

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NECLA GÜRSOY

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
BİLGİ YÖNETİMİ MERKEZİ**

**ÇÖP DEPOLAMA SAHALARININ DRENaj SULARINDAN İZOLE
EDİLEN ENTEROBACTERIACEAE ÜYELERİNDE ANTİBİYOTİK
DİRENÇLİLİK PROFİLİ VE TRANSFER EDİLEBİLİRLİĞİ**

119 992

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA 2002

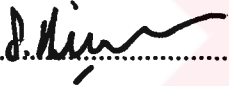
119992

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇÖP DEPOLAMA SAHALARININ DRENAJ SULARINDAN İZOLE
EDİLEN ENTEROBACTERIACEAE ÜYELERİNDE ANTİBİYOTİK
DİRENÇLİLİK PROFİLİ VE TRANSFER
EDİLEBİLİRLİĞİ**

NECLA GÜRSOY
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 31./12./2002.. Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği İle Kabul Edilmiştir.

İmza...  İmza...  İmza... 
Doç. Dr. Sadık DİNÇER Doç. Dr. Soner KOLTAŞ Y.Doç. Dr. Hatice GÜVENMEZ

DANIŞMAN

ÜYE

ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No: 2107




Prof. Dr. Fikri AKDENİZ

Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FBE2002YL186

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirilerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5486 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Katı Atıkların Kaynakları.....	2
1.2. Kaynakla Mücadele.....	3
1.2.1. Toplama.....	3
1.2.1.1 Yiyecek atıklarının öğütülmesi.....	3
1.2.1.2. Pnömatik Borular.....	3
1.2.1.3. Aktarma İstasyonları.....	4
1.2.1.4.Yol Seçimi.....	4
1.2.2. Boşaltma.....	4
1.2.3.Geri Kazanma.....	6
1.3.Koliform Grup Bakteriler ve E. coli.....	9
1.4.Antibiyotik Dirençliliği.....	10
1.5.Antimikrobik Maddelere Karşı Gelişen Dirençlilik Problemi.....	12
1.6Antibiyotik ve Antimikrobik Maddelere Karşı Gelişen Maddelerin Genetiği	12
1.7.Dirençli Suşların Ortaya Çıkmasına Neden Olan Genotipik Değişiklikler...	13
1.7.1.Spontan (Kendiliğinden) Mutasyon.....	13
1.8.Mikroorganizma Populasyonlarında Genetik Madde Alışverişi.....	14
1.8.1.Gen Transferinin Önemi	16
1.8.1.1.Tıptaki Önemi.....	16
1.8.1.2.Doğadaki Önemi.....	17
1.8.2.Konjugasyon.....	20
1.8.3.Transformasyon.....	20

1.8.4. Transdüksiyon.....	22
1.8.4.1. Genel Transdüksiyon.....	22
1.8.4.2. Doğal Ortamlarda Transdüksiyon	23
1.9. Antibiyotik Dirençliliğinin Biyokimyasal Mekanizması.....	23
1.10. β -Laktam Antibiyotikler.....	24
1.11. β -Laktam Antibiyotiklerde İnaktifleşme.....	27
1.12. β -Laktamlar ve β -Laktamların PBPs ve β -Laktamazlarla Reaksiyonları	28
1.12.1. Permiabilite Sınırlamasıyla β -Laktam Dirençliliği.....	30
1.13. Bakteri Plasmidleri	32
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	38
3. MATERYAL METOD.....	41
3.1. Materyal.....	41
3.1.1. Kullanılan Antibiyotikler.....	41
3.1.1.1. Chloromfenicol.....	41
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri.....	41
3.1.2.1. BGLB (Brillant Green Lactose Bile).....	41
3.1.2.2. MDCLS Agar.....	42
3.1.2.3. Endo-C.....	42
3.1.2.4. Nutrient Agar.....	43
3.1.2.5. N1 Agar.....	43
3.1.2.6. Glukoz peptonlu Su.....	44
3.1.2.7. Clark ve Lubs.....	44
3.1.2.8. Sitrat Agar.....	44
3.1.2.9. LB Buyyonu.....	45
3.1.3. Kullanılan Çözeltiler.....	45
3.1.3.1. TE (Tris EDTA) Solüsyonu.....	45
3.1.3.2. Lizis Solüsyonu.....	46
3.1.3.3. 2.5M Na- Acetat (pH=4,8).....	46
3.1.3.4. TE'ye Doyurulmuş Fenol.....	46
3.1.3.5. Yürütme Tamponu.....	47
3.1.3.6. Ethidium Bromid Solüsyonu 10 mg/mL.....	47

3.1.3.7.10xTBE (Tris, Borik asit, EDTA).....	47
3.1.3.8.Yükleme Tamponu.....	47
3.1.3.9. Jeller İçin Boyayı Geri Alma Solüsyonu.....	47
3.1.3.10.Agaroz Solüsyonu(%1)70mL.....	48
3.1.3.11.Chloform:İzoamyalkol.....	48
3.2.Metod.....	48
3.2.1.Su Örneklerinin Alınması.....	48
3.2.2.Toplam Aerob Bakterilerin Saptanması.....	48
3.2.3.Toplam Koliform ve Fekal Koliform Bakterilerin Sayımı.....	49
3.2.3.1.Koliform Grup Bakterilerin Muhtemel Sayısının Tahmini.....	49
3.2.3.2.Koliformların Kesin Sayısı ve Fekal Koliform Sayısı.....	49
3.2.3.3. <i>E.coli</i> Sayısı.....	49
3.2.3.3.1.İndol Testi.....	50
3.2.3.3.2.Metil Red Testi.....	50
3.2.3.3.3.Voges Proskauer Testi.....	51
3.2.3.3.4.Sitrat Testi.....	51
3.2.3.3.5.Eijkman Testi.....	52
3.2.4. β -laktamaz Laktamaz Testi (Nitrosefin Yöntemi).....	52
3.2.5.Antibiyogram Testi.....	52
3.2.6.Plasmid Eliminasyonu.....	53
3.2.7.Plasmid İzolasyonu.....	53
3.2.8.Plasmid Determinasyonu.....	55
3.2.6.1.Örneklerin Jele Uygulanması ve Elektroforez.....	55
3.2.6.2.Agaroz Jelin Boyanması.....	55
3.2.7.Konjugasyon Çalışmaları.....	56
3.2.7.1.Stonier buyyonunda.....	56
4 BULGULAR.....	57
4.1.Su Örneklerinin Toplam Aerob Bakteri ve pH Bulguları.....	57
4.2. MPN Bulguları.....	57
4.3.İMVİC Bulguları.....	60
4.4.Antibiyogram Test Sonuçları.....	60

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÇÖP DEPOLAMA SAHALARININ DRENAJ SULARINDAN İZOLE
EDİLEN ENTEROBACTERIACEAE ÜYELERİNDE ANTİBİYOTİK
DİRENÇLİLİK PROFİLİ VE TRANSFER EDİLEBİLİRLİĞİ**

NECLA GÜR SOY
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Sadık DİNÇER
Yıl : 2002, Sayfa:97
Jüri : Doç. Dr. Sadık DİNÇER
Doç. Dr. Soner KOLTAŞ
Y.Doç.Dr. Hatice GÜVENMEZ

Bu çalışmada Çöp Depolama Sahalarının Drenaj Suları izolatlarındaki toplam aerobik bakteri, toplam koliform, fekal koliform sayısı, tür tayini, çeşitli enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik frekansı, Ethidium Bromid ile plasmid eliminasyonu, plasmid-kodlu dirençlilik taşıdığı belirlenen suşlarla, hassas suşlar arasında konjugasyon ve konjugasyon frekansını belirlenmesi araştırılmıştır.

Deneme istasyon örneklerinin tamamında fekal koliformlara rastlanmıştır. Ancak farklı zaman periyotlarında fekal kontaminasyon düzeyi farklılık göstermiştir. Örneğin 2. zaman diliminde tüm istasyonlardan alınan örneklerde fekal kontaminasyona rastlanırken, 5.zaman diliminde ise bu oran azalmıştır. Fekal koliform düzeyi 1. istasyondan 5. istasyona doğru gittikçe artmakta yine aynı zamanda sıcaklığın arttığı dönemlerde (6. ve 7. Dönemlerde) fekal koliform düzeyinde artış saptanmıştır. İzolatlar biyokimyasal testlere tabii tutulmuş ve toplam 138 izolattan 81 tanesi *E.coli* olarak tiplendirilmiştir. İzolatlar antibiyogram testine tabii tutularak antibiyotik dirençliliği aranmıştır. Test edilen bütün izolatların IMP ve MER antibiyotiklerine karşı hassas olduğu saptanmış ve AMP antibiyotiğine ise dirençli olduğu saptanmıştır. Diğer antibiyotikler ise; %2.8'nin CRP, %2.8'nin CAZ, %4.3'nün GEN'e, %0.72 CRO'ya, %22.4 FOX'a, %0.72 CTX'e, %31.8 CZ'ye dirençli olduğu saptanmıştır. 138 örneğe nitrosefin testi yapılarak β -laktamaz üretilip üretmedikleri araştırılmıştır. Bunlardan 81 tanesinde (%59) bu enzimin varlığına rastlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *E.coli*, Dirençlilik, Antibiyotik

ABSTRACT
MASTER THESIS

**ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES AND TRANSFORMATION
PROPERTIES OF ENTEROBACTERIACEAE MEMBERS ISOLATED
FROM DRAINAGE WATER OF WASTE COLLECTING AREA**

NECLA GÜRSOY

**DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA**

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Year : 2002, Pages:97
Jury : Assist. Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Assist. Prof. Dr. Soner KOLTAŞ
Associated Prof. Dr. Hatice GÜVENMEZ

In this study, of the isolates from the waste collecting area drainage water, total aerob, total coliform, fecal coliform and the identification studies were performed. On these isolates the antibiotic resistance frequency were also carried out with common antibiotics these have been used for various infectious diseases.

Plasmid elimination was performed with ethidium bromide, and the definition of conjugation frequency with conjugation were investigated between sensitive strains and the strains having plasmid coded resistance.

All the samples tested were including fecal coliform. But, in different time periods, fecal contamination level were varied. For instance , while all the samples in first period were having fecal contamination, on a certain degree, in the second period this level were slightly decreased. Fecal coliform level were getting increased from station 1 through the station 5. and an increase on fecal coliform level was obtained on hot period (6. and 7. period) as well.

Total 81 of 138 isolates was identified as *E.coli* by biochemical tests. The antibiotic resistance of the isolates were investigated by antibiogram. All the isolates tested were sensitive to IPM and MER but resistant to AMP. On the other hand, resistance to CRP (2.8%, CAZ (2.8%), GEN (4.3%), CRO (0.72%), FOX (22.4%), CTX(0.72%), and CZ (31.8%) were also determined. β -Lactamase production were also investigated by performing "nitrocephin test" on 138 strains and 81 strain (59%) were positive for the enzyme.

Key Words: *E.coli*, Resistance, Antibiotic

TEŞEKKÜR

Öncelikle hayatım boyunca her zaman desteklerini gördüğüm kıymetli aileme şükranlarımı sunarım. Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doçent Dr. Sadık DİNÇER'e, tezimin savunma jürisinde görev alan Doç.Dr. Soner KOLTAŞ ve Y.Doç.Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ'e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dallarında görevli Araştırma Görevlilerine, değerli hocam sayın Prof. Dr. Ömer ÇOLAK'a ve tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Rektörlüğüne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1.	Evsal sulardaki standartlar.....	9
Çizelge 1.2.	Laboratuvar organizmaları arasında meydana gelen ve doğada gerçekleşen gen transferi tipleri.....	15
Çizelge 1.3.	Plazmid tarafından kodlanan ve taşınabilir fenotipler.....	17
Çizelge 1.4.	β -Laktam antibiyotiklerin genel yapısı, sınıfı ve β -Laktam üreten organizmalar.....	24
Çizelge 4.1	pH ve Toplam Aerob Bakteri Bulguları.....	57
Çizelge 4.2.1.	26.10.2000 tarihli su örneklerinin MPN bulguları.....	57
Çizelge 4.2.2.	27.11.2002 tarihli su örneklerinin MPN bulguları.....	58
Çizelge 4.2.3.	09.01 2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları.....	58
Çizelge 4.2.4.	13.02.2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları.....	58
Çizelge 4.2.5.	26.03.2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları.....	59
Çizelge 4.2.6.	24.04 2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları.....	59
Çizelge 4.2.7.	05.06.2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları.....	59
Çizelge 4.3.	Organizmaların İMVİC test sonuçları	60
Çizelge 4.4.	İzolatların antibiyotiklere hassasiyet sonuçları.....	60
Çizelge 4.5.	Ethidium Bromid ile Plazmid eliminasyon sonuçları.....	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1	Bir kompostlama tesisinin genel şeması.....	7
Şekil 1.2.	1.İstasyondan insanların kullanmak için aldıkları sular.....	33
Şekil 1.3.	1.İstasyonda biriken suyun görünümü.....	34
Şekil 1.4.	1.İstasyondaki drenaj suyunun depolama sahasında meydana getirdiği sızıntının görünümü.....	34
Şekil 1.5.	2.İstasyonda insanların hayvanları için kullandıkları suyun görünümü.....	35
Şekil 1.6.	2.İstasyonun yakından görünüşü.....	35
Şekil 1.7.	3.İstasyondan genel bir görünüş	36
Şekil 1.8.	4.İstasyonda meydana göletin genel görünüşü.....	36
Şekil 1.9.	5.İstasyonda drenaj suyunu genel görünümü.....	37
Şekil 4.10.	Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularından izole edilen plasmidler ve büyüklükleri (kb) (1.jel).....	68
Şekil 4.11.	Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularından izole edilen plasmidler ve büyüklükleri (kb) (2. Jel).....	69
Şekil 4.12.	Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularından izole edilen plasmidler ve büyüklükleri (kb) (3. Jel).....	70

1.GİRİŞ

Günümüzde şehirleşme ve hızlı nüfus artışı, sosyo-kültürel seviyenin artışına paralel olarak büyük boyutlara ulaşan organik kökenli katı atıkların neden olduğu kirliliğinin yok edilmesi kaçınılmayacak ve göz ardı edilemeyecek bir seviyeye gelmiştir. İnsan başına günde ortalama 2.0-4.0 kg katı çöp meydana getirildiği düşünülürse toplumun her ferdinin çöp konusunda ne kadar sorumlu olduğu ortaya çıkmaktadır.

Çevreye verilen bu atıklar bünyelerinde oldukça yüksek oranda organik madde bulundurduğundan kolayca fakültatif anaerobik ve anaerobik biyo-parçalanmadan dolayı ortama rahatsız edici pis kokular yaymakta ve aynı zamanda sineklere ve enfeksiyöz elemanlara rezervuar görevi yapmaktadır.

Bu atıkların gelişigüzel dökülmesi halkta çevre bilincinin artması ve yaşam standartlarının yükselmesine paralel olarak giderek önemini kaybetmiş ve bu atıkların yok edilmesi ve geri kazanılması amacına yönelik çeşitli alternatif çözüm önerileri sunulmuştur.Bu öneriler arasında atıkların şehrin uzaklarına dökülmesi veya toprak altına gömülmesi, yakma ve kompostlama ilk sırada yer almaktadır. Bu atıkların en uygun şekilde yok edilmek istenmesinin yanı sıra aynı zamanda ekonomik olması da arzu edilmektedir (Scmidt ve ark. 1988).

Kompostlama prosesleri atıklar içerisinde doğal olarak mevcut olan aerob termofil mikroorganizmalar tarafından yüksek bitki polimerlerinin doğal yolla parçalanmasıyla gerçekleşmekte ve en sonunda zirai alanda kullanım için stabil, humuslaşmış bir organik madde ve zengin bir azot kaynağı teşkil etmektedir (Thambirajah Kuthubutheen 1989). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde kimyasal gübrelerdeki aşırı fiyat artışı ile beraber çiftçiler daha ucuz gübre arayışına girmiş olup çiftçilere bu yolla daha ekonomik bir gübre sağlanmış olmaktadır. Organik gübreler evsel-endüstriyel-zirai katı atıklardan elde edilmekte olup bu organik gübreler kimyasal gübrelerle oranla daha az gübre değeri olan maddeleri içermesine rağmen toprakta daha uzun müddet varlığını devam ettirmekte olup kapsadığı besinleri bitkilerin kullanabileceği formlarda toprağa yavaş yavaş vermektedir (Thambirajah and Kuthutheen 1989).

1.1.Katı Atıkların Kaynakları

Evlerde ortaya çıkan katı atıklar son senelere kadar daha çok mutfak atıkları şeklinde idi. Ancak son zamanlarda yeni ambalaj malzemelerinin imal edilmiş olması, mutfaklara çöp öğütücü ve sıkıştırma (pres) cihazlarının konması, çöplerin bileşimini büyük ölçüde değiştirmiştir.

Katı atıkları genel olarak aşağıdaki gibi sınıflandırmak mümkündür.

A- Evsel atıklar

- 1- Yiyecek atıkları
- 2- Bahçe atıkları
- 3- Cam, seramik, metal parçaları
- 4- Konserve ve meşrubat kutuları
- 5- Ambalaj maddeleri (özellikle plastikler)
- 6- Gazete, kitap, mecmua vs.

Ev ortamında üretilen tehlikeli atıklar konusunda 1993 yılında İngiltere’de düzenlenen forumda, evsel kaynaklı tehlikeli atıkların; araba baterileri, bahçe kimyasalları, boya atıkları, floresan lambalar, piller, günü geçmiş ilaçlar vb. atıklar olduğu belirlenmiştir (Heaven, et. al.,1995).

B- Şehir atıkları

- 1-İnsan atıkları
- 2-Sokak temizleme atıkları
- 3-Hurda otomobiller, bisikletler, çocuk ve pazar arabaları
- 4-Diğerleri

C- Endüstri atıkları

- 1-Sebze ve meyve atıkları
- 2-Beslenme atıkları
- 3-Mezbaha atıkları
- 4-Diğerleri

D- Tarım atıkları

Çöplerin tekniğe uygun bir şekilde uzaklaştırılmamaları halinde halk sağlığı ile problemler ortaya çıkar. Atıkların yoğun olarak bulunduğu bölgelerde havadaki

toplam toz miktarı, bakteri, fekal koliform ve fungal sporların arttığı bilinmektedir. Atıklar insanlarda ve hayvanlarda sonucu ölümlere kadar giden ishallere, yara enfeksiyonlarına, menenjit, sepsisemi, hemolitik üremik sendrom, çeşitli immunolojik hastalıklar, gözlerde ve deride irritasyonlar, gastrointestinal ve pulmoner enfeksiyonlara, tifo ve dizanteri gibi bulaşıcı hastalıklara neden olmakta ve salgınlar yaratmaktadır. Katı atıkların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin katı atık yönetim sisteminin dizaynı ve geliştirilebilmesi için bilinmesi gerekmektedir. Atığın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerine göre en uygun bertaraf yöntemleri belirlenmektedir (Tchobanoglous, 1993).

1.2. Kaynakla Mücadele

Bu basamakta insanların bir takım alışkanlıklarını değiştirmesi gerekir. Bu alışkanlıkların başında da paketleme ve doğal kaynakları kullanma şekli gelir.

1.2.1. Toplama

Toplama metotlarından bazıları şöyledir

1.2.1.1 Yiyecek atıklarının öğütülmesi

Bu yöntemde büyük ve katı yiyecek atıkları mutfaklara konacak öğütme makinalarıyla öğütülüp küçük parçacıklar halinde kanalizasyon sistemine verilir.

1.2.1.2. Pnömatik Borular

Pnömatik borular daha çok küçük şehirlerde kullanılır. Her türlü atıklar evlerde öğütüldükten sonra, yer altına döşenmiş vakumlu atık toplama borularına gelir. Bu borulardan emilen atıklar önce belirli istasyonlarda toplanır. Oradan da gene vakumlu yer altı boruları vasıtasıyla merkezi atık işleme fabrikasına emilir.

1.2.1.3. Aktarma İstasyonları

Aktarma istasyonları metodu daha çok büyük şehirlerde kullanılır. Atıklar önce şehrin belirli yerlerinde kurulan istasyonlara getirilir ve buradan sıkıştırma istasyonlarına nakledilir. Bundan sonra atıklar şehrin dışında ayırma işlemine tabi tutulurlar.

1.2.1.4.Yol Seçimi

Atıklar kısa yoldan, en ucuz bir fiyatla gidecekleri yere kadar götürülüp oraya boşaltılırlar.

1.2.2. Boşaltma

Katı atıkların boşaltılması ve boşaltılma yerlerinin seçimi bilimsel ve teknik kurallara göre yapılmalıdır. İki tür boşaltma metodu bulunmaktadır.

1. Açıkta bir yere bırakma
2. Sağlık şartları göz önünde bulundurularak seçilen yere boşaltma (Sanitary Landfill).

Çöp boşaltılma yerinin de bazı kriterlere uyması gerekir.

1-Yağmur ve kar suları birikmemeli ve toprak geçirgen olmalıdır: Araştırma alanında (Adana ili Sofulu Çöplüğü'nde) yapılan araştırmalarda çöp boşaltma yerlerinin yağmur ve kar sularını biriktirmekte olup, toprakta geçirgen bir özelliğe sahip değildir.

2-Hakim şehir rüzgarları dikkate alınmalı ve rüzgarlar şehre koku sürüklememelidir: Sofulu Çöplüğü kuzey-doğu yönünde kurulmuştur. Rüzgar kuzey yönden estiğinde pis koku tüm şehirden hissedilmektedir.

3-Oldukça geniş ve derin olmalıdır: Araştırma alanı daha önceden yol stabilizasyonunda kullanılan toprağın alındığı yerler olup bu çukurlara çöplerin doldurulması yapılmakta olup az bir derinliğe sahiptir.

4-Dolduktan sonra bazı amaçlar için kullanılabilmelidir: Araştırma alanında çöp doldurulduktan sonra rekreasyon amacıyla bazı bitkilerin plantasyonu yapılmıştır.

5-Yerleşim yerlerine uzak olmalıdır: Sofulu Çöplüğü yerleşim yerlerine oldukça yakındır. Ayrıca çöplük çevresinde çok yoğun insan yerleşimi ve hayvan barınakları bulunmaktadır.

1998 yılı itibariyle Adana Kentsel Katı Atık oranları şöyledir:

Üretim	836 ton/gün
Biriktirme	805 ton/gün
Toplama	781 ton/gün
Nihai Boşaltım	862 ton/gün
Geri Kazanım	49 ton/gün
Diğerleri	105 ton/gün

Atıkların gömülerek zararsız hale getirilmesi de kaynakla mücadele yollarından biridir. İnert (ayrışmayan) maddelerin dışındaki bütün maddeler örtü altında havasız bırakıldığında oksijensiz (anaerobik) olarak ayrışır. Katı atıkların parçalanmasıyla mikroorganizmaların faaliyetlerini sürdürecekleri yüzey alanı büyümüş olur ve fermentasyon hızı artar. Bunların yanı sıra parçalanma, katı atıkların karışmasını ve sinek larvalarının da yok edilmesini de sağlamaktadır (Sorgun, 1987). Çok yavaş cereyan eden reaksiyonlar sonunda CO_2 , CH_4 , NH_3 ve H_2S gazları meydana gelir.

Atıklar iri malzemelerden meydana geldiği için kolayca sıkıştırılmazlar ve gömme için gerekli arazi miktarı fazla olabilir. Bu durum, arazinin pahalı olması halinde çöp dökme sahalarına ödenecek meblağı çok yükseltir. Atık hacmini azaltmak için toplanan atıkların özel tesislerde yakılması işlemi uygulanır. Bu işlem ile atıklardan ısı ve elektrik enerjisi elde etmek amaçlanmıştır. Yakma prosesi genelde katı atıkların kalorifik değeri kendi kendine yanmaya müsait olduğu takdirde kullanılması uygundur (Geberi 1987). Aksi takdirde bu tesisler çöp hacmini sadece %30-50 nispetinde azaltmakta, geriye oldukça fazla ayrışmayan madde kalmaktadır. Yakma tesisleri ayrıca oldukça pahalıdır. Bu nedenle tercih edilen bir metot değildir.

1.2.3.Geri Kazanma

Geri kazanma işlemi, katı atıkların bertaraf sistemine verilmeden önce geri kazanılabilir nitelikteki maddelerin ayrılmasıdır. Katı atıkların geri kazanılması, çevrenin korunmasını ve geri kazanılabilir maddelerin tekrar kullanılmasıyla hammadde kaynaklarının korunmasını sağlar (Fairbank, 1993). Geri kazanılması düşünülen maddeler 4 ana grupta incelenilebilir:.

1-Metaller

2-Camlar

3-Kağıtlar

4-Organik maddeler

Bu maddeleri dönüştürebilmek için kompostlama denilen bir metot uygulanır (Şekil 1-1). Bu metotta organik katı atıklar biyolojik olarak parçalanır. Bunun için atıklar önce organik ve inorganik olarak ikiye ayrılırlar. Organik maddeler bir hücreye yaklaşık 3 metre genişliğinde ve 2 metre yüksekliğinde yığınlar haline getirilir. Yığınlarda aerobik hayatın başlaması ve devam etmesi için hücre nemlendirilir ve yeterli oksijen akımında tutulur. Yığınlar, yeterli nem ve oksijenle temasa gelmeleri için zaman zaman döndürülür. Bir hücredeki sıcaklık gelişen aerobik hayatla 60°C'a kadar yükselebilir. Bu arada pH'ta önce bir düşme gözlenir daha sonra yaklaşık 7 olur ve sabitlenir. Aerobik prosesin tamamlanması yaklaşık 2 haftadır. Kompostlaşmanın bitmesi ise hücredeki sıcaklık düşmesinden anlaşılır. Bu şekilde elde edilen kompost toprak kokusunda, koyu kahve renkte bir maddedir.

Kompostlama ile evsel kökenli çöpler, endüstriyel ve zirai atıkların uygun proseslerde işlenerek toprak katkı maddesi olarak geri kazanılması sağlanacak, hem de çevreye yapmış olduğu olumsuz etkilerin önüne geçilmiş olunacaktır.

Buna rağmen mevcut atıkların yakılması ve depolanması çevrede çok büyük başka bir atık problemine neden olmaktadır. Bu problemler de yüzey ve yer altı su

kaynaklarını organik ve inorganik kirlilik olarak etkilemektedir ve aynı zamanda yakma ünitelerinden açığa çıkan CO₂ global ısınmaya katkı yapmaktadır.

Katı atık depolama sahalarında yağmur suları atık kütlesi içinden geçerek kirlenmiş süzüntü suyu (drenaj suyu) olarak ortaya çıkar. Bunun yanı sıra katı atıkların içerdikleri su, katı atıkların hem kendi ağırlıklarıyla hem de araçlarla atık boşaltımı ve sahaya serimi esnasında sıkışması sonucunda süzüntü suyu olarak ortaya çıkar. Ayrıca çok az miktarda da olsa atık içindeki organik maddelerin biyokimyasal olarak ayrışması sonucu ortaya çıkan su da atık süzüntü suyu olarak depo kütlesinden ayrılır (Anonymous, 1993).

Süzüntü sularının kirliletme gücü evsel atık sularına göre 200 kat civarındadır (Yüceer ve Ekici, 1994). Bu nedenle katı atık süzüntü sularının yer altı sularına ve yüzeysel sulara karışıp kirlenmeye sebep olacağı göz ardı edilmemelidir.

Kompostlama yığınındaki mikroorganizmalar için gerekli optimal ekolojik şartları belirlemek gerekir. Özellikle kompostlamada aktif rol oynayan mikroorganizmalar için gerekli olan O₂ mikroorganizmaların faaliyeti sonucunda açığa çıkan ısı ve ısı yardımıyla meydana gelen sıcaklık yüksekliği iyi araştırılmalıdır. Kompostlama prosesleri kontrol edilmediği takdirde yığındaki sıcaklık mevcut mikroorganizmaların metabolizma faaliyetleri sonucunda 70°C'nin üzerine çıkmakta ve yüksek sıcaklık elimine edilmesi arzu edilen patojen mikroorganizmaların yanı sıra kompostlamada aktif rol oynayan mikroorganizmaları da elimine etmektedir. Ancak sayıları çok az olan sporlu ve termofil aerob bakteriler canlılıklarını devam ettirebilmektedirler (Tansey and Brock 1978).

Kompostlama sırasında gerekli fiziksel koşullar sağlanmadığı takdirde, katı atık depolama sahalarında ki drenaj suları yer altı ve yüzey sularına karışarak kirlilik yaratmaktadır. Kirlenen bu sulara birçok fekal koliform örneklerine rastlanmaktadır. Bu mikroorganizmalardan bazıları *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan fakültatif anaeroblar (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*' dir) dır.

Yapılan çalışmalar sonucunda içme sularında ve kullanım sularında belirli standartların olmasını gerektiğini ortaya çıkarmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1.1. Evsel sulardaki standartlar (Gray, 1994)

Mikrobiyolojik parametreler	Ölçüm Birimi	Kabul edilebilir değer
Toplam koliformlar	No./ 100ml	0
Fekal koliformlar	No./ 100ml	0
Fekal Streptococcus	No./ 100ml	0
Sülfid-indirgeyici Clostridium	No./ 20ml	<1
	No./ml at 22°C	10
Toplam bakteri sayısı	No./ml at 37°C	100
Kapalı kaplardaki suda bulunan	No./ml at 37°C	20
toplam bakteri sayısı	No./ml at 22°C	100

1.3. Koliform Grup Bakteriler ve *E. coli*

Koliform grup bakteriler, *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan, fakültatif anaerob, gram negatif, spor oluşturmayan, 35°C'de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturan, çubuk şeklindeki bakterilerdir. Bu grupta yer alan en önemli mikroorganizmalar; *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'dir.

Koliform grubu mikroorganizmaların hepsi dışkı kökenli değildir. Bu grupta bulunan bakterilerden normal florası insanların ve sıcak kanlı hayvanların alt sindirim sistemleri olanlar fekal koliform olarak tanımlanmakta ve bunlar fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedirler. Koliform grup içinde fekal koliform olarak tanımlanan bakterilerin büyük bir çoğunluğun *E.coli* olduğu bilinmektedir. Grubun diğer üyeleri toprak ve bitki kökenli olabilmektedir. Herhangi bir örnekte *E.coli*'ye ve/veya fekal koliform bakterilere rastlanması oraya doğrudan yada dolaylı olarak dışkı bulaştığının ve yine bağırsak kökenli *Salmonella* ve *Shigella* gibi primer patojenlerin de olabileceğinin bir göstergesidir. Bu nedenle hiçbir gıda maddesinde, içme ve kullanma sularında, denizlerde ve göllerde *E.coli* ve

fekal koliform bulunmasına izin verilmezken, bazı gıdalarda belirli sayıda bakteri bulunmasına izin verilebilmektedir.

E.coli fekal kontaminasyonun bir göstergesi olması yanına genetik yapısı en iyi bilinen canlı olma özelliğini de sahiptir. Suşlarının birçoğu zararsızken bu bakterinin bazı patojenik tipleri, insan ve hayvanlarda sonucu ölümlere kadar giden ishallere, yara enfeksiyonlarına, menenjit, sepsisemi, hemolitik üremik sendrom, çeşitli immunolojik hastalıklar gibi rahatsızlıklara neden olmaktadır.

1.4.Antibiyotik Dirençliliği

Alexander Fleming'in penicilini tıp bilimine kazandırmasıyla birlikte enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde büyük başarılar sağlanmıştır. Eğer bakterilerle mücadele sadece ilk keşfedilen antibiyotik olan Penicilin G ile yetinilmiş olunsaydı büyük bir olasılıkla tedavi şansı çok sınırlı kalırdı. β -laktamaz saldırılarına karşı yeni antibiyotiklerin üretilmesi, bu antibiyotiğin β - laktamazın bağlandığı ve antibiyotiği etkisizleştirdiği aktif bölgenin modifiye edilmesi ile oluşmaktadır. 6-amino penisilanic acid ve bunun fonksiyonel alt gruplarının değiştirilmesi ile ki bu gruplar antibiyotiğin enzimin aktif bölgesine bağlanmasına izin vermemektedir. Methicillin ve Oxacillin 'ler üretilmiş ve *Staphylococcus* sp., enfeksiyonları 10 yıldan fazla süre ile kontrol altında tutulabilmektedir. Bakterilerde antibiyotik dirençliliğinin olağanüstü artmasında, yaygın antibiyotik kullanımı önemli rol oynamıştır. (Mach ve Grimes,1982). Genelde tek veya birçok antibiyotiğin yüksek konsantrasyonlarına dirençlilik gelişimi; otonom olarak self replikasyonla veya plazmid olarak adlandırılan ekstra kromozomal DNA yapıları aracılığı ile meydana gelmektedir (Kish ve Lampky,1983).

Plazmidler, birçok bakteride bulunan çift iplikli sirküler DNA molekülleri olup otonom olarak replike olurlar ve birkaç kilobazdan yüzlerce kilobaza varan büyüklere sahiptirler . Bu yapılar bulundukları bakterilerde antibiyotikler inaktive eden maddeleri kodlayan genetik bilgiler taşırlar. Bununla beraber antibiyotiklere karşı gelişen dirençlilik; hücre zarı permeabilitesinin değişimi, metabolik yol ve

enzimlerin değişimi veya antibiyotiklerin etki edecekleri molekülün kaybolması şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Plazmidler bulundukları hücreye antibiyotik dirençliliğinin yanı sıra ağır metal dirençliliği, U.V. dirençliliği, kolisin üretimi, toksin üretimi, organik bileşiklerin parçalanması, virülens faktörleri gibi birçok etkene karşı dirençlilikte sağlamaktadır. Bakteriler arasında plazmidlerin transferi; transdüksiyon, konjugasyon ve transformasyon olarak gruplandırabileceğimiz olgularla olmaktadır (Mach and Grimes,1982).

30 yıldan daha fazla süredir yapılan çalışmalar, ilaçlara ve ağır metallere karşı plazmid kodlu dirençliliğin laboratuvar şartlarında ve çok değişik mikroorganizmalar arasında oldukça yüksek sıklıkta transfer edilebildiğini, fakat toprakta, akuatik çevrede, kümes hayvanlarının üro-genital ve solunum sistemi ile insanlarda transfer frekansının genellikle düşük olduğu saptanmıştır (Viljanen and Boratynski,1991).

Bununla beraber antibiyotiklerle tedavi sırasında sıkça kullanılan bazı antibiyotiklere hassas olan suşların dirençli hale geçtikleri gözlenmektedir. Bu tamamen patojenik bakterilerin antibakteriyel tedaviye direnç göstermesi olup, çok değişik ortamlarda genetik bilgi aktarımından kaynaklandığı şeklinde açıklanmaktadır (Viljanen and Boratynski,1991).

Transfer edilebilir ilaç dirençliliğinin, patojen ve apatojen *Enterobacteriaceae* grubu ile *Pseudomonas* sp, *Yersinia* sp, *Vibrio* sp, gibi diğer gram-negatif organizmalar arasında multiple ilaç dirençliliğinin yayılmasında önemli bir faktör olabileceği gösterilmiştir (Kish and Lampky,1983). *Enterobacteriaceae* grubunda en az 20 farklı bakteri türü mevcut olup bunlar hem plazmid alabilirler hem de verebilirler. Çeşitli atık suların, nehir ve göl gibi yüzey sularına karışması sonucu, içme sularının plazmid taşıyan bakterilerle kontamine olması tehdidi artarken buna bağlı olarak ortaya çıkabilecek enfeksiyonlarda tedavi başarısı riskli bir şekilde azalmaktadır. Birçok ilaca dirençli olan patojen organizmaların insan ve hayvanlarda enfeksiyon yapmaları durumunda bunların antibiyotik dozları ve süresinde tedavi edilebilirlikleri azalacak veya olanaksız duruma gelebilecektir.

Son yıllarda çevre sularında antibiyotiklere karşı dirençli *Enterobacteriaceae* grubu bakterilere ait suşların dağılımı, birçok ülkede ayrıntıları ile çalışılmıştır.

Çalışmaların büyük bir kısmı ilaçlara olan dirençliliğin transferi üzerine yoğunlaşmıştır.

1.5. Antimikrobik Maddelere Karşı Gelişen Dirençlilik Problemi

Modern kemoterapi sayesinde mikrobik enfeksiyonların neden olduğu hastalanma ve ölüm olaylarında önemli düzeyde azalma olmuştur. Fakat mikroorganizmaların her türlü koşula uyabilme yeteneğinde olmaları inkar edilmez bir gerçektir. İşte kemoterapik başarılar mikroorganizmaların antibakteriyel etkili maddelere karşı savunma mekanizmalarından çok, bu ilaçlara karşı çeşitli dirençlilik mekanizmalarını geliştirmiş olmaları ile tehlikeye düşmüş veya en azından sınırlanmıştır.

Mikroorganizmaların antibiyotik maddelere karşı direnç geliştirdiklerine dair ilk ciddi yayımlar 1907 yılında Paul Erlich tarafından arsen bileşiklerinin Trypanosomiasis'e karşı kullanımlarında görülmüş ve yayınlanmıştır. Sülfonamid ve antibiyotiklerin tıp ve veterinerliklerde kullanılmaya başlanmasıyla birlikte, bu ilaçlara karşı bakterilerde direnç gelişmesi de gözlenmeye başlanmıştır. Üremeyi önleyici ajanlara karşı bakterilerin direnci, günümüzde yaygın bir fenomen olup enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde daima bir tehlike sayılmaktadır. β -laktamazlar β -laktam antibiyotikleri hidrolize ederek onları inaktif ve inert maddelere dönüştürüp antimikrobiyal terapide birçok başarısızlıktan sorumlu enzimlerdir. Bu enzimler ilk olarak 1940 yılında Abraham ve Chain tarafından farkedilmiştir (Abraham and Chain,1940). Penicilin keşfedilmesinden bugüne değin bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde dünya çapında kullanılmaktadır.

1.6. Antibiyotik ve Antimikrobik Maddelere Karşı Gelişen Maddelerin Genetiği

İlaçlara karşı ilk araştırmalar tartışmalara neden olmuştur. Bir grup araştırmacıya göre dirençlilik gelişiminin mikroorganizmanın inhibitör maddeye alışması ve uyum sağlaması ile oluştuğu ve bu olayda hücrenin genotipinin etkin olmadığı kabul edilmiştir. Bir başka araştırmacı grubuna göre ise, her hücre popülasyonu içinde bu

antimikrobik maddeye karşı dirençlilik sağlayan genotipe sahip bireylerin bulunduğu ileri sürülmüştür. Bu görüşe göre, antimikrobik maddenin etkisi devam ettiği sürece dirençli hücrelerin ortaya çıkmasının desteklendiği savunulmaktadır. Yıllar geçtikçe elde edilen bulgular ikinci grup araştırmacıların teorisini doğrulamıştır. (Anderson ,1968; Meynel et al , ; 1968 ; Brrown, 1982; Nayler ,1987; Amyes et al.,1992; Bush, 1989c; Sanders , 1987).

1.7. Dirençli Suşların Ortaya Çıkmasına Neden Olan Genotipik Değişikler

1.7.1.Spontan (Kendiliğinden) Mutasyon

Spontan gen mutasyonları, mutajen maddelerle herhangi bir işlem yapılmadan kendiliğinden ortaya çıkan mutasyonlardır.Bunların ortaya çıkma şansı her bakteri bölünmesi sırasında 10^{-5} - 10^{-10} dolayındadır. Fakat bir bakteri popülasyonundaki bakteri sayısı göz önüne alınacak olursa bakterilerdeki herhangi bir genin mutasyona uğrayarak dirençli bakteri meydana gelme olasılığının yüksek olduğu görülür.

Dirençlilik iki farklı şekilde meydana gelmektedir.

a-Rastlantı sonucu bir hücre tek bir adımda hassaslıktan dirençli duruma geçebilir. Bunun için tek bir genin mutasyona uğraması yeterlidir (Ör.Streptomycin tipi dirençlilik.

b-Bu tip dirençlilik oluşumu daha sık rastlanılan tipi oluşturur. Farklı genlerde birbirini izleyen mutasyonlar sebebiyle bakteri hücresi ancak bir seri aşamadan sonra hassaslıktan üst düzeyde bir dirençliliğe sahip olurlar (Ör. Penicilin tipi dirençlilik).

Bu durumda hücrelerin uzun zaman mikrobik madde ile karşılaşmaları yada belirli aralıklarla fakat tekrar tekrar aynı mikrobik madde ile muamele edilmeleri sonucunda dirençlilik ortaya çıkmaktadır.

Bakteriler arasındaki transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyon olayları ortaya çıkarıldıktan sonra, spontan mutasyonların günümüzdeki dirençlilik problemi oluşturan etmenler arasında son derece küçük bir yer tuttuğu anlaşılmıştır. Zira transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyon yoluyla mikroorganizmalar (Bakteriler, *Streptomyces*'ler) dışarıdan genetik materyal alabilmektedir

(Wolstenholme and O'Connar, 1968; Franklin and Snow, 1971; Kliebe et al., 1985; Pucci et al., 1988; Trieu-cout et al., 1985; Natarajan and Oriel, 1991; Mazodier et al., 1989; Bauerfeind and Hörl, 1987; Bertram et al., 1991; Solh et al., 1986; Sirot et al., 1987; Hienemann and Sprague, 1989; Combarro et al., 1992; Jarlier et al., 1988; Sabelnikov, 1989).

1.8.Mikroorganizma Populasyonlarında Genetik Madde Alışverişi

Bakteriler arasındaki genetik madde aktarımı bundan 74 yıl önce (Griffith,1928) gözlenmiştir. O zamandan beri yapılan genetik madde aktarımı ile ilgili çalışmalar sonucunda bakteriler arasındaki gen transferinin moleküler mekanizmasının anlaşılmasıyla ilgili bilgiler elde edilmiştir. Günümüzde bakterilerdeki genetik madde aktarımı ile ilgili çok iyi anlaşılabilen üç temel mekanizma bilinmektedir. Bunlar konjugasyon, transdüksiyon ve transformasyondur. Bu mekanizmalarla yapılan araştırmalar bakteri saf kültürleri kullanılarak geliştirilmekte ve laboratuvar fenomeni olarak dikkate alınmaktadır (DeFlaun et al.,1990). Son zamanlarda bu mekanizmaların her biri ayrı ayrı kullanılarak meydana gelen genetik madde aktarımının birbirinden çok farklı ortamlarda olabileceği gösterilmiştir (Veal et al.,1992).

Doğada kullanmak amacıyla genetik olarak çalışılmış mikroorganizmaların (Genetically Engirened Microorganisms'GEMs') geliştirilmesi araştırmalara büyük hız vermiş olup bu araştırmalar doğal mikrobik populasyonlardaki gen transferinin önemi üzerine yoğunlaşmıştır. Bu organizmaların doğaya verilmesinde bir çok endişeler mevcuttur. Çünkü GEMs kendi rekombinant genlerini doğal (yabani) organizmalara transfer ederek potansiyel zararlı hibritler yaratabilmektedir (McKenna,1989). Son yıllarda yapılan araştırmalarda doğal ortamlarda bakteriler arasında horizontal gen transferinin (aynı grup bakteriler arası) olabileceği gösterilmiştir (DeFlaun et al.,1990).

Çizelge 1.2. Laboratuvar organizmaları arasında meydana gelen ve doğada gerçekleşen gen transferi tipleri (Veal et al., 1992).

Mekanizma	Fenotip ve kaynak DNA	Ortam	Organizmalar
Konjugasyon	Plazmid DNA		
	An-Dirençliliği	Atıksu	<i>Enterobacteriaceae</i>
	Hg-Dirençliliği	Nehir suyu	Fluorescent <i>Pseudomonas</i> 'lar
	An-Dirençliliği	Lagün suyu	<i>E.coli</i>
	An-Dirençliliği	Rhizosfer	<i>Pseudomonas sp.</i>
	Symbiotic	Rhizosfer	<i>Rhizobium</i>
	N ₂ -Fixation	Toprak	<i>Enterobacter</i>
	An-Dirençliliği	Toprak	<i>E.coli</i>
	An-Dirençliliği	Toprak	<i>Streptomyces</i>
	An-Dirençliliği	Peynir	<i>Lactococcus lactis</i>
	An-Dirençliliği	insan bağırsağı	<i>E.coli</i>
	Xenobiotic katabolizma	Tatlı su	<i>Pseudomonas sp.</i>
	Arı dirençliliği	Göl suyu	<i>Pseudomon aeruginosa</i>
	Kromozomal		
	An-Dirençliliği	Toprak	<i>E.coli</i>
Mobilizasyon	Plazmid		
	An-Dirençliliği	Toprak	<i>E.coli</i> ve toprak <i>Pseudomonas</i> 'ları
	An-Dirençliliği	Atıksu	<i>E.coli</i>
	Thymidine kinaz	içme suyu	<i>Enterobacteriaceae</i>
Transdüksiyon	Plazmid		
	An-Dirençliliği	Göl suyu	<i>P.aeruginosa</i>
	An-Dirençliliği	Toprak	<i>E.coli</i>
Kromozomal	An-Dirençliliği	Nehir suyu	<i>P.aeruginosa</i>
	An-Dirençliliği	Göl suyu	<i>P.aeruginosa</i>
	Agaraz	Deniz suyu	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	An-Dirençliliği	Toprak	<i>E.coli</i>

Mekanizma	Fenotip ve kaynak DNA	Ortam	Organizmalar
Transformasyon	Plazmid		
	An-dirençliliği	Deniz suyu	<i>Vibrio</i>
Kromozomal			
	An-dirençliliği	Deniz suyu	<i>Vibrio</i>
	An-dirençliliği	Deniz suyu	<i>P.stutzeri</i>
Bilinmeyen	Plazmid		
	An-dirençliliği	Atıksu	<i>Enterobacteriaceae</i>
	An-dirençliliği	Nehirsuyu	<i>Enterobacteriaceae</i>
	An-dirençliliği	Deniz sedimenti	<i>E.coli</i>
	Arı dirençliliği	Deniz suyu	<i>E. coli</i>

An:Antibiyotik

1.8.1.Gen Transferinin Önemi

1.8.1.1.Tıptaki Önemi

Antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların mevcudiyeti 1940 yılında antibiyotiklerin keşfedilmesinden bugüne kadar klinik bir problem olmuştur. Doğal olmayan bazı ortamlar mikrobiyal gen aktarımının anlaşılması için kullanışlı bir model olmaktadır. Gerçekten bakteri genetiğindeki önemli birçok gelişme, antibiyotik dirençliliğinin saptanması sonucu gerçekleşmiştir. Bu çalışmalar plazmid ve transpozon gibi yapıların bulunmasına önderlik etmiştir.

Tıp'ta daha az bir öneme sahip olan diğer bir problem ise, *Escherichia coli* (E. coli) olmak üzere, enterotoksigenik organizmalardan kaynaklanmaktadır. Bu organizmalar hem insan hem de hayvanlarda hastalıklara neden olurlar (Tzipori,1985). Hastalık septomlarından sorumlu olan toksinler, Enterotoksigenik (Ent) plazmidler tarafından kodlanırlar ve patojenitede önemli olan genleri de taşırlar (Betley et al.,1986). Bu genler bakterilerin bağırsak duvarına adhezyonu

(yapışmasını) (Singer et al.,1986), veya antibiyotiklere karşı direnç kazanmasını sağlarlar (Martinez et al., 1987).

1.8.1.2.Doğadaki Önemi

Doğa ve zirai açıdan önemli olan birçok fenotip, taşınabilir replikonlar tarafından kodlanmaktadır (Çizelge 1.4).

Çizelge1.3. Plazmid tarafından kodlanan ve taşınabilir fenotipler (Veal et al., 1992).

	Fenotip	Plazmid	Transfer tipi
Katabolik	Hidrojen oksidasyonu	pHG1	Konjugasyon
	Denitrifikasyon	pHG1	Konjugasyon
	Citrat	pOH3122	Konjugasyon
	Toluatlar	Tol	Konjugasyon
	Salisilatlar	Sal	Konjugasyon
	Naftalen	Nah	Konjugasyon
	Oktan	Oct	Konjugasyon
	Camphor	Cam	Konjugasyon
	2,4-Dichlorophenoxy		
	acetic acid	pJP1	Konjugasyon
	4-Chlorobiphenyl	pAC21	Konjugasyon
Sentetik	Azot fiksasyonu	nif	Konjugasyon
	CO ₂ -fiksasyonu	pHG1	Konjugasyon
Morfolojiksel	Kapsul	pSRQ2202	Konjugasyon
	Fimbria	—	Konjugasyon /Mobilizasyon

Dirençlilik	Bakır	pT23	Konjugasyon
	Krom	pLHB1	Konjugasyon
	Nikel	pMOL28	Konjugasyon
	Civa	pMOL28	Konjugasyon
	Kobalt	pMOL28	Konjugasyon
	Çinko	pMOL30	Konjugasyon
	Kadmium	pMOL30	Konjugasyon
	Tellürit	RP4 ^r	Konjugasyon
	U.V.	pQM1	Konjugasyon
İlişkiler			
Faj			
	Faj dirençliliği	pTR2030	Konjugasyon
	Restriksiyon modifikasyonu	R56&R64	Konjugasyon
	F1 Fajına hassasiyet	F	Konjugasyon
Bakteriyel			
	Bacteriocin	pPm52	Konjugasyon
	Agrocin 84	pAgK84	Konjugasyon
Hayvan			
	Enterotoksinler	Ent	Konjugasyon
	Adhezyon	pMAR2	Konjugasyon
	Fagositosiz dirençliliği	F	Konjugasyon
	Invasiveness	pBL001	Mobilizasyon
	Demir alımı	Co1V	Konjugasyon
	Microbial insektisidler	Cry	Konjugasyon
Bitkiler			
	Legüm simbiyosis	pRL6J1	Mobilizasyon ^a
	Tümör indükleme	Ti	Konjugasyon ^b
	Fitopatojenite	pEA29	Mobilizasyon
Miselliler			
	Chromosome-mobilizing	F	Konjugasyon

Birkaç örnek hariç tutulacak olursa bu replikonların transferinin doğaya sağladığı yarar belirsizdir. Bununla beraber, bu sınırlı çalışmalar ve antibiyotiklere dirençlilik sağlayan genlerin yayılımındaki analoglar, genlerin transmisyonunun çok önemli olduğunu göstermektedir. Ör. Hızlı bir şekilde büyüyen en büyük sınıflardan *Rhizobia*'da konakda simbiyosisten sorumlu olan genler genellikle Simbiyotik (Sym) plazmidler tarafından kodlanmaktadır. *Rhizobium leguminosorum*'dan nodülasyon yapamayan bir tür olan *R.meliloti*'ye türler arası bir Sym plazmidinin transferi gerçekleştirilmiş ve transkonjugant *R.meliloti*'ler nodülasyon yapabilir hale getirilmişlerdir (Broughton et al., 1987).

Sym plazmidlerinin bu şekildeki türler arası transferinin, hem konak bitki rizosferinde (Broughton et al., 1987) hem de tarlada (Schofield et al., 1987) gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu transfer ve rekombinasyon çalışmaları toprakta zamanla görülen inokulant suşların azalımının açıklanmasına yardımcı olacaktır. Aynı zamanda özellikle çok kullanılan inokulant suş olan *Rhizobium*'un tanınmasına ve inokulasyon stratejilerinin geliştirilmesinde yararlı olacaktır (Schofield et al., 1987).

Rhizobiaceae'nin diğer bir cinsi olan *Agrobacterium*'dan Tümör-indükleyici (Ti) plazmidi, virülent olmayan *A.radiobacter* suşlarına transfer olarak bu suşu bitkiler için patojenik suş haline dönüştürmektedir (Kerr, 1971; Çolak and Beideberck, 1980).

Arzu edilen katabolik aktivitelere sahip organizmaların elde edilmesiyle ilgili birçok gen transferi örneği vardır (Reaney et al., 1983). Çalışmalardan birinde organik kirleticilerden olan ve pestisid yapımında kullanılan 3-Chlorobenzoat'ın parçalanması amacıyla katabolik plazmidler bakteri popülasyonuna uygulanmıştır. Doğal ortamda da meydana gelen transkonjugantlar 3-Chlorobenzoat'ı parçalama yeteneği kazanmışlar ve geri izole edilebilmişlerdir, fakat bunların aynı substratı ikinci kez katabolize etme oranlarının orjinal transkonjugantlara oranla düştüğü saptanmıştır (Fulthorpe and Wyndham, 1991).

1.8.2.Konjugasyon

Bir bakteriye ait genetik maddenin (DNA), aynı cins içinde bulunan veya aynı türden diğer mikroorganizmaya direk temas veya seks pillusları aracılığı ile transfer edilmesine konjugasyon adı verilmektedir. Bakterilerdeki konjugasyon olayı yüksek canlılardaki cinsel birleşmeye çok benzer. Bu olayda birbirine değen iki bakteri hücrelerinden birinin genomu bir bölümünün, aralarında oluşan kanaldan diğer bir bakteriye geçmektedir. Bu mekanizmanın bulunması hiç kuşkusuz genetik biliminin tarihindeki en önemli olaylardan biridir.

Konjugasyon bazı transfer genleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu konuda en iyi bilinen örnek *E.coli*'nin F plazmidleridir. Bu plazmid 20'den fazla transfer geni taşımaktadır ve bütün konjugatif plazmidlerin 30 Kilobaz (Kb)'den büyük olduğu saptanmıştır (Not:1 Kb=1000 baz=1-2 gen) (Ippen- Ihler ve Mingley,1986).

Konjugasyon mekanizması ile gerçekleşen plazmid transferi iki önemli faktör tarafından etkilenmektedir. Bunlar plazmidin transfer verimi ve konak zinciridir.

Konjugatif plazmide bağlı olarak konjugasyon, tespit edilemeyecek kadar (10^{-8})' den 1'e kadar sıklıkta değişebilir. Bütün bunlara ilaveten herhangi bir plazmidin transfer frekansı aslında çevresel faktörlere de bağlıdır. Bu faktörlere en iyi örneği sıcaklık oluşturur (Singleton ve Anson, 1985). Bunun yanında diğer ortam faktörleri de transfer frekansında önemli etki gösterirler.

1.8.3.Transformasyon

Transformasyon, mikroorganizmalara yeni genetik materyalin aktarımı ile ilgili çalışılan en eski mekanizmalardır (Griffith , 1928). Bu yöntemle genetik materyalin aktarılması tarihi öneme sahiptir. Çünkü bu mekanizmanın sonucunda DNA genetik materyal olarak tanımlanmıştır. Transformasyon bugüne kadar olduğu gibi belki gelecekte de, izole edilen DNA moleküllerinin biyolojik fonksiyonlarının belirlenmesinde kullanılan yegane test olacaktır. Transformasyon rekombinant DNA çalışmalarında, gen transferi amacıyla geniş çaplı kullanılmaktadır. İn vitro olarak *E.coli*'de transformasyon tekniklerinin keşfi, modern biyoteknolojinin gelişmesine

yardımcı olan genetik mühendisliği metotlarının geliştirilmesinde dönüm noktası olmuştur. Mikrobiyal transformasyon mekanizması hakkında birçok çalışma yapılmıştır (Stewart, 1989). Bir çok bakteri türü farklı oranlarda transformasyon için doğal olarak kompetent olabilirler (Wang and Taylor, 1990) ve *E.coli* gibi kompetentliğe inatçı türler, fiziksel ve kimyasal metotlarla kompetent hale getirilebilirler. Elektroporozyonun transformasyon çalışmalarında kullanıma girmesi ile birlikte bu metot önem kazanmıştır. Bu metotla sadece bakteriler arasında değil, aynı zamanda eukaryot organizmalar, bitkiler ve hayvan hücreleri de başarılı bir şekilde transforme edilebilmektedir (Luchansky et al., 1988).

Transformasyon mikroorganizmalara genetik materyallerin yapısının aydınlatılmasında çok yararlı bir yöntemdir. Ayrıca transformasyon DNA yapısında oluşan ya da oluşturulan fiziksel ve kimyasal değişikliklerin DNA'nın yapısı ve biyolojik aktivitesi arasındaki ilişkilerin incelenmesi için kullanabilecek tek yöntemdir. (Akman, 1982)

Transforme edilen DNA'nın doğal çift zincirli ve moleküler ağırlığının en azından 10^6 Dalton (D) olması gereklidir. Alıcı hücreler, transformasyon için kompetent olmalıdır (Dinçer , 1994).

Transformasyon, yani kompetent hücreler tarafından DNA'nın alınması aşağıdaki aşamalardan oluşmaktadır.

- 1-Ortamda DNA'nın mevcut olması veya ortamda DNA'nın verilmesi
- 2-Resipient konaklarda kompetent aşamanın indüklenmesi
- 3-Kompetent hücre ile DNA'nın ilişkiye geçmesi
- 4-DNA'nın hücreye girmesi ve hücrede aktif duruma gelmesi: Hücreye giriş dış membran, periplasmik boşluk, sitoplasmik membran (eukaryot organizmalarda nüklear membran) şeklindedir.
- 5-Yabancı DNA'nın foksiyonel olarak integrasyon ve hücre operasyonlarında expressionu.

Not:Birinci aşama hariç diğer bütün basamaklar diğer gen transferlerinde aynıdır.

Bakteriler transformasyon için doğal olarak kompetent olabildikleri gibi, örneğin Tris tamponları veya divalent metal iyonları gibi kompetentliği uyarıcı

etkileri olan çeşitli ajanlar kullanılarak da kompetent hale getirilebilir. Transformasyon aynı zamanda transforme edilebilecek bir DNA'nın varlığında elektroporasyon veya Poli Etil Glikol (PEG)'li ortamda protoplast füzyonu gibi yöntemlerle de başarılabilir. Ne yazık ki hücrelerin DNA için nasıl geçirgen hale geldiği ve DNA moleküllerinin hücrelere giriş mekanizması çözülüş değildir (Mercenier ve Chassy , 1988).

1.8.4.Transdüksiyon

Genetik materyallerin veya genlerin bir bakteriden başka bakteriye fajlar yardımı ile transferi olayıdır. Transdüksiyon ilk olarak Lederberg, Zinder ve Lively adlı araştırmacılar tarafından *Salmonella typhimurium* suşları arasında yaptıkları konjugasyon deneyleri sırasında fark edilmiştir. Bu bakterilerin oksotrofik mutantları birbirine karıştırılınca mutantların birinden diğerine genetik madde aktarımı oluyor ve besiyerlerine yapılan ekimlerde rekombinant bakteri kolonilerinin oluştuğu görülmüyordu. Bu olayın bir konjugasyon sonucu olduğunu kanıtlamak için derinleştirilen incelemeler, aynı olayın içinde bakteri bulunmayan bakteri lizantları ile de oluşabildiğini ortaya çıkardı. Transformasyon olaylarından farklı olarak, bakteri lizatlarının fajları tutabilen süzgeçlerden geçirilmesi halinde lizatın genetik madde aktarma özelliği tamamen kayboluyordu. Genetik özellikleri taşıyan ve bakteri tutan süzgeçlerden geçebilen bu etkenin yapısı konusundaki araştırmalar ise, bunun ılımlı bir fajın parçacıklarından hiçbir yöntemle ayrılmadığını gösterdi. Bugün P22 fajı olarak bilinen bu fajın, kromozom segmentleri taşıdığı bakteri hücrelerini lizogenize ettiği, karakterleri alıcı durumda mutantları enfekte edince bunların bir çoğunu erittiği anlaşılmıştır (Akman ,1982).

1.8.4.1.Genel Transdüksiyon

Genel transdüksiyon, *Enterobacteriaceae* üyelerinde bulunan litik bakteriofajlar olan P1, P22 gibi bakteriofajların aktiviteleri araştırılarak tiplendirilmişlerdir. Enjekte edilen DNA, konak hücrenin rekombinasyon

mekanizması ile veya replikant plazmidlerin otonom replikasyonları vasıtasıyla kromozoma entegre olmaktadır. Genel transdüksiyon hem litik hem de temperent fajların litik üreme siklusları esnasında meydana gelebilmektedir. Bu sırada faj tarafından sentezlenen nükleazlar bakteri kromozumunu küçük fragmentlere parçalamakta ve parçaların bazıları degradesyondan kurtularak faj DNA'sının yerine viral kapsit içine paketlenmektedirler (Lin et al., 1984). Bakteriyal DNA'nın böyle bir paketlenmesi $1/10^6$ sıklıkta görülebilir. Bu olayda bakteriyal DNA'daki belirli bazı bölgelerin fajın pac (packaging) bölgelerini taklit ettiği düşünülmektedir.

Rekombinasyon yapabilen konaklarda, enjekte olan yabancı DNA, konak hücrenin kromozomuyla homolog bölgelere sahip ise incorporasyon (birleşme) meydana gelir ve homolog rekombinasyon ile yeni genetik materyal kazanılmış olur.

1.8.4.2.Doğal Ortamlarda Transdüksiyon

Transdüksiyon yapabilen fajlar 24 bakteri cinsinin 57'den fazla türünde saptanmıştır (Kokjhon , 1989). Öyle görülmektedir ki transdüksiyonel gen alış veriş potansiyel bakteriler arasında doğaldır. Bununla beraber doğal mikrobiyal popülasyonlarda gen transfer mekanizması olarak bilinen transdüksiyon hakkında çok az şey bilinmektedir.

1.9.Antibiyotik Dirençliliğinin Biyokimyasal Mekanizması

Antibiyotik dirençliliğinin biyokimyasal mekanizması, üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

- 1-Dirençli hücreler antimikrobik etkili maddeyi etkisiz derivatlarına dönüştürecek enzimler sentezlerler(β -laktamaz, Penicillinaz, vs.).
- 2-Etkin maddeye hassas olan bölgenin yapısında değişiklikler meydana gelir.
- 3-Antimikrobik maddenin hücreye girişini sağlayan permeabilite kaybolur.
- 4-Antimikrobik maddenin inaktive ettiği enzim tipinin hücre içinde yüksek konsantrasyonda sentezlenmesi.

5-Etkin maddenin etkilediği biyosentez yolunun ilaçtan etkilenmeyen bir başka yolla değiştirilmesi.

6-Üretimi engellenen maddeye olan gereksinim azalması.

1.10.β-Laktam Antibiyotikler

β-laktam antibiyotikler Penicillinler, Cephalosporinler, Cephameycinler, Nocardinler ve Monobactam'ların dahil olduğu büyük bir antibiyotik grubunu kapsamaktadır (Brown, 1982). Bu grup antibiyotikler en yaygın kullanılan antibiyotikleri içermekte olup, yaklaşık kırk yıldan beri kliniklerde kullanılmaktadır.

Çizelge1.4. β-Laktam antibiyotiklerin genel yapısı, sınıfı ve β-Laktam üreten organizmalar.

Sınıfı	Yapısı	Mantar	Bakteri üreten mikroorganizma	
			gram(+)	gram(-)
Penem Kullanımı Antibiyotik Ör: Ampicillin Amoxycillin Benzylpenicillin Piperacillin		<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Epidermophyton</i> <i>Trichophyton</i> <i>Polypaecilum</i> <i>Malbranchea</i> <i>Sartorya</i> <i>Pleurophomopsis</i>		
Cephem Kullanımı Antibiyotik Ör: Cephalothin Cefazolin Cefoxitin Cefazidime		<i>Cephalosporium</i> <i>Anixiopsis</i> <i>Arachnomyces</i> <i>Sipiroidum</i> <i>Scopulariopsis</i> <i>Diheterospora</i> <i>Paecilomyces</i>	<i>Streptomyces</i> <i>Nocardia</i>	<i>Flavobacterium</i> <i>Xanthomonas</i> <i>Lysobacter</i>
Clavam Kullanımı β-laktamaz inhibisyonu Ör: Sulbactam, Clavulanic acid			<i>Sterptomyces</i>	

<u>Sınıfı</u>	<u>Yapısı</u>	<u>Mantar</u>	<u>Bakteri üreten mikroorganizma</u>	
			<u>gram(+)</u>	<u>gram(-)</u>
Carbapenem <u>Kullanımı</u> Antibiyotik ve/veya β -laktamaz inhibisyonu Ör: Imipenem, MM13902			<i>Sterptomyces</i>	<i>Serratia</i> <i>Erwinia</i>
Monobactam <u>Kullanımı</u> Antibiyotik Ör: Aztreonam			<i>Nocardia</i>	<i>Pseudomonas</i> <i>Glucanobacter</i> <i>Chromobacter</i> <i>Agrobacter</i> <i>Acetobacter</i>

Enterobacteriaceae grubu bakterilerdeki β -Laktam dirençliliği 3 farklı mekanizma ile sağlanmaktadır (Hayes and Ward, 1986; Reynolds, 1984). Bunlar;

- a- β -Laktamazların sentezlenmesi,
- b-Dış membranın antibiyotiğe karşı gösterdiği permeabilitenin azalması,
- c-Bir yada birden fazla peniciline hassas enzimin farklılaşması, PBP'nin (Penicillin Binding Protein) enzimatik aktivitesinin azalması yada antibiyotik ve protein ilişkisinin azalması.

Son yıllarda yapılan çalışmalarla, β -Laktamlara karşı gelişen dirençliliğin mekanizması hemen hemen tamamıyla açıklanmıştır. Buna göre mutasyonlardan sonra ilk etkilenen yapıların β -Laktamların bağlandığı PBP gibi hedef bölgelerinin olduğu gözlenmiştir (Reynolds, 1984; Malovin and Bryan, 1986). Bununla beraber klinikten izole edilen örneklerde de bazı dirençlilik mekanizmaları tanımlanmıştır. Fakat bunların *Enterobacteriaceae* üyeleri ile ilgili olduklarına dair herhangi bir bulgu elde edilememiştir. *E.coli*'nin meticillin dirençliliği gösteren laboratuvar mutantlarında antibiyotiğin PBP'ye olan affinitesinin azaldığı gözlenmiştir (Hedge and Spratt, 1985).

Enterobacteriaceae grubu bakterilerde III. kuşak Cephalosporin antibiyotiklere karşı gelişen dirençlilikte iki önemli faktör belirlenmiştir. Bunlardan birincisi, β -laktamaz üretimi olup antibiyotiklere oldukça yüksek düzeyde affinite gösterir. Diğeri ise dış zarın permeabilitesinin engellenmesidir.

Gram-negatif bakterilerde β -laktam dirençliliği hem intirinsik (Kromozomal) hem de kazanılmış dirençlilik şeklindedir. Gram-negatif mikroorganizmalarda β -laktamlara karşı gelişen dirençlilik düzeyleri; antibiyotiklerin organizmaların dış zarındaki permeabilite engellerinden difuze olabılme oranları karşılaştırılarak belirlenmiştir (Nikaido, 1985). Antibiyotiklerin affinitesi, sitoplazmik membrandaki peniciline bağlanan proteinler ve periplasmik boşluktaki (Bomann et al., 1974) hidroliz edici β -laktamaz enziminin bulunması veya bulunmaması ile ilgilidir. Dirençliğinin ortaya çıkmasındaki bu parametrelerde mutasyonlar etkili olmaktadır. Mutasyonlar dış zarda etkili olduklarından, β -laktamları difuzyon oranlarını daha da azaltırlar (Hancock, 1984).

Bazı mutasyonlarda, plazmid kodlu enzimleri sentezleyen genlerdeki değişiklikler sebebiyle de dirençlilik gelişimi olmaktadır ve bu mutasyon neticesinde enzimlerin aktif kısımlarının etrafındaki amino asit konfigirasyonu değişmekte ve bu da enzim aktivite spektrumunun gelişmesine neden olmaktadır (Jacoby and sutton, 1991; Guttman et al., 1988; Kliebe et al 1985; Payne et al., 1989; Sougakoff et al., 1988). Örneğin TEM-2 enziminin 102.ci pozisyonundaki glutaminin yerine lysine'in sokulmasıyla TEM-3 ve 236. pozisyonundaki glysinin yerine Serinin sokulmasıyla SHV-1, SHV-1'in 213. pozisyonundaki glysinin yerine Serinin sokulmasıyla SHV-2 oluşmaktadır (Bush, 1989). *Enterobacteriaceae* grubu diğer bakterilerde b-laktam molekülündeki siklik amid grublarını hidrolize eden β -laktamların dirençlilik gelişimindeki rolleri ayrıntıları ile ortaya çıkarılmıştır. Diğer birçok enzimin aksine bakteriyel β -laktamazlar hem yapı hem de substrat düzeyi açısından aşırı derecede heterojendirler. *Enterobacteriaceae*'deki enzimler hücre içinde ve periplasmik boşlukta salgılanarak sentezlenirler. Klasik olarak dirençlilik problemi sitoplasmik zarda yerleşmiş antibiyotik etki bölgeleri ve antibiyotik girişini engelleyen yapılar arasında (Dış membran) β -laktamazların lokalize oldukları yerlere göre değerlendirilebilir. Bunun sonucu olarak, enzimler periplasmaya geçerek antibiyotik mokeküllerini tahrip ederler (Broad and Smith, 1983; Foster, 1983; Bush and Sykes, 1984; Medeiros, 1984; Acar and Minnozi, 1986; Neu, 1986).

Enterobacteriaceae'de bulunan β -laktamaz'ların iki tipinde aktif serin bölgeleri tanımlanmıştır (Jaurin and Grundstrom, 1981). TEM- β -laktamaz'ı serinin 45.ci residüsüne yerleşmiştir. Bununla beraber *E.coli*'de kromozomal olarak Amphotericin hidrolizleyen (Amp-C) β -laktamaz'ı aktif serin bölgesinin 80.inci residüsüne lokalize olmuştur. Her iki enzimde de aktif serinin etrafındaki bölgelerde tam bir homoloji görülmemiştir. Homoloji serinin amino terminal ucundaki 4-fenil alanin molekülü ve serine göre lizinin karboksi terminal ucundaki üç molekülle sınırlıdır. Bu enzimlerdeki dirençlilik mekanizmasından typ-1 olarak adlandırılan β -laktamaz enzimi sorumludur (Richmond and Syks, 1973). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda cephalosporinlerin hücreye girişinin sadece porin kanalları ile sınırlandırıldığı halde penicillinlerin dış membrandan geçmek için en fazla hidrofobik bölgeleri kullandıkları saptanmıştır (Yamaguchi et al., 1985).

1.11. β -Laktam Antibiyotiklerde İnaktifleşme

Bir çok β -laktamaz'ın belkide en önemli karakteri β -laktam antibiyotikleri hidrolizleme kabiliyetidir. β -laktamaz'ların fonksiyonu önce nonkovalent olarak β -laktam substratı ile Michealis kompleksi oluşturmaktır. Bu aşamada enzim ve substrat ayrılmakta yada klinik önemi olan β -laktamaz'ların hemen hemen hepsinde serin hidroksilin aktif bir kısmı ile asil enzim formu oluşması sonucunda hidrolitik reaksiyon kendiliğinden oluşmaktadır. Bu kovalent kompleksin deasilasyonu, halkası açılmış ürünün ayrılmasıyla tamamlanır. Bu yönde en mükemmel örnek penicillinin bakteriler tarafından inaktive edilmesidir. Bu bakteriler β -laktamaz enzimi üretirler. Bu enzimler penicillinin β -laktam halkasını hidrolize ederek onu hiç etkisi olmayan penicillan asidine dönüştürür. Penicillinlere yakın akraba olan cephalosporinlerde de inaktifleşme β -laktamase'lar tarafından aynı mekanizma ile oluşturulur. Gerek penicillin gerekse cephalosporinleri parçalayan β -laktamaz'lar gram-negatif ve Gram-pozitif bir çok bakteri tarafından kromozomal veya plazmid kodlu olarak sentezlenmektedirler (Jacoby and Sutton, 1991; Jacobs et al., 1986; Sirot et al., 1988; Kitsiz et al., 1988).

Gram-negatif bakterilerde β -laktamaz oluşumu gram-pozitif bakterilerden farklıdır. Gram-negatiflerde aynı koşullarda gram-pozitiflerdekinden çok daha düşük düzeylerde enzim üretilmektedir. Bu enzimler bazı bakterilerin uyarılması ile (*Enterobacter* sp. ve *Proteus* sp.) çok yüksek düzeyde üretilmektedir (Anderson, 1968; Franklin and Snow, 1971).

Fizyolojik koşulların korunduğu durumlarda gram-negatif bakterilerin β -laktamaz'ları hücreye bağlı kalır ve dış ortama verilmezler. Gram-negatif mikroorganizmalarda görülen yüksek düzeydeki duyarsızlık özellikle murein kılıfın dış tabakasında yer alan permeabilite kısıtlayıcı yapılardan kaynaklanmaktadır. (Meynel et al., 1968; Wolsteinbach and O'conner, 1968).

1.12. β -Laktamlar ve β -Laktamların PBP's ve β -Laktamazlarla Reaksiyonları

Bütün β -laktam antibiyotiklerin antibakteriyel aktiviteleri, hücre duvarının peptidoglukan sentezinin tamamlanmasında transpeptidase olarak görev yapan peniciline bağlanan proteinlerin biri veya birkaçı ile reaksiyona girmesi ile oluşmaktadır (Blumberg and Strominger, 1974; Spratt, 1983). Peptidoglukan sentezi üremenin bazı özel noktalarında iyi organize olmaktadır ve *E.coli* ve *Pneumococcus* ile yapılan bir çalışmada yeni sentezlenmiş PBP'lerin bu prosesinde büyük role sahip olduğu bildirilmiştir (Nayler, 1987). PBP'ler genellikle sitoplasmik membranın dışı bakan kısmında yerleşim göstermektedir fakat *E.coli* ile yapılan bir çalışmada bu proteinlerin dış membranda intermembran adhezyon noktalarına yerleşim gösterebileceği ve bu yerleşimin yüksek oranda gerçekleştiği belirtilmiştir (Barbas et al., 1986).

Daha önce de bahsedildiği üzere antibakteriyel aktivite birçok dirençlilik mekanizması ile düzenlenmektedir. Bu mekanizmalardan biri PBP's'lerdeki değişikliktir ve bu değişik, intracellular bölgede yüksek antibiyotik inhibitör konsantrasyonuna gereksinim duyulması ile sonuçlanır (Malouin and Bryan, 1986). Gram-negatif bakterilerden yapılan membran preparasyonları ile dirençli suşların hassas suşlara oranla aynı tip PBP'leri daha fazla miktarda taşıdıkları saptanmıştır. Böyle durumlarda aktif bölgede inhibitör konsantrasyonunu sağlamak için çok fazla

miktarda ekstrasellüler antibiyotik konsantrasyonuna gereksinim duyulduğunu açıkça göstermektedir. Gerek duyulan bu konsantrasyonlar hücre permeabilitesi ve β -laktamların periplasmik β -laktamazlar ile olan reaksiyonları dikkate alınarak ayarlanmalıdır.

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde çok ileri düzeyde kullanılan β -laktam antibiyotiklerin bir çoğunun yapısal tipleri tablo 4'de verilmiştir. Bu tabloda antibiyotiklerin önemli fizyo-kimyasal özellikleri de verilmiştir. β -laktam halkalarında acil amin alt grupları (RCONH) taşıyan bütün bileşiklerle, imipenem gibi tipleri de taşıyan diğer birkaç bileşik genellikle antibiyotik olarak kullanılmaktadır. Tablonun alt kısmında bulunan ve acil amin strüktürü göstermeyen birkaç bileşik, β -laktamaz inhibitörü olarak kullanılmaktadır.

Antibakteriyel β -laktamlar yapısal nedenlerden dolayı β -laktamazlarda olduğu gibi hem esansiyel PBP'lere hem de esansiyel olmayan PBP'lere spesifik bölgeleri ile affinite gösteren kimyasal reaktif moleküllerdir.

Yıllar önce (Pollock, 1967) PBP'lerle β -laktamazlar arasında evölüsyonel bazı ilişkilerin olabileceği belirtilmiştir. Bu fikir amino asit sequenslerindeki benzerlikler (Waxman et al.,1982; Knowles, 1985) ve tersiyer strüktür benzerlikleri (Kelly et al., 1986; Samraoui et al., 1986) ile desteklenmektedir. Bu nedenle PBP'lerle birçok β -laktamazın, β -laktamlarla olan kimyasal reaksiyonlarına bakılarak birbirlerinden kesin olarak ayrılmasının mümkün olmadığı görülmektedir. Çinko'ya ihtiyaç duyan β -laktamazlar (Bicknell, 1985) hariç tutulursa bütün β -laktamazlar PBP'lere veya β -laktamlara ilk başlangıçta nonkovalent olarak bağlanırlar. Bu olayı β -laktamların Serin hidroksil grubunun asilasyonu izler" Proteinin son hali dikkate alınmaksızın " bu olay β -laktamın irreversible olarak inaktivasyonu ile sonlanır (Nayler,1987). Eğer asilasyonu Serin ester bağlarının hidrolizi izler ise " ki bu enzimin yeniden aktifleşmesi ile oluşmaktadır " β -laktam, β -laktamaz için bir substrat olur. Belirli esansiyel olmayan PBP'lerin asilasyonu yavaş hidrolizle olmaktadır ve düşük etkili insoluble β -laktamazlar gibi davranmaktadır (Spratt, 1977). Intracellüler olarak β -laktamların hidrolizinde membrana bağlanan enzimlerin rolünün tam olarak ortaya konulamadığı görülmektedir. PBP'lerin ve β -laktamazların irreversible

inaktivasyonları çoğu kez asilasyonu bir hidroliz izlemediği zaman görülmektedir (Nayler,1987).

1.12.1.Permiabilite Sınırlamasıyla β -Laktam Dirençliliği

Gram-negatif bakteri içeren bir besiyerine bir β -laktam ilave edildiği zaman, " β -laktam pasif olarak periplasmaya girer. Periplasma, makromoleküller de dahil bir çok çözücüler ve erimiş maddeleri bir jel halinde bulundurmaktadır (Hobot et al., 1984). Hem periplasmik içerik hem de "bir çok bakteride dış membranın dış kısmında bulunan" eksopolysakkarid tabakası β -laktam'ların hücreye girişini geciktirmektedir. Aynı zamanda penetrasyonda da dış membranın tek başına bir engelleyicilik yaptığı kabul edilir. Bu membran fazla miktarda fosfolipid, lipopolysakkarid ve farklı proteinleri taşımasıyla başlı başına bir engel oluşturabilir. Buna karşılık bazı dış membran proteinler (Omp's : Outer Membrane Proteins) önemli bir çok β -laktam'ı da kapsayan anyonik veya nötr hidrofilik moleküllerin hücre içine girişini kolaylaştıran en büyük yolu oluşturmaktadır. Bu şekilde görev yapan proteinlerin (Omp's) dar, içi su dolu kanallardan, orta veya küçük boyuttaki moleküllerin periplasmaya difüzyonunu sağladığına inanılmaktadır ve bu kanallar porin kanalları olarak bilinmektedir. Bu kanalların boyutları, içerisinden geçebilen moleküllerin büyüklükleri ile ifade edilmektedir. Fakat içi boş silindirlerin gösterilmesi ve bu silindirlerin fiziksel durumlarıyla ilgili direkt bilgiler kabadır. Dış membranların bir çoğu farklı permeabilite karakterlerine sahip birden fazla porin içermektedir (Nikaido, 1985). *Salmonelle typhimurium* mutantları, ki bunlarda normal hücrelerde bulunan bir çok porinden iki tanesi eksiktir, ana suşlara oranla cephaloridin'e karşı on kat daha az geçirgendir ve bu nedenle yüzlerce porinden bir tanesinin eksilmesi bile permeabilite de önemli bir azalmaya sebep olur. Sadece Omp'F ve Omp'C taşıyan bir *E.coli* mutantında ana suşlarıyla karşılaştırıldığında 4 cephalosporin için (ceftazole, cefoadroxile, cefazolin ve cefalotin) permeabilite azalması meydana gelmiştir. Ancak permeabilitesi 4 penicillin için (amphicillin, benzil, penicillin, apalcillin ve piperacillin) karşılaştırıldığında böyle bir azalma

görülmemektedir ve hatta çok az bir miktar da yükselme gözlenmiştir (Yamaguchi et al., 1985).

Porin kanallarından diffüzyon çalışmalarında kullanılan diğer bir teknik β -laktam'ların proteolipozomlarla birleşimidir. Burada antibiyotiğin β -laktamaz'lara hassas olmasına gereksinim yoktur. Bu metotta β -laktam'ın bir seri *E.coli* Omp'F den diffüze olma düzeyinin karşılaştırılması yapılmış ve beklenildiği gibi küçük moleküllerin büyük moleküllere oranla daha hızlı diffüze oldukları saptanmıştır (Yoshimura and Nikaido, 1985). Aynı zamanda yüksek hidrofilik β -laktamların düşük hidrofilik olanlara oranla daha hızlı diffüze oldukları saptanmıştır. Nötral iyonlar net negatif yüklü moleküllerden daha hızla diffüze olmaktadır ve Carbenicilline gibi di-anyonikler nisbeten yavaş diffüze olmaktadır. Bu oran farklılıklarına rağmen bütün β -laktam antibiyotikler *E.coli*'nin Omp'F kanallarından diffüze olabilmeye yeteneğindedirler. Benzer sonuçlar *E.coli*'de ikinci büyük porin grubunu oluşturan Omp'C'ler için de geçerli olabilir. Bu organizmalarda bulunan porinler *E.coli* β -laktam'ları için daha az permeabildir. Çeşitli konsantrasyonlarda şekerlerle yapılan deneylerden elde edilen sonuçlara göre belirli molekül ağırlıktan daha büyük şeker moleküllerinin *Pseudomonas* sp., dış membranından geçemediği saptanmıştır. Bazı araştırmacılar (Caulcott et al.,1984; Yoneyama et al., 1986) sınırlayıcı faktörün molekül ağırlıklarının 194 (methyhexose'lar) ve 342 (Glukose) arasında olduğunu saptamışlar fakat, eleştiriye maruz kalmışlardır .

Ne olursa olsun β -laktam'lar için böyle bir sınırlamanın konulamayacağı açıktır. Örneğin Piperasilin VX-VC43, Cefsulodin, Cefoperozon, Ceftazidim ve UG-FA 132 (hepsi 500 daltondan büyüktür) nin hepsinin MC (Minimal inhibition Concentration) değeri 4 mg/lt' dir veya bir çok *Pseudomonas aeruginosa* için daha düşüktür. Diğer taraftan bu konularla yapılan ilk çalışmalarda (Hancock et al., 1979) eğer hücrelerdeki böyle porlar küçük değilse *Pseudomonas aeruginosa*'nın bilinen nisbeten düşük permeabilitesine rağmen en azından 3000 dalton büyüklüğündeki moleküllerin geçebileceği önerilmiştir. Aynı miktarda porin içeren *Pseudomonas aeruginosa* suşları hem β -laktam hem de β -laktam olmayan antibiyotiklere olan direncin anormal artmasına veya hassasiyetin azalmasına neden olmaktadır. Bu

problemin çözümü için yapılan önerilerden biri *Pseudomonas aeruginosa* membranında bulunan F-proteini moleküllerinin (hücre başına 4×10^4) bir çoğunun %1'inden daha az miktarının herhangi bir

Bir kaç küçük şüphe olmasına rağmen bir çok β -laktam'ın dış membrandan geçişinde porin kanalları önemli rol oynamaktadır. Hem porin içermeyen basit fosfolipid bilayerleri hemde porin deficient *E.coli* mutantları penicillinleri cephalosporinlere oranla daha fazla geçirmektedir (Yamaguchi et al., 1973; Yamaguchi et al., 1985). Fakat her iki çalışmada da bu porin içermeyen fosfolipid bilayerlerinin ve porin deficient *E.coli*'lerin aminothiazolil cephalosporinlere yüksek aktivite göstermediği saptanmıştı anda kanalların açılmasına neden olduğudur (Nicas and Hancock, 1983).

1.13.Bakteri Plazmidleri

Başlangıçta, gerek otonom gerekse konak kromozomların bütünleşen parçaları olarak replike olma kapasitesine sahip olan kromozom dışı genetik ünitelere Epizom adı verilirken konak hücre kromozomu ile bütünleşme kapasitesine sahip olmayan kromozom dışı genetik ünitelere kromozom adı verilmektedir. Fakat bugün epizom ile plazmid arasında kesin bir ayrım yapılamamakta ve epizom sözcüğü kromozom dışı bazı elementlerin davranış özelliğini tanımlamada kullanılmaktadır.

Bakteri plazmidlerinin hemen hepsi, kendi bağımsız durumlarını devam ettirebilecek gerekli temel bilgiye sahiptirler. Yani her biri birer replikondur. Hücre bölünmesi sırasında genomik DNA replike olurken, plazmidler de eş zamanlı olarak replike olurlar. Bazı durumlarda hücre içindeki kopyaları binlerce adete ulaşabilir (Arda, 1990).

Plazmidler iki kategoriye ayrılır: Konjugatif plazmidler ve non konjugatif plazmidler. Konjugatif plazmidler, DNA'larının konjugal transferlerini sağlayan genlere sahip olan plazmidlerdir. Böyle genlere sahip olmayan plazmidler ise non-konjugatif plazmidlerdir.

Plazmidler bakteriye kazandırdıkları özelliklere isimlendirilirler. Örneğin antibiyotik dirençlilik plazmidleri, laktoz plazmidi, virülens plazmidi (Akan, 1993)

Bu çalışmada Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularının hangi düzeyde toplam koliform ve fekal koliform içerdikleri ve bu organizmaları yüzey sularına vererek oluşturabileceği potansiyel enfeksiyon ve salgın riski, bu organizmaların antibiyotik dirençlilik profillerinin saptanması ve taşımış oldukları dirençlilikleri diğer organizmalara transfer edebilme frekansları araştırılacaktır. Bu nedenle de Çöp depolama saha'sında 5 deneme istasyonu belirlenmiştir. Bu istasyonlar:

1. İstasyon: Çöp depolama sahasındaki drenaj suları, çöp yığımından belirli bir uzaklıkta katmandan yol bularak dışarı sızmaktadır. Bu bölgede yaşayan insanlar bu istasyondaki suları içme suyu olarak kullanılmaktadırlar. (Şekil 2-4).



Şekil 1.2. 1. İstasyondan insanların kullanmak için aldıkları sular



Şekil 1.3. 1. İstasyonda biriken suyun görünümü



Şekil 1.4.1. İstasyondaki drenaj suyunun depolama sahasında meydana getirdiği sızıntının görünümü

2.İstasyon: Depolama sahasının biraz yukarısında bulunan köyden gelen küçük bir dereye burada drenaj suları karışmaktadır. Bu istasyondan ki drenaj sularından insanlar kendilerinin ve hayvanlarının ihtiyaçlarını karşılamaktadırlar (Şekil 5-6)



Şekil 1.5. 2.İstasyonda insanların hayvanları için kullandıkları suyun görünümü



Şekil 1.6. 2. İstasyonun yakından görünüşü

3.İstasyon: 2. istasyonun devamı niteliğinde olan bu istasyon da biraz ilerdeki yerleşim bölgesine oldukça yakındır (Şekil 7).



Şekil 1.7. 3.İstasyondan genel bir görünüş

4.istasyon: Çöp yığınlarından sızan drenaj suları bu bölgede küçük bir gölet meydana getirmiştir (Şekil 8).



Şekil 1.8. 4. İstasyonda meydana göletin genel görünüşü

5. İstasyon: Gölet sonunda yeniden bir akıntı meydana gelmektedir (Şekil 9).



Şekil 1.9. 5.İstasyonda drenaj suyunu genel görünümü

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Cooke, kanalizasyon suları ile kirlenmiş deniz suyundan izole edilen koliform bakterilerde yüksek frekansta MAR (Multiple Antibiotic Resistance) bulunduğunu, fekal koliformların, koliformlardan daha fazla dirençlilik gösterdiklerini belirtmiştir (Cooke, 1976).

Harada ve Mitsushashi, invitro plasmid transferinde, sıcaklık ve pH'nın birinci derecede kontrol edilmesi gereken antibiyotik faktörler olduğunu, sıcaklığın 25-40° C (optimum 37 °C) ve pH aralığının 5-9 (optimum 7,5) olmasının plasmid transferini olumlu yönde etkilediğini bulmuşlardır (Harada and Mitsushashi , 1977).

Hummel ve arkadaşları , dirençli bir *Alcaligenes* sp., suşundan hassas bir *Pseudomonas aeruginosa* suşuna dirençlilik transferinin mümkün olduğunu tespit etmişlerdir (Hummel et al., 1977).

Nakahora ve arkadaşları, antibiyotik dirençliliği ve ağır metal toleransının birlikte ele alınması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar metal içeren ortamlardan izole edilen bakteriler arasındaki antibiyotik dirençliliğinin normal ortamlardakinden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Nakahora et al., 1977).

Sanders ve Sanders, *Enterobacter cloacae* ve *Citrobacter freundii* benzeri mikroorganizmalarda kromozomal β -laktamazların geniş spektrumlu Cephalosporinlere karşı gelişen dirençlilikten sorumlu olduklarını belirtmişlerdir (Nakahora et al., 1977).

Stewart ve Kditsihek, deniz suyundan izole ettikleri bakterilerle *E.coli*'nin laboratuvar suşları arasında, antibiyotik dirençliliğinin transfer edilebildiğini bildirmişlerdir(Stewart and Koditsihek, 1980).

Casawell ve Philips, *Klebsiella* sp., suşlarının transfer edilebilir antibiyotik dirençliliğinin önemli bir kaynağını oluşturduklarını, 1970'li yıllarda MAR *Klebsiella pneumonia* suşlarının salgın halinde çeşitli hastane enfeksiyonlarına neden olduklarını, Gentamycin ve Cephalotin dirençliliğini plazmidler aracılığı ile aktarabildiğini belirtmişleridir (Casawell and Philips, 1981).

Singleton ve Anson, invitro koşullarda maksimum plazmid transferinin 37°C'de gerçekleştiğini saptamışlardır. Sıcaklıktaki azalmayla birlikte transfer

frekansının da azaldığını ve 15°C'de transferin gerçekleşmediğini saptamışlardır (Singleton and Anson, 1981).

Armstrong ve arkadaşları yaptıkları çalışmalar sırasında çeşitli içme suyu sistemlerindeki bakterilerde multiple antibiyotik dirençliliğinin önemli derecede arttığını gözlemişlerdir (Armstrong et al., 1982).

Shah ve Stille, Almanya'da yaptığı çalışmalarda, son kuşak β -laktam antibiyotiklere karşı *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarını dirençlilik kazandıklarını saptamışlardır (Shah and Stille, 1983).

Knothe ve arkadaşları, geniş spektrumlu Cephalosporin dirençliliğinin plasmid kökenli olduğunu ve *Klebsiella pneumonia* suşlarından izole edilen plasmidin, Cefotaxime, Cefuroxime ve diğer Cephalosporinler, Penicillinler ve Gentamycin dirençliliğini hassas suşlara transfer edebildiğini saptamışlardır. Ayrıca Cefotaxim ve diğer son kuşak β -laktam antibiyotik dirençliliklerinin *E.coli* suşlarına çok kolay transfer edildiklerini açıklamışlardır (Knothe et al., 1983).

Knothe ve arkadaşları, geniş spektrumlu Cephalosporin dirençliliğinin plasmid kökenli olduğunu ve *Klebstella pneumoniae* suşlarından izole edilen plasmidin, Cefotaksime, Cefuroxime, ve diğer Cephalosporinler, Penicilinler ve Gentamiycin dirençliliğini hassas suşlara transfer edilebildiğini saptamışlardır. Ayrıca Cefotakxim ve diğer son kuşak β -laktam antibiyotik dirençliliklerinin *E.coli* suşlarına çok kolay transfer edilebildiklerini açıklamışlardır (Knothe et al., 1983).

Saunders, çeşitli konaklardan izole edilen bakteriler arasında antibiyotik dirençliliğinin plazmidlerle taşındığını bildirmişlerdir (Saunders, 1984).

Walter ve Vennes, atıksularda MAR gösteren koliform populasyonundaki dirençlilik frekansının, Haziran ayında %5 iken, bu değerin Ocak ayında %0.35'e düştüğünü saptamışlardır (Walter and Vennes, 1985).

Sanders ve Sanders, Paris'deki bir üniversite hastanesinde yapılan çalışmada *Enterobacteriaceae* üyelerinin son kuşak Cephalosporinlere karşı transfer edilebilir dirençlilik taşıdıklarını saptamışlardır (Sanders and Sanders, 1985).

Yamaguchi ve arkadaşları, iki büyük β -laktam grubundaki antibiyotikte dış membrandan geçişdeki farklılıkları araştırmışlar ve Cephalosporinlerin dış membrandaki porin kanallarından geçtiklerini, Penicillinlerin ise porin deficient (Rd

tip mutantlarda "Polisakkarit zinciri eksik") mutantlarda bile geçiş düzeylerinde bir azalma olmadığını saptamışlar ve Penicillinlerin geçişlerinin hidrofobik moleküller vasıtasıyla olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu gözlemler penicillinlerin dış membrandan geçmek için özellikle hidrofobik bölgeleri kullandıklarını, ve Cephalosporinlerin ise porin porları ile sınırlandırıldığını saptamışlardır (Yamaguchi et al., 1985).

Finch ve Smith, çeşitli antibiyotiklere simultan dirençlilik gelişiminin, plasmid olarak bilinen tipik ekstrakromozomal DNA yapıları tarafından meydana getirildiğini belirtmişlerdir (Finch and Smith, 1987).

Alpaslan, düzenli depolama sahalarının yer ve tasarımında etkin olan faktörleri incelemiştir. Çalışmalarında deponi sahaları seçilirken toprak yapısının killi ve alanın topografyasının hafif eğimli olmasına dikkat edilmesi gerektiğini belirtmiştir. Ayrıca sahaların tasarımında projelendirilmenin de alanın kapasitesinin gelecekteki projelisiyonun ve ulaşımın son derece kolay olması gibi faktörlerin önemli olduğunu vurgulamıştır (Alpaslan, 1997).

Filibelli ve Büyükkamacı üretimde atık azaltma tekniklerinin uygulanması isimli bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada, evsel katı atıkların üretildikleri yerde öğütülerek azaltılmasını öngörmüştür (Filibelli ve Büyükkamacı, 1997).

Özdağlar ve Erdin sızıntı suyu oluşumunu ve bilançosunu açıklayan ayrıntılı bir araştırma yapmışlardır (Özdağlar ve Erdin, 1997).

3.MATERYAL VE METOD

3.1.Materyal

Çalışmalarımızda aşağıdaki maddeler ve bileşikler materyal olarak seçilmiş ve kullanılmıştır.

3.1.1.Kullanılan Antibiyotikler

Gentamisin(GEN 30µg/mL), Cefoxitin(FOX 30µg/mL), Ceftriaxon (CRO30 µg/mL), İmipenem(IPM 10µg/mL), Meropenem(MEM10µg/mL), Cefotaksime(CAZ 30 µg/mL), Cefaperazone(CRP30 µg/mL), Cefotaksime(CTX 30µg/mL), Cefazolin(CZ 30 µg/mL), Ampicilin(AMP 30µg/mL)

3.1.1.1.Chloromfenicol

Plazmid izolasyonu aşamasında plazmid sayısını artırmak amacıyla (Amplikasyon) kullanılmıştır.

3.1.2.Kullanılan Besiyerleri

3.1.2.1.BGLB(Brillant Green Lactose Bile)

Bu besiyeri MPN esasına göre *E.coli* sayımında kullanılmıştır (Anonymous,1978).

Bileşimi:	(g/L)
Pepton	10
Lactoz	10
Safr Tuzu	10
Brillant-green	0,133
Distile Su	1
NaOH ile pH 7,2'e ayarlanır.	

3.1.2.2.MDCLS Agar

Çöp Depolama Sahalarının Drenaj Sularındaki örneklerin izolasyon ve tiplendirilmesinde, çizgi metodu ile yapılan antibiyogram testlerinde kullanılmıştır (Çolak ve Arıkan,1990).

Bileşimi:	(g/L)
Pepton	10
Glukoz	1
Amonyum Demir(III)Citrat	0.5
Na-tiosulfat	0.5
Na-dezoksikolat	0.5
NaCl	3.0
Laktoz	10.0
Nötral Kırmızısı	0.033
Agar agar	15.0
Distile Su	1L'ye tamamlanır

3.1.2.3.Endo-C Agar

Çöp Depolama Sahalarının Drenaj Sularından Alınan Örneklerin izolasyonu ve teşhisinde kullanılmıştır (Anonymous,1976).

Bileşimi:	(g/L)
Pepton	10
Laktoz	10
K ₂ HPO ₄	3.5
Na ₂ SO ₃ (susuz)	2.5
Bazık Fuksin	0.4
Agar	15
Distile Su	1L'ye tamamlanır
NaOH ile pH 7.4'e ayarlanır.	

3.1.2.4.Nutrient Agar

Araştırma alanından alınan örneklerin stok kültür olarak saklanması kullanılmıştır (Çetin, 1968).

Bileşimi	(g/L)
Pepton	10
Et özütü	10
NaCl	5
Agar	15
Distile Su	1L'ye tamamlanır

3.1.2.5.N1 Agar

Çizgi metoduyla antibiyogram testlerinde kullanılmıştır (Anonymous,1978).

Bileşimi	(g/L)
Pepton	10
Maya özütü	3
Et özütü	1.5
D(+)Glukoz	1
Agar	15
Distile Su	1L'ye tamamlanır

3.1.2.6.Glukoz Peptonlu Su

İndol Testi için kullanılmıştır.

Bileşimi	(g/L)
Pepton	7
Glukoz	5
NaCl	7.5
K ₂ HPO ₄	2.5
Distile Su	1L'ye tamamlanır
NaOH ile pH 7'e ayarlanır.	

3.1.2.7.Clark ve Lubs

Metil Red ve Voges Proskouer Testi için kullanılmıştır.

Bileşimi:	(g/L)
Pepton	7
D(+) Glukoz	5
K HPO	5
Distile Su	1L'ye tamamlanır
NaOH ile pH 7'e ayarlanır.	

3.1.2.8.Sitrat Agar

Sitrat Testi için kullanılmıştır.

Bileşimi:	(g/L)
$\text{NaNH}_4\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.5
$\text{K}_2 \text{HPO}_4$	1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2
Na-citrat	3
Distile Su	1L'ye tamamlanır
NaOH ile pH 6.7'e ayarlanır.	

3.1.2.9.LB Buyyonu

Plazmid izalasyonu çalışmalarında bakterilerin inkübasyonu amacıyla kullanılmıştır.(Maniatis et.al,1982)

Bileşimi:	(g/L)
Trypton	10
NaCl	10
Maya özütü	5
Distile Su	1L'ye tamamlanır
NaOH ile pH 7.5'e ayarlanır.	

3.1.3.Kullanılan Çözeltiler

3.1.3.1.TE (Tris EDTA) Solüsyonu

İzole edilen plazmidlerin çözülmesi amacıyla kullanılmıştır (Maniatis et.al 1982).

Bileşimi:	
10mM	Tris-Cl (pH 8.0)
1mM	EDTA (ph 8.0)

3.1.3.2.Lizis Solüsyonu(Alkali)

Plazmid izolasyonunda hücrelerin lizi edilmesi amacıyla kullanılmıştır (Maniatis et.al 1982).

Bileşimi:

0.2 N	NaOH
%1	SDS

3.1.3.3. 2.5 M Na-Acetate (pH=4.8)

Solüsyon halindeki plazmid DNA'nın presipite edilmesi amacıyla kullanılmıştır (Maniatis et.al 1982).

Hazırlanışı: 408.1 gram Sodyum Asetat 3 H₂O 800 ml saf su içerisinde çözülür.Glasiyel Asetik Asit ile pH 5.2'ye ayarlanır ve hacim 1 litreye tamamlanır,uygun miktarlara bölünür,otoklavda steril edilir ve buzdolabında saklanır.

3.1.3.4.TE'ye Doyurulmuş Fenol

Plazmid izolasyonu çalışmalarında plazmid solüsyonlarından proteinleri uzaklaştırmak amacıyla kullanılmıştır(Özcan,1992).

Bileşimi:

1 Litre	Sıvı Fenol
10 ml	100xTE (pH 7.6)
2 ml	β -Merkaptoetanol
1g	8-hidroxykinolin

3.1.3.5. Yürütme Tamponu

Stok TBE tamponunun 10 kat sulandırılmasıyla hazırlanır.

3.1.3.6.Ethidium Bromid Solüsyonu

Agorose jelde separe edilen plazmidlerin görünür hale getirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Hazırlanışı: 1mg Ethidium Bromid 100 mL distile suda çözülür. Koyu renkli şişede +4 °C de saklanır

3.1.3.7. 10xTBE (Tris, Borik asit, EDTA) Solüsyonu (200mL)

Plazmidlerin seperasyonunda kullanılan agorose jellerin hazırlanmasında ve elektrolit tamponu olarak kullanılmıştır (Maniatis et.al 1982).

Hazırlanışı: 21.6 gr Tris, 11 gr Borik asit, 1.86 gr EDTA tartılarak distile suyla 200 mL'ye tamamlanır. pH 8.3'e ayarlanır.

3.1.3.8. Yükleme Tamponu

Plazmid örneklerinin agaroz jellerle yüklenmesinde kullanılmıştır (Maniatis et.al 1982).

Hazırlanışı: %25 Brom fenol mavisi, %10 Gliserol, 1 mL distile su

3.1.3.9. Agaroz Jeller İçin Boyayı Geri Alma Solüsyonu (1mM MgSO 200mL)

Jellerden boyanın geri alınması amacıyla kullanılmıştır.

Hazırlanışı: 0.04 gr $MgSO_4$ tartılıp, 20 mL distile su içerisinde çözülür.

3.1.3.10. Agaroza Solüsyonu (%1) 70 mL

0.7 gr agaroz (SIGMA A,2929) tartılıp 7 mL 10xTE tamponu ve 63 mL distile su içinde çözüldükten sonra ısıtılarak eritilir (Maniatis et.al 1982).

3.1.3.11. Chloroform :İzoamyalkol 24:1

Chloroform İzoamyalkol ortamdaki fenolü uzaklaştırmak için kullanılır..

24 mL Chloform
1 mL İzoamyalkol

3.2.Metod

3.2.1.Su Örneklerinin Alınması

Çöp Depolama Sahalarının Drenaj Su örnekleri önceden steril edilmiş 100mL'lik şişelerle 5 istasyon bölgesinden alınmıştır.

3.2.2.Toplam Aerob Bakterilerin Saptanması

Su örnekleri steril fizyolojik su ile 10^{-5} oranında seri sulandırılarak toplam aerob bakteri (TAB) sayısını saptamak için Nutrient Agar'a 0.1mL transfer edilmiş ve drigalski bageti ile yayılıp yüzey kuruyana kadar flow-bench'de tutulduktan sonra $37^{\circ}C$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonucunda 30-150 koloni olan petriler sayılıp ortalaması alınır ve TAB belirlenir.

3.2.3. Toplam Koliform ve Fekal Koliform Bakterilerin Sayımı

Genel olarak koliform grup/fekal koliform grup bakteriler /E.coli sayılmasında EMS: En Muhtemel Sayı Yöntemi (Most Probable Number:MPN) yöntemi kullanılmakta ve yöntem üç aşamada uygulanmaktadır.

- 1.Koliform grup bakterilerin muhtemel sayısını tahmin etmek,
- 2.Koliformların kesin sayısını onaylamak ve aynı anda farklı bir besiyerinde fekal koliform sayısını belirlemek,
- 3.*E.coli* sayısını belirlemektir.

3.2.3.1.Koliform Grup Bakterilerin Muhtemel Sayısının Tahmini

Su örneğinden alınan 0.1, 1.0 ml'lik örnekler, içinde Laktozlu Buyyon , 10ml'lik örnekler Çift Kuvvetli Laktozlu Buyyon ve Dürham tüpleri bulunan deney tüplerine üçer paralel halinde ekilir. Tüpler 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edilir. Dürham tüplerinde gaz oluşumu ve buyyonun yeşil renginin sarıya dönmesi (Laktozun fermentasyonu sonucu asit oluşumu), ekilen su örneklerinde koliform bakterilerin varlığını gösterir.

3.2.3.2.Koliformların Kesin Sayısı ve Fekal Koliform Sayısı

10.0, 1.0 ve 0.1'er ml su örneği ekilen üçlü gruplardaki pozitif tüp sayısına göre, 100 ml suda bulunan koliform bakteri sayısı, Mc Crady çizelgesine göre Kuvvetle muhtemel Sayı (Most Probable Number, MPN) olarak bulunabilir (Ek 1).

3.2.3.3.*E.coli* Sayısı

Asit ve gaz oluşumu gösteren laktozlu tüplerden veya EMB ve Endo agar üzerinde gelişen *E.coli* olup olmadığı şüpheli kolonilerden öze ile;

- a- Trypton Buyyonla İndol testi için,
- b- Glukoz-peptonlu suya Metil Kırmızısı testi için ve

c- Citratlı besiyerine citratı değerlendirme testi için

1-2 gün citratı değerlendirme testi için 4-7 gün süreyle 37°C'de inkübe edilir. Bu süreler sonunda aşağıdaki biyokimyasal reaksiyonlar uygulanır.

3.2.3.3.1.Indol Testi

Bu testin amacı triptofan bulunan bir besiyerinde geliştirilen bakterilerin, triptofanı enzimatik hidrolize uğratarak indol oluşturup oluşturmadıkların belirlemektir. 5 mL Triptofan besiyerin içeren tüplere inokülasyon yapılmış, optimum sıcaklıkta 72 saat (3 gün) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 0,2-0,3 mL kovacs ayırıcı ilave edilmiştir. Üst kısımda kırmızı halka oluşturanlar pozitif sarı-kahve rengi halka oluşturanlar negatif kabul edilmiştir.

Kovaks Çözeltisi: p-dimetilaminobenzaldehit 5 gr; izo veya normal amilalkol 75 ml; konsantre HCl 25 ml bileşimindedir. Amil alkolün pH'sı 6.0 dan daha az, çözelti hazırlandıktan sonra rengi sarı olmalıdır. Çözelti kullanımdan hemen önce hazırlanmalıdır.

3.2.3.3.2.Metil Kırmızısı Testi

Bazı bakteriler, ortamda bulunan glikozu kullanarak çeşitli organik asitleri oluştururlar ve sonuçta ortamın pH'sı düşer. Bu özellikten faydalanılarak bakterilerin glikozdan asit oluşturup oluşturmadığını, belirleyebilmek amacı ile metil kırmızısı testi yapılır. Bu teste kullanılan metil kırmızısı indikatörü pH 6.2 de sarı pH 4.2 ve altında ise kırmızı bir renk oluşturur.

10 mL Glikoz Fosfat Pepton yada MR-VP besiyeri öze ile inoküle edilmiş optimum sıcaklıkta 96 saat (4 gün) inkübe edilmiştir. İnkübasyonu sonrası kültür ikiye bölünmüş (VP testi için) üzerine birkaç damla metil kırmızısı ilave edilerek karıştırılmıştır. Belirgin bir kırmızı renk oluşumu gözlenenler pozitif, gözlenemeyenler ise negatif kabul edilmiştir.

Metil Kırmızısı İndikatörü: Metil kırmızısı 0.1gr %96 lık etil alkol 300 mL distile su 200mL bileşimindedir. İndikatör önce alkol içerisinde çözülür, sonra distile su ilave edilir.

3.2.3.3.3.Voges –Proskauer Testi

Bazı bakteriler glikoz bulunan ortamda glikozu kullanarak asetoin,2,3 bütillen glikol gibi çeşitli nötral ürünler oluştururlar. Bunlardan asetoin, ortama alkali bir madde eklediğinde okside olarak diasetile dönüşür. Bu madde ise peptondaki keratin, arjinin veya kreatinin ile birleşerek pembe kırmızı bir renk oluşumuna neden olur.

10 mL MR-VP besiyeri öze ile inoküle edilerek optimum sıcaklıkta 96 saat (4 gün) inkübe edilmiştir.İnkübasyon sonrası üzerine 5 ml %40'lık potasyum hidroksit(KOH) solüsyonu ilave edilmiştir.Böylece ortamdaki diasetil asetoine okside olur.Bunun üzerine çok az miktarda toz halindeki α -naftol çözeltisi (0.6 ml/ml kültür süspansiyonu) damlatılarak karıştırılmıştır.15 dakika içinde üst kısımda pembeden parlak kırmızıya kadar değişen halka oluşumu pozitif, halka oluşmaması ise negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir.

3.2.3.3.4.Sitrat Testi

Bu testin amacı bakterilerin tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanıp kullanmadığını belirlemektir. Kültür süspansiyonunda, Simon's Sitrat yatık agar besiyerine öze ile sürme yapılarak optimum sıcaklıkta 2-7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Orjinal rengi yeşil olan ve indikatör olarak %0.2 Brom timol mavisi kullanılan besiyerinde, besiyeri renginin maviye dönüşmesi ve ekim hattı boyunca üreme gözlenmesi pozitif olarak kabul edilmiştir. Besiyeri rengi değişmemişse sonuç negatif kabul edilmiştir.

3.2.3.3.5.Eijkman Testi

Endo-C agar'da metalik reflaksiyon veren izolatlar tek kuvvetli BGGB besiyerine inoküle edilir ve 44.5°C'da 24-48 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonucunda asit+gaz oluşunu Eijkman (+) olarak değerlendirilir.

3.2.4. β -laktamaz Testi (Nitrosefin Yöntemi)

Bakterilerin β -laktamaz üretilip üretilmediğini anlamak için nitrosefin yöntemi kullanılmıştır. Plakelerin her bir gözüne 2 mikrolitre nitrosefin çözeltisi damlatılır. Daha sonra eğik katıda saklanan kültürden öze ile alınıp ekim yapılır ve renk değişimi gözlenir. Sarı rengin kırmızıya dönmesi β -laktamaz üretimini gösteriyor demektir. Ama sarı rengini koruyorsa negatiftir.

3.2.5.Antibiyogram Testi

Bu aşamada Çöp Depolama Sahalarının Drenaj Sularından alınan örneklerden *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri suşları izole edilmiş ve bu suşların Gentamisin(GEN 30 μ g/mL), Cefoxitin(FOX 30 μ g/mL), Ceftriaxon(CRO30 μ g/mL), İmipenem(IPM 10 μ g/mL), Meropenem(MEM10 μ g/mL), Cefazidime(CAZ 30 μ g/mL), Cefaperazone(CRP30 μ g/mL), Cefotaksime(CTX 30 μ g/mL), Cefazolin(CZ 30 μ g/mL), Ampicilin(AMP 30 μ g/mL) antibiyotiklere olan dirençlilik frekansları (çizgi metoduyla) belirlenmiştir. Dirençli olarak saptanan izolatların Ethidium Bromide gibi plazmid eliminatörü ajanlarla plazmid eliminasyon frekansı saptanmıştır.Bu amaçla IMVIC testi olan *E.coli*'nin doğrulama testiden sonra kolonileri çoğaltmak amacıyla N1 Na-dezoksikolat (0.5gr/lt) agar besiyerine çizgi metoduyla ekilmiş ve 37 °C de 18 saat inkübe edilmişlerdir.

İnkübasyon sonucunda 30 gr/ml kontrasyonda antibiyotik .içeren N1 Na-dezoksikolat (0.5 gr/lt) agara aynı metotla ekilmişler ve 18 saat etüvde inkübasyona

bırakılmışlardır. İnkübasyon sonucunda ekim çizgisi boyunca üreme gösteren suşlar dirençli, üreme göstermeyen suşlar ise hassas olarak değerlendirilmiştir.

3.2.6. Plazmid Eliminasyonu

Dirençli olarak saptanan suşlar 1mL'lık N₁ Broth'lara ekilmiş ve 18 saat inkübe edilmiştir.İnkübasyon sonunda bu kültürden İçerisinde 800µg/ml,400µg/ml,200µg/ml,100µg/ml konsantrasyonunda 4,9mL'lik Ethidium bromide içeren Nutrient Broth'lara inokule edilmiş ve buyyonlar etüvde 18 saat inkübe edilmiştir.

Üremenin görüldüğü en yüksek EB buyyonundan seri sulandırmalar yapılarak ENDO-C agara ekim yapılmış ve 18 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonunda üreyen kolonilerden rast gele seçilen 20 koloni MDCLS (indikatörsüz) çoğaltmak amacıyla çizgi metoduyla ekilmiş ve etüvde 18 saat inkübe edilmiştir.

Çizgi kültürlerden içerisinde 30µgr/ml konsantrasyonunda AMP,CAZ,GEN,FOX,CZ antibiyotik içeren N1 Na-dezoksikolat besiyerine çizgi metoduyla ekim yapılmış ve etüvde 18saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda üreme görülmeyen çizgilere ait bakteri suşlarının plazmid kodlu dirençlilik taşıdıkları saptanmıştır.

İnkübasyon sonucunda üremeyen suşlar plazmid izolasyonu için stok besiyerinde saklanmıştır

3.2.7.Plazmid İzolasyonu

1. Plazmid izole edilecek mikroorganizmanın LB(Luria-Broth) besiyerinde 1 gecelik taze kültürü hazırlanır.Ve bu taze kültürden 0.1 ml alınır, 10 ml'lik LB besiyerine inokülasyon yapılarak 4-6 saat 37°C de üretilir. Bu kültürün tamamı 100 ml LB ye aktarılır ve 2 saatlik inkübasyondan sonra, kültüre 170 µg/ ml konsantrasyonda Chloramphenicol ilave edilerek bir gece üremeye bırakılır.(Chloramphenicol ilavesi, plazmidlerin amplifikasyonunu (kopya sayısının artırılması) sağlar.

2. Kültür +4°C 10 dakika mikrosantrifüjde 15 000 rpm santrifüj edilerek hücreler çöktürülür.
3. Üst faz atılır ve çökelti 5 ml TE (Tris-EDTA,pH=8.0) solüsyonunda resüspanse edilir ve 4°C de 6500 rpm de 10 dakika santrifüj edilir.
4. 3. aşama tekrar edilir.
5. Çökelti 1 mL TE (pH=8.0) içinde çözülüp çalkalayarak resüspanse edilir.
6. 4 mL liziz tampon ilave edilir.Ve tüp en az 6 kez altüst edilerek iyice karıştırılır.
7. 30 dakika oda sıcaklığında veya 56°C 60 dakika inkübe edilir, bu sürede karışım en az 1-2 kez alt üst edilir.
8. Karışım üzerine 1.5 ml 3 M Na-asetat (pH=4.8) ilave edilip, 60 dakika buz üzerinde, veya derin dondurucu da bekletilir.
9. Karışım 8500 rpm'de 15 dakika sentrifüjle çöktürülür.
10. Üst faz temiz bir polypropilen tüpe alınır. Üzerine eşit hacimde fenol chloroform(1:1) ilave edilerek, yavaş yavaş iyice karışmıncaya kadar alt üst edilir. 3000 rpm de santirföj edilerek, üst faz yine temiz bir tüpe transfer edilir.
11. 10. aşama tekrarlanır.
12. Üst faza eşit hacimde chloroform-izoamylalkol (24:1) ilave edilerek, iyice karışmıncaya kadar tüp yavaş yavaş alt üst edilir.
13. 12.aşama tekrarlanır.
14. Üst faz temiz bir tüpe alınır. 2 hacim soğuk etanol ilave edilerek tüp yavaş yavaş alt-üst edilir. Bu aşamada beyaz bir bulanıklık oluşması (bazen presipitatlar gözlenebilir) DNA'nın varlığına işaret eder. Derin dondurucuda 2 saat veya 1 gece bekletilir.
15. Karışım ependorf tüplerine dağıtılarak 4°C'de 11000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilir. Üst faz atılır. Dipte kalan beyaz renkli çökelti 100µL TE (pH=8.0) de çözülür ve 4°C' de saklanır.

3.2.8.Plazmid Determinasyonu

3.2.8.1.Örneklerin Jele Uygulanması ve Elektroforez

1. Agaroz jel, yaklaşık 45-50°C' ye soğutulduktan sonra 7.5x15x1 cm boyutlarındaki jel kutusuna dökülerek hemen tarak yerleştirilir.
2. Jel tamamen katılaştıktan (polimerizasyon) sonra tarak dikkatlice jelden alınır (Polimerizasyon oda sıcaklığında yaklaşık 1 saatte gerçekleşir).
3. 20-25L'lik miktarlarda DNA örnekleri alınarak 5µL yükleme tamponuyla karıştırıldıktan sonra mikropipet ile örnek çukurlarına tatbik edilir.
4. Separe edilen nükleik asitlerin moleküler ağırlıklarını belirlemek amacı ile jeldeki çukurlardan (slot) birine 5 µL marker DNA (moleküler ağırlığı belli,daha önceden çeşitli restriksiyon enzimleri ile kesilmiş DNA) yüklenir.
5. Jel agaroz aparatına yerleştirilir.
6. Güç kaynağı (power suply) ve elektroforez ekipmanı arasında gerekli bağlantılar yapılarak, aparata jelin yüzeyini kaplayacak şekilde yürütme tamponu konur. 10V/cm voltaj uygulanarak 2-4 saat seperasyon gerçekleştirilir. Seperasyon zamanını sonlandırmak için, yükleme tamponunda bulunan brom fenol mavisinin jelde kat ettiği mesafe bize yol gösterir.

3.2.8.2.Agaroz Jelin Boyanması

1. Elektroforez işlemi tamamlandığında jel elektroforez aparatından alınarak geniş bir boyama kabına konur. Jelin üzerine Ethidium Bromid boyama solüsyonu (0.5µg/mL Ethidium Bromid) konarak 45 dakika boyanır.
2. Boyanın fazlası jeli 1 mM MgSO₄ solüsyonu ile 15 dakika muamele etmek suretiyle geri alınır.
3. Jel daha sonra U.V. transillüminatör üzerine konarak fotoğraflanır.

3.2.9.Konjugasyon Çalışmaları

3.2.9.1.Stonier buyyonunda

1-Konjugasyon çalışmalarında alıcı ve verici olarak kullanılacak bakteri suşlarına ait agar kolonilerinden 1 koloni 10 ml NB broth'da inoküle edilerek 37°C'de 1 gece inkübe edilir.

2-Verici kültüründen 0.1 ml, alıcı kültüründen 0,9ml alınarak 4,5mL'lik Stonier buyyonuna inoküle edilir ve kültür hafifçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 1 gece inkübe (yaklaşık olarak 18 saat) edilir.

3-Karışık kültür steril saf su ile 10^{-8} - 10^{-9} oranlarında sulandırılarak MDCLS agara ekilir ve 37°C'de 1 gece inkübe edilir.

4-Alıcı bakterilere ait suşlardan 20 koloni seçilerek N1 agara çizgi metodu ile (Arıkan, 1990) ekilir ve 37°C'de 1 gece inkübe edilir.

5-Üreyen koloniler 30µgr/mL konsantrasyonda antibiyotik içeren fakat nötral kırmızı içermeyen MDCLS agara yine çizgi metodu ile ekilerek 37°C'de 1 gece inkübe edilir.

6-Üreme gösteren suş sayısı toplam suş sayısı ile kıyaslanarak konjugasyon frekansı belirlenir

4.BULGULAR**4.1.Su Örneklerinin Toplam Aerob Bakteri ve pH Bulguları**

Çöp depolama sahalarının drenaj su örneklerinin toplam aerob bakteri ve pH analiz sonuçları çizelgeler halinde verilmiştir.

Çizelge 4.1. İstasyon örneklerinin pH ve Toplam Aerob Bakteri Bulguları

İSTASYON NO	pH DEĞERLERİ	Toplam Aerob Bakteri Sayısı (KOB/mL)
1.İSTASYON	7.68	2×10^6
2.İSTASYON	7.92	4×10^5
3.İSTASYON	8.05	1×10^4
4.İSTASYON	7.96	2×10^6
5.İSTASYON	7.98	1×10^8

4.2. MPN Bulguları

Araştırma 7 denemeden meydana gelmiştir. Her denemedeki toplam koliform sayıları tablolarda belirtilmiştir.

Çizelge 4.2.1. 26.10.2000 tarihli su örneklerinin MPN bulguları

İSTASYON NO	10 mL	1mL	0,1mL	100mL'DE MPN
1.İSTASYON	3	3	3	>1100
2.İSTASYON	3	3	3	>1100
3.İSTASYON	3	3	3	>1100
4.İSTASYON	3	3	3	>1100
5.İSTASYON	3	3	3	>1100

Çizelge 4.2.2. 27.11.2002 tarihli su örneklerinin MPN bulguları

İSTASYON NO	10 mL	1mL	0,1mL	100mL'DE MPN
1.İSTASYON	3	3	0	240
2.İSTASYON	3	3	3	>1100
3.İSTASYON	3	3	2	1100
4.İSTASYON	3	3	2	1100
5.İSTASYON	3	3	3	>1100

Çizelge 4.2.3. 09.01 2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları

İSTASYON NO	10 mL	1mL	0,1mL	100mL'DE MPN
1.İSTASYON	3	3	3	>1100
2.İSTASYON	3	3	3	>1100
3.İSTASYON	3	3	3	>1100
4.İSTASYON	3	3	3	>1100
5.İSTASYON	3	3	3	>1100

Çizelge 4.2.4. 13.02.2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları

İSTASYON NO	10 mL	1mL	0,1mL	100mL'DE MPN
1.İSTASYON	3	3	1	150
2.İSTASYON	3	3	3	>1100
3.İSTASYON	3	3	2	1100
4.İSTASYON	3	3	3	>1100
5.İSTASYON	3	3	3	>1100

Çizelge 4.2.5. 26.03.2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları

İSTASYON NO	10 mL	1mL	0,1mL	100mL'DE MPN
1.İSTASYON	3	3	3	>1100
2.İSTASYON	3	3	3	>1100
3.İSTASYON	3	3	3	>1100
4.İSTASYON	3	3	2	>1100
5.İSTASYON	3	3	3	>1100

Çizelge 4.2.6. 24.04 2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları

İSTASYON NO	10 mL	1mL	0,1mL	100mL'DE MPN
1.İSTASYON	3	3	3	>1100
2.İSTASYON	3	3	3	>1100
3.İSTASYON	3	3	3	>1100
4.İSTASYON	3	3	3	>1100
5.İSTASYON	3	3	3	>1100

Çizelge 4.2.7. 05.06.2001 tarihli su örneklerinin MPN bulguları

İSTASYON NO	10 mL	1mL	0,1mL	100mL'DE MPN
1.İSTASYON	3	3	3	>1100
2.İSTASYON	3	3	3	>1100
3.İSTASYON	3	3	3	>1100

4.3. İMVİC Bulguları

Çizelge 4.3. İMVİC Değerlendirme Çizelgesi

İMVİC TESTLERİ				
ORGANİZMA	İNDOL TESTİ	METİL-RED TESTİ	V-P TESTİ	SİTRAT TESTİ
E.coli	+	+	-	-
Klebsiella	-	-	+	+
Enterobacter	-	-	+	+
Citrobacter	-	+	-	+

İzole edilen 138 suş İMVİC testine tabi tutulmuş olup, izolatlardan 87'sinin *E.coli*, 15 adedinin *Citrobacter* sp., 1 tanesinin *Klebsiella* sp., olduğu saptanmış olup 35 izolat ise İMVİC çizelgesine uymamaktadır. Tiplendirilen 103 izolatın 21 tanesinde Eijkman pozitiflik belirlenmiş olup, fekal organizma oranı %21 olarak saptanmıştır.

4.4. Antibiyogram Test Sonuçları

Çizelge 4.4. İzolatların antibiyotiklere hassasiyet sonuçları

Bak.No ve ant	IPM	MER	AMP	CRP	CAZ	GEN	CRO	FOX	CTX	CZ	NITRO
1	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
2	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
6	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
8	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+

Bak.No ve ant	IPM	MER	AMP	CRP	CAZ	GEN	CRO	FOX	CTX	CZ	NITRO
9	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
12	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-
13	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
14	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
16	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
17	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
18	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
19	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
20	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
21	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
22	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
23	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
24	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
25	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
26	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
27	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
28	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
29	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
31	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
32	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
33	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
34	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
35	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+
36	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
37	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
38	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
40	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
41	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
42	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+

Bak.No ve ant	IPM	MER	AMP	CRP	CAZ	GEN	CRO	FOX	CTX	CZ	NİTRO
44	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
47	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
48	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
49	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
51	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
52	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
53	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
54	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
55	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
56	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
57	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
58	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
59	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
60	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
61	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
62	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
63	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
64	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
65	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
66	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
67	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
68	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
69	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
70	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
71	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
72	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
73	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
74	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
75	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
78	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+

Bak.No ve ant	IPM	MER	AMP	CRP	CAZ	GEN	CRO	FOX	CTX	CZ	NİTRO
79	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
81	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
82	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
83	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
84	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
85	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
86	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
87	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
88	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
89	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
90	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
91	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
92	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
93	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
95	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
96	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
97	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
98	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
99	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
100	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
101	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
102	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
103	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
104	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
105	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
106	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
107	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
108	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
109	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
110	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
111	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
112	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
113	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
114	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+

Bak.No ve ant	IPM	MER	AMP	CRP	CAZ	GEN	CRO	FOX	CTX	CZ	NİTRO
115	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
116	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
117	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
118	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
119	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
120	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
121	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
122	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
123	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
124	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
125	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
126	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
127	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
128	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
129	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
130	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
131	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
132	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
133	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
134	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
135	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
136	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
137	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
138	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+

Çizelgede koyu olarak işaretlenen izolatlar E.B. ile plazmid eliminasyonuna tabi tutulmuşlardır.

IPM: İmipenem MER: Meropenem CRP: Cefaperazon CAZ: Seftazidim
 GEN:Gentamisin CRO: Seftriakson FOX:Sefoksitin CTX:Sefotaksim
 CZ:Sefazolin AMP: Amfisilin NİTRO: Nitrosefin Testi

Test edilen bütün izolatların IMP ve MER antibiyotiklerine karşı hassas, fakat AMP antibiyotiğine ise dirençli oldukları saptanmıştır. Diğer antibiyotiklere

ise; %31.8 CZ'ye, %22.4 FOX'a, %4.3'nün GEN'e, %2.8'nin CRP'ye, %2.8'nin CAZ'a, %0.72 CRO'ya, %0.72 CTX'e, dirençli olduğu saptanmıştır. 138 örneğe nitrosefin testi yapılarak β -laktamaz üretilen üretilmedikleri araştırılmıştır. Bunlardan 81 tanesinde (%59) bu enzimin varlığına rastlanmıştır.

1,2,8,11,12,16,20,21,22,23,25,26,27,28,30,32,33,34,35,36,37,39,40,48,50,57,58,73,84,86,87,97,98,100,101,102,105,108,110,111,112,115,116,125,127,128,129,130,131,133,134,135,136,137,138 no'lu 55 izolatta (%39) çoklu antibiyotik dirençliliği (MAR) saptanmıştır.

Çöp drenaj sularının 5 farklı istasyonundan alınan örneklerdeki çoklu antibiyotik dirençliliği şöyledir:

1.İstasyondan alınan örneklerin %33,3'ünde, 2. İstasyondan alınan örneklerin %51,7'sinde 3. İstasyondan alınan örneklerin 11,1'inde, 4. İstasyondan alınan örneklerin 45,4'ünde, 5. İstasyondan alınan örneklerde ise %41'inde MAR özelliğine rastlanmıştır

Buna göre en yüksek dirençlilik 2. istasyonda gözlenirken en düşük dirençlilik 3. istasyonda gözlenmiştir.

Bu istasyonlardan örnekler farklı zaman periyotlarında alınmıştır. Bu zaman periyotlarına göre MAR özelliği şöyledir:

26.10.2000 tarihli su örneklerinin %44.4'ünde, 27.11.2000 tarihli su örneklerinin %72,2 sinde, 09.01 2001 tarihli su örneklerinin %41,7'sinde, 13.02.2001 tarihli su örneklerinin %38,9'unda, 26.03.2001 tarihli su örneklerinin %13,6'sında, 24.04 2001 tarihli su örneklerinin %20,8'inde, 05.06.2001 tarihli su örneklerinin %65'inde MAR özelliğine rastlanmıştır. Bu veriler doğrultusunda en yüksek dirençlilik 2. periyotta gözlenirken, en düşük dirençlilik ise 5. zaman periyodunda gözlenmiştir.

4.5.Ethidium Bromid ile Plazmid Eliminasyonu Bulguları

Çizelge 4.5. Ethidium Bromid ile Plazmid eliminasyon sonuçları

ORGANİZ NO	AMP			CZ			GEN			FOX			CAZ		
	E	Ü	%E	E	Ü	%E	E	Ü	%E	E	Ü	%E	E	Ü	%E
1	—	10	0	8	2	80	10	—	100	10	—	100	—	10	0
8	—	6	0	1	5	17				1	5	17			
11	—	10	0	—	10	0									
25	1	18	5	—	19	0				—	19	0			
28	—	13	0	7	6	54									
32	—	8	0	5	4	63									
35	—	4	0	4	—	100	4	—	100	4	—	100			
73	—	7	0	—	7	0				—	7	0			
87	2	18	11	20	—	100							20	—	100
93	—	10	0	2	8	20									
105	—	10	0	10	—	100				10	—	100			
110	1	12	8	13	—	100				11	2	85			
125	—	9	0	7	2	78									
133	-	11	0	2	9	18	—	11	0						
136	2	11	15	—	13	0									
138	2	8	20	2	8	20	—	10	0						

AMP: Ampisilin CZ: Sefazolin GEN: Gentamisin FOX: Sefoksitin

CAZ: Seftazidim E: Ekilen Ü: Üreyen %E: Eliminasyon Yüzdesi

Çöp Drenaj sularından izole edilen ve çoklu antibiyotik dirençliliği gözlenen 45 suştan rastgele seçilen 16 örnek Ethidium Bromide ile plazmid eliminasyonuna tabi tutulmuş olup;

E.B. ile AMP antibiyotiğinde en yüksek dirençlilik eliminasyonu %20 ile 138 No'lu örnekte en düşük eliminasyon %0 ile 1,8,11,28,32,35,73,93,105,125 ve133 No'lu örneklerde saptanmıştır.

E.B. ile CZ antibiyotiğinde en yüksek dirençlilik eliminasyonu %100 ile 35,87,105 ve 110 No'lu örneklerde en düşük eliminasyon %0 ile 11,25,73 ve136 No'lu örneklerde saptanmıştır.

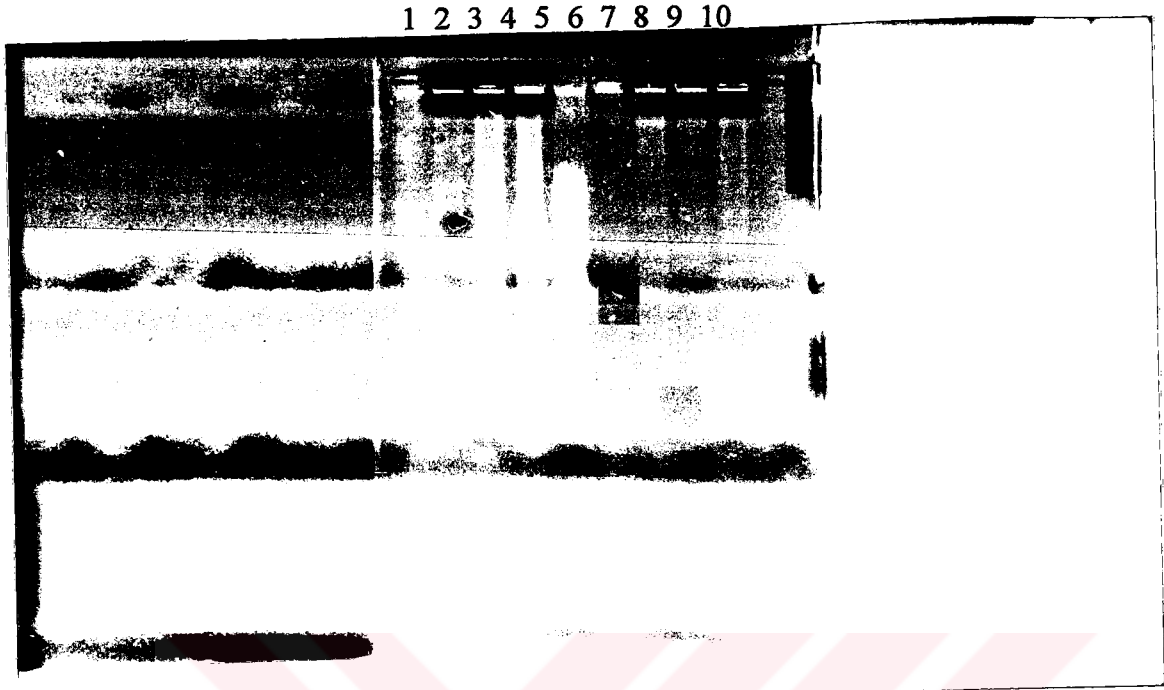
E.B. ile GEN antibiyotiğinde en yüksek dirençlilik eliminasyonu %100 ile 1 ve 35 No'lu örneklerde en düşük eliminasyon %0 ile 133 ve138 No'lu örneklerde saptanmıştır.

E.B. ile FOX antibiyotiğinde en yüksek dirençlilik eliminasyonu %100 ile 1,35 ve 105 No'lu örneklerde en düşük eliminasyon %0 ile 25 ve 73 No'lu örneklerde saptanmıştır.

E.B. ile CAZ antibiyotiğinde en yüksek dirençlilik eliminasyonu %100 ile 87 No'lu örnekte en düşük eliminasyon %0 ile 1 No'lu örnekte saptanmıştır.

4.6.Agaroz Jel Elektroforez Bulguları

Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularından izole edilen ve antibiyotiklere plazmid kodlu dirençlilik taşıdıkları Ethidium Bromide ile dirençlilik eliminasyonun sağlanması ile belirlenen bakterilere ait plazmidler.



Şekil 4.10. Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularından izole edilen plazmidler ve büyüklükleri (kb) (1.jel)

1.Jel için örnek sırası:

1. 125 nolu örnek 38, 19.1, 3.8, 3.6

2. 125-5 nolu örnek 38, 19.1, 3.8, 3.6

3. 105 nolu örnek 21

4. 105-7 nolu örnek 5.8

5. Marker (λ DNA EcoR1 Hind III Digest) 21226, 5148, 4973, 4277, 3530, 2027, 1904

6. 32 nolu örnek, plazmid belirlenemedi

7. 32-2 nolu örnek 19.1, 5.3

8. 87 nolu örnek, plazmid belirlenemedi

9. 87-19 nolu örnek, plazmid belirlenemedi

10. -



Şekil 4.10. Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularından izole edilen plazmidler ve büyüklükleri (kb) (1.jel)

1.Jel için örnek sırası:

1. 125 nolu örnek 38, 19.1, 3.8, 3.6

2. 125-5 nolu örnek 38, 19.1, 3.8, 3.6

3. 105 nolu örnek 21

4. 105-7 nolu örnek 5.8

5. Marker (λ DNA EcoR1 Hind III Digest) 21226, 5148, 4973, 4277, 3530, 2027, 1904

6. 32 nolu örnek, plazmid belirlenemedi

7. 32-2 nolu örnek 19.1, 5.3

8. 87 nolu örnek, plazmid belirlenemedi

9. 87-19 nolu örnek, plazmid belirlenemedi

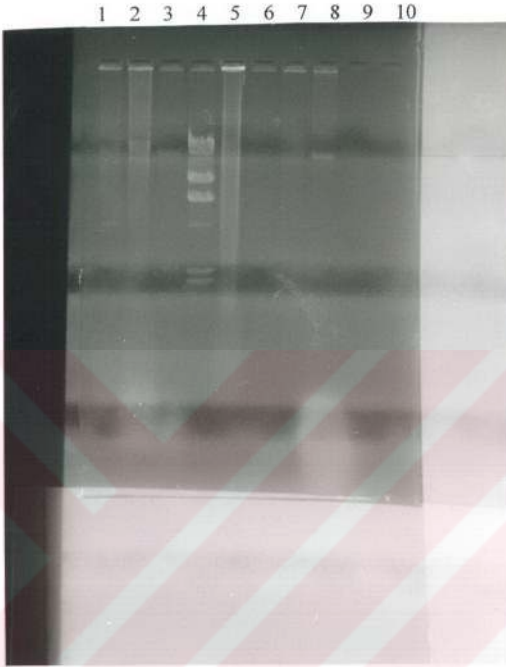
10. -



Şekil 4.11. Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularından izole edilen plazmidler ve büyüklükleri (kb) (2. Jel)

2.Jel için örnek sırası:

1. 1 nolu örnek 47.2, 42.4, 38.5, 20, 5.5, 4.5
2. 1-4 nolu örnek 4.6
3. 110 nolu örnek 18.5, 3.5
4. 110-1 nolu örnek plazmid belirlenemedi
5. Marker (λ DNA EcoR1 Hind III Digest) 21226, 5148, 4973, 4277, 3530
6. 25 nolu örnek 19.3, 6.7, 5, 4.3, 3.7
7. 28 nolu örnek, plazmid belirlenemedi
8. 138 nolu örnek 17, 5.7, 4.8, 4.2, 3.7
9. -



Şekil 4.12. Çöp Depolama Sahalarının drenaj sularından izole edilen plazmidler ve büyüklükleri (kb) (3. Jel)

3.Jel için örnek sırası:

1. 1. 125-5 nolu örnek 21, 5.6, 4.4
2. 105 nolu örnek 21, 5.6, 4.4
3. 125 nolu örnek 21, 5.6, 4.4
4. Marker (λ DNA EcoR1 Hind III Digest) 21226, 5148, 4973, 4277, 3530, 2027
5. 105-7 nolu örnek, plazmid belirlenemedi
6. 11 nolu örnek, plazmid belirlenemedi
7. 133-8 nolu örnek 21.2
8. 138 nolu örnek 29.4, 20.1, 4.37
- 9.

4.7. Konjugasyon Bulguları

Çöp depolama sahalarının drenaj sularından izole edilen ve antibiyotiklere dirençlilik taşıdığı E.B. ile dirençlilik eliminasyonu sağlanması belirlenen 125,105,32 nolu suşların verici (donor) ve antibiyotiklere hassas AB 3509, AB 3505, 3911 nolu suşların alıcı olarak kullandığı konjugasyon çalışmaları yapılmış fakat denemelerin hiçbirinde konjugasyon gerçekleşmemiştir.

5.TARTIŞMA

Günümüzde şehirleşme ve hızlı nüfus artışı, sosyo-kültürel seviyenin artışına paralel olarak büyük boyutlara ulaşan organik kökenli katı atıkların neden olduğu kirliliğinin yok edilmesi kaçınılmayacak ve göz ardı edilemeyecek bir seviyeye gelmiştir (Dinçer,1991). Örneğin Adana için kentsel katı atık üretim oranı 675gr/kişi/gün, boşaltım oranı ise 650 gr/kişi/gün, olduğu ve üretilen atıkların tamamına yakının (%96) nihai boşaltım yerlerine ulaştığı görülmektedir. Ayrıca evsel katı atık üretimi kentsel katı atık üretiminin %72'sini oluşturmaktadır (Şavkın,1999).

Çevreye verilen bu atıklar bünyelerinde oldukça yüksek oranda organik madde bulundurduğundan kolayca fakültatif anaerobik ve anaerobik biyo-parçalanmadan dolayı ortama rahatsız edici pis kokular yaymakta ve aynı zamanda sineklere ve infeksiyöz elemanlara rezervuar görevi yapmaktadır.

Bu atıkların gelişigüzel dökülmesi halkta çevre bilincinin artması ve yaşam standartlarının yükselmesine paralel olarak giderek önemini kaybetmiş ve bu atıkların yok edilmesi ve geri kazanılması amacına yönelik çeşitli alternatif çözüm önerileri sunulmuştur.

Bu öneriler arasında atıkların şehrin uzaklarına dökülmesi veya toprak altına gömülmesi, yakma ve kompostlama ilk sırada yer almaktadır (Dinçer;1991). Örneğin Adana'da Adana Büyük Şehir, Seyhan ve Yüreğir olmak üzere üç belediye katı atık yönetimini uygulamaktadırlar. Buna rağmen 1.200.000 nüfusa sahip olan Adana'da düzenli bir katı atık bertaraf sistemi oluşmamıştır (Şavkın,1999).

Kompostlama prosesleri atıklar içerisinde doğal olarak mevcut olan aerob termofil mikroorganizmalar tarafından yüksek bitki polimerlerinin doğal yolla parçalanmasıyla gerçekleşmekte ve en sonunda zirai alanda kullanım için stabil, humuslaşmış bir organik madde ve zengin bir azot kaynağı teşkil etmektedir (Thambirajah and Kuthubutheen 1989).

Araştırma bölgesi olarak seçilen Adana Sofulu Çöplüğü'nde yapılan araştırmalar göstermiştir ki resmi olmayan geri kazanma etkinlikleri mevcuttur. Sofulu Depo Tesisinde 15-40 arasında değişen çöp ayrıştırıcısına, Adana Büyük

Şehir Belediyesi'ne ve özel yükleyicilere herhangi bir ödemede bulunmadan çalışma izni verilmektedir. Bu nedenle depolama faaliyetleri aksamaktadır (Şavkın,1999).

Buna rağmen mevcut atıkların yakılması ve depolanması çevrede çok büyük başka bir atık problemine neden olmaktadır. Bu problemler de yüzey ve yer altı su kaynaklarını organik ve inorganik kirlilik olarak etkilemektedir ve aynı zamanda yakma ünitelerinden açığa çıkan CO₂ global ısınmaya katkı yapmaktadır.

Depo sahasında organik katı atıkların biyolojik reaksiyonların bulunması sonucu oluşan su içeriğinin yanı sıra yağmur sularından kaynaklanan yüzeysel akış suyu da vardır. Bu yağmur suları çöp kütlesi içinden geçer ve süzüntü suyu olarak ortaya çıkarlar. Bu sular depo sahası içinde yer altı suları mevcut ise yer altı suyuna veya yüzeysel sulara karışarak kirlenmeye yol açarlar. Bu yüzden bu suların drenajı çok önemlidir. Sofulu Çöplüğünde yapılan araştırmalarda alandaki arazi kotunun düşük olduğu iki farklı yerde süzüntü suları iki küçük gölet oluşturduğu görülmüştür. Su kirliliğinin yanı sıra bu göletler yazın koku ve haşeret bakımından son derece zararlıdır (Şavkın,1999)

Örneğin Sofulu Çöp alanının 1997 yılı Nisan ve Temmuz aylarında nem oranını belirlemek amacıyla yapılan deneyler sonucunda katı atıkların;

Nisan ayında ortalama nem oranı: %47, Temmuz ayında ortalama nem oranı : %67 olarak bulunmuştur (Sarıaslan,1997).

Adana'daki yıllık yağış miktarları göz önüne alınarak yapılan çalışmalarda, yeraltı sularını korumak amacıyla sızdırmaz zemin ve depo alanındaki çöp süzüntü suyunu toplayacak diren hatları projelendirilmiştir. Bu projede Sofulu depo sahasındaki süzüntü sularını toplanması için basınca dayanıklı HDPE perfore borulardan oluşan bir drenaj ağı planlanmıştır. Kanal yoluyla gelen sızıntı sularının arıtıldığı bir sızıntı suyu arıtma tesisi yapılacaktır (Şavkın,1999).

Kompostlama sırasında gerekli fiziksel koşullar sağlanmadığı takdirde, katı atık depolama sahalarında ki drenaj suları yer altı ve yüzey sularına karışarak kirlilik yaratmaktadır. Kirlenen bu sulara birçok fekal koliform örneklerine rastlanmaktadır. Bu mikroorganizmalardan bazıları *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan fakültatif anaeroblardır.

Koliform grup bakteriler, *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan, fakültatif anaerob, gram negatif, spor oluşturmayan, 35°C'de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturan, çubuk şeklindeki bakterilerdir. Bu grupta yer alan mikroorganizmalar; *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'dir.

Herhangi bir örnekte *E.coli*'ye ve/veya fekal koliform bakterilere rastlanması oraya doğrudan yada dolaylı olarak dışkı bulaştığının ve yine bağırsak kökenli *Salmonella* ve *Shigella* gibi primer patojenlerin de olabileceğinin bir göstergesidir. Bu nedenle hiçbir gıda maddesinde, içme ve kullanma sularında, denizlerde ve göllerde *E.coli* ve fekal koliform bulunmasına izin verilmezken, bazı gıdalarda belirli sayıda bakteri bulunmasına izin verilebilmektedir.

β -laktam antibiyotiklerin (Penicillinler, Cephalosporinler, Monobactam antibiyotikler) antibakteriyel aktivitesi, sitoplasmik membranın dış yüzeyinde yerleşim gösteren, hücre duvarı sentezinde peptidoglukanın sentezlenmesinde transpeptidaz olarak görev yapan bir veya birkaç Penicilline Bağlanan Proteinlerle (PBPs) olan reaksiyonlarından kaynaklanmaktadır (Nayler, 1987; Gür, 1991).

Cooke, kanalizasyon suları ile kirlenmiş deniz suyundan izole edilen koliform bakterilerde yüksek frekansta MAR (Multiple Antibiotic Resistance) bulunduğunu, fekal koliformların, koliformlardan daha fazla dirençlilik gösterdiklerini belirtmiştir (Cooke, 1976).

Dirençli bakterilerin ortaya çıkmasında en büyük rolü R-plazmidleri tarafından sentezlenen β -laktamazlar oluşturmaktadır ve bu plazmidler bakteriler arasında yüksek bir yüzde ile transfer olmaktadır. Bu enzimlerden en sık rastlanılanı TEM'den (Temenoria) derive olmuş TEM-1 ve TEM-2 enzimidir ve bu enzim *Enterobacteriaceae* üyelerinin yaklaşık %25-75'inde bulunmaktadır (Gutmann et al., 1988).

Harada ve Mitsuhashi, invitro plazmid transferinde, sıcaklık ve pH'nın birinci derecede kontrol edilmesi gereken antibiyotik faktörler olduğunu, sıcaklığın 25-40° C (optimum 37 °C) ve pH aralığının 5-9 (optimum 7,5) olmasının plazmid transferini olumlu yönde etkilediğini bulmuşlardır (Harada and Mitsuashi , 1977).

Bu çalışmada Adana Sofulu Çöp Depolama Sahalarının Drenaj Suları'nın 5 farklı istasyonundan alınan örnekler üzerinde çalışılmıştır. Bu örneklerin ilk önce toplam koliform miktarları ve fekal koliform sayıları tespit edilmiştir. MPN Tablolarından çıkan sonuçlara seçilen 5 istasyonun hepsinde de fekal koliform örneklerine rastlanmıştır (Çizelge 4.1.1./4.1.7). Daha sonra IMVIC tablosu ile tür tayini işlemine geçilmiştir. Buna göre; izolatlardan 87'sinin *E.coli*, 15 adedinin *Citrobacter* sp., 1 tanesinin *Klebsiella* sp., olduğu saptanmış olup 35 izolat ise İMVİC çizelgesine uymamaktadır. Tiplendirilen 103 izolatın 21 tanesinde Eijkman pozitiflik belirlenmiş olup, fekal organizma oranı %21 olarak saptanmıştır. Bu bulgular ışığında drenaj sularının karıştığı yüzey sularının, bakteriyel enfeksiyonlar için büyük bir potansiyel oluşturduğu saptanmıştır. Bu küçük dere mahalle aralarından geçtikten sonra Sarıçam deresi ile birleşmekte ve Sarıçam deresi de Taşköprü civarında Seyhan Nehrine karışmakta ve sonuçta bu içerikteki yüzey sularının içerdiği potansiyel enfektif elemanlar halk sağlığı açısından tehlikeli boyutlara ulaşmaktadır. Ve infeksiyöz elemanların geniş alanlara yayılmasını sağlamaktadır.

Antibiyotik dirençliliği çalışmalarında [(Gentamisin(GEN), Cefoxitin(FOX), Ceftriaxon(CRO), Imipenem(IPM), Meropenem (MEM), Cefotaksime(CAZ), Cefaperanone(CRP), Cefotaksime(CTX), Cefazolin(CZ), Ampicilin(AMP) (30 µg/mL)] test edilen bütün izolatların IMP ve MER antibiyotiklerine karşı hassas, fakat AMP antibiyotiğine ise dirençli oldukları saptanmıştır. Diğer antibiyotiklere ise; %31.8 CZ'ye, %22.4 FOX'a, %4.3'nün GEN'e, %2.8'nin CRP'ye, %2.8'nin CAZ'a, %0.72 CRO'ya, %0.72 CTX'e, dirençli olduğu saptanmıştır. İzolatların dirençlilik profillere incelendiğinde Ampicilin gibi uzun zamandan beri kullanıla gelen antibiyotiklere dirençliliğin yüksek düzeylerde olduğu (%100),” Ampicilin 1.Kuşak Penisilin olup 1950'li yıllardan beri kullanılmaktadır”, FOX, CZ gibi 2. Kuşak Sefalosporinlere daha düşük bir dirençlilik, CTX ve CRO gibi 3. Kuşak sefalosporinlere ün düşük düzeyde dirençlilik saptanmış olup IPM ve MER gibi en son üretilen Carbapenem grubu Beta-laktam antibiyotiklere ise dirençli organizma saptanamamıştır.

138 örneğe nitrosefin testi yapılarak β -laktamaz üretilen üretilmedikleri araştırılmıştır. Bunlardan 81 tanesinde (%59) bu enzimin varlığına rastlanmıştır. Dirençli organizmalarda Beta-laktamaz sentezinden kaynaklanan dirençliliğin saptanması oldukça önemlidir. Çünkü bu enzimler kromozomal veya plazmid orijinli olabilmektedir. Plazmid kaynaklı bir dirençliliğin mevcudiyeti, bu dirençlilik determinantlarının diğer akraba organizmalara konjugasyon gibi rekombinasyon mekanizmalarıyla aktarılması sonucunda bakteri toplumları arasında dirençli bireylerin ortaya çıkmasına ve dirençliliğin yayılmasına etki yapmaktadır. Bu durum da toplum sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır.

Dirençli 55 izolatta (%39) çoklu antibiyotik dirençliliği (MAR) saptanmıştır (Çizelge 4.3). Doğada dirençli organizmalar arasında gerçekleşen rekombinasyon mekanizmasıyla bir çok antibiyotiğe birden dirençli problem bakteri suşları ortaya çıkmaktadır. Böyle problem bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar normal tedavi süresi ve dozunda sağaltılamamaktadır (Dinçer 1994). Buna göre en yüksek dirençlilik 2. istasyonda gözlenirken en düşük dirençlilik 3. istasyonda gözlenmiştir.

Bu istasyonlardan örnekler farklı zaman periyotlarında alınmıştır. Bu zaman periyotlarına göre MAR özelliği şöyledir; En yüksek dirençlilik 2. periyotta gözlenirken, en düşük dirençlilik ise 5. zaman periyodunda gözlenmiştir.

Bakterilerdeki antibiyotik dirençliliğinin plazmid tarafından kaynaklandığının saptanmasında ve plazmid eliminasyonu deneylerinde bugüne kadar çok değişik fiziksel ve kimyasal ajanlar kullanılmıştır (Viljanen and Boratynski, 1991). Bununla beraber *Enterobacteriaceae* üyelerindeki plazmid eliminasyonunda genelde Acridine Orange ve Ethidium Bromide kullanılmakla beraber (Çolak ve Arıkan 1991; Dinçer ve ark., 1994; Hirota, 1960; Hirota and Iijima, 1957; Viljanen and Boratynski, 1991), çalışmalarımızda eliminatör olarak Ethidium Bromide kullanılmıştır.

İzolatların %4,9'unda AMP için, %46,7'sinde CZ için, %40'ında GEN için, %51'i FOX için, %33,3'ü CAZ için plazmid eliminasyonu sağlanmıştır.

Çöp depolama sahalarının drenaj sularından izole edilen suşlardaki dirençliliğin %5-51 oranında β -laktamaz üretiminden kaynaklandığı, diğer dirençli suşlardaki dirençliliğin ise diğer mekanizmalarla (Permiabilite sınırlaması, ve

PBP'lerde meydana gelen değişmeler) sağlandığı saptanmıştır. Elde edilen bulgular *Enterobacteriaceae* üyelerindeki β -laktam dirençliliğinin %25-75 oranında plazmid kodlu β -laktamazlar tarafından oluşturulduğu fikrini desteklemektedir (Gür, 1991).

Çalışmamızın bu aşamasında Çöp depolama sahalarının drenaj sularından izole edilen ve antibiyotiklere dirençlilik taşıdığı E.B. ile dirençlilik eliminasyonu sağlanması ile belirlenen suşlar ve antibiyotiklere hassas olan suşlarla gerçekleştirilen konjugasyon çalışmaları yapılmış fakat denemelerin hiçbirinde konjugasyon gerçekleşmemiştir.

Konjugasyonun gerçekleşmemesi verici (donor) plazmidlerinin konjugatif olmaması (Sabelnikov, 1989), transfer olduktan sonra alıcı (resipient) hücrede eksprese olamamasından (Sirot et al., 1987) kaynaklanabileceği belirtilmektedir.

Bununla beraber çalışmalarımızda verici olarak kullandığımız izolatlar genellikle 1. Kuşak Penisilin ve 1. Kuşak Sefalosporinlere dirençlilik taşımakta, fakat 3. Kuşak ve Carbapenemlere hassastır. Bakterilerde plazmidler epizomal duruma geçebilme özelliğine sahiptir ve bu durum daha çok organizmanın uzun süreler bu stres ajanları ile karşılaşması sonucunda meydana gelmektedir. Dirençlilik ise yaklaşık 50 yıldır kullanımda olan antibiyotiklere karşı olduğu için bu dirençliliğin kromozal veya epizomal olmasından kaynaklanan bir nedenle konjugasyon gerçekleşmemiştir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile Adana ilinin çöplerinin depolandığı drenaj sularından örnekler alınmış, bu tehlikenin boyutları saptanmıştır. Farklı istasyonlardan alınan örneklerin tamamında fekal kontaminasyon gözlenmiş ve aynı zamanda bu örneklerin büyük bir bölümünde (%39'unda) de çoklu antibiyotik dirençliliğine (MAR) rastlanmıştır.

Bu bulgular bize göstermektedir ki; özellikle şehirlerin değişik kesimlerinden (Hastane, Evsel, endüstriyel vs.) getirilen atıklar gelişigüzel dökülmekte ve içermiş oldukları problem bakteriler birbirleri ile karşılaşarak bu dirençlilik determinantlarını hassas olan organizmalara aktararak çoklu antibiyotik dirençliliği taşıyan problem organizmaların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu organizmalar drenaj suları ile dere, çay gibi nispeten küçük akarsular vasıtasıyla , nehir, göl gibi içme ve kullanma su kaynaklarına taşınarak halk sağlığı açısından problemler oluşturmaktadır. Zira yüzey suları problem organizmaların bir bölgeden başka bir bölgeye taşınmasında en önemli araçların başında gelmektedir.

Günümüzde şehirleşme, hızlı nüfus artışı ve sosyo-kültürel seviyenin artışına paralel olarak büyük boyutlara ulaşan organik kökenli katı atıkların neden olduğu kirlilik oldukça yüksek bir seviyeye gelmiştir. Bu atıkların yok edilmesi ve geri kazanılması amacına yönelik çeşitli alternatif çözüm önerileri sunulmuştur. Bu öneriler arasında atıkların şehrin uzaklarına dökülmesi veya toprak altına gömülmesi, yakma ve kompostlama ilk sırada yer almaktadır.

Katı atıkları geri kazanma yollarından biri olan kompostlama işlemi tekniğine uygun olarak yapılmalı ve nihai depolama işleminden sonra alan tarım arazisi, yeşil alan ve ormanlık olarak kullanılmalıdır. Alanda biriken drenaj suları ise bir sızıntı suyu arıtma tesisinde arıtılmalıdır.

Çöp depolama sahalarının rehabilitasyonu ile tekrar kullanıma kazandırılması, ülkemiz insanları, ekonomisi, çevre sağlığı, yeni alan kazanımları açısından bir kazanç olacaktır.

KAYNAKLAR

- ABRAHAM,E.P., and CHAIN, E., 1940, An Enzym from Bacteria able to Destroy Penicillin., Nature,(London) 146: 837.
- ACAR,J.F., and MINNOZI,C., 1986, Role of β -lactamase in the Resistance of Gram-negative Bacilli to β -lactam Antibiotics. Rev. Infect. Dis. 81: 482-486.
- AKALIN. H.D., 1994, Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar. Güneş Kitabevi Ltd.Şti. Ankara. 386 sayfa.
- AKAN, E., 1993. Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Çukurova Üniversitesi
- AKMAN M., 1977, Bakteri Genetiği, I. Baskı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını, Sivas.
- AKMAN,M., 1983, Bakteri Genetiği, II. Baskı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını, No:8, Sivas.
- ALPASLAN, N., 1997 Düzenli Depolama Sahalarının Yer Seçimi ve Tasarımında Etkin Olan Faktörler, Yerel Yönetimlerde Katı Atık Yönetimi ve Geri Kazanımı Eğitim Semineri, Bildiri, Çeşme, S: 75-78.
- AMYES,S.G.B., PAYNE,D.J. and DuBOIS,S.K.,1992, Plasmid-Mediated β -lactamases Responsible for Penicillin and Cephalosporin Resistance, J. Med. Microbiol. 36:6-9.
- ANDERSON,J.D., 1968, The Ecology of Transferable Drug Resistance in the *Enterobacteriaceae*, Ann. Rev. Microbiol. 22: 131-180.
- ANONYMOUS, 1978, Microbiyologichen Handbuch, E.Merck, Darmstadt.
- ANONYMOUS, 1993. Katı Atık Depo Sahaları Tıp Projesi, 1. Ara Rapor, Yıldız Teknik Ü. Çevre Mühendisliği Bölümü, T. C. Çevre Bakanlığı Çekök Genel Md. Ankara.
- ARDA, M. 1990, Kükem Derneği Bilimsel Yayınları No: 1 sayfa:28-29.
- ARMSTRONG,J.L., COLAMIRIS,J.J., and SEIDLER,R.J., 1982, The Selection of Antibiotic-resistant Standart Plate Caunt Bacteria During Water Treatment, Appl. Environ. Microbiol. 44:308-316.

- BARBAS,J.A.,DIAZ,J.,RODRIGUEZ-TABAR,A.,and VAZQUEZ,D.,1986, Specific Location of Penicillin-binding Protein within the Cell Envelop of *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 165:269-275.
- BAUERFEIND,A.,and HÖRL,G., 1987, Novel R-factor Born β -lactamase of *Escherichia coli* Confering Resistance to Cephalosporins, Infection, 15: (4).257-259.
- BERTRAM,J., STRÄTZ,M., and DÜRRE,P., 1991, Natural Transfer of Conjugative Transposon Tn916 Between Gram-positive and Gram-negative Bacteria, J. Bacteriol. 173:443-448.
- BETLEY,M.J.,MILLER,V.L.,and McKALANOS,J.J., 1986, Genetics of Bacterial Enteretoxins, Annu. Rev. Microbiol. 40:577-605.
- BICKNELL,R., EMMANUEL,E.L., GAGNON,J., and WALEY,S.G., 1985, The Production and Molecular Properties of the Zinc β -lactamase of *Pseudomonas maltophilia* IID 1275. Biochem. J. 229:791-797.
- BLUMBERG,P.M., and STROMINGER,J.L., 1974, Interaction of Penicillin with the Bacterial Cell: Penicillin-binding Proteins and Penicillin Sensitive Enzymes, Bacteriol. Rev. 38: 291-335.
- BOMANN,H.G., NORDSTRÖM,K., and NORMARK,S., 1974, Penicillin Resistance in *Escherichia coli* K12: Sinerginm Between Penicillinase and a Barrier in the Outher Past of the Envelope, Ann. Ny Acad. Sci. 235:569-586.
- BROAD,D.F., and SMITH,J.T., 1983, Extraction and Purification of Antibiotic-destroying Enzyms, in: Antibiotics, Assessment of Antimicrobial Activity and Resistance (Russel, A.D., and Quesnel,L.B. ed), Academic Press, London, 93-110.
- BROUGHTON, W.J., SAMREY,U., and STANLEY,J., 1987, Ecological Genetics of *Rhizobium meliloti*: Symbiotic Plasmid Transfer in the *Medicago sativa* Rhizosphere, FEMS Microbiol. Lett. 40: 251-255.
- BROWN,A.G., 1982, β -lactam Nomenclature, J. Antimicrob. Chemother. 10: 365-368.

- BUSH,K., and SYKES,R.B., 1984, Interaction of β -lactam Antibiotics with β -lactamase as a Cause for Resistance, in: Bacterial Drug Resistance (Bryan,L.E., eds.) Academic Press, London, 1-31.
- BUSH,K., 1989c, Characterization of β -lactamases, Antimicrob. Agents and Chemother, 33: (3). 259-263.
- CABELLİ, 1980. Health effectcts criteria for fresh recreational waters.U.S. Environmental Ptection Agency publication no.EPA 600/1-80-031.U. S. E Environmental Ptection Agency,Wasshington,D. C.
- CASAWELL,M.W., PHILIPS,I., 1981,, Aspects of the Plasmid-mediated Antibiotic Resistance and Epidemiology of *Klebsiella* Species, Ann. J. Med. 70:459-460.
- CAULCOTT,C.A., BROWN,M.R.W.,and GONDA,I., 1984, Evidence for Small Pores in the Outher Membrane of *Pseudomonas aeruginosa*, FEMS lett. 21:119-123. ÇETİN, E. T., 1968. Pratik Mikrobiyoloji. İstanbul Üniversitesi, 2. Baskı, Menteş Matb. İstanbul.
- COMBARRO, M.P., GAUTHIER,M.J., AND BREITTMAYER,V.A., 1992, Conjugative Transfer of R Plasmids Between *Escherichia coli* Strains on Salina Selective Media and in Seawater, J. Microbiol. Methods 14: 207-215.
- COOKE,M.D., 1976, Antibiotic Resistance Among Coliform and Fecal Coliform Bacteria Isolated from Sewage, Seawater and Marina Shell-Fish, Antimicrob. Agent and Chemother. 9:879-944.
- ÇETİN, E. T., 1968. Pratik Mikrobiyoloji. İstanbul Üniversitesi, 2. Baskı, Menteş Matb. İstanbul.
- ÇOLAK,Ö., und BEIDEBERCK,R., 1980, Untersuchungen Zur Virulenz Von *Agrobacterium rhizogenes* 15854 Für Höhere Pflanzen, Universtat Heidelberg, Doktora Tezi.
- ÇOLAK, Ö., ve ARIKAN, B., 1990. Laktoz pozitif *Enterobacteriaceae* Üyelerinin Teşhisi İçin Geliştirilmiş Yeni Selektif Agar Besiyeri. Kükem Dergisi, 13: No, 12, 15-21.

- DeFLAUN,M.F., TANZER,A.S., McATEER,A.L., MARSHALL,B., and LEVY,S.B., 1990, Development of an Adhesion Assay and Characterization of an Adhesion-Deficient Mutant of *Pseudomonas fluorescens*, *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 112-119.
- DİNÇER, S., 1991. Çukurova Bölgesindeki Gıda Endüstrisine Ait Katı Atıkların Kompostlanması ve Bu Prosesin Barsak Bakterileri Üzerine Olan Eliminasyon Etkisinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- DİNÇER, S., 1994. Hastane Laboratuvarı ve Kanalizasyonundan İzole edilen Enterobacteriaceae cinslerinde Plasmid-kodlu III. Kuşak Cephalosporin Dirençliliğinin Dağılımı, R-Plasmidlerinin Konjugasyon ve Transformasyon ile Aktarılabirliğinin Saptanması. Çukurova Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. FBE 93/36.
- DİNÇER,S., ARIKAN,B., GÜVENMEZ,H., ve ÇOLAK,Ö., 1994, Hastane İzolatlarında III. Kuşak Cephalosporin Dirençliliği ve Olası Plasmid Kodlu Dirençliliğinin Frekansı,KÜKEM Dergisi, 16:2,7-12.
- DİNÇER,S., ARIKAN,B., ÇOLAK,Ö., ve GÜVENMEZ,H., 1997, Enterobacteriaceae'de Antibiyotik Dirençlilik Eliminasyonu Üzerine Acridine Orange ve Ethidium Bromid'in etkilerinin Karşılaştırılması.
- FAIRBANK, K., 1993, Recycling-The Inevitable Reality, IWN Scientific and Technical Committee, Glasgow, S. 22-24.
- FİLİBELLİ ve BÜYÜKKAMACI, 1997. Çanakkale İli Çevre Sorunları Sempozyum Bildiriler Kitabı Editörlü, 9 Eylül Üniversitesi Yayınları, İzmir.
- FOSTER,T.J., 1983, Plasmid-determined Resistance to Antimicrobial Drugs and Toxic Metals Ions in Bacteria, *Microbiological Rev.* 57: 361-409.
- FRANKLIN,T.J., and SNOW,G.A., 1971, *Biochemistry of Antimicrobial Action* First Published, Chapman and Hall Ltd; 11 New Fatter Lane, London ECY, GB.
- FRY,J.C., and DAY,M.J., 1990 *Bacterial Genetics in Natural Environmets*, Chapman & Hall, London.

- FULTHORPE,R.R., and WYNDHAM, R.C., 1991, Transfer and Expression of Catabolic Plasmid pBRC60 in Wild Bacterial Recipients in a Freshwater Ecosystem, Appl. Environ. Microbiol. 57: 1546-1553.
- GEBERİ, O., 1987, Katı Atıkların Tanıtılması, Toplanması ve Uzaklaştırılması, Boğaziçi Üniv. Müh. Fak. S. 1-26.
- GRAY NF. 1994, Drinking Water Quality, Problems and Solutions. John Wiley and Sons Ltd. England.
- GRIFFITH,F., 1928, The Significance of Pneumococcal Types, J.Hyg. 27: 113-159.
- GUTTMAN,L., KITSIZ,M.D., BILLOT-KLEIN,D., GOLDSTEIN,F., TRAN VAN NHIEU,G.,LU,T., CARLET,J., COLLATZ,E., and WILLIAMSON,R., 1988, Plasmid-mediated β -lactamase (TEM-7) Involved in Resistance to Ceftazidime and Aztreonam, Rev. Infect. Dis. 10:860-866.
- GÜR,D., 1991, Sefalosporinler, In-Vitro Aktiviteleri ve Bunlara Karşı Geliflen Dirençte Rol Oynayan Mekanizmalar, Antibiyotik Bülteni 5:5, 83-88.
- HANCOCK,R.E.W., DECAD,G.M., and NIKAIDO,H., 1979, Identification of the Protein Producing Trans-membrane Diffusion Pores in the Outer Membrane of *Pseudomonas aeruginosa* PA 01, Biochemical et Biophysica Acta, 554: 323.
- HANCOCK,R.E.V., 1984, Alteration in Outer Membrane Permeability. Ann. Rev. Microbiol. 38:237-264.
- HARADA,K., and MITSUHASHI,S., 1977, Physiology of R-factors,in: R-factors Drug Resistance Plasmid (Mitsuihashi,S., ed.), Univ. Park Press, Baltimor, 135-160.
- HAYES,M.V., and WARD,J.B., 1986, The Role of the Penicillin Binding Proteins in the Antibacterial Activity of β -lactam Antibiotics, in: Antibiotics in Laboratory Medicine, 2nd. edn. (Lorian,V. ed), Baltimor, Williams and Wilkins, 722-756.
- HEAVEN. S., HOWE, I., KERRELL, E., 1995, Household Hazardous Waste Collection Survey, IWM Proceedings ISNSN 0968-7068, Volume 10, S. 3-7.
- HEDGE,P.J., and SPRATT,B.G., 1985, Amino acid Substitutions That Reduce the Affinity of Penicillin Binding Protein 3 of *Escherichia coli* for Cephalexin, Eur. J. Biochem. 151: 111-121.

- HEINEMANN, J.A., and SPRAGUE, G.F., 1989, Bacterial Conjugative Plasmids Mobilize DNA Transfer Between Bacteria and Yeast, *Nature*, 340:205-209.
- HOBOT, J.A., CARLEMALM, E., VILLIGER, W., and KELLENBERG, E., 1984, Periplasmic Gel: New Concept Resulting from the Reinvestigation of Bacterial Cell Envelope Ultrastructure by New Methods, *J. of Bacteriol.* 169: 143-152.
- HUMMEL, R.P., MUKELL, P.W., and ALTEMEIER, W.A., 1977, Antibiotic Resistance Transfer from Nonpathogenic to Pathogenic Bacteria, *Surgery*, 82:382-385.
- IPPEN-IHLER, K.A., and MINKLEY, E.G., 1986, The Conjugation System of F, the Fertility Factor of *Escherichia coli*, *Annu. Rev. Genet.* 20: 593-624.
- JACOBS, M.R., ARONOFF, S.C., JOHENNONG, S., SHLAES, D.M., and YAMABE, S., 1986, Comparative Activities of the β -lactamase Inhibitors YTR 830, Clavulanate, and Sulbactam Combined with Ampicillin and Broad-spectrum Penicillins Against Defined β -lactamase-Producing Aerobic Gram-negative Bacilli, *Antimicrob. Agents and Chemother.* 29: 980-985.
- JACOBY, G.A., and SUTTON, L., 1991, Properties of Plasmids Responsible for Production of Extended-Spectrum β -Lactamases, *Antimicrob. Agents Chemother.* 35:164-169.
- JARLIER, V., NICOLAS, M.H., FOURNIER, G., and PHILIPPON, A., 1988, Extended Broad-spectrum β -lactamases Confer Transferable Resistance to Newer β -lactam Agents in *Enterobacteriaceae*: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns, *Rev. Infect. Diseases*. 10: (4) 867-877.
- JAURIN, B., and GRUNSTROM, T., 1981, *ampC* Cephalosporinase of *Escherichia coli* K12 has a Different Evolutionary Origin from that of β -lactamase of the Penicillinase Type, *Proceeding of the National Academy of Science of the U.S.A.* 78:4897-4901.
- KELLY, J.A., DIDEBERG, O., CHARLIER, P., WEY, J.P., LIBERT, M., and MOEWS, P.C., 1986, On the Origin of Bacterial Resistance to Penicillin.
- KERR, A., 1971, Acquisition of Virulence by Non-pathogenic Isolates of *Agrobacterium radiobacter*, *Physiol. Plant. Pathol.* 1: 241-246.

- KISH,A.J., and LAMPKY,J.R., 1983,Survival Incidence of Antibiotic Resistant Coliforms in a Lagoon System.J.WPCF.55:5.
- KITSIZ,M.D., BILLOT-KLEIN,D., GOLDSTEIN,F.W., WILLIAMSON,R., TRAN VAN NHIEU,G., CARLET,J., ACAR,J.F., and GUTMANN,L., 1988, Dissemination of the Novel Plasmid-mediated β -lactamase CTX-1 Which Confers Resistance to Broad-Spectrum Cephalosporins, and Its Inhibition by β -lactamase Inhibitors, Antimicrob. Agents Chemother. 32:9-14.
- KLIEBE,C., NIES, B.A., MEYER, J.F., TOLXDORFF-NEUTZLING, R.M., and WIEDEMANN,B., 1985, Evolution of Plasmid-Coded Resistance to Broad-Spectrum Cephalosporins, Antimicrob. Agents and Chemother. 28: (2). 302-307.
- KNOTHE,P., SHAH,P., KREMERY,V., ANTAL,M., and MITSUHASHI,S., 1983, Transferable Resistance to Cefotaxime, Cefoxitine, Cefamandole and Ceforoxime in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens* Infections, 11: 315-317.
- KNOWLES,J.R., 1985, Penicillin Resistance: The Chemistry of b-lactamase Inhibition, Account of Biochem. Research, 18:97-104.
- KOKJOHN, T.A., 1989, Transduction: Mechanisms and Potential for Gene Transfer in the Environment, in: Gene Transfer in Environment (Levy,S.B., and Miller,R. V., eds.), McGraw-Hill, New York, 73-98.
- LEVY,S.B.,and MARSHALL,B.M., 1989, Genetic Transfer in the Natural Environment, in: Release of Genetically-Engineered Microorganisms (Sussman,M., Collins,C.H., Skinner,F.A., and Stewart-Tull,D.E. eds.), Academic Press, New York, pp.61-76.
- LEVY,S.B.,and MILLER,R.V., 1989, Gene Transfer in the Environment, McGraw-Hill,New York.
- LIN,E.C.C., GOLDSTEIN,R., and SYVANEN,M., 1984, Bacteria, Plasmids and Phages, Harvard Universty Press, Cambridge, Mass.

- LUCHANSKY,J.B., MURIANA,P.M., and KLAENHAMMER,T.R., 1988, Application of Electroporation for Transfer of Plasmid DNA to *Lactobacillus*, *Listeria*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Propionibacterium*, Mol. Microbiol. 2:637-646.
- McKENNA,S., 1989, Genetic Engineering Inquiry, Friends of the Earth Newsletter,7:1-2.
- MACH,P.A., and GRIMES,D.J., 1982. R-plasmid Transfer in A Wastewater Treatment Plant. Appl.Env. Microbiol 1395-1403.
- MALOUIN,F., and BRYAN,L.E., 1986, Modification of Penicillin-binding Protein as a Mechanism of β -lactam Resistance, Antimicrob. Agents and Chemother. 30:1-5.
- MALOVIN,F., and BRYAN,L.E., 1986, Modification of Penicillin Binding Proteins as Mechanisms on Survival β -lactam Resistance, Antimicrob. Agents and Chemother. 30:1-5.
- MANCINI,P., FERTELS,S.,NAVE,D., and GEALT,M.A., 1987, Mobilization of Plasmid pHSV106 from *Escherichia coli* HB101 in a Laboratory-scale Waste Treatment Facility,Appl.Environ.Microbiol.53:665-671.
- MANIATIS,T., FRITSCH,E.F., and SAMBROOK,J., 1982, Molecular Cloning, Cold Spring Harbor, New York.
- MARTINEZ,L.Y., ARENUS,M.M.P., MONTES,M.Y.R., MARTINEZ,L.J., and BACA, B.E., 1987, Antibiotic Resistance and Plasmid Pattern of Enterotoxigenic ST-a Strains of *Escherichia coli*, Can.J.Microbiol.33:816-819.
- MAZODIER,P., PETTER,R., and THOMPSON,C., 1989, Intergeneric Conjugation Between *Escherichia coli* and *Streptomyces* Species, J. Bacteriol. 3583-3585.
- MEDEIROS,A.A., 1984a, Classification and Distribution of β -lactamase, in: Microbiology 1984 (Leive,L., and Schlessinger, D., ed.), Am. Soc. for Microbiol. Washington D.C. 385-390.
- MERCENIER, A., and CHASSY, B. M., 1988.Strategies for the Development of Bacterial Transformation Systems. Biochemie., 70: 503-517.

- MEYNEL,E., MEYNEL,G.G., and DATTA,N., 1968, Phylogenetic Relationships of Drug-resistance Factors and Other Transmissible Bacterial Plasmids, *Bacteriol. Rev.* 32:55.
- NAKAHARA,H., ISHIKAWA,T., SARAI,Y., and KONDA,I., 1977, Linkage of Mercury, Cadmium and Arsenate and Drug Resistance in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Appl. Environ. Microbiol.* 33:975-976.
- NATARAJAN,M.R. and ORIEL,P., 1991, Conjugal Transfer of Recombinant Transposon Tn916 from *Escherichia coli* to *Bacillus stearothermophilus*, *Plasmid*, 26:67-73.
- NAYLER, J.H.C., 1987. Resistance to β -lactams in Gram-negative Bacteria: Relative Contributions of β -lactamase and Permeability Limitations. *J. Antimicrob Chemother*, 19: 713-732.
- NEU,H.C., 1986, Antibiotic Inactivating Enzymes and Bacterial Resistance,in: *Antibiotics in Laboratory Medicine*, (Lorin,V., ed.), Williams and Wilkins, Baltimore, 757-789.
- NICAS,T.L., and HANCOCK,R.E.W., 1983, *Pseudomonas aeruginosa* Outer Membrane Permeability: Isolation of a Porin F Deficient Mutant, *J.of Bacterol.* 27:197-231.
- NIKAIDO,H.,1985, Role of Permeability Barriers in Resistance to β -lactam Antibiotics, *Pharmacology and Therapeutics*, 27: 197-231.
- ÖZCAN,N., 1992, Cloning and Sequencing of a Cellulase Gene from *Fibrobacter succinogenes* SD35, Doktora Tezi, Aberdeen Üniversitesi.
- ÖZDAĞLAR D. ve ERDİN E.,1997, Deponilerde Sızıntı Suyu Oluşumu ve Bilançosu III. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Bildirisi, İzmir. S: 69-77.
- PAYNE,D.J., MARRIOTT,M.S., and AMYES,S.G.B., 1989, Mutants of the TEM-1 β -lactamase Conferring Resistance to Cefazidime, *J. Anticrib. Chemother.* 24:103-110.
- POLLOCK,M.R., 1967, Origin and Function of Penicillinase: a Problem in Biochemical Evolution, *British Med. J.* 71-77.

- PUCCI,M.J., MONTESCHIO,M.E., and KEMKER,C.L., 1988, Intergeneric and Intragenetic Conjugal Transfer of Plasmid-Encoded Antibiotic Resistance Determinants in *Leuconostoc* spp., Appl. Environ. Microbiol. 54:281-287.
- REANNEY,D.C., GOWLAND,P.C., and SLATER,J.H., 1983, Genetic Interactions Among Communities, in: Microbes in Natural Environment (Slater,j.h., Wittenbury,r., and Wimpenny,J.W.T., eds), Cambridge Univ. Press, Cambridge pp. 379-421.
- REYNOLDS,P.E., 1984, Resistance of Antibiotic Target Site, British Med. Bulltein, 40: 3-10.
- RICHMOND,M.D., and SYKES,R.B., 1973, The β -lactamase of Gram-negative Bacteria and Their Impossible Physiological Role, Adv.in Microbial Physiol. 9: 31-88.
- SABELNIKOV,A.G., 1989, DNA Transfer Through Cell Membranes in Bacteria, Bioelectrochem. and Bioenerg. 22:271-288.
- SANDERS,C.C., and SANDERS,W.E.Jr., 1985, Microbial Resistance to Newer Generation Beta-lactam Antibiotics: Clinical and Laboratory Implication, J. Infect. Dis. 151:399-406.
- SANDERS,C.C., 1987, Chromosomal Cephalosporinases Responsible for Multiple Resistance te Newer β -lactam Antibiotics, Annu.Rev. Micvrobiol. 41: 573-593.
- SAMRAOUI,B., SUTTON,B.J., TODD,R.J., ARTMIK,P.G., WALEY,S.G., and PHILLIPS,D.C., 1986, Tertiary Structural Similarity Between a Class A β -lactamase and a Penicillin-sensivite D-alanl Carboxypeptidase-transpeptidase, Nature, 320:378-380.
- SARIASLAN, 1997, Katı Atık Bertarafından Deponilerin Planlanması ve Bir Uygulama Çalışması. Çukurova Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü Çevre Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- SAUNDERS,J.R., 1984, Genetics and Evolution of Antibiotics Resistance, Brith. Med. Bull. 40:54-60.

- SCHMIDT, K., SCHOLL, W., MÖLLER, D., 1988 Ein einfaches Termisches Verfahren zur Seuchenhygienisierung von Klarschlamm mittels einer neu entwickelten Rotttrommel, Korrespondenz Abwasser, Jahrgang 37, Heft 5, 456-461.
- SCHOFIELD, P.R., GIBSON, A.H., DUDMAN, W.F., and WATSON, J.M., 1987, Evidence for Genetic Exchange and Recombination of Rhizobium Symbiotic Plasmid in a Soil Population, Appl. Environ. Microbiol. 53: 2942-2947.
- SHAH, P.M., and STILLE, W., 1983, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* Strains More Susceptible to Cefoxitin than to Third Generation Cephalosporins, J. Antimicrob. Chemother. 11:597-598.
- SINGER, J.T., VAN TURJ, J.T., and FINNERTY, W.R., 1986, Transformation and Mobilization of Cloning Vectors in *Acinetobacter* spp., J. Bacteriol. 165: 301-303.
- SINGLETON, P., and ANSON, A.E., 1981, Conjugal Transfer of R-plasmid R1 drd-19 in *Escherichia coli* Below 22°C, Appl. Environ. Microbiol. 42:789-791.
- SIROT, D., SIROT, J., LABIA, R., MORAND, A., COURVALIN, P., DARFEUILLE-MICHAUD, A., PERROUX, R., CLUZEL, R., 1987, Transferable Resistance to Third-generation Cephalosporins in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae*: Identification of CTX-1, a Novel β -lactamase, J. Antimicrob. Chemother. 20:323-334.
- SIROT, J., CHANAL, C., PETIT, A., SIROT, D., LABIA, R., and GERBAUD, G., 1988, *Klebsiella pneumonia* and Other *Enterobacteriaceae* Producing Novel Plasmid-Mediated β -lactamases Markedly Active Against Third-Generation Cephalosporins: Epidemiologic Studies, Rev of Infect. Dis. 10: 850-859.
- SLATER, J.H., 1985, Gene Transfer in Microbial Communities, in: Engineered Organisms in the Environment, Am. Soc. for Microbiol. 89-98.
- SOLH, N.E., ALLIGNET, J., BISMUT, R., BURET, B., and FOUACE, J.M., 1986, Conjugal Transfer of Staphylococcal Antibiotic Resistance Markers in the Absence of Detectable Plasmid DNA, Antimicrob. Agents Chemother. 30: 161-169.
- SORGUN, 1987, Katı Atık Yöntemi, SEGEM Yayınları, Mersin, S: 149.

- SOUGAKOFF,W., GOUSSARD,S., GERBAUD,G., and COURVALIN,P., 1988, Plasmid-mediated Resistance to Third-generation Cephalosporins Caused by Point Mutations in TEM-type Penicillinase Genes, Rev.Infect. Dis. 10:879-884.
- SPRATT,B.G., 1977, Properties of the Penicillin-binding Proteins of *Escherichia coli* K12, Eur. J. of Biochem. 72:341-352.
- SPRATT,B.G., 1983, Penicillin-binding Proteins and the Future of β -lactam Antibiotics, J. Gen. Microbiol. 129:1257-1260.
- STEWART,G.J., 1989, The Mechanism of Natural Transformation, in: Gene Transfer in the Environment (Levy,S.B., and Miller,R.V. eds.), McGraw-Hill, New York, 139-165.
- STEWART,K.R., and KODITCHEK,L., 1980, Drug-resistance Transfer in *Escherichia coli* in New York Bight Sediment, Mar. Pollut. Bull. 11:130-133.
- STOTZKY,G., DEVANAS,M.A., and ZEPH,L.R., 1990, Methods for Studying Bacterial Gene Transfer in Soil by Conjugation and Transduction, Adv. Appl. Microbiol. 31: 57-169.
- ŞAVKIN, 1999. Katı Atık Deponi Alanlarında Reklamasyon Çalışmaları Adana-Sofulu Örneği. Çukurova Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- TANSEY, M. R., and Brock, T. D., 1978. Microbial Life at High Temperatures: Ecological Aspects in: Microbial Life Extreme Environments (Kushner, D. J., ed) p. 159-216., Academic Press. London.
- TCHOBANOGLOUSG., 1993. Integral Solid Waste Management, McGraw Hill New York.
- THAMBIRAHAI, J. J., and KUTUBUTHEEN, A. J., 1989. Composting of Palm Press Fibre, Biological Wastes, 27, 257-269.
- TRIEU-CUOT,P., GERBAUD,G., LAMBERT, T., and COURVALIN,P., 1985, In vivo Transfer of Genetic Information Between Gram-positive and Gram-negative Bacteria, EMBO Jour. 4: (13A). 3583-3587.
- TZIPORI,S., 1985, The Relative Importance of Enteric Pathogens Affecting Neonates of Domestic Animals, Adv. Vet.Sci.Comp. Med. 29:103-206.

- VEAL,D.A., STOKES,H.W., and DAGGARD,G., 1992, Genetic Exchange in Natural Microbial Communities, Adv. in Microbial Ecol.,12:383-430.
- VILJANEN,P., and BORATYNSKI,J., 1991, The Susceptibility of Conjugative Resistance Transfer in Gram-negative Bacteria to Physicochemical and Biochemical Agents, FEMS Microbiology Rev. 88:43-54.
- WALTER,M.V., and VENNES,J.W., 1985, Occurrence of Multiple Antibiotic-resistance Enteric Bacteria in Domestic Sewage and Oxidation Lagoons, Appl. Env. Microbiol. 50: (4). 930-933.
- WANG,Y., and TAYLOR,D.E., 1990, Natural Transformation in *Campylobacter* Species, J.Bacteriol. 172:949-955.
- WAXMAN,D.J., AMANUMA,H., and STROMINGER,J.L., 1982, Amino Acid Sequence Homologies Between *Escherichia coli* Penicillin-binding Protein 5 and Class A β -lactamases,FEBS Lett. 139: 159-163.
- WOLSTENHOLME,G.E.W., and O'CONNER,M., 1968, Bacterial Episomes and Plasmids, Ciba Foundation Symposium, J. and A. Churchill Ltd. London.
- YAMAGUCHI,A., HIRUMA,R., and SAWAI,T., 1973, The Effect of Hydrophobicity of β -lactam Antibiotics on Their Phospholipid Bilayer Permeability, FEBS Lett. 164:389-392.
- YAMAGUCHI,A., TOMIYAMA,N., HIRUMA,R., and SAWAI,T., 1985, Difference in Pathway of *Escherichia coli* Outer Membrane Permeation Between Penicillins and Cephalosporins, FEBS Lett. 181: (1), 143-158.
- YONEYAMA,H., AKATSUKA,A., and NAKAE,T., 1986, The Outer Membrane of *Pseudomonas* is a Barrier Against the Penetration of Disaccharides, Biochemical and Biophysical Research Communications, 134:106-112.
- YOSHIMURA,F., and NIKAIDO,H., 1985, Diffusion of β -lactam Antibiotics Through the Porin Channels of *Escherichia coli* K-12, Antimicrob. Agents and Chemother. 27:84-92.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Malatya’da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Malatya’da tamamladım. 1994-1998 yılları arasında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde öğrenim gördüm.1999 yılından bu yana Çukurova Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında Master eğitimimi sürdürmekte olup, öğretmenlik yapmaktayım.



EKLER**SAYFA**

EK ÇİZELGE	1 100 ml kuvvetli muhtemel koliform sayısı.....	91
EK	2 Tek ve Çift Kuvvetli Laktozlu Buyyon ve Dürham tüpleri	92
	Bulunan deney tüplerindeki gaz oluşumu ve buyyonun	92
	mavi-menekşe renginin sarıya dönmesi.....	93
EK	3 Su örneklerinin Endo agarda oluşturduğu yeşil metalik	
	Koloniler.....	93
EK	4 Çöplük çevresinde görülen insan barınakları ve	
	hayvan yerleşmeleri.....	94
EK	5 Alandaki gaz çıkışından genel bir görünüş.....	94
EK	6 Çöplük çevresindeki yerleşim bölgeleri.....	95

EK ÇİZELGE 1: 100 ml kuvvetli muhtemel koliform sayısı.....

100 ml örnekte MPN

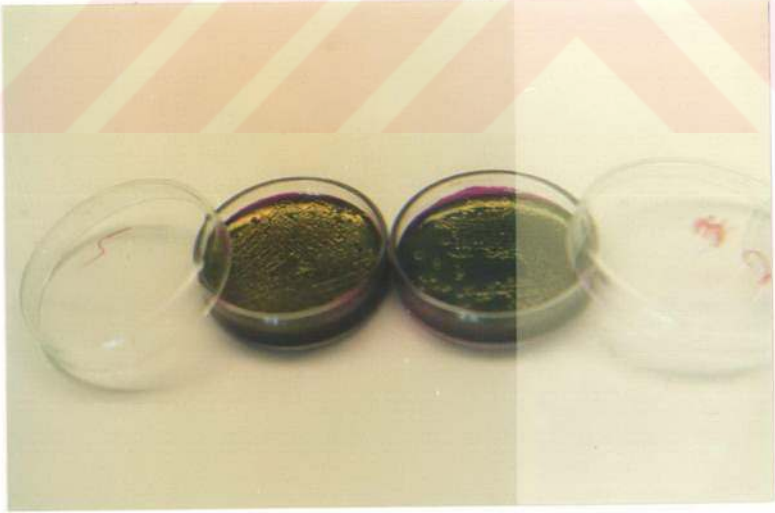
Pozitif Tüpler

10 ml	1.0 ml	0.1 ml	Her hacim için 3 er tüp
0	0	0	< 3
0	0	1	3
0	1	0	3
0	2	0	6
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
2	3	0	30
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	≥ 2400

EK 2.1: Tek ve Çift Kuvvetli Laktozlu Buyyon ve Durham tüpleri bulunan deney tüplerindeki gaz oluşumu ve buyyonun yeşil renginin sarıya dönmesi



EK 2.2: Su örneklerinin Endo-C agarda oluşturduğu yeşil metalik koloniler



EK 2.3: Çöplük çevresinde görölen insan barınakları ve hayvan yerleşmeleri



EK 2.4: Alandaki duman çıkışından genel bir görünüş



Ek 2.5: Çöplük çevresindeki yerleşim bölgeleri (Kabaktepe Mahallesi)

