MH, Musaombasoglu S, Gullu U, Baykal F, Hasanoglu HC, Ozkara S. The National tuberculosis report's 2009. Ankara, Turkish Republic. Ministry of Health, 2009.
5. Demiralay R. Some epidemiological features of extrapulmonary tuberculosis registered in the tuberculosis struggle dispensaries in Isparta. *Tüberküloz Toraks*, 2003; 51: 33-9.
6. Moore SL, Rafii M. Imaging of musculoskeletal and spinal tuberculosis. *Radiol Clin North Am*, 2001; 39: 329-42.
7. Cormican L, Hammal R, Messenger J, Milburn HJ. Current difficulties in the diagnosis and management of spinal tuberculosis. *Postgrad Med J*, 2006; 82: 46-51.
8. Soini H, Musser JM. Molecular diagnosis of Mycobacteria. *Clin Chem*, 2001; 47: 809-14.
9. American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161: 1376-95.
10. Hale YM, Pfyffer GE, Salfinger M. Laboratory diagnosis of mycobacterial infections: New tools and lessons learned. *Clin Infect Dis*, 2001; 33: 834-46.
11. Sarmiento OL, Weigle KA, Alexander J, Weber DJ, Miller WC. Assessment by meta-analysis of PCR for diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 2003; 41: 3233-40.
12. Turgut M. Spinal tuberculosis (Pott's disease): its clinical presentation, surgical management, and outcome. A survey study on 694 patients. *Neurosurg Rev*, 2001; 24: 8-13.
13. Gouliamos AD, Kehagias DT, Lahanis S, Athanassopoulou AA, Mouloupoulou ES, Kalovidouris AA, Trakadas SJ, Vlahos LS. MR imaging of tuberculous vertebral osteomyelitis: pictorial review. *Eur Radiol*, 2001; 11: 575-79.
14. Amin I, Idrees M, Awan Z, Shahid M, Afzal S, Hussain A. PCR could be a method of choice for identification of both pulmonary and extrapulmonary Tuberculosis. *BMC Research Notes*, 2011; 4: 332.
15. Cheng VCC, Yam WC, Hung IFN, Woo PCY, Lau SKP, Tang BSF, Yuen KY. Clinical evaluation of the polymerase chain reaction for the rapid diagnosis of tuberculosis. *J Clin Pathol*, 2004; 57: 281-85.
16. Moore DF, Guzman JA, Mikhail LT. Reduction in turnaround time for laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis by routine use of a nucleic acid amplification test. *Cent Diagnostic Microbiol Infect Dis*, 2005; 52: 247-54.
17. Pandey V, Chawla K, Acharya K, Rao S, Rao S. The role of polymerase chain reaction in the management of osteoarticular tuberculosis. *International Orthopaedics (SICOT)*, 2009; 33: 801-5.

Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları

Biosorption, adsorption, phytoremediation methods and applications

Rasim HAMUTOĞLU¹, Adnan Berk DİNÇSOY², Demet CANSARAN-DUMAN², Sümer ARAS¹

ÖZET

Çevre kirliliği günümüzde önemli bir sorun teşkil etmektedir. Çevre kirlenmelerine maruz kalmış alanlarda kullanılan remediasyon tekniği genellikle yüksek maliyetli olmaktadır. Endüstriyel atıklardan metallerin uzaklaştırılması için fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yerine biyolojik moleküllerin kullanımı, alternatif ve oldukça etkili yöntemdir. Metal gideriminde biyolojik moleküllerin kullanıldığı uygulamalar arasında biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri yer almaktadır. Biyosorpsiyon, sulu ortamlardan metal iyonlarının biyokütle tarafından alınmasıdır. Biyosorbent yüzeyinde tutulacak çözünmüş maddelerin biyokütle etrafını saran çözücü sıvı film içerisinden geçmesi gerekmektedir. Biyosorpsiyon şartlarının gerçekleştirilmesi için bazı optimal koşulların oluşması gerekmektedir. Biyosorpsiyon yöntemi metal iyonu türü, biyokütle türü ve miktarı, konsantrasyon, sıcaklık, çözelti pH'sı gibi fizikokimyasal faktörlerden etkilenmektedir. Adsorpsiyon, moleküllerin temas ettikleri yüzeydeki çekme kuvvetlerine göre o yüzeye birleşmesidir. Fitoremediasyon, biyolojik materyallerden biri olan bitki kullanılarak yapılan çevreyi ıslah etme teknolojisidir. Günümüzde fitoremediasyon

ABSTRACT

Environmental pollution poses a significant problem in the world. Remediation techniques used in areas exposed to metal pollution has a high cost. The use of biological molecules rather than physical and chemical methods for the removal of metals from industrial waste is an alternative and very effective method. Applications of biological molecules for the removal of metals include biosorption, adsorption and phytoremediation methods. Biosorption, is the uptake of metal ions from aqueous environments by the biomass. Dissolved substances on the surface of biosorbent biomass should pass through the film of its surrounding liquid solvent. Biosorption condition is required to some optimal conditions for process. Biosorption method is affected by physico-chemical factors such as the metal ion type, amount and type of biomass, concentration, temperature and pH of the solution. Adsorption is unite with surface that molecules to the surface come into contact by pulling forces. Phytoremediation is an environmental of reclamation technology by using plants biological materials. Today, organic and inorganic sustances in the polluted areas that contaminated with metals could be cleaned by using plant biological materials

¹ Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tandoğan, ANKARA

² Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Tandoğan, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tandoğan, ANKARA

Tel : +90 312 222 58 26-120

E-posta / E-mail : dcansaran@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 28.04.2010

Kabul Tarihi / Accepted : 28.12.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.94914

Hamutoğlu R, Dinçsoy AB, Cansaran-Duman D, Aras S. Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları. Türk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(4): 235-53

teknolojisi yoluyla bitki materyali kullanılarak metal ile kirlenmiş alanlardaki organik ve inorganik maddeler temizlenebilmektedir. Fitoremediasyon tekniğinin en önemli avantajları arasında yerinde arıtım sağlaması ve bu teknikte ekstra enerjiye gereksinim olmamasıdır. Ayrıca fitoremediasyon tekniği doğal kaynaklara zarar vermez ve kamuoyu tarafından yüksek kabul görür. Bu avantajların yanında fitoremediasyon tekniği su, toprak ve sedimentte sadece sığ bölgelerde arıtıma olanak verir. Fitoremediasyon tekniğinin bir diğer dezavantajı ise çok ağır düzeylerde kirlenmiş alanlarda bitkilerin kısa sürede etkinliğini gösterememesidir. Bu nedenle fitoremediasyon tekniği ancak düşük düzeylerde kirlenmiş alanlarda kullanılabilir. Bitki kullanılarak topraklardan alınan metal alma işleminde amaç, toprak tarafından tutulmuş halde bulunan metallerin daha kontrol edilebilir ve taşınabilir forma dönüştürülmesidir. Böylelikle, biyolojik materyaller (bakteri, mantar, liken ve bitki) kullanılarak maliyeti düşük ve yapılabilmesi kolay olan fitoremediasyon yöntemleri sayesinde metal kirliliğinin giderilmesi sağlanmış olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Biyosorpsiyon, Adsorpsiyon, Fitoremediasyon

through the phytoremediation technology. The most important advantages of phytoremediation technique is that it provides appropriate/custom treatment in the same areas and this technique does not require extra energy. In addition, phytoremediation technique does not damage natural resources and it is highly accepted by the general public. Addition to these advantages, phytoremediation technique allows only the purification water, soil and sediment in shallow areas. Another disadvantage of phytoremediation technique does not show the effectiveness of plants in too heavy levels contaminated areas as soon as possible. For this reason, phytoremediation technique can only be used in the areas with low levels of contamination. Thus, the biological materials (bacteria, fungi, lichens and plants) will be achieved through these methods, which can be made a cost-effective and easy, for removal of metal pollution. By these methods, which are cost effective and easily manipulated, because of the usage of the biological materials, the removal of metal pollution becomes possible.

Key Words: Biosorption, Adsorption, Phytoremediation

GİRİŞ

Ağır Metaller

Yoğunluğu 5 g/cm^3 'ten büyük olan veya atom ağırlığı 50 ve daha büyük olan elementlere ağır metaller denir. Ağır metaller örnek olarak; Bakır (Cu), Demir (Fe), Çinko (Zn), Kurşun (Pb), Civa (Hg), Kobalt (Co), Krom (Cr), Nikel (Ni) ve Kadmiyum (Cd) verilebilir (1). Ağır metaller yer kabuğunda doğal olarak bulunan bileşiklerdir, bozulmaz ve yok edilemezler. Vücutumuzagıdalar, içmesuyuvehavayolu ile girmektedirler. İz elementler gibi bazı ağır metaller (örneğin bakır, selenyum, çinko) insan vücudunun metabolizmasını sürdürmek için gereklidirler. Bununla birlikte yüksek konsantrasyonlarda toksik olabilirler ve zehirlenmelere yol açabilirler. Ağır

metaller biyobirikime yol açtığından oldukça tehlikeli maddelerdir. Endüstrinin gelişmesi çevreye ve canlı ekosistemlere ağır metal salınımını artırmış, canlılar üzerinde olumsuz etkiler bırakmıştır. Biyobirikim, zaman içerisinde organizmalardaki kimyasal konsantrasyonun o kimyasalın doğadaki konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında artması demektir (2).

Atık sulardaki ağır metaller endüstriden ve belediye kanalizasyonlarından gelmektedir ve su ile toprak kirliliğinin ana nedenlerinden biri haline gelmiştir. Bu metallerin atık sularda aşırı birikimi insanoğlunun yaşam tarzı ve bölgedeki endüstriyel kuruluşlar gibi yerel faktörlere de bağlıdır. Atık

su tesislerinden çeşitli biyolojik organizmaları kullanarak ağır metallerin arındırılması ve kontrolünün sağlanması beklenmektedir. Mikroorganizmalar için ağır metal kirliliği çok iyi belgelenmektedir (3-5). Belli konsantrasyonlarda ağır metallerin bitkilerde, yüksek organizmalarda ve mikroorganizmalarda toksik etki yarattığı belirlenmiştir. Bu nedenle, ağır metallerin atık sularındaki varlıkları sadece büyük bir çevresel tehdit olarak görülmemektedir. Aynı zamanda mikrobiyal aktiviteyi de son derece düşürmektedir. Sonuç olarak biyolojik atıksu arıtma süreçlerini de olumsuz etkilemektedir. Ağır metallerin ayrıca nitrifikasyon ve denitrifikasyon mekanizmalarını inhibe ettiği ve organik bileşenlerin mikrobiyal oksidasyonlarını azalttığı belirlenmiştir (6-10). Ayrıca atık sularındaki ağır metal kirliliğinin, sulu çamur konsantrasyonu, pH, metal türleri ve konsantrasyonları ile metal iyonlarının çözünürlüğü gibi faktörlere bağlı olduğu gösterilmiştir (11-13).

Ağır metaller önemli ve tehlikeli maddelerdir. Havaya karışan ağır metaller besin zinciri yoluyla hayvanlara ve insanlara ulaşırlar. Hayvan ve insan tarafından havadan aerosol olarak veya toz halinde solunarak metabolizmayı etkileyecekleri alanlara akciğerler yoluyla ulaşırlar. Ağır metaller endüstriyel atık suların içme sularımıza karışmasıyla hayvan ve insanlar üzerinde etkili olurlar. Ağır metaller biyolojik süreçlerde kullanıma şekillerine göre yaşamsal ve yaşamsal olmayanlar olarak ikiye ayrılırlar. Bir ağır metalin yaşamsal olup olmadığı organizmanın türüne göre değişebilmektedir. Yaşamsal olarak tanımlananların organizma yapısında belirli bir konsantrasyonda bulunmaları gereklidir. Bu metaller biyolojik reaksiyonlara katıldıklarından düzenli olarak besin yoluyla alınmaları gereklidir. Örneğin Cu, hayvanlarda ve insanlarda kırmızı kan hücrelerinin ve bir çok oksidasyon ve redüksiyon sürecinin vazgeçilmez parçasıdır (14). Buna karşın yaşamsal olmayan ağır metaller çok düşük konsantrasyonda dahi psikolojik yapıyı etkileyerek sağlık problemlerine yol açabilirler. Bu gruba en iyi örnek, kükürtlü enzimlere bağlanan

Hg'dır (15). Bir ağır metalin yaşamsal olup olmadığı dikkate alınan organizmaya da bağlıdır. Örneğin Ni, bitkiler açısından toksik etki gösterirken, hayvanlarda iz element olarak bulunması gerekir. Bazı sistemlerde ağır metallerin etki mekanizması konsantrasyona bağlı olarak değişir (16). Ağır metaller konsantrasyon sınırını aştıkları zaman toksik olarak etki gösterirler. Ancak ağır metallerin canlı bünyelerindeki etkisi sadece konsantrasyonlarına bağlı olmayıp, canlı türüne ve metal iyonunun çeşidi ve yapısına bağlıdır (çözünürlük değeri, kimyasal yapısı, redoks ve kompleks oluşturma yeteneği, vücuda alınış şekli, çevrede bulunma sıklığı, lokal pH değeri vb). Bu nedenle sürekli tüketilen içme sularının ve yiyeceklerin içerebileceği maksimum ağır metal değerleri sınırlandırılmış ve resmi kuruluşlar tarafından düzenli olarak kontrol edilmesi zorunlu kılınmıştır (16).

Ağır metaller bitkilerde depolanmakta ve enzimlerle birlikte pek çok yaşamsal faaliyeti düzenlemektedir. Bu nedenle ağır metallerin zehirleyici özelliklerinden dolayı ekosistemi kirlenme etkileri insan sağlığını da tehlikeye sokmaktadır. Doğada bulunan ağır metallerin besin zincirine katılan canlıların bünyelerinde biyolojik olarak birikme eğiliminde olmaları ve zehirlilik etkilerinden dolayı bitki, hayvan ve insan yaşamı açısından büyük bir tehdit haline gelmektedir. Bu nedenle ağır metal içeren evsel ve endüstriyel atık sular boşaltılmadan önce arıtılmalıdır (17).

Ağır Metal Giderim Yöntemleri

Ağır metal giderimi için birçok ekonomik ve etkili metot kullanılmış ve yeni ayırma teknikleri geliştirilmiştir (18-20). Atık sularında; iyon değiş tokuşu, kimyasal çökelme, ters osmoz, buharlaşma, membran filtrasyonu, biyolojik absorpsiyon muamelesi gibi uygulanması kolay ve ekonomik yöntemler ağır metal giderimi için kullanılan geniş çaplı metotlardır. Tablo 1'de ağır metal gideriminde kullanılan bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları detaylı olarak açıklanmaya çalışılmıştır (21).

tekniklerinin dezavantajları en aza indirilmeye çalışılmıştır (25-27). Biyosorpsiyon; bakteri, yengeç kabukları, fungus ve alg gibi biyomateryaller kullanılarak metal içeren düşük konsantrasyon ve yüksek hacimli atık suların iyileştirilmesi için uygun maliyetli biyoteknolojik bir yöntem olarak bilinmektedir. Başka bir deyişle biyolojik materyallerin sulu çözeltilerdeki atık maddelerin hücre yüzeyi veya içinde akümüle edilmesine biyosorpsiyon denilmektedir. Son yıllarda yapılan birçok araştırmada likenlerin de çok etkili biyosorpsiyon kapasitesine sahip oldukları görülmüştür. Uluözlü ve ark. 2008'de Parmelina tiliaceae liken türü ile yaptıkları biyosorpsiyon çalışmasında sulu çözeltiden Pb (II) ve Cr (III)'ün biyosorpsiyonunu araştırmışlardır (28). Ekmekyapar ve ark. 2006 yılında Cladonia rangiformis canlı olmayan ölü biomasından bakır (II) biyosorpsiyonunu incelemişlerdir (29). Sarı ve ark. 2007 yılında Cladonia furcata liken türünün sulu solusyondan Pb (II) ve Ni (II) biyosorpsiyonunu araştırmışlardır (30). Bingöl ve ark. 2009 yılında Cladonia rangiformis liken türünü kullanarak sulu solusyonlardan kromat iyonlarının biyosorpsiyonlarını incelemişlerdir (31). Yalçın ve ark. 2010'da Rocella phycopsis türünün Cu+2 ve Zn+2 biyosorpsiyonunu, Uluözlü ve ark. 2010'da Physcia tribacia liken türünü kullanarak toksik etkisi olan antimon (III)'ün biyosorpsiyonunu araştırmışlardır (32).

Likenler başlı başına birer organizma değildir. Mantarlar ve fotosentetik alglerden meydana gelen simbiyotik birliklerdir (33). Likenler bu özellikleriyle son yıllarda metal gideriminde sıklıkla biyosorbent olarak kullanılmaya başlanmıştır. Tay ve ark. 2009'da Ramalina fraxinea liken türünü kullanarak sulu solusyonlardan kadmiyum (Cd) iyonlarının giderimini çalışmışlardır (34). Ateş ve ark. 2007 yılında Pseudevernia furfuraceae liken türünü kullanarak sulu solusyondan metal giderimini çalışmışlardır (35). Biyosorpsiyon yöntemi, metal giderimi için en uygun alternatif yöntemlerden birini oluşturmaktadır.

Biyosorpsiyon bir çözeltide metal iyonlarının ölü biyokütle ile uzaklaştırılması olarak da

adlandırılmaktadır. Organizmaların yüzeyleri negatif yüklü olduğundan, pozitif yüklü metal iyonlarını adsorbe etme yeteneğine sahiptir (36, 37). Mikroorganizmalar ise metali hem aktif (alıştırılmış hücre) hem de pasif (biyosorpsiyon) olarak alırlar. Yapılan araştırmalar da biyosorpsiyon yönteminde pasif alım aktif alıma göre daha çok uygulandığını göstermektedir. Bunun nedeni canlı sistemler (aktif alım) sık sık ilave edilen ilave besin maddesine gereksinim duymaktadır, böylece tepkime çıkışındaki biyolojik oksijen ihtiyacını (BOI) veya kimyasal oksijen ihtiyacını (KOI) arttırmaktadır (22).

Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler

Metal gideriminde biyosorpsiyon kinetiğini birçok faktör etkilemektedir. Biyosorpsiyon sürecinin gerçekleşebilmesi için bazı optimal koşulların oluşması gerekmektedir. Biyosorbent yüzeyinde tutulacak olan çözülmüş maddelerin öncelikle biyokütle etrafını saran çözücü sıvı film içerisinde geçmesi gerekmektedir. Bu geçişe film difüzyonu denir. Biyosorbent yüzeyine gelen maddeler, gözeneklerin iç kısımlarına girebilmeleri için por difüzyonu adı verilen bir geçişi daha tamamlamaları gerekir. Bu iki aşamayı geçen çözülmüş maddenin biyosorbent madde üzerine bağlanması ise son işlemdir. Biyosorpsiyon yöntemlerinde biyokütleyle bağlanan metal iyonu miktarının yalnız biyokütle türüne değil, metal iyonu türüne ek olarak konsantrasyon, sıcaklık, biyokütle miktarı ve çözelti pH'sı gibi fizikokimyasal faktörlere de bağlı olduğu belirtilmiştir (38).

• Karıştırma Hızı

Metal biyosorpsiyonuna etki eden faktörlerden birisi yöntemin gerçekleştiği ortamdaki karıştırma hızıdır. Biyosorpsiyon hızı, sistemin karıştırma hızına bağlı olarak ya film difüzyonu ya da por difüzyonu ile kontrol edilir. Eğer karıştırma işlemi yapılırsa tanecik etrafındaki sıvı film kalınlığı fazla olacak ve film difüzyonu, hızı sınırlandıran etmen olacaktır. Yeterli bir karışım sağlanırsa film difüzyon hızı, hızı sınırlandıran etmen olan por difüzyon noktasına

doğru artar. Genelde por difüzyonu, yüksek derecede karıştırılan kesikli sistemlerde hızı sınırlandıran faktördür (39, 40). Benefield ve ark. sentetik kauçuk ham maddesi tozu üzerine palmye yağı adsorpsiyonunu incelediği bir çalışmada karıştırma hızının artması ile yağ adsorpsiyonu hızının ve yağ gideriminin arttığını belirtmiştir. Karıştırma hızının artması ile adsorpsiyon hızını yavaşlatan yüzey film kalınlığında azalma meydana geldiğini ve böylelikle yağın partikül yüzeyine daha kolay ulaştığını ifade etmiştir (39, 40).

• pH

Ortamın pH'ı birçok nedenden ötürü, biyosorpsiyonu etkileyen önemli bir parametredir. Organik asitler düşük pH değerlerinde daha fazla adsorbe olurken organik bazlar yüksek pH'da daha iyi adsorplanır (41).

• Sıcaklık

Sıcaklık biyosorpsiyonu etkileyen bir diğer faktördür ve biyosorpsiyonun gerçekleştiği reaksiyonlarda önemli bir parametredir. Teorik olarak sıcaklık arttıkça biyosorpsiyon azalmaktadır. Biyosorpsiyonunun ilk anlarında biyokütleyle bağlanan iyonlar artan sıcaklık nedeniyle tekrar biyokütleden salınma eğilimindedirler (17, 42). Deng ve ark. benzer sıcaklık aralıklarında gerçekleştirdiği çalışmada sıcaklık artışı ile biyosorpsiyonun arttığını ve gerçekleşen reaksiyonun endotermik olduğunu belirtmişlerdir (43). Bu sonuçların yanı sıra Kuyucak ve Volesky *Ascophyllum nodosum* biyokütlesi ile Co giderimi çalışmasında, sıcaklığın 4°C'den 23°C'ye yükselmesi sonucu iyonların giderim yüzdesinin %50-70 arttığını göstermişlerdir. Sıcaklık 40°C'ye çıktığında ise az miktarda tutunmanın gerçekleştiğini ve 60°C ve üzeri sıcaklıklarda biyosorbentin yapısında meydana gelen değişimden dolayı bir değişiklik olduğunu ve biyosorpsiyon kapasitesinde biyokütlenin bozulmasından dolayı azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir (44). Biyosorpsiyon, sıcaklık artışıyla artarken, sıcaklığın düşmesiyle azalır. Bununla birlikte biyosorpsiyon yönteminde ekzotermik parametreler

araştırılmış ise sıcaklık azalınca biyosorpsiyon kapasitesi artacaktır (39).

• Biyokütle Miktarı

Biyosorpsiyon yöntemlerine etki eden önemli faktörlerden biride biyokütle miktarıdır. Genel bir kural olarak sabit bir başlangıç metal konsantrasyonunda biyosorpsiyon yöntemlerinin gerçekleştiği çözelti ortamındaki biyokütle miktarının artması ile biyosorpsiyon verimi artmaktadır. Başlangıç konsantrasyonu sabit iken çözeltilde kalan iyon konsantrasyonunun azalması ve biyokütle miktarının artması ile biyosorpsiyon kapasitesi azalmaktadır. Yu ve ark. Akçaağaç talaşı ile gerçekleştirdikleri krom (Cr+6) giderimi çalışmasında biyokütle miktarı artışı ile biyosorpsiyon veriminin artmasının sebebini daha yüksek biyokütle miktarlarında iyonlar açısından daha büyük bağlanma bölgeleri veya yüzey alanı oluşması şeklinde ifade etmişlerdir (45).

Biyosorpsiyon işleminde pH, sıcaklık ve biyokütlelere uygulanan ön uygulamalar biyosorpsiyonun verimini büyük ölçüde etkilemektedir. Bu etkiler her organizma türü için farklı olmaktadır. Sıcaklık ve pH gibi biyosorpsiyonda çok fazla önemi olan parametrelerin biyosorpsiyon sürecine etkisi birbirinden bağımsız olup sıcaklık ve pH'ın aynı veya zıt yönde azalış ve artışlarından sistem farklı yönde etkilenmektedir. Bunun yanında farklı organizmaların çeşitleri aynı ortam koşullarında farklı giderim kapasiteleri sağlamaktadır. Tüm bu nedenlerden dolayı farklı türlerle yapılan biyosorpsiyon çalışmaları geniş pH ve sıcaklık aralıklarında yapılmalı ve optimum işletme koşulları belirlenmelidir (45).

Biyosorpsiyon yönteminin avantajları

1. Ölü biyokütle genellikle atık veya doğal bir kaynaktan kolay ve ucuza elde edilebilir.
2. Biyokütle cansız olduğundan üreme parametreleri elimine edilebilir.
3. Metal giderimi çok hızlıdır ve verimlidir, biyosorbent materyal genellikle bir iyon değiştirici gibi davranmaktadır.

rizodegradasyon, rizofiltrasyon, hidrolik kontrol, vejetatif örtü sistemleri ve kıyı tampon şeritleri olarak sınıflandırmak mümkündür. Bu teknolojilerin her biri farklı ortamlarda farklı amaçlar için kullanılabilir.

A) Fitoekstraksiyon (Bitkisel Özüleme)

Bitki kökleri tarafından kirlenmiş alanların toprak üstü organlarında biriktirilmesini takiben bitkilerin hasat edilerek yok edilmesini içermektedir. Bu teknik Cu ve Zn gibi aktif olarak alınan besin elementleri ve Cd, Ni ve Pb gibi besin elementi olmayan ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. Fitoekstraksiyon teknolojisi sadece metal kirliliğinin düşük veya orta seviyede olduğu alanlar için uygulanmaktadır. Bunun nedeni çok fazla kirlenmiş alanlarda bitki büyümesi sürdürülemezdir (50). Bu teknolojiye doğal hiperakümülatör bitkiler kullanılmaktadır (51). Bununla birlikte toprak çözeltisinde düşük çözünürlüğe sahip metallerin çözünürlüğünü arttırmak için şelatlayıcı ajanlar eklenebilmektedir (52). Bir şelatlayıcı ajan olan EDDS (etilen daimin disüksinik asit)'nin *Helianthus annuus* bitkilerinde bakır birikimini arttırdığını gözlemlenmiştir (53). Başarılı bir fitoekstraksiyon bitkilerin hızlı bir şekilde biyokütle üretmesine ve alınan metalleri gövde dokularında yüksek miktarlarda biriktirme yeteneğine bağlıdır (54). Bu yöntem için uygun ve çoğu Brassicaceae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Lamiaceae ve Scrophulariaceae familyalarından olmak üzere bünyesinde ağır metal biriktirebilen 400 kadar tür saptanmıştır.

Fitoekstraksiyon yöntemi sonucunda hasat edilen bitki kalıntıları;

- kurutulularak,
- yakılıp kül haline getirilerek,
- kompost haline getirilmesi amacıyla çürütülmesi yoluyla sınırlandırılarak,
- biyolojik metal madeni (bio-metal ore) halinde yeniden dönüşüme sokularak izole edilebilir (55).

B) Rizofiltrasyon (Köklerle Süzme)

Bitki kökleri tarafından sıvı büyüme ortamlarından fazla miktardaki besin elementlerinin veya metal kirlenmelerinin alınımı ve alınmasını içermektedir. *Brassica juncea*, *Phaseolus vulgaris* ve *Helianthus annuus* gibi hidroponik (topraksız bitki yetiştirme) ortamda büyütülen birçok bitki türünün kökleri Cu, Cd, Cr, Ni, Pb, Zn ve U gibi toksik metallerin sıvı çözeltilerinden uzaklaştırılmasında kullanılabilir (56-58). Rizofiltrasyon için ideal bitki önemli miktarda kök biyokütlesi veya yüzey alanı üretmeli, yüksek miktarda hedef metali biriktirebilmeli, tolere edebilmeli, düşük maliyetli olmalı ve minimum düzeyde sekonder atık üretmelidir (59).

C) Fitostabilizasyon (Köklerle Sabitleme)

Bu teknikte, erozyonun önlenmesi, yeraltı sularına kirlenmelerin sızmasının azaltılması ve toprakla doğrudan temasın önlenmesi için toprak yüzeyi bitkiler ile örtülmektedir (60). Bu yöntemde bitki kökleri fiziksel ve kimyasal olarak kirlenmeleri immobilize etmektedir (61). Bu teknik, kirlenmiş topraklarda büyüeyebilen ve toksik metalleri daha az toksik formlara dönüştürmek için toprağın fizyolojik, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirebilen bitkilere gereksinim duymaktadır. Fitostabilizasyon için kullanılacak bitkiler geniş bir kök sistemine sahip olmalı, yüksek konsantrasyonlardaki metallerin varlığında yüksek oranda biyokütle üretebilmeli ve metalleri gövdeye en az seviyede transloke etmelidir (62).

Fitostabilizasyon yöntemi toprak, sediment ve çamurların arıtılmasında kullanılır. As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn gibi elementlerle kirlenmiş toprakların fitostabilizasyon ile iyileştirilmesi için hindistan hardalı ve hibrit kavaklar başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (63).

D) Fitovolatilizasyon (Bitkisel Buharlaştırma)

Toprakta belirli miktarda olan metallerin ayrımı ve bunların atmosfere verilmesi için bitkilerin kullanılması yöntemidir. Bu teknolojiye, bitkiler tarafından absorbe edilen metaller daha az uçucu

formlara dönüştürülerek transpirasyon ile atmosfere verilmektedir. Doğal olarak oluşan veya genetiği değiştirilmiş *Brassica juncea* ve *Arabidopsis thaliana* gibi bazı bitkilerin ağır metalleri absorbe ettikleri ve gaz formuna dönüştürerek atmosfere verebildikleri bildirilmiştir (64).

Fitovolatilizasyon, fitodegradasyon yöntemini de içermektedir. Yöntemin en önemli avantajı civalı bileşikler gibi çok zehirli bileşiklerin daha az zehirli formlara dönüştürülebilmesidir. Ancak çok zararlı ya da zehirli materyallerin atmosfere bırakılabilmesi de bir dezavantajdır. Bu sistemde kök derinliği çok önemlidir. Yer altı suları sözkonusu ise bitki köklerinin derin olması gerekir. Kirliliği yer altı suları pompalarla yüzeye çıkarılarak suyun daha sık bitki köklerinde alınması da sağlanabilir. Fitovolatilizasyon yöntemi yeraltı suları başta olmak üzere toprak, sediment ve çamur alanlarında da uygulanabilmektedir. Bu yöntemin uygulanabildiği kirlenmeler arasında, Organik klorlu çözücüler ve Se, Hg ve As gibi inorganik kirlenmeler yer almaktadır. Bu amaçla kullanılan bitkilerden hindistan hardalı ve kanola ile Se elementi giderilmiş ve selenat halindeki selenyum daha az toksik olan dimetil selenit gazına dönüştürülerek atmosfere salınmıştır (63).

E) Fitotransformasyon-Fitodegradasyon (Bitkilerde Bozunum)

Fitotransformasyon olarak da bilinen fitodegradasyon, bitki dokuları içerisinde kirlenmelerin metabolize edilmesidir. Bu metotta, bitkilerdeki metabolik işlevler ve toprak mikroorganizmaları arasındaki rızosferik birlıklilikle (kök sistemine yapışık halde bulunan sarsılmış ve gevşek topraktan oluşmuş ince bir tabaka) organik kirlenmeler parçalanmaktadır.

Fitodegradasyon yöntemiyle giderilebilen kirlenmeler; klorlu bileşikler, pestisitler, askeri kimyasal maddeler ve fenollerdir. Organik bileşenlerin gideriminde örnek olarak, bir su bitkisi olan *Myriophyllum aquaticum* (papağan tüyü) ve bir alg olan *Nitella* sp. (kayaotu) bitkileri TNT'nin degradasyonunda kullanılmaktadır (63).

F) Rizodegradasyon (Köklerle Bozunum)

Degradasyon, mikroorganizmalar tarafından veya bitki köklerinin etkisi ile oluşuyorsa bu olay rizodegradasyon olarak isimlendirilir. Rizodegradasyon topraktaki kök bölgesinde, organik kirlenmelerin mikroorganizma faaliyetleri sonucu ayrışmasıdır. Kök çevresinde mikrobiyal aktiviteleri etkileyen ve köklerden bırakılan şeker, aminoasit, organik asit, yağ asitleri, sterol, büyüme etmenleri, nükleotid, flavanon ve enzimler bulunur. Kirlilik yaratan organik bileşikler de bu çevrededir. Kökle bozunumun en önemli yararı kirlenmelerin doğal ortamda yok olmasıdır. Ancak bunlar bitki veya atmosfere az da olsa taşınır (65).

Rizodegradasyon yöntemi ile giderilen kirlenmeler arasında, TPH (toplam petrolü hidrokarbonlar), PAH (çok halkalı aromatik hidrokarbonlar), BTEX (benzen, toluen, etilbenzen, ksilen), pestisitler (herbisit, insektisit vb.), klorlu çözücülerden biri olan TCA (trikloreten), PCP (pentaklorofenol), PCB (poliklorinatlı bifeniller), yüzey aktif maddeler LAS (lineer alkilbenzen sülfonat) sayılabilir. Rizodegradasyon amacıyla kullanılan bitkiler arasında ise kırmızı dut (*Morus rubra* L.), nane (*Mentha spicata*), yonca (*Medicago sativa*) ve su kamışı (*Typha latifolia*) bitkileri sayılabilmektedir (63).

G) Hidrolik Kontrol

Fitohidrolik kontrol veya hidrolik kök kontrolü olarak da bilinen hidrolik kontrol, bitki kullanılarak yer altı sularında kirlilik etmenlerinin birikmesini ve taşınmasını engellemek veya kontrol altında tutmaktır. Bu işlem yer altı ve yüzey sularına uygulanabilir. Bu sistemde daha önce bahsedilen yeşil ıslah kategorilerinin birden fazlası bir aradadır. En önemli avantajı herhangi bir yapay sistem kurulmasına gerek olmaması ve köklerin pompalardan daha fazla alana yayılması nedeniyle ıslah etki alanının çok genişlemesidir. En önemli dezavantajı ise mevsim ve iklime bağlı olarak bitkinin su alımının değişmesidir. Yaprak döken ağaçlar kış boyunca istenilen görevi yapamazlar.

H) Vegetatif Örtü Sistemleri

Vejetatif örtü, kirlleticilerin toprak yüzeyindeki uzun süreli ve kendiliğinden yetişen bitki sistemi ile kontrol altına alınması yöntemidir. Bu yöntem toprak, sediment ve çamurda uygulanabilir. Bu amaçla ticari olarak kavak ağaçları kullanılmaktadır (63, 65).

I) Kıyı Tampon Şeritleri

Kıyı tampon şeritleri, genellikle akarsulara doğru akan yeraltı veya yüzeysel sular içerisindeki kirlleticilerin giderilmesi amacıyla akıntı boyunca, akarsuların kıyılarına, şeritler halinde uygun bitkilerin ekilmesi işlemidir. Bu ıslah, kirliliğin çevreye

yayılmaması, taban suyuna karışmaması gibi görevler üstlenir. Sistem erozyonu da kontrol eder ve sedimenti azaltır. Kanada’da yapılan çalışmalarla tampon şerit uygulamalarının toprak erozyonunu %90, herbisit akışını %42-70 oranlarında azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca sistemle sudaki sediment %71-91, azot %67-96, fosfor %27-97, pestisitler %8-100 ve fekal koliformlar %70-74 oranlarında azalabilmektedir (66). Bu yöntemle en çok gübreler ve pestisitlerin giderilmesi konuları incelenmiştir. Kavak bu amaçla en sık kullanılan bitkilerden biridir (63). Tablo 2’de çeşitli ortamlar için kullanılan fitoremediasyon teknolojileri ve bu amaçla kullanılabilen uygun bitki türleri yer almaktadır.

Tablo 2. Farklı ortamlar ve kirleticiler için kullanılan fitoremediasyon teknikleri

Mekanizma	Süreç hedefi	Ortam	Kirleticiler	Bitkiler
Fitoekstraksiyon	Kirleticici alma ve uzaklaştırma	Toprak, sediment ve çamur	Metaller, metalloidler ve radyonükleidler	Hindistan hardalı, pennycress, alyssum, ay çiçeği, hibrit kavaklar
Rizofiltrasyon	Kirleticici alma ve uzaklaştırma	Yüzey ve yer altı suyu	Metaller, radyonükleidler	Ay çiçeği, hindistan hardalı, su sümbülü
Fitostabilizasyon	Kirleticici etkisizleştirme	Toprak, sediment ve çamur	As, Cd, Cr, Cu, Hs, Pb, Zn	Hindistan hardalı, hibrit kavaklar, çimler
Rizodegradasyon	Kirleticici giderme	Toprak, yer altı suyu	Organik bileşikler	Kırmızı dut, çimler
Fitodegradasyon	Kirleticici giderme	Toprak, sediment ve çamur, yer altı suyu, yüzey suyu	Organik bileşikler, Klorinat çözücüler, Herbisitler, Fenoller	Alg, Hibrit kavaklar, siyah söğüt, servi
Fitovolatilizasyon	Kirleticiciyi buharlaştırma	Toprak, sediment ve çamur, yer altı suyu	Klorinat çözücüler, Bazı inorganikler (Se, Hg, As)	Kavaklar, yonca, hindistan hardalı
Hidrolik kontrol	Kirleticici bozunma	Yüzey ve yer altı suyu	Suda çözünen organik ve inorganikler	Hibrit kavaklar, söğüt
Vejetatif (fitoremediasyon) örtü sistemleri (suyun dikey akışının toprak altındaki kirleticiciye ulaşımının bitki tarafından engellenmesi)	Erozyon kontrolü	Toprak, sediment ve çamur	Organik ve inorganik bileşikler	Kavaklar, çimler
Riparian buffer strips (Kıyı Tampon Şeritleri) (kirleticilerin su ile dere vb. akarsulara taşınmasının engellenmesi)	Kirleticici giderme	Yüzey ve yer altı suyu	Suda çözünen organik ve inorganikler	Kavaklar

Bitkiler tarafından topraklardan alınma potansiyeline sahip kirleticiler;

- metallar (Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn),
- metalloidler (As, Se),
- radionükleidler (90Sr, 137Cs, 239Pu, 238U, 234U),
- ametaller (B) ve diğer organik bileşikler (TPH, PAHs,

Pestisitler, PCBs)

Ancak bitkilerce bir kirleticinin topraktan alınabilmesi için, öncelikle toprak şartlarının bitkinin isteklerine uygun olması gerekmektedir. Toprak pH'sı bu konuda en önemli parametrelerden biri olarak öne çıkmaktadır. Diğer taraftan topraktan kirleticileri alma performansı yüksek olan bitkilerin, genel olarak özel coğrafik alanlarda yetiştikleri ve buna bağlı olarak özel gelişme şartları gerektirdikleri belirlenmiştir. Ancak çok yaygın alanlarda gelişebilen ve fitoremediasyon amacıyla başarılı bir şekilde kullanılan bitkilere de rastlanılmaktadır (62).

Bitkiler tarafından alınan bir kısım metallar, bitki bünyesindeki enzimler aracılığıyla bozunmakta ve kimyasal formları değişikliğe uğramaktadır. Çoğu metallar ise herhangi bir bozunmaya uğramadan bitkinin yaprak ve saplarında birikerek, bitkinin hasadıyla ortamdan uzaklaşmaktadırlar (67).

Topraktaki metalların bitki kökleri tarafından alınabilecek forma gelmesi, fitoremediasyon verimini etkileyen faktörlerin başında gelmektedir. Bu amaçla kullanılan kompleks yapıcı şelatların bitkilerde metalların alınabilirliğini arttırdığı tespit edilmiştir (68).

Tablo 3'te fitoremediasyonla bitkilerin alabildiği maksimum ağır metal konsantrasyonları, mg metal/kg bitki kuru ağırlığı cinsinden verilmektedir (69, 70).

Tablo 3. Fitoremediasyonla bitkilerin alabildiği ağır metal konsantrasyonları

Bitkinin Aldığı Ağır Metal Konsantrasyonu	Ağırlık (Gram/Kg)	Ağır Metal
1,250	mg/kg	As
9,4	mg/kg	Cd
110	mg/kg	Pb
1.165	mg/kg	Zn

Fitoremediasyon Tekniklerinde Artık Bitkisel Malzemenin Nihai Giderim Yolları

Bitkiler kullanılarak topraktan alınan metal alma işleminde amaç, toprak tarafından tutulmuş halde bulunan metalların daha kontrol edilebilir ve taşınabilir forma dönüştürülmesidir. Bu nedenle fitoremediasyon yöntemi, nihai bir uzaklaştırma veya giderme yöntemi olarak düşünülmemektedir. Nihai uzaklaştırma veya giderim, fitoremediasyon sonucunda ortaya çıkan bitkilerin yakılarak veya uygun bir depolama alanında depolanarak gerçekleştirilebilmektedir. Bitkide biriken selenyum gibi bazı metalların hayvan beslenmesinde yararlı olması nedeniyle bu tür bitkilerin, hayvan yemi olarak değerlendirilmesi de mümkündür. Tablo 4'de farklı fitoremediasyon tekniklerinde artık bitkisel malzemenin nihai giderim yolları verilmektedir.

Biyosorpsiyon, Adsorpsiyon ve Fitoremediasyon Yöntemleri İle İlgili Yapılan Uygulamalar

Benaissa ve ark. yaptıkları çalışmada, kurutulmuş aktif çamur yararını, sentetik sulu solüsyondan Cu²⁺ giderimi için araştırmışlardır. Kinetik veriler ve denge biyosorpsiyon izotermeleri toplu koşullarda ölçülmüştür. Temas süresi, başlangıç bakır konsantrasyonu, solüsyonun başlangıç pH'sı ve bakır biyosorpsiyon kinetiklerinde bakır tuzunun doğası gibi bazı parametrelerin etkileri araştırılmıştır. Maksimum bakır biyosorpsiyonu başlangıç pH 5'de bulunmuştur. İki basitleştirilmiş kinetik model olan birinci dereceden denklem ve ikinci dereceden hız eşitliği, biyosorpsiyon kinetiğini tanımlamak için seçilmiştir. Langmuir ve Freundlich modelleri solüsyonun doğal pH'sında sorpsiyon denge verilerini tanımlamak için kullanılmıştır. Langmuir modelinin deneysel verilerde Freundlich modeline göre daha iyi uyum sağladığı belirtilmiştir. Elde edilen maksimum bakır alımı incelenen deneysel koşullar altında $q_m = 62.50 \text{ mg/g}$ (0.556 mmol/g) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar aktif çamurun, sentetik sulu çözeltilerdeki Cu²⁺ iyonlarının giderimi için uygun bir biyosorbent olduğunu göstermiştir (71).

Tablo 4. Farklı fitoremediasyon tekniklerinde artık bitkisel malzemenin nihai giderim yolları

Metod	Parçalanma/ İmha	Çıkarma/ Alma	Engelleme/ Sınırlandırma
Fitoekstraksiyon		*	
Fitostabilizasyon		*	
Fitovolatilizasyon		*	
Rizodegradasyon	*		
Fitodegradasyon	*		
Rizofiltrasyon		*	
Hidrolik kontrol	*		
Vejetatif örtü sistemleri	*		*
Riparian buffer strips (kirleticilerin su ile dere vb. akarsulara taşınmasının engellenmesi)	*	*	*

Krowiak ve ark. yaptıkları çalışmada fıstık kabuğu biyokütlesi ile sulu ortamlardan Cu^{+2} ve Cr^{+3} iyonlarının biyosorpsiyonunu araştırmışlardır. Optimum sorpsiyon koşulları, her metal için farklı farklı çalışılmıştır. Kinetik ve biyosorpsiyon dengesi ayrıntılı olarak incelenmiştir. Deneysel verilerle bağlantı kurmak ve kinetik parametrelerini değerlendirmek için dört kinetik model (birinci dereceden denklem, ikinci dereceden denklem, güç fonksiyonu denklemi ve Elovich denklemi) kullanılmıştır. İyi bilinen dört adsorpsiyon modeli, biyosorpsiyon dengesini ifade etmek için seçilmiştir. Deneysel veriler, Langmuir-Freundlich ikili parametre modeli ve Redlich-Peterson-Simps üçlü parametre modelleri kullanılarak analiz edilmiştir. Denge biyosorpsiyon izotermleri, fıstık kabuklarının yüksek afiniteye sahip olduğunu göstermektedir. Tüm sonuçlar, fıstık kabuğu biyokütlesinin sulu ortamdan metal iyonlarının uzaklaştırılması için alternatif ve ilgi çekici düşük maliyetli biyosorbent olduğunu göstermektedir (72).

Kumar ve ark. yaptıkları çalışmada, dolu yatak sütununda immobilize edilmiş *Trichoderma viride* biyokütlesini kullanarak elektrokaplama artıktan ağır metal iyonlarının biyosorpsiyonunu çalışmışlardır. Fungal biyokütle olan *T. viride*, sentetik solüsyonlar ve elektrokaplama artıktan Cr^{+6} , Ni^{+2} ve Zn^{+2} gibi ağır

metallerin giderimi için kalsiyum-alginat kullanılarak immobilize edilmiştir. Deneyler yatak yüksekliği, akış hızı ve metal iyonlarının başlangıç konsantrasyonları gibi önemli dizayn parametrelerinin etkilerini araştırmak için çalışılmıştır. Maksimum biyosorpsiyon kapasitesi akış hızı 5 ml/dk, yatak yüksekliği 20 cm ve metal iyon konsantrasyonu 50 mg/L'de gözlemlenmiştir. Buna rağmen, atılma süresi ve doyunluk süresi artan akış hızı ile birlikte azalmıştır. Yatak derinliği işlevsellik süresi (BDST) Adams-Bohart modeli, deneysel verileri analiz etmek için kullanılmıştır. Rejenerasyon verimi, 5. sorpsiyon-desorpsiyon döngüsünden sonra sorpsiyon kapasitesinde önemli bir değişiklik olmadan Cr^{+6} , Ni^{+2} ve Zn^{+2} için %40.1, %75 ve %53 olarak gözlemlenmiştir (73).

Ekmekyapar ve ark. *Cladonia rangiformis* Hoffm. liken biyokütlesinde Pb^{+2} biyosorpsiyonunu incelemişlerdir. Toplu deneyler Pb^{+2} için liken biyokütle biyosorpsiyon özelliklerini, başlangıç metal iyon konsantrasyonlarının etkilerini, başlangıç pH'ı, biyosorbent konsantrasyonunu, karıştırma hızı ve temas süresine etkilerini çalışmak için yapılmıştır. (74).

Öztürk ve ark. yaptığı çalışmada *Flavoparmelia caperata* ve *Platismatia glauca* türlerine ait biyoküteller kullanılarak Cr^{+6} iyonunun sulu

çözümlerden biyosorpsiyonunu incelemiştir. Bu amaçla; başlangıç pH'sı, başlangıç metal iyon konsantrasyonu, biyosorbent konsantrasyonu, sıcaklık ve zamanın biyosorpsiyon verimine etkisi araştırılmış ve uygun izoterm modelleri belirlenmeye çalışılmıştır. Sonuçlar, liken türleri ile Cr^{+6} biyosorpsiyonu için optimum pH ve başlangıç metal iyonu konsantrasyonu değerlerinin sırasıyla 1 ve 40 ppm olduğunu göstermiştir. Biyosorpsiyon için denge zamanı 60 dakika olarak belirlenmiş, sıcaklık arttıkça verimin arttığı, buna karşılık biyokütle miktarı arttıkça verimin düştüğü gözlenmiştir (75).

Arslan ve ark. Cu^{+3} , Zn^{+2} ve Pb^{+2} gibi ağır metallerin, pirinç kabuklarıyla metal kaplama endüstriyel atık sudan adsorpsiyonunu araştırmışlardır. Sonuçlar metal iyon adsorpsiyonun etkin olduğunu göstermiştir. Adsorblanan metal pirinç kabuğundan seyreltik asit kullanılarak yeniden kullanım için önemli kayıplar olmadan geri kazanım sağlanmıştır (76).

Ekmekyapar ve ark. yaptıkları çalışmada, Cu^{+2} iyonu için, *Cladonia rangiformis* liken biyokütlesinin adsorpsiyon özelliklerini, kesikli adsorpsiyon tekniği kullanarak araştırmışlardır. Başlangıç metal iyon derişimi, başlangıç pH'ı, biyosorbent derişimi, karıştırma hızı ve etkileşim süresinin biyosorpsiyon etkinliği üzerindeki etkileri incelenmiştir. Deneyler sonunda 10mg/L başlangıç metal iyon derişimi, pH 5, 0, 150 rpm karıştırma hızı, 5 g/L liken biyokütle derişimi ve 60dk etkileşim süresi koşulları altında, en yüksek biyosorpsiyon etkinliği %76,5 olarak belirlenmiştir. Deneysel adsorpsiyon verileri, langmuir adsorpsiyon modeline uymuştur. Langmuir izoterminden hesaplanan en yüksek metal giderimi değeri 15°C'de 7,6923 mg Cu^{+2} .g⁻¹ inaktif likendir. Sonuçlar, *C. rangiformis* biyokütlesinin, sulu çözümlerdeki Cu^{+2} iyonlarının giderimi için uygun bir biyosorbent olduğunu göstermiştir (29).

Huang ve Huang, asit uygulamasının adsorpsiyon kapasitesini artırdığını ortaya koymuştur. Bir mantar olan *Aspergillus oryzae* ile yaptıkları çalışmalarda kadmiyum ve nikel ağır metallerinin

biyosorpsiyonu araştırmışlar, asitliğin artırıldığı durumlarda kapasitenin arttığını gözlemlemişlerdir (77).

Oymak ve ark. yaptıkları çalışmada, doğal ekonomik bir materyal olan zeolitin, sulu çözümlerden Pb gideriminde adsorbant olarak kullanımını araştırmışlardır. Çalışmalar, temas süresi, giriş kurşun konsantrasyonu, sıcaklık ve adsorbant dozunun fonksiyonu olarak yürütülmüştür. Pb adsorpsiyonu deneysel sonuçlara Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson ve Toth izotermi uygulanarak değerlendirilmiştir. Kurşun adsorpsiyon dataları en iyi Freundlich izotermine uygunluk göstermektedir. Yapılan çalışma 298°K, 318°K ve 338°K'de bir dizi analiz içermektedir. Çalışma kapsamında kurşunun zeolitle adsorpsiyonu için kinetik çalışmalar da yapılmış ve kurşun adsorpsiyonunun ikinci derece reaksiyon kinetiğine daha uygun olduğu tespit edilmiştir (78).

Aksu ve Yener, yapılan çalışmada granüler aktif karbon ve kurutulmuş aktif çamur kullanılarak fenol, o-klorofenol ve p-klorofenolün sulu çözümlerden adsorpsiyonu, ortam pH'sının, başlangıç kirleticilerinin derişiminin ve bağlı grupların fonksiyonu olarak incelemiş ve bu parametrelerin adsorpsiyonu hızı ve verimliliği üzerine etkilerini araştırmışlardır. Adsorpsiyonun matematiksel tanımlanmasında Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon izotermi kullanılmış ve her kirleticisi ve adsorplayıcı türü için izoterm sabitleri belirlenmiştir (79).

Alyüz ve ark. yaptıkları çalışmada, fitoremediasyon yöntemiyle etkin olarak arıtılabilen organik bileşikler ve arıtımlarında kullanılan bitki türlerini belirlemişlerdir. Ayrıca fitoremediasyon prosesinde yer alan temel mekanizmaları araştırmışlar, yöntemin uygulanmasındaki avantaj ve dezavantajları ortaya koymuşlardır. Çalışmanın sonucunda *Hordeum vulgare*, *Catharanthus roseus*, *Solanum nigrum* ve *Populus sp.* gibi bitki türlerinin organik bileşiklerin arıtımında kullanıldığı belirlenmiştir (80).

Lázaro ve ark. yaptıkları çalışmada Cr, Mn ve Zn ile kontamine olmuş toprakta bir yeşil ıslah türü olan

bitkisel özümleme (fitoekstraksiyon) tekniğini *Cistus ladanifer*, *Lavandula stoechas*, *Plantago subulata* ve *Thymus mastichina* bitkileriyle uygulamışlardır. Araştırma sonucunda Akdeniz bölgesine özgü bu bitki türlerinden *P. subulata* hariç diğer üç bitki sahip oldukları yüksek tolerans kabiliyeti sayesinde hayatta kalmış ve arıtım için iyi bir performans sergilemişlerdir. Ayrıca bu çalışmada tanımlanan üç bitki türü hoş koku ve yağları sayesinde ekonomik fayda sağlayabilecek bir biokütleyle sahip olduğunu ortaya koymuşlardır (81).

Madejon ve ark. yaptıkları çalışmada eski bir madende ayçiçeği yetiştirip toprağın iyileşme miktarını, ağır metalle kontamine olmamış bölgedeki sonuçlarla karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak ayçiçeği bitkisinin bitkisel özümleme kapasitesinin çok düşük olduğu ancak bu bitkinin bölgede toprak koruma için kullanılabilceğini ayrıca bitkilerden elde edilecek bitkisel yağın endüstriyel olarak da kullanılabilceğini belirtmişlerdir (82).

Manios ve ark. yaptıkları çalışmada *T. latifolia*'nın sudan aldığı ağır materyalleri incelemişlerdir. Bu çalışmada yaptıkları analizlerle *T. latifolia*'nın kök, gövde ve yaprakları tarafından en fazla miktarda aldığı ağır metaller (Cu, Ni, Zn) hakkında bilgi vermişlerdir. Yapılan analizlerde A, B, C ve D olmak üzere dört grubu Cu, Ni ve Zn' nin farklı konsantrasyonlarını içeren bir çözelti ile her iki haftada bir kez sulamışlardır. 10. hafta sonunda alt tabaka ve bitkiler kurutulmuş tartılmış ağır metaller için analiz edilmiştir. Analizler sonucunda *T. latifolia*'nın yaprak, gövde ve köklerinde Zn konsantrasyonu 391,7 mg/kg değerine ve kuru ağırlıkta 60,8 mg/kg 'a ulaşmıştır. Grup D'nin alt tabakasında üç metalde en yüksek oranda belirtilmiştir. Yapılan lineer korelasyon analizleri sonunda alt tabaka materyallerin konsantrasyonları ile çözüldükleri konsantrasyonlar arasında doğrusal bir ilişki olduğu varsaymış ve sistemdeki bitkilerin katkısının %1'den daha az olduğu belirtilmiştir (83).

Manios ve ark. yaptıkları çalışmada atık su kompostları içeren substratlar da gelişen *Typha*

latifolia bitkilerinin klorofil konsantrasyonları üzerine ağır metal birikiminin etkilerini incelemişlerdir. Bunun içinde beş gruptan oluşan bir deneme kurmuşlar ve beşinci grupta (Grup M) musluk suyu diğer dört grupta ise (A, B, C ve D) (Her 2 haftada bir) Cd, Cu, Ni, Pb ve Zn'nin farklı konsantrasyonlarını içeren solüsyonlar kullanmışlardır. Sonuçta 10 haftalık deneysel periyodun sonunda ilk dört grupta bitkilerin kökleri ve yapraklarında Ni, Cu ve Zn'nin temel konsantrasyonlarının grup M'nin bitkilerindeki konsantrasyondan daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Daha sonra gelişen bitkilerin yapraklarında toplam klorofil konsantrasyonu klorofil-a (Chl-a) ve klorofil-b (Chl-b) iki hafta aralıklarla izlemişlerdir. Sonuçta ise A, B, C ve M gruplarında toplam klorofil konsantrasyonlarında artış gözlemlenmiştir. Grup D de ise biriken metallerin toksik etkisi nedeniyle klorofil oranlarında önemli bir azalma gözlemlenmiştir (84).

Sharma, yaptığı çalışmada aşırı fosfor (P) içeren topraklarda yeşil ıslah potansiyelini incelemiştir. Araştırmada salatalık (*Cucumis sativus*) ve sarı kabak (*Cucurbita pepo var. melopepo*) kullanılmıştır. Sonuçta söz konusu bitkilerin yüksek biyokütle ve ekonomik değer oluşturduğunu, fosforun bitkisel özümlemesi için birer potansiyel aday olduklarını öne sürmüştür (85).

Smith ve ark. yaptıkları çalışmada *T. latifolia*'da toprakaltı mineral element depolamanın önemini incelemişlerdir. Bunun için de Wisconsin ve Mentoda gölünün kıyısı üzerinde bir bataklıkta gelişen bitkilerde gelişme sezonu boyunca (Nisan-Ekim) her iki haftada bir *T. latifolia*'nın toprak altı ve üstü parçalarında N, P, K, Ca, Mg, Fe, B, Mn, Na, Sr, Cu, ve Zn miktarlarını ölçmüşlerdir. Sonuçta parçalar arasındaki belli değiş tokuşların miktarı ve parçaların toprak altı ve üzeri arasındaki dağılımında elementlerin oldukça farklı olduğunugözlemişlerdir (86).

Vanlı ve Yazgan, yaptıkları çalışmada, fitoremediasyon gerçekleştirilebilmek amacıyla kullanılan teknikleri karşılaştırarak bunların giderim mekanizmaları, avantaj ve dezavantajları,

uygulanabilecek toprakların metal kirlilik durumları ve hangi bitki çeşitlerinde uygulanabileceği ile ilgili özellikleri, iklim durumları ve sistemin maliyeti hakkında bilgiler vermişlerdir. Ayrıca fitoremediasyon sonucunda hasat edilen bitkilerin değerlendirilme şekillerini irdelemişlerdir. Fitoremediasyon kapsamı altında kullanılan bir çok farklı teknoloji ve bitki türünün bulunması, bu teknolojinin kullanım imkanını arttırmaktadır. Ancak fitoremediasyon yönteminin, nihai bir uzaklaştırma veya giderme yöntemi olarak değerlendirilmemesi gerekmektedir. Nihai giderim, fitoremediasyon sonucunda ortaya çıkan bitkilerin yakılarak, uygun özelliklere sahip ise yem bitkisi olarak kullanılarak veya uygun bir depolama alanında depolanarak gerçekleştirilmektedir (87).

Vanlı, yaptığı çalışmada, Pb, Cd ve B elementleri ile kirlenmiş toprakların fitoremediasyon yöntemi ile temizlenmesini araştırmıştır. Bu amaçla Pb, Cd ve B elementleri eklenmiş topraklarda, mısır, ayçiçeği ve kanola bitkileri kullanılarak fitoremediasyon çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca topraklara fitoremediasyon kapasitesini arttırmak üzere çeşitli dozlarda kompleks yapıcı şelat ilave edilerek, bitkilerin element giderim performanslarındaki değişimler gözlenmiştir. Deneysel çalışmalar kapsamında, toprağa $Pb(NO_3)_2$, $CdCl_2$ ve H_3BO_3 eklenmesinden sonra ayçiçeği, mısır ve kanola biki tohumlarının ekimleri yapılmış olup, ihtiyaç duyulan uygun aralıklarla sulamaları yapılarak gelişimleri gözlenmiştir. Bitki hasadından yedi gün önce toprağa EDTA eklenmiş ve daha sonra bitkiler hasat edilmiştir. Bitkinin kök ve toprak üstü organlar tarafından alınan elementlerin belirlenmesi amacıyla saksılarda tek tek kesilerek çözünürleştirilmeleri yapılmış olup atomik absorpsiyon spektrofotometre (AAS) ve indüktif eşleşmiş plazma (ICP) cihazları ile element içerikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında bitkilerin kuru ağırlıkları başına aldıkları element miktarları tespit edilmiştir (88).

SONUÇ

Günümüzde çevre kirliliği önemli bir sorun oluşturmaktadır. Endüstriyel atık sularda metallerin toksikderişimlerinin var olması önemli çevre sorunlarını da beraberinde getirmektedir. Toksik metallerle kirlenmiş alanların iyileştirilmesinde (remediasyon) kullanılan geleneksel yöntemler pahalı olmaktadır. Toksik metallerin böyle endüstri atıklarından uzaklaştırılması için mevcut fiziksel ve kimyasal aşamaların yerine biyolojik moleküllerin kullanımı alternatif ve oldukça etkili görülmüştür. Biyosorpsiyon, biyolojik materyaller kullanılarak adsorpsiyon yoluyla solüsyonlardan metallerin uzaklaştırılmasını sağlayan bir teknolojidir. Biyosorpsiyon sadece tek sorpsiyon mekanizmasıyla sınırlandırılmamıştır, iyon değişimi, şelasyon, çökeltme vb. gibi birçok mekanizmadan oluşmaktadır. Biyosorpsiyonda metal iyonları ve canlı ya da cansız materyal arasında fizikokimyasal bir durum gerçekleşir. Bu fizikokimyasal durumda canlı organizma kullanılması durumunda biyoakümülyasyon teriminin kullanılması daha çok tercih edilmektedir. Ölü hücreler tarafından metallerin hücreye alınması daha çok biyosorpsiyon olarak adlandırılmaktadır. Birçok araştırmacı hem ölü hem de canlı materyallerle çalışarak metallerin hücreye alınması çalışmaları yapmıştır.

Fitoremediasyon teknolojisi, toksik metallerle kirlenmiş toprak ve su kaynaklarının iyileştirilmesi için kullanılmaktadır. Fitoremediasyonunun en önemli avantajları arasında yerinde artırım sağlama ve ekstra enerjiye gereksinim olmamasıdır. Doğal kaynaklara zarar vermez ve kamuoyu tarafından yüksek kabul görür. Bu avantajların yanında fitoremediasyon su, toprak ve sedimentte sadece sığ bölgelerde arıtıma olanak verir. Mekanik arıtmadan daha yavaştır. Ayrıca toprak ve iklim koşullarından etkilendiği için her ortamda uygulanmaz. Fitoremediasyon süreci sırasında toksik maddelerin bitki bünyesindeki değişimini izlemek oldukça zordur. Fitoremediasyonun dezavantajı ise çok ağır düzeylerde kirlenmiş alanlarda bitkilerin kısa sürede etkinliğini gösterememesidir. Bu nedenle ancak düşük düzeylerde kirlenmiş alanlarda

kullanılır. Sistemin etkinliği kök derinlikleri ve iklim değişikliğiyle sınırlıdır. Doğal olmayan bitkilerin bu amaçla kullanılması biyolojik çeşitliliği olumsuz yönde etkileyebilir. Sonuç olarak, fitoremediasyon alanı yeni bir ekolojik alan olmakla birlikte büyük

potansiyele sahip bir imkandır. Fitoremediasyonun daha ileri aşamasında, botanik bilimini, genetik mühendisliğini, toprak kimyasını ve mikrobiyolojisini, aynı zamanda tarımı ve çevre bilimini birleştiren, disiplinlerarası bir çalışma alanı gerektirecektir.

KAYNAKLAR

1. Özdemir Hİ. Genel Anorganik ve Teknik Kimya. İstanbul: Matbaa Teknisyenleri Basımevi, 1981.
2. Anonymous. <http://www.food-info.net/tr/metal/intro.htm>
3. Nies DH. Microbial heavy-metal resistance. Appl Microbiol Biotechnol, 1991; 51: 730-50.
4. Ehrlich HL. Microbes and metals. Appl Microbiol Biotechnol, 1997; 48: 687-92.
5. Lester JN, Perry R, Dadd AH. The influence of heavy metals in a mixed population of sewage origin in the chemostat. Water Res, 1979; 13: 1055-63.
6. Braam F, Klapwijk A. Effect of copper on nitrification in activated sludge. Water Res, 1981; 5: 1093-8.
7. Waara KO. Effects of copper, cadmium, lead and zinc on nitrate reduction in a synthetic water medium and lake water from Northern Sweden. Water Res, 1992; 26: 355-64.
8. Ajmal M, Ahmad A, Nomani AA. Microbial uptake of cadmium and its effects on the biochemical oxygen demand. Water Res, 1982; 16: 1611-4.
9. Ajmal M, Ahmad A, Nomani AA. Influence of toxic metals on the repression of carbonaceous oxygen demand. Water Res, 1983; 17: 799-802.
10. Madoni P, Davoli D, Gorbi G, Vescoli L. Toxic effects of heavy metals on the activated sludge. Protozoan community. Water Res, 1996; 30: 135-41.
11. Dilek FB, Yetis U. Effects of heavy metals on activated sludge process. Water Sci Technol, 1992; 26: 801-13.
12. Imai A, Gloyna EF. Effects of pH and oxidation state of chromium on the behaviour of chromium on activated sludge process. Water Res, 1990; 24: 1143-50.
13. Surittanonta S, Sherrad JH. Activated sludge nickel toxicity studies. J. Water Pollut Control Fed, 1981; 53: 1314-22.
14. Bigersson B, Sterner O, Zimerson, E. Chemie und gesundheit, Eine Verst 2nd liche einführung in die toxikologie. VCH Verlagsgesellschaft, 1988.
15. Duffus JH, Worth HGJ. Fundamental toxicology for chemists. UK: Royal Society of Chemistry Information Services, 1996.
16. Kahvecioglu Ö, Kartal G, Güven A, Timur S. Metallerin Çevresel Etkileri-I. Metalurji, 2003; 136: 47-53.
17. Horsfall MJ, Spiff AI. Effects of temperature on the sorption of Pb+2 and Cd+2 from aqueous solution by Caladium bicolor (Wild Cocoyam) biomass. Electron J Biotechn, 2005; 8: 143-50.
18. Bailey SE, OLin TJ, Bricka RM, Adrian DD. A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. Water Res, 1999; 33: 2469-79.
19. Ghaedi M, Asadpour E, Vafaie A. Sensitized spectrophotometric determination of Cr (III) ion for speciation of chromium ion in surfactant media using Alpha-Benzoin Oxime. spectrochim. Acta, 2006; 63: 182-88.
20. Liang Y, Zhao ZH, Li QM, Cui FL, Liu GG. Study on preconcentration of trace copper using microcrystalline triphenyl-methane loaded with Malachite Gren Chin J Chem, 2007; 25: 521-26.

21. İleri R. Çevre Biyoteknolojisi. 1. Baskı. Adapazarı: Değişim Yayınları, 2000: 501-22.
22. Hussein H, Ibrahim SF, Kandeel K, Moawad H. Biosorption of heavy metals from wastewater using *Pseudomonas* sp. *Electron J Biotechn*, 2004; 7: 38-46.
23. Liu H, Chen B, Lana Y, Chenga Y. Biosorption of Zn(II) and Cu(II) by the indigenous *thiobacillus* thiooxidans. *Chem Engineering J*, 2004; 97: 195-201.
24. Vieira RSHF, Volesky B. Biosorption: a solution to pollution. *Inter Microbiol*, 2000; 3: 17-24.
25. Çubukçu HE. Krom(VI), Bakır(II), Demir(II) İyonlarının Tek ve Çok Bileşenli Metal Sistemlerinde *R. arrhizus*'la Biyosorpsiyonunun Sürekli Karıştırılmalı Kaplarda İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1998.
26. Aydoğan MN. *Phanerochaete chrysosporium* Biyoması ile Sulardan Çinko (II)nun Biyosorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1999.
27. Uzun H. Sarı çam (*Pinus sylvestris*) Kozalağı Biyoması Kullanılarak Atıksulardaki Ağır Metallerin Biyosorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2001.
28. Uluözlü OD, Sarı A, Tuzen M, Soylak M. Biosorption of Pb(II) and Cr(III) from aqueous solution by lichen (*Parmelina tiliaceae*) biomass. *Bioresource Technol*, 2008; 99: 2972-80.
29. Ekmekyapar F, Arslan A, Bayhan YK, Cakici A. Biosorption of copper(II) by non living lichen biomass of *Cladonia rangiformis* Hoffm *J Hazard Mat*, 2006; 137: 293-8.
30. Sarı A, Tuzen M, Uluözlü ÖD, Soylak M. Biosorption of Pb(II) and Ni(II) from aqueous solution by lichen (*Cladonia furcata*) biomass. *Biochem Eng J*, 2007; 37: 151-8.
31. Bingöl A, Aslan A, Cakici A. Biosorption of chromate anions from aqueous solution by a cationic surfactant-modified lichen (*Cladonia rangiformis* (L.)). *J Hazard Mat*, 2009; 161: 747-52.
32. Yalçın E, Çavuşoğlu K, Kınalıoğlu K. Biosorption of Cu²⁺ and Zn²⁺ by raw and autoclaved *Rocella phycopsis*. *J Environ Sci*, 2010; 22(3): 367-73.
33. Güner H, Aysel V, Sukatar A. *Tohumuz Bitkiler Sistematiği II (Mantarlar ve Likenler)*. Bornova-İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1992; 138(5): 139-42.
34. Tay T, Candan M, Erdem M, Çimen Y, Türk H. Biosorption of cadmium ions from aqueous solution onto non-living lichen *Ramalina fraxinea* Biomass *Clean*, 2009a; 37(3): 249-55.
35. Ateş A, Yıldız A, Yıldız N, Calımlı A. Heavy metal removal from aqueous solution by *Pseudevernia furfuracea* (L.). *Zopf. Annali di Chimica*, 2007; 97: 385-93.
36. İlier R, Mavituna F. Biosorption of copper from aqueous solutions by immobilised *Rhizopus arrhizus*. In: 1.st International Symposium on Environmental Pollution, June, 1: 74-79, İzmir-Türkiye. 1991.
37. Volesky B. Sorption and Biosorption. St. Lambert, Quebec: BV Sorbex, Inc, 2004; 103-28.
38. Volesky B. Sorption and Biosorption. Montreal, Kanada: BV Sorbex, Inc, 2003; 316.
39. Benefield LD, Judkins JR JF, Weand BL. Process chemistry for water and wastewater treatment. New Jersey: Englewood Cliffs, 1982; 433-5.
40. Ahmad AL, Bhatia S, Ibrahim N, Sumathi S. Adsorption of residual oil from palm oil mill effluent using rubber powder. *Braz J Chem Eng*, 2005; 22 (3): 371-9.
41. Weber JR. Physicochemical processes for water quality control. Wiley- Interscience, 1972; 640.
42. Mungasavalli DP, Viraraghavan T, Jin YC. Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated *Aspergillus niger*: Batch and Column studies. *Colloid Surface A: Physicochem Eng Asp*, 2007; 301: 214-23.
43. Deng L, Su Y, Su H, Wang X, Zhu X. Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by Green Algae *Cladophora fascicularis*. *J Hazard Mat*, 2007; 143: 220-25.
44. Kuyucak N, Volesky B. Accumulation of cobalt by marine algae. *Biotechnol Bioeng*, 1989; 33 (7): 809-14.
45. Yu LJ, Shukla SS, Dorris KL, Shukla A, Margrave JL. Adsorption of chromium from aqueous solutions by maple sawdust. *J Hazard Mat*, 2003; 100: 53-63.

46. Macaskie LE, Dean ACR. Microbial metabolism desolubilization and deposition of heavy metals: Metal uptake by immobilized cells and application to the detoxification of liquid wastes. *Biological Waste Treatment*, Alan R. Liss Inc, 1989; 159-201.
47. Matheickal JT, Q Yu. Biosorption of lead (II) from aqueous solutions by *Phellinus badius*. *Miner. Eng.* 1997; 10: 947-57.
48. Rulkens WH, Tichy R, Grotenhuis JTC. Remediation of polluted soil and sediment: Perspectives and Failures. *Water Sci. Technol*, 1998; 37: 27-35.
49. Mcintyre T. Phytoremediation of heavy metals from soils. *Advan Biochem Eng/Biotech*, 2003; 78: 97-123.
50. Padmavathamma PK, Loretta YL. Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. *Water Air Soil Pollut*, 2007; 184: 105-26.
51. Baker AJM, Revees RD, Hajar ASM. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl. (Brassicaceae). *New Phytol*, 1994; 127: 61-8.
52. Evangelou MWH, Ebel M, Schaeffer A. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil: Effect, mechanism, toxicity and fate of chelating agents. *Chemosphere*, 2007; 68: 989-1003.
53. Meers E, Ruttens A, Hopgood MJ, Samson D, Tack FM. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 2005; 58: 1011-22.
54. Blaylock MJ, Huang JW. Phytoextraction of metals. In: Raskin I, Ensley BD. eds. *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean-up the Environment*. New York: Wiley, 2000: 53-70.
55. Memon AR, Aktopraklıgil D, Özdemir A, Vertii A. Heavy Metal Accumulation and Detoxification Mechanisms in Plants. Tübitak MAM, Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Kocaeli-Turkey. 2000.
56. Dushenkov V, Kapulnik Y. Phytofiltration of metals. In: Raskin I, Ensley BD. eds. *Phytoremediation of Toxic Metals - Using plants to clean-up the environment*. New York: Wiley, 2000: 89-106.
57. Raskin I, Ensley DE. *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment*. New York: Wiley, 2000: 352.
58. Lee M, Yang M. Rhizofiltration using sunflower (*Helianthus annuus* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. *vulgaris*) to remediate uranium contaminated groundwater. *J Hazard Mat*, 2010; 173: 589-96.
59. Dushenkov V, Kumar PBAN, Motto H, Raskin I. Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environ Sci Technol*, 1995; 29: 1239-45.
60. Bert V, Girondelot B, Quatannens V, Laboudigue A. A phytostabilisation of a metal polluted dredged sediment deposit—Mesocosm experiment and field trial. In: Uhlmann O, Annokée GJ, Arendt F. eds. *Proceedings of the 9th International FZK/TNO Conference on soil-water systems, remediation concepts and technologies*, Bordeaux, 2005: 1544-50.
61. Berti WR, Cunningham SD. 2000. Phytostabilization of metals. In: Raskin I, Ensley BD. eds. *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean-up the environment*. New York: Wiley, 2000: 71-88.
62. Rizzi L, Petruzzelli G, Poggio G, Vigna Guidi G. Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization. *Chemosphere*, 2004; 57: 1039-46.
63. EPA. Environmental Protection Agency, Introduction of Phytoremediation. *epa/600/R-99/107*, Cincinnati, Ohio, U.S.A. 2000: 72.
64. Ghosh M, Singh SP. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its by products. *Appl. Ecol Environ Res*, 2005; 3: 1-18.
65. Söğüt Z, Zaimoğlu Z, Erdoğan RK, Doğan S. Su kalitesinin artırılmasında bitki kullanımı (yeşil ıslah-Phytoremediation). Adana: Çukurova Üniversitesi, 2004.
66. Gabor TS, North AK, Ross, LCM, Murkin HR, Anderson JS, Turner MA. *Beyond The Pipe: The Importance of Wetlands and Upland Conservation Practises in Watershed Management: Function and Values for Water Quality and Quantity*. Ducks Unlimited Canada, 2001: 52.
67. www.cevrehekim.org (2006).
68. Martens SN, R.S. Boyd. The ecological significance of nickel hyperaccumulation: A plant chemical defense. *Oecologia*, 1994; 98: 379-84.

69. Pierzynski GM, Schnoor JL, Banks MK, Tracy JC, Licht LA, Erickson LE. Vegetative remediation at superfund sites. Mining and its environ Impact (Royal Soc. Chem. Issues in Environ Sci Technol, 1), 1994: 49-69.
70. Pierzynski GM, Schwab AP. Reducing heavy metal availability to soybeans grown on a metal contaminated soil. In: Erickson LE, Grant SC, McDonalds JP. eds. Proceedings of the Conference on Hazardous Waste Research, June 1-2, Boulder, CO. Engineering Extension, Kansas State University, Manhattan, KS. 1992: 543-53.
71. Benaissa H, Elouchdi MA. Biosorption of copper(II) from synthetic aqueous solutions by drying bed activated sludge. J Hazard Mat, 2011; 194: 69-78.
72. Krowiak AW, Szafran RG, Modelski S. Biosorption of heavy metals from aqueous solutions onto peanut shells as a low-cost biosorbent. Desalination, 2011; 265(1-3): 126-34.
73. Kumar R, Bhatia D, Singh R, Rani S, Bishnoi R. Sorption of heavy metals from electroplating effluent using immobilized biomass *Trichoderma viride* in a continuous packed-bed column. Int. Biodet. Biodeg, 2011; 65(8): 1133-9.
74. Ekmekyapar F, Aslan A, Bayhan YK, Çakıcı A. Biosorption of Pb(II) by non living lichen biomass of *Cladonia rangiformis* Hoffm. Int J Environ Res, 2010; 6(2): 417-24.
75. Öztürk S. Bazı liken türleri ile (*Flavoparmelia caperata* (L.) Hale ve *Platismatia glauca* (L.)W.L. Culb.&C.F.Culb) Cr+6'nın biyosorpsiyonu. 2010: 78.
76. Arslan A, Taylan S, Yüksel O. 2007. Endüstriyel atıksulardan ağır metallerin zirai atıklarla adsorpsiyonu. 7. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi Yaşam Çevre Teknolojisi. Ekim, İzmir. 2007.
77. Huang C, Huang CP. Application of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae* for Cu(II) removal. Water Res, 1996; 30(9): 1985-90.
78. Oymak İ, Sekman E, Top S, Yazıcı R, Bilgili MS, Demir A, Varank g. Kurşunun Zeolite Adsorpsiyonunun İzoterm ve Kinetik Analizi. IV. Sınıf Yüksek Lisans Öğrencisi, Yıldız Teknik Üniversitesi, 2008.
79. Aksu Z, Yener J. Atıksulardaki Fenol ve Klorofenollerin Aktif Karbon ve Kurutulmuş Aktif Çamur Adsorpsiyonu. J Eng Environ Sci, 1997; 23: 93-104.
80. Alyüz B, Çetin Ş, Ayberk S. Organik kirleticilerin arıtımında fitoremediasyon yönteminin uygulanabilirliği. Çevre sorunları sempozyumu. Mayıs, Kocaeli. 2008.
81. LazaroDJ, KiddPS, MartinezCM. Aphytogeochemical study of the Tras-Os-Montes region Ne Portugal: possible species for plant-based soil remediation technologies. Sci Total Environ, 2006; 354: 265-77.
82. Madejon P, Murillo JM, Maranon T, Cabrera F, Soriano MA. Trace element and nutrient accumulation in sunflower plants two years after the Aznolcollar Mine Spill. Sci Total Environ, 2003; 307: 239-57.
83. Manios T, Stentiford EI, Millner PA. Removal of heavy metals from a metaliferous water solution by *Typha Latifolia* L. plants and sewage sludge compost. Chemosphere, 2003a; 53(5): 487-94.
84. Manios T, Stentiford EI, Millner PA. The effect of heavy metals accumulation on the Chlorophyll concentration of *Typha Latifolia* L. plants, growing in a substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferus water. Ecol Eng, 2003b; 20(1): 65-74.
85. Sharma NC, Daniel LS, Shivendra VS. Phytoextraction of excess soil phorpous environmental pollution (Article in Press) 2006: 1-8.
86. Smith CS, Adams MS, Gustafson TD. The Importance of belowground mineral element stores in Cattails (*Typha Latifolia* L.). Aqua Bot, 2003; 30(4): 28343-52.
87. <http://www.tarimsal.com/fitoremediasyon/fitoremediasyon.htm>
88. Vanlı Ö. Pb, Cd ve B elementlerinin topraklardan şelat destekli fitoremediasyon yöntemiyle giderilmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.

A

AKÇALI A.	3/149
AKÇELİK M.	4/201
AKÇELİK N.	4/201
AKIN F.	1/53
AKMAN C.	2/75
AKMİRZA-İNCİ N.	4/229
ALATAN F.	2/89
ALBAYRAK N.	1/1
ALGA Ö.H.	1/37
ALTINBİLEK E.	2/75
ARAS S.	2/97-4/179, 235
ARAS Z.	1/31
ARSLAN Ö.	2/75
ATAOL Ö.	3/135
AYDIN B.	1/15
AYPAR E.	1/53

B

BAĞDATLI Y.	1/15
BAKIR F.	4/213
BALKANLI O.	4/219
BALTALI N.D.	1/15
BAŞAK-ALTAŞ A.	1/1
BAŞARI F.	1/27
BEAL F.L.R.	4/225
BEŞİRBELLİOĞLU B.A.	1/37
BEYHAN E.D.	3/155
BİLGİN H.	1/53
BÜYÜK F.	2/83
BÜYÜK İ.	2/97
BÜZKAYA H.	1/1

C - Ç

CAN Ş.	4/193
CANPOLAT M.	3/143
CANSARAN-DUMAN D.	3/127-4/179, 235

CESUR S.	2/67
ÇARHAN A.	1/1
ÇELEBİ B.	2/83
ÇELEBİ Ö.	2/83
ÇELİK H.T.	4/213
ÇEPNİ İ.	1/15
ÇİFT T.	1/15
ÇOŞKUN Ö.	1/37

D

DAL T.	4/193
DAYAN S.	4/193
DEMİRBAKAN H.	4/229
DEMLİ F.	2/89
DERİCİ M.K.	1/1
DEVECİ Ö.	3/163-4/193
DİNÇEL A.	2/89
DİNÇSOY A.B.	4/235
DURLU-ÖZKAYA F.	2/89

E

ER B.	1/41
EYİGÜN C.P.	1/37

G

GÜLBANDILAR A.	3/155
GÜMRAL R.	2/61
GÜNDOĞAN N.	3/135
GÜZELANT A.	3/121

H

HAKBİLİR O.	2/75
HALICI M.G.	3/127
HAMUTOĞLU R.	4/235

İ

İNCİ M.	3/163
--------------	-------

K

KARACAN S.M.	2/111
KARAKAŞ A.	1/37

YAZAR DİZİNİ / AUTHOR INDEX

KARAKUŞ A.	3/163	SOYDAM-AYDIN S.	2/97
KAVAKLI A.	3/143	SÖNMEZ M.	2/75
KAVALCI C.	2/75	SUBAŞI S.A.	2/89 -3/143
KAYNAR P.	3/143	ŞAHİN F.	1/1
KENAR L.	2/61	ŞAHİN M.	2/83
KESER M.	1/53	T	
KEŞLİ R.	1/53-3/121	TATMAN-OTKUN M.	3/149
KISA H.İ.	3/155	TEKİN A.	3/163-4/193
KURTOĞLU M.G.	1/53-3/121	TEKİN R.	4/193
KÜLEKÇİ G.	4/219	TOKA-ÖZER T.	3/163
M		TOPCUOĞLU N.	4/219
MERT G.	1/37	V	
MOR N.	2/83	VILLAFRANCA R.C.	4/225
N		U	
NOVAES M.R.C.G.	4/225	UÇAN U.S.	1/31
O - Ö		UYANIK Ö.	1/27
ODABAŞ D.	1/53	UYAR Y.	1/1
ONAR A.N.	2/111	UYSAL E.B.	3/121
OPUŞ A.	3/121	UZUN R.	2/89
ORTATATLI M.	2/61	ÜÇKARDEŞ H.	2/61
ÖZBEY N.	3/149	Y	
ÖZDEMİR Ö.	4/213	YALÇIN S.	3/169
ÖZEKİNCİ T.	4/193	YAVUZ-ERDOĞAN B.	2/111
ÖZEROĞLU E.J.	3/143	YAYLA E.	4/229
ÖZKAYA E.	1/1	YAYLALI D.	4/219
ÖZON A.	2/67	YAZAR A.	1/53
ÖZTÜRK D.	2/75	YENER B.	4/201
P		YENTÜR G.	1/41
POLAT E.	1/15	YILDIRIM Z.	1/15
R		YILDIRIMKAYA M.M.	4/213
RAD A.Y.	2/67	YIŞ R.	4/229
S - Ş		YULA E.	3/163
SERT A.	1/53		
SİREKBASAN S.	1/15		

YILLIK DİZİN / ANNUAL INDEX

Sayı / Number: 1 Cilt / Vol: 69 Yıl / Year: 2012

1.	Ahmet ÇARHAN, Nurhan ALBAYRAK, Ayşe Başak ALTAŞ, Yavuz UYAR, Etem ÖZKAYA Türkiye’de 2007 - 2008 influenza sezonunda oseltamivir dirençli influenza A (H1N1) virüslerinin H274Y mutasyonu ile saptanması Evaluation of Detection of oseltamivir-resistant influenza A (H1N1) viruses with H274Y mutation during the 2007 - 2008 influenza season in Turkey	1 - 6
2.	Fesem BAŞARI, Öznur UYANIK..... Diyaliz sularının mikrobiyal kontaminasyon ve bakteriyel endotoksin testleri ile kontrolü Control of dialysis water by microbial contamination and bacterial endotoxin tests	7 - 14
3.	Erdal POLAT, Serhat SİREKBASAN, Burcu AYDIN, Zehra YILDIRIM, Yaşar BAĞDATLI, İsmail ÇEPNİ, Tayfur ÇİFT, Nezihe D. BALTALI İstanbul’da hayat kadınları ile hastanemizin kadın hastalıkları ve doğum kliniği hastalarındaki vajinal kandidiyazın görülme sıklığının 10 yıl önceki oranla kıyaslanması Comparison of the incidence of vaginal candidiasis among prostitutes in Istanbul and patients of the Obstetrics and Gynecology Clinic of Cerrahpaşa Medical Faculty	15 - 20
4.	Mehmet Kürşat DERİCİ, Hakan BÜZKAYA, Ferat ŞAHİN..... Kaçuk yapıda Foley idrar sondalarının sitotoksitesinde çinko bileşiklerinin olası rolü The possible role of zinc compounds on the cytotoxicity of latex Foley urinary catheters	21 - 30
5.	Zeki ARAS, Uçkun Sait UÇAN..... Konya ilinde köpeklerde listeriozis seroprevalansı The seroprevalence of canine listeriosis in dogs in Konya province	31 - 36
6.	Ahmet KARAKAŞ, Gürkan MERT, Ömer ÇOŞKUN, Ömer Hilmi ALGA, Bülent Ahmet BEŞİRBELLİOĞLU, Can Polat EYİĞÜN S19 hayvan aşısının kazayla inokülasyonu sonucu gelişmiş bir bruselloz olgusu A case of human brucellosis associated with unintentional inoculation of the animal vaccine S19	37 - 40
7.	Gülderen YENTÜR, Buket ER..... Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi The evaluation of the aflatoxin presence in foods	41 - 52

Sayı / Number: 2 Cilt / Vol: 69 Yıl / Year: 2012

1.	Ahmet SERT, Recep KEŞLİ, Dursun ODABAŞ, Hüseyin BİLGİN, Ebru AYPAR, Melike KESER, Abdullah YAZAR, Muhammet Güzel KURTOĞLU, Fatih AKIN..... Konya bölgesinde toplum kökenli pnömoni için hastaneye yatırılan çocuk hastalarda solunumsal viral enfeksiyon etkenlerinin multipleks gerçek zamanlı-PCR ile tanımlanması Identification of respiratory viral infection agents by multiplex real-time PCR among children hospitalized for community-acquired pneumonia in Konya province	53 - 60
2.	Mesut ORTATATLI, Ramazan GÜMRAL, Hüseyin ÜÇKARDEŞ, Levent KENAR..... Değişik bölgelerden gelen erişkin HBsAg pozitif hastalarda Anti-HAV seropozitifliği Anti-HAV seropositivity in adult patients with HBsAg positive from various locations of Turkey	61 - 66
3.	Abbas Yousefi RAD, Ali ÖZON, Salih CESUR..... Geniş spektrumlu β -laktamaz üreten <i>Escherichia coli</i> ’ye karşı dört farklı antibiyotik’in <i>in vitro</i> etkinliği <i>In vitro</i> activity of four different antibiotics against extended-spectrum β -lactamase producing <i>Escherichia coli</i>	67 - 74
4.	Ertuğrul ALTINBİLEK, Cemil KAVALCI, Derya ÖZTÜRK, Oktay HAKBİLİR, Cem AKMAN, Müge SÖNMEZ, Özgür ARSLAN Suya sabuna dokunuyor muyuz ? Are we touches to water and soap?	75 - 82
5.	Fatih BÜYÜK, Mitat ŞAHİN, Özgür ÇELEBİ, Neriman MOR, Bekir ÇELEBİ..... Kars ve Ankara yöresine ait köpeklerde <i>Francisella tularensis</i> antikorlarının araştırılması Investigation of <i>Francisella tularensis</i> antibodies in dogs in Kars and Ankara Region	83 - 88
6.	Aysun DİNÇEL, Figen DEMLİ, Fügen DURLU-ÖZKAYA, Filiz ALATAN, Ramazan UZUN, Serdar Alp SUBAŞI..... Çeşitli peynir örneklerinde aflatoksin M ₁ varlığının HPLC ile analizi Analysis of aflatoxin M ₁ by HPLC in various cheese products	89 - 96
7.	İlker BÜYÜK, Semra SOYDAM-AYDIN, Sümer ARAS..... Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar Molecular responses of plants to stress conditions	97 - 110
8.	Saadet Meral KARACAN, Behice YAVUZ-ERDOĞAN, Atiye Nur ONAR..... Benzer yapıda kanserojen maddeler: Poliklorobifeniller ve organoklorürlü pestisitlerin ayrılarak tayin edilmeleri Similar structured carcinogen substances: Separation and determination of polychlorobiphenyls and organochloride pesticides	111 - 119

YILLIK DİZİN / ANNUAL INDEX

Sayı / Number: 3 Cilt / Vol: 69 Yıl / Year: 2012

1.	Ayşegül OPUŞ, Recep KEŞLİ, Muhammet Güzel KURTOĞLU, Asuman GÜZELANT, Elif Bilge UYSAL.....	121 - 126
	Metisiline dirençli staflokok suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması Investigation of activity of tigecycline against methicillin-resistant staphylococci strains	
2.	Demet CANSARAN-DUMAN, Mehmet Gökhan HALICI.....	127 - 134
	Squamarina lentigera türlerinde usnik asit konsantrasyonunun antimikrobiyal aktivitesi Antimicrobial activity of usnic acid on Squamarina lentigera lichen species	
3.	Neslihan GÜNDOĞAN, Özlem ATAOL.....	135 - 142
	Et örneklerinden izole edilen Staphylococcus aureus ve koagülaz negatif staflokok'ların biyofilm üretimi ve DNaz aktivitelerinin belirlenmesi Determination of biofilm production and DNase activity of Staphylococcus aureus and coagulase negative staphylococci isolated from meat samples	
4.	Pınar KAYNAR, Meşkure CANPOLAT, Ayşe KAVAKLI, Esra Jale ÖZEROĞLU, Serdar Alp SUBAŞI.....	143 - 148
	Enteral beslenme ürünlerindeki toplam vitamin C miktarının HPLC yöntemi ile belirlenmesi Quantitative determination of total vitamin C in enteral nutritional products by using HPLC	
5.	Nilgün ÖZBEY, Alper AKÇALI, Müşerref TATMAN-OTKUN.....	149 - 154
	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi 2009-2011 yılı Tüberküloz Laboratuvar verilerinin değerlendirilmesi Evaluation of Tuberculosis Laboratory results in Çanakkale Onsekiz Mart University Research and Education Hospital for 2009-2011	
6.	Aysel GÜLBANDILAR, Emine Didem BEYHAN, Halil İbrahim KISA.....	155 - 162
	Kütahya İl Sağlık Müdürlüğü bünyesinde çalışanlarda nazal Staphylococcus aureus taşıyıcılığı ve metisilin direncinin araştırılması Investigation of nasal carriage of Staphylococcus aureus and Meticilin Resistance in the Kutahya Health Directorate workers	
7.	Erkan YULA, Özcan DEVECİ, Türkan TOKA-ÖZER, Alicem TEKİN, Melek İNCİ, Ali KARAKUŞ.....	163 - 168
	Pediyatrik bir hastada Salmonella paratyphi A'nın neden olduğu bir akut hemorajik sistit olgusu A case of acute hemorrhagic cystitis caused by Salmonella paratyphi A in a pediatric patient	
8.	Serap YALÇIN.....	169 - 178
	Mikrosistin biosentez yollarının düzenlenmesi ve genetik mekanizmalar The regulation of microcystin biosynthesis pathways and genetic mechanisms	

Sayı / Number: 4 Cilt / Vol: 69 Yıl / Year: 2012

1.	Demet CANSARAN-DUMAN, Sümer ARAS.....	179 - 192
	Karabük Demir Çelik Fabrikası etrafından toplanan beş biyomonitor liken türünün ağır metal akümüasyonu ve karşılaştırmalı analizi Heavy metal accumulation of five biomonitor lichen species in the vicinity of the Karabük Iron and Steel Factory in Karabük, Turkey and their comparative analysis	
2.	Tuba DAL, Alicem TEKİN, Recep TEKİN, Özcan DEVECİ, Şükran CAN, Tuncer ÖZEKİNCİ, Saim DAYAN.....	193 - 200
	Yatan hastaların idrar örneklerinden izole edilen Gram-negatif bakterilerin tür dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları The distribution according to the species of Gram-negative bacteria isolated from hospitalized patients's urine specimens and their antimicrobial susceptibility	
3.	Burcu YENER, Nefise AKÇELİK, Pınar ŞANLIBABA, Mustafa AKÇELİK.....	201 - 212
	Çoklu ilaç dirençli Salmonella suşlarının tanısı Identification of multi drug resistant Salmonella strains	
4.	Fatih BAKIR, H.Tuğrul ÇELİK, Özhan ÖZDEMİR, M.Metin YILDIRIMKAYA.....	213 - 218
	Maternal kanda AFP, hCG ve ankonjuge östriol düzeylerinin gebelik komplikasyonları ile ilişkisi The relationship between pregnancy complications and AFP, hCG and unconjuge estriol level in maternal serum	
5.	Nursen TOPCUOĞLU, Oya BALKANLI, Dilek YAYLALI, Güven KÜLEKÇİ.....	219 - 224
	Kıl demeti dizaynı ve diş macununun diş fırçalarındaki mikrobiyal kontaminasyona etkisi The effects of the tuft design and toothpaste on the residual microbial contamination of toothbrushes	
6.	Maria Rita Carvalho Garbi NOVAES, Fabiani Lage Rodrigues BEAL, Roberto Cañete VILLAFRANCA.....	225 - 228
	Walker 256 tümörlü ratlarda Argininle takviye edilen diyetin hayatta kalmaya etkisi Survival of rats with walker 256 tumor after oral supplementation of arginine in the diet	
7.	Reyhan Yiş, Hadiye DEMİRBAKAN, Nuran AKMİRZA-İNCİ, Erdal YAYLA.....	229 - 234
	Bir olgu nedeniyle tüberküloz spondilodiskit A case of tuberculous spondylodiscitis	
8.	Rasim HAMUTOĞLU, Adnan Berk DİNÇSOY, Demet CANSARAN-DUMAN, Sümer ARAS.....	235 - 253
	Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları Biosorption, adsorption, phytoremediation methods and applications	

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

...../...../20...

Makale Türü/Article Type:

(...)Araştırma/Research (...)Derleme/Review (...)Olgu Sunumu/Case Report (...)Editöre Mektup/Letter to Editor

Makale Başlığı/Article Entitled :

Sayın Editör,

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

1. Derginizde yayımlanmak üzere yollanmış olduğumuz makalenin orjinal olduğunu; bilimsel ve etik sorumluluğunun bize ait olduğunu,
2. Makalenin; derginizdeki değerlendirme sürecinde başka bir yayın organına yayımlanmak üzere gönderilmediğini ve gönderilmeyeceğini,
3. Makalenin; kişilik ve telif haklarına aykırı kanun dışı maddeler içermediğini,
4. Yayın haklarının Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

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

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

(...1) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

(...2) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

(...3) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

(...4) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

(...5) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

Not / Note : 1. İletişim kurulacak yazarın yanına (X) işareti koyunuz / Please indicate the corresponding author with (X)

2. Formu aşağıdaki adrese faks/posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz / Please send this form to the address below by faks or mail or deliver personally.

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye-ANKARA-TURKEY

Tel/Phone : +90 312 565 55 79

Faks/Fax : +90 312 565 54 55

e-posta/e-mail : turkhijyen@thsk.gov.tr

