

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CLEMİZOLE BENZİL PENİSİLİN VE STREPTOMİSİN  
SÜLFAT ANTİBİYOTİKLERİNİN MİKROBİYOLOJİK  
MİKTAR TAYİNİ**

Biyolog Gülnur ERGÜN

**F.B.E. Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programında  
Hazırlanan**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. İnci ARISAN-ATAÇ**

İSTANBUL, 2007

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CLEMİZOLE BENZİL PENİSİLİN VE STREPTOMİSİN  
SÜLFAT ANTİBİYOTİKLERİNİN MİKROBİYOLOJİK  
MİKTAR TAYİNİ**

Biyolog Gülnur ERGÜN

**F.B.E. Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programında  
Hazırlanan**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. İnci ARISAN-ATAÇ**

İSTANBUL, 2007

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ .....	i
KISALTIMA LİSTESİ .....	ii
ŞEKİL LİSTESİ .....	iii
ÇİZELGE LİSTESİ .....	iv
ÖNSÖZ.....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
1 GİRİŞ.....	1
2 KEMOTERAPÖTİKLER.....	4
2.1 Kemoterapinin Tarihsel Gelişimi .....	5
2.2 Antibakteriyel Etki Spektrumu.....	6
2.3 Antibakteriyel Etkinlik .....	7
2.4 Antibiyotiklere Direnç (Rezistans).....	9
2.5 Antibiyotiklerin Kullanılmasını Etkileyen Bazı Faktörler .....	10
2.6 Antibakteriyel İlaçlar Arasında Etkileşme Tipleri .....	10
2.7 Antibakteriyel İlaçların Tanımı ve Sınıflandırma .....	11
2.8 Beta-Laktam Antibiyotikler.....	14
2.8.1 Penisilinler .....	14
2.8.1.1 Penisilinlerin Kaynakları ve Kimyasal Özellikleri.....	15
2.8.1.2 Penisilinlerin Antibakteriyel Spektrumu .....	16
2.8.1.3 Penisilinlerin Dayanıklılığını Değiştiren Etmenler .....	16
2.8.1.4 Zehirlilikleri Ve Halk Sağlığı Yönünden Önem Taşıyan Özellikleri.....	18
2.9 Aminoglikozid Antibiyotikler .....	19
2.9.1 Streptomisin.....	20
2.9.1.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	20
2.9.1.2 Dayanıklılığı .....	20
2.9.1.3 Antibakteriyel Etki Spektrumu.....	20
2.9.1.4 Zehirliliği .....	21
2.10 Mikroorganizmaların Üretildiği Ortamlar .....	21
2.10.1 Mikroorganizmaların Besleme ve Üremeleri İçin Gerekli Maddeler.....	22
2.10.2 Mikroorganizmaların Üremelerinde Etkili Faktörler .....	23
2.10.3 Besiyerlerinin Sınıflandırılması.....	24
2.10.3.1 Genel Kullanım Besiyerleri .....	24
2.10.3.2 Özel Besiyerleri .....	25
2.10.4 Besiyerlerinde Üremelerin Değerlendirilmesi.....	25
2.11 Antibiyotik Duyarlılık .....	26
3 MATERYAL VE METODLAR .....	29
3.1 Materyal.....	29
3.1.1 Kullanılan Malzemeler .....	29
3.1.2 Kullanılan Maddeler .....	30
3.1.2.1 Çalışma Standartları .....	30
3.1.2.2 Test Mikroorganizmaları .....	30
3.1.2.3 Kimyasal Maddeler.....	30
3.1.2.4 Besiyerleri.....	31

3.2	Metodlar .....	31
3.2.1	Clemizol Benzilpenisilin Miktar Tayin Yöntemi .....	31
3.2.1.1	Prensip .....	31
3.2.1.2	Yöntem .....	31
3.2.2	Streptomisin Sülfat Miktar Tayini Yöntemi .....	32
3.2.2.1	Prensip .....	32
3.2.2.2	Yöntem .....	32
4	DENEYSEL ÇALIŞMA .....	34
4.1	Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Besiyerlerinin Hazırlanması .....	34
4.1.1	pH 6.00 Tampon Çözelti Hazırlanması .....	34
4.1.2	pH 8.00 Tampon Çözelti Hazırlanması .....	34
4.1.3	İzotonik Sodyum Klorid Çözelti Hazırlanması .....	34
4.1.4	Besiyerlerinin Hazırlanması .....	34
4.2	Clemizol Benzilpenisilin Miktar Tayini Ön Hazırlık Çalışmaları .....	35
4.2.1	Test Organizma Süspansiyonunun Hazırlanması .....	35
4.2.2	Test Petrilerinin Hazırlanması .....	36
4.2.3	Standart Hazırlanması .....	36
4.2.4	Numune Hazırlanması .....	37
4.3	Streptomisin Sülfat Miktar Tayini Ön Hazırlık Çalışmaları .....	37
4.3.1	Test Organizma Süspansiyonunun Hazırlanması .....	37
4.3.2	Test petrilerinin Hazırlanması .....	38
4.3.3	Standart Hazırlanması .....	38
4.3.4	Numune Hazırlanması .....	39
5	SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	40
5.1	Sonuçlar .....	40
5.1.1	Clemizol Benzilpenisilin Miktar Tayini Sonuçları .....	40
5.1.2	Streptomisin Sülfat Miktar Tayini Sonuçları .....	48
5.2	Tartışma .....	54
	KAYNAKLAR .....	57
	İNTERNET KAYNAKLARI .....	60
	ÖZGEÇMİŞ .....	61

## SİMGE LİSTESİ

COOH	Karboksil Grubu
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
K <sup>+</sup>	Potasyum
mg	Miligram
µg	Mikrogram
ml	Mililitre
Na <sup>+</sup>	Sodyum
NH <sub>2</sub>	Amin Grubu
S <sub>1</sub>	Standart küçük doz
S <sub>2</sub>	Standart büyük doz
T <sub>1</sub>	Numune küçük doz
T <sub>2</sub>	Numune büyük doz

## KISALTIMA LİSTESİ

- 6-APA : 6-aminopenisillanik asit  
BOS : Beyin Omurilik Sıvısı  
DNA : Deoksiribonükleik Asit  
İ.Ü. : İnternasyonel Ünitesi  
MİY : Minimum İnhibitör Yoğunluk  
M.Ö : Milattan Önce  
M.S. : Milattan Sonra  
RNA : Ribonükleik Asit  
m-RNA : Messenger Ribonükleik Asit  
O.Ü. : Oxford Ünitesi

## ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 2.1 SDA da üretilmiş maya= Candida(A) ve küf mantarı (B) kolonileri.....26
- Şekil 2.2 Disk difüzyon yöntemi kullanılarak petri kutusunda yapılmış bir antibiyotik duyarlılık deneyi (I) ile sonucu (II) .....28

## ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Kemoterapötik İlaçların Sınıflandırılması.....	5
Çizelge 3.1 Kullanılan kimyasal maddeler.....	30
Çizelge 3.2 Kullanılan besiyerleri.....	31
Çizelge 5.1 Benzilpenisilin 1. çalışma sonucu ölçülen zon çapları.....	41
Çizelge 5.2 Benzilpenisilin 1. çalışma sonucu hesaplama değişkenleri .....	42
Çizelge 5.3 Benzilpenisilin 1. çalışma sonuçları.....	42
Çizelge 5.4 Benzilpenisilin 2. çalışma sonucu ölçülen zon çapları.....	44
Çizelge 5.5 Benzilpenisilin 2. çalışma sonucu hesaplama değişkenleri .....	45
Çizelge 5.6 Benzilpenisilin 2. çalışma sonuçları.....	45
Çizelge 5.7 Benzilpenisilin 3. çalışma sonucu ölçülen zon çapları.....	46
Çizelge 5.8 Benzilpenisilin 3. çalışma sonucu hesaplama değişkenleri .....	47
Çizelge 5.9 Benzilpenisilin 3. çalışma sonuçları.....	47
Çizelge 5.10 Streptomisin sülfat 1. çalışma sonucu ölçülen zon çapları.....	49
Çizelge 5.11 Streptomisin sülfat 1. çalışma sonucu hesaplama değişkenleri .....	49
Çizelge 5.12 Streptomisin sülfat 1. çalışma sonuçları.....	50
Çizelge 5.13 Streptomisin sülfat 2. çalışma sonucu ölçülen zon çapları.....	51
Çizelge 5.14 Streptomisin sülfat 2. çalışma sonucu hesaplama değişkenleri .....	51
Çizelge 5.15 Streptomisin sülfat 2. çalışma sonuçları.....	52
Çizelge 5.16 Streptomisin sülfat 3. çalışma sonucu ölçülen zon çapları.....	53
Çizelge 5.17 Streptomisin sülfat 3. çalışma sonucu hesaplama değişkenleri .....	53
Çizelge 5.18 Streptomisin sülfat 3. çalışma sonuçları.....	54
Çizelge 5.19 Benzilpenisilin ve Streptomisin sülfat miktar tayini sonuçları.....	54



## ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince çalışmamı yönlendiren, değerlendirilmesini sağlayan, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen sevgili Doç. Dr. İnci ARISAN-ATAÇ 'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında değerli vaktini ayıran, tecrübesi ve bilgisi ile beni yönlendiren Topkim İlaç Fabrikası Müdürü Seçkin SOYBİLGİN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam ile ilgili her türlü desteği sağlayan, yardımlarını benden esirgemeyen Yıldız Teknik Üniversite Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bölümü Araştırma Görevlisi Nurdagül ORHAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam ile ilgili her türlü desteği sağlayan Sayın Adil BAKACAK, teknik konularda yardımını esirgemeyen Yakup ALLAK ve yazım aşamasında beni yönlendiren Ömer KAYA'ya çok teşekkür ederim.

Her zaman maddi manevi desteğini esirgemeyen ve hep yanımda olan sevgili aileme sevgi ve saygılarımı belirtmeyi bir borç bilirim.

## ÖZET

Antibiyotikler insan ve hayvanlarda oluşan bakteriyel hastalıkların iyileştirilmesinde aktif rol oynar. Bu nedenle, antibiyotikler piyasaya verilmeden önce laboratuvar aşamasında mutlaka farmakopilerde belirlenmiş veya geliştirilmiş metotlar ile miktar tayini çalışması yapılır. Antibiyotiklerin miktar tayini çalışmaları neticesinde analiz sonuçları spesifikasyonları karşılıyor ise hammadde veya bitmiş ürün olarak piyasaya verilir.

Bu çalışma, Streptomisin sülfat ve Benzil penisilin adlı iki aktif madde içeren Clemipen-Strep mikrobiyolojik miktar tayini çalışmalarının yöntemini kapsar. Clemipen-Strep piyasada bitmiş ürün olarak satılmaktadır. Bu çalışma da Streptomisin sülfat için *Bacillus subtilis* ATCC 6633, Benzil penisilin için *Staphylococcus aureus* ATCC 12228 bakterileri kullanıldı. 24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan inhibisyon zonları, zon okuma cihazı ile ölçüldü. Miktar tayini sonuçları, zon çaplarının potens formülüne girilmesi ile elde edildi. Bu sayede, bitmiş üründe Benzil penisilin ve Streptomisin sülfat miktar tayini sonuçları elde edildi.

Miktar tayini çalışma sonuçları Benzil penisilin için 362.7 IU/mg, 362.1 IU/mg, 363.6 IU/mg ve Streptomisin sülfat için 451.5 IU/mg, 454.9 IU/mg, 453.2 IU/mg olarak elde edildi. Sonuçlar Benzilpenisilin için 359 IU/mg (% 90–115) ve Streptomisin sülfat için 449 IU/mg (%90–115) olan trend değerlerine uygun olduğu tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Streptomisin sülfat, Benzil penisilin, Antibiyotikler, Silindir petri metodu

## ABSTRACT

The antibiotics are effective in healing the bacteriological diseases appeared in human and animals. Thus, the assay studies with improved and identified methods in pharmacopy are performed at laboratory stage before releasing. If the analysis results obtained by studies meet the specifications, the product can be released as a raw material or finished product.

This study covers the microbiological assay studies for the Clemipen-Strep including two active pharmaceutical ingredients called as Streptomycin sulphate and Clemizole Benzyl Penicilin. The Clemipen-Strep is in commerce as a finished product. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Staphylococcus aureus* ATCC 12228 bacteria were used for Streptomycin sulphate and Benzyl penicilin in this study, respectively. The inhibition zones obtained as a result of 24 hours incubation were measured by zone reader equipment. The assay result were obtained by inserting zone diameter data into potens formulas. Thanks to this method, Streptomycin sulphate and Benzyl penicilin assays in finished product were obtained.

The assay results were obtained as 362.7 IU/mg, 362.1 IU/mg, 363.6 IU/mg for Benzylpenicillin and 451.5 IU/mg, 454.9 IU/mg, 453.2 IU/mg for Streptomycin sulphate. The results are appropriate with trend values as 359 IU/mg (% 90–115) for Benzylpenicillin and 449 IU/mg (% 90–115) for Streptomycine sulphate.

**Keywords:** Streptomycin sulphate, Clemizole Benzylpenicillin, Antibiotics, Cylinder Petri Method

## 1 GİRİŞ

Antibiyotikler doğada, bakteriler ya da mantarlar tarafından üretilir. Bu canlıların antibiyotik üretip buldukları ortama salma nedenleri, diğer türlerle besin yarışı içinde olmalarıdır. Bu yüzden, buldukları ortamda, kendilerinden başka organizmaların yok olmalarını ya da daha fazla büyümelerini engelleyen antibiyotik maddeleri üretirler. Antibiyotikler artık sentetik olarak da üretiliyor. Çünkü antibiyotikler çeşitli hastalıklarla savaşmak için biz insanların en önemli silahlarından biridir.

Antibiyotikler virüslere, mantarlara ve protozalara etki etmezler. Antibiyotikler, bakterilerin yapılarını hedef alırlar ve bu yapılara bağlanırlar. Bağlandıkları yapılarda, bakterinin yaşaması için gerekli olan metabolik olayları engellerler. Bunun sonucunda bakteri hücresi ölebilir, ya da büyüme tamamen durur. Kullanılan antibiyotiklerde genel ilke, hastanın hücrelerine zarar vermeksizin, bakteri hücre yapısının bozulmasıdır (Şanlı, Y., 1999).

Antibiyotik direnci gerek toplum gerekse hastane kökenli infeksiyonların tedavisinde sorun oluşturan ve giderek büyüyen bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Yeni antibakteriyel ilaçların klinik tedaviye girmesi kaçınılmaz olarak bunlara dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması ile sonlanmaktadır. Direnç nedeniyle tedavi başarısızlıklarının en aza indirgenmesi, ancak duyarlılık testlerinin standart bir yöntem ile uygulanması ve sonuçlarının doğru yorumlanması ile mümkündür.

Son 10–15 yıl içinde klinik açıdan önemli bakteri türlerinin çoğu, infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirmiştir (Bassetti D, Bassetti M, Montero 2000; Moellering RC Jr 1998).

In vitro antibiyotik duyarlılık testleri, bir bakteriyel patojenin bir antibiyotiğin tedavi sırasında ulaşılan in vivo düzeylerine duyarlı olup olmadığının değerlendirilmesi amacıyla uygulanmaktadır. Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumlanması, belirli antimikrobiklere direnç veya duyarlılığa göre direnç mekanizmasının ve bu direnç mekanizmasından etkilenecek diğer antibiyotiklerin tahmin edilmesidir. Bu yaklaşım doğal direnç özellikleri ile birleştiğinde bakterinin tanınmasına yardımcı olduğu gibi, duyarlılık test sonuçlarının doğruluğunun denetlenmesinde de bir kalite kontrolü işlevi görmektedir. Duyarlılık testlerinin yorumlanması ve antibiyogram sonuçlarının buna göre değiştirilmesi mikrobiyologların görevi olmasına rağmen, doğru tedavi seçimi için, bu sonuçlarla sık karşılaşan ve antibiyotik

tedavisi uygulayan kliniklerde görevli hekimlerin de direnç mekanizmalarının epidemiyolojik ve terapötik önemi ile duyarlılık testlerinin kısıtlılıkları konusunda fikir sahibi olmaları gerekmektedir (Gülay, Z., 2002).

Antibiyotik duyarlılık testleri için bir infeksiyonun sağaltımı ile ilgili uygun antimikrobik ajanın seçiminde; olası infeksiyon etkeni, infeksiyon etkeninin antibiyotik duyarlılığı, ilacın in vivo aktivitesini etkileyebilecek konak faktörleri, infeksiyonun yeri, ilacın farmakodinamik ve farmakokinetik özellikleri gibi bir dizi faktörün değerlendirilmesi gereklidir (Arman D., 1998; Craig WA., 1998).

Antibiyotik üreten bütün ilaç firmalarının mikrobiyoloji laboratuvarlarında miktar tayini analizleri yapılmaktadır. Bu analizlerin mikrobiyolojik metot izlenerek yapılmasının en önemli sebebi üretilen antibiyotiklerin mikroorganizmalara olan hassasiyetinin görülmesi ve potens miktarının hesaplanmasıdır. Miktar tayini analizleri için izlenecek yöntem, kullanılacak mikroorganizma ve kimyasal maddeler farmakopilerde belirtilmiştir.

Bu çalışmada, Clemipen-Strep isimli antibiyotik bitmiş ürünü kullanıldı. Clemipen-Strep bir veteriner preparatıdır. Bu preparatın hammaddesini Clemizol Benzilpenisilin ve Streptomisin sülfate olmak üzere iki farklı antibiyotik oluşturmaktadır. Preparat içerisindeki Clemizol Benzilpenisilin miktarı 2.400.000 IU ve Streptomisin sülfat 3.90 g' dir. Her iki hammaddenin gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı yüksek etkileri vardır. Bu etkilerin bir araya getirilmesi ile evcil hayvanların pek çok enfeksiyon hastalığının tedavisi için kullanılmasına imkan yaratılmıştır. Benzylpenicillin, uzun süreli etkiye sahip penisilin türevleri arasındadır. Kandaki konsantrasyonu üç (3) güne kadar terapitik etkinliği sürdürecektir seviyeyi korur. Streptomisin eklenmesi ile sağlanan additativ ve sinerjistik etki sayesinde preparatın tedavi gücü arttırılmıştır. Clemizole penisilinin antihistaminik etkiye sahip olması da alerjik reaksiyonları önleme imkanı yaratmıştır. Clemipen-Strep' in ruhsat sahibi ve imal edildiği yer, Topkim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. dir.

Antibiyotiklerin aktivitesi, mikroorganizmalar üzerinde uygun koşullar sağlandığında gösterdikleri inhibitör etki ile kanıtlanır. Mikrobiyal aktivitedeki azalma kimyasal metotlar ile kanıtlanamaz (USP <81> Antibiotics-Microbial Assay, 2006). Bu çalışmanın amacı, ilaç firmalarında iki farklı antibiyotik hammaddesi kullanılarak üretilen enjektabl ilaçların etkinliğinin belirlenmesini mikrobiyolojik olarak açıklamaktır. Çalışma sırasında yapılan tartımlar, kullanılan mikroorganizmalar ve tampon çözeltiler, hesaplama yöntemi Avrupa

farmakopisi ve ürün dosyasında (Biochemie Notları) belirtildiği gibi hazırlanmış ve hesaplanmıştır.

Çalışmada, farklı zamanlarda üretilen Clemipen-Strep numuneleri kullanıldı. Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilen numuneler için miktar tayini çalışması başlatıldı. Burada, miktar tayini için yapılan ön hazırlık çalışmaları, silindir plaka yöntemi, çalışma sırasında dikkat edilmesi gereken unsurlar, sonuçların hesaplama yöntemi ve sonuçları etkileyebilecek sapmaların belirlenmesi hedeflenmiştir.

## 2 KEMOTERAPÖTİKLER

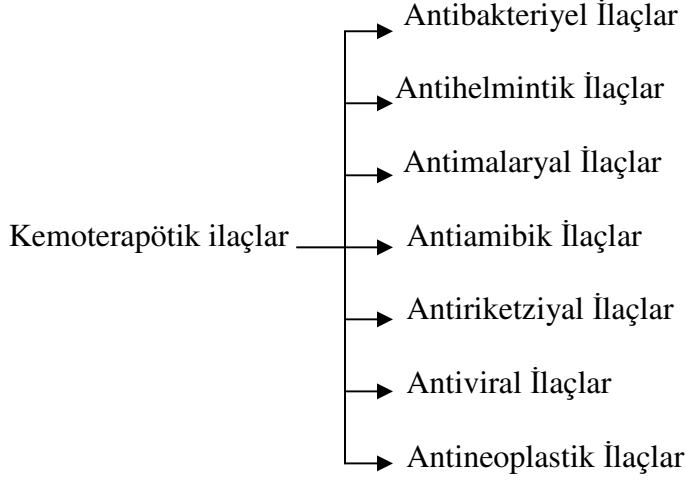
Konakçıya zarar vermeksizin hastalık etkeni parazit veya mikroorganizmalar üzerinde toksik ya da öldürücü etki yapan maddelere etimolojik anlamda **kemoterapötik** ajanlar adı verilir. Kimyasal yapısı tam olarak bilinen doğal veya sentetik kaynaklı böyle kimyasal maddelerle yapılan sağaltıma da **kemoterapi** denir. Vücuda giren ve hastalık etkeni olan organizmalar çok çeşitli olduğu için kemoterapide kullanılan kimyasal maddeler de o ölçüde çeşitlilik gösterirler.

Kemoterapide temel ilke, konakçı olan insan veya memeli hayvan hücrelerinde hiç olumsuz etki yapmayan veya çok az toksik etki gösteren bir kimyasal madde kullanarak hastalık etkeni organizma üzerinde en fazla toksik veya letal etki meydana getirmektedir. Seçkin etki mikroorganizma hücresiyle memeli hayvan hücresi arasındaki yapı, fizyolojik işlevler ve biyokimyasal mekanizmalar yönünden var olan farklar sayesinde gerçekleşir. Seçkinliğin derecesi kemoterapik ilaç gruplarına göre değişir.

Genellikle penisilinler, sefalosporinler ve fluorokinolon türevleri en fazla seçkinlik gösteren ilaçlardır. Kuvvetli bakterisit etki gösterdikleri halde memeli hücrelerin olan toksik etkileri çok azdır. Buna karşın sitoplazma membranına veya çekirdekte DNA ve RNA sentezini bozarak antibakteriyel etki gösteren ilaçların seçkinliği çok azdır; bakterilere olduğu kadar memeli hücrelerine de toksik etki yaparlar. Bunun yanında bakterilerin intermediyer metabolizmalarını inhibisyona uğratan sülfonamidler ile bakteri ribozomlarında protein sentezini bozan tetrasiklinlerde yeterli ölçülerde seçkinliğe sahiptir. Metilen blue gibi, kimi oksitleyici ajanlar ayırım göstermeksizin mikroorganizma ve memeli hücrelerine yayılmak suretiyle temel redüksiyon tepkimelerini bloke ederek etkiler; dolayısıyla seçkinlikleri de çok azdır ( Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

Kemoterapide kullanılan ilaçlar, genellikle kullanıldığı patojen etkinin cinsine göre sınıflara ayrılır.

Çizelge 2.1 Kemoterapötik İlaçların Sınıflandırılması ([1]).



Antibakteriyel ilaçlar içinde önemli bir grup “Antibiyotikler” dir. Antibiyotikler; bakteriler, funguslar ve aktinomisetler gibi çeşitli mikroorganizma türleri tarafından sentez edilen ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini önleyen ya da onları öldüren kimyasal maddelerdir ([1]).

## 2.1 Kemoterapinin Tarihsel Gelişimi

Kemoterapinin tarihsel gelişimi gerçek hekimlik mesleğinin gelişimine paralel bir durum izler. M.Ö. 2500 yıllarında eski Çinlilerin çıban, frunkul ve apse gibi yerel enfeksiyöz hastalıkları bazı bitki ve mantarlardan elde ettikleri küflerle sağalttıklarına ilişkin tarihsel belgeler vardır. *Hippocrates* (M.Ö. 460–370), *Dioscorides* (M.S. 50) ve *Galenus* ( M.S. 130), çeşitli hastalıkların sağaltımında kemoterapi kapsamına giren bitkisel ve madensel kaynaklı binlerce ilacın tarifini yapmışlardır. 15. yüzyılda *Paracelsus* (1493–1541), metalik cıvayı gri merhem adı altında, sifilisin rasyonel sağaltımında kullanmıştır. Aynı merhem Salvarsan ‘ın keşfine kadar yüzyıllarca sifilis sağaltımındaki önemini korumuştur(Şanlı, Y., 1999).

Kemoterapötik ilaçlar alanındaki ilerlemeler enfeksiyöz hastalıkların etkilerine ilişkin bilgilerin gelişmesine paralel olarak 19. yüzyılın ikinci yarısında başlamıştır. 1877 ’de Pasteur ve Joubert’in çalışmaları ile küfler ve bakteriler arasında bir antagonizmanın varlığı ortaya konmuştur. Bu uygulamalar kemoterapinin gelişiminde çok önemli bir aşamayı oluşturur. Çünkü bu maddelerin kullanımı sırasında yine kemoterapötik ilaçların denenmesine olanak veren pek çok yeni veriler sağlanmıştır. Pasteur antibiyozis olayının enfeksiyöz hastalıklarının



sağaltımındaki önemine işaret etmekle beraber çalışmalarını daha çok immünoterapi üzerinde yoğunlaştırmıştır (Kayaalp, O., 1991; Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

İlk bulunan antibakteriyel maddelerden fenoller, metal tuzları ve iyodun bakteriler kadar memeli hayvan hücreleri üzerinde de zehirli etkiye sahip olmaları yüzünden, ancak deri yüzeyine uygulanmak suretiyle antiseptik olarak veya operasyon aletlerinin sterilizasyonu amacıyla kullanılabilmişlerdir. Bu nedenle, 20. yüzyılın başından itibaren sistematik olarak uygulanabilecek kemoterapötik ilaçların araştırmaları ağırlık kazanmıştır. Bakteriyel enfeksiyonların sistemik kemoterapötiklerle birlikte sağıtımı ilk kez 1932’de Almanya ‘da *Domagk* tarafından bir azo boyası olan koyu *prontosil*’ in sıçanların deneysel Streptokok enfeksiyonlarındaki etkenliğinin anlaşılması ile başlamıştır. Öte yandan, 1937’de Trefouel ve çalışma arkadaşları Fransa’da sentezlenen ve Prontosil’in aynı olan rubiazol’ un vücutta biyotransformasyona uğrayarak sülfamilamide dönüştükten sonra etkinleştiğini göstermişlerdir Sonraları penisilinlerin kullanımı ile kemoterapide önemli gelişmeler olmuştur. Bugün bu amaçla pek çok yeni ilaç geliştirilmektedir ( Kayaalp, O., 1991; [1]).

## 2.2 Antibakteriyel Etki Spektrumu

Antibakteriyel etki spektrumu, genellikle kemoterapötiklerin etki alanını belirlemek için kullanılan bir terimdir ve bir kemoterapötik ilaca duyarlı mikroorganizma türlerinin tümüne o ilacın antibakteriyel spektrumu adı verilir. Antibakteriyel spektrum az çok kemoterapötik ilacın çeşidine göre ayrımlar gösterdiğinden etkidiği bakteri türü ve sayısına göre,

- A) dar antibakteriyel spektrum
  - B) orta genişlikte
  - C) geniş antibakteriyel spektrum olmak üzere başlıca üç gruba ayrılabilirler.
- (Şanlı, Y., Kaya, S., 1994)

Kloramfenikol, tetrasiklinler, sulfonamidler, güçlendirilmiş sülfonamid kombinasyonları ve fluorokinolon türevleri gibi, kemoterapötik ilaçlar gram pozitif ve gram negatif bakteriler, bazı riketsiya türleri büyük virüsler ve hatta bazı protozoalar ve helmintler üzerinde etkilidirler. Çok sayıda mikroorganizmaya karşı etkili olan bu tür ilaçlara **geniş spektrumlu kemoterapötikler** adı verilir. Geniş spektrumlu kemoterapötikler, türü ve çeşidi saptanmayan enfeksiyon etkenleri üzerinde çok etkili oldukları için enfeksiyöz hastalıkların iyileştirilmesinde elverişli ilaçlar olarak kabul edilirler. Ayrıca bu tür ilaçların kullanımı sırasında duyarlılık testlerinin yapılmasına pek gerek duyulmaz .

Gram negatif ve gram pozitif bakterilerden çoğunluğu ile aerob veya anaerob bakteriler ya da riketsiyalar veya mikoplazmalar gibi, patojen mikroorganizmaların önemli bir kısmını kapsayan bir etki spektrumuna sahip ampisilin, amoksisilin, karbenisilin, oksasilin ve kloksasilin gibi yarı sentetik penisilin çeşitleri ile ampisilin+sulbaktam ve amoksisilin+klavulanik asit gibi güçlendirilmiş penisilin kombinasyonları, sefoperazon, sefotaksim ve seftiaksazon gibi birinci ve ikinci kuşak sefalosporin türevleri de **orta genişlikte antibakteriyel spektrum** sergilerler.

Sadece mikobakterilere karşı etkili olan izoniazid, mantarlar üzerinde seçkin bir etki gösteren nistatin, kısıtlı sayıda gram negatif veya pozitif koklar, gram-pozitif bazı basiller ve spiroketlere etkiyen penisilinlerde olduğu gibi, yalnız bir veya birkaç bakteri türüne etkili olan ilaçlara **dar spektrumlu kemoterapötikler** adı verilir (Kayaalp, O., 1991; Şanlı, Y., Kaya, S., 1994)

Bir antibakteriyel ilaç için geçerli olan etki spektrumu, aynı ilacın alışımlı dozlarının verilmesi sonucu konakçı hayvanın çeşitli vücut sıvıları ile biyofazlar düzeyinde sağlanan derişimlerinden etkilenen mikroorganizma türlerini gösterir. In vitro elde edilen yüksek derişimlerde ise, daha az duyarlı olan mikroorganizma türlerini de etkiyebilir. Buna benzer bir durum da ilacın, idrar ve karaciğer gibi, belli biyofazlarda diğer dokusal kesimlerden daha yüksek derişimlerde birikebilme durumunda gerçekleşir. Şöyle ki; geleneksel sağaltım dozlarında belli bir bakterinin oluşturduğu sistemik enfeksiyonda etkisiz kalan bir antibakteriyel ilaç, aynı bakterinin yol açtığı diğer bir organ veya dokusal kesimde etkili olabilir(Dökmeci, İ., Akçasu, A., Banaoğlu, N., Bekarda, Ş., ve ark., 1992; Evans, R.J., 1991; Kayaalp, O., 1991; Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

### 2.3 Antibakteriyel Etkinlik

Kemoterapötik ilaçlar, mikroorganizmalar üzerindeki etki şekillerine göre **bakteriyostatik ve bakterisit tipten etkili** olarak iki ana grupta toplanırlar. Bakteriyostatik etki yapanlar bakteri hücresinin gelişmesini ve üremesini önlerler (sulfonamidler). Doğrudan doğruya bakteriyi öldürmezler, bu tür antibiyotiklerin etkisiyle gelişme ve üremeleri duran bakteriler vücudun humoral ve hücrel savunma mekanizmaları tarafından kolayca yok edilirler. Bakterisid olanlar ise, bakterileri dolaysız olarak yok ederler (penisilinler)( Şanlı, Y., Kaya, S., 1994). Enfeksiyöz hastalıkların sağaltımında genellikle bakterisid etkili kemoterapötikler yeğlenir. Genel düşkünlük haliyle birlikte bulunan ve vücut savunma mekanizmalarının yetmezliği

hallerinde, çoğunlukla bakterilerin yok edilmesi için immün mekanizmaların yardımı gereken bakteriyostatik ilaçlar yetersiz kalırlar.

Kemoterapötik ilaçlardan çoğunluğu, hücrel metabolizmayı ve bölünmeyi engellemek suretiyle etkidiklerinden, en güçlü etkileri de hızla gelişme ve bölünme aşamasında olan mikroorganizmalar üzerinde kendini gösterir. İnokülasyondan sonra bütün bakteri kültürleri

- a) Yavaş gelişme evresi
- b) Hızlı bölünmenin gerçekleştiği logaritmik evre
- c) Dinlenme evresi

olmak üzere, birbirini izleyen üç büyüme ve çoğalma aşaması geçirirler. İşte antibiyotikler ya da tüm kemoterapötikler logaritmik veya prelogaritmik fazda en güçlü etkilerini gösterirler. Hatta penisilinler ancak bu aşamada etkili olabilirler (Başoğlu, A., 2000; Doğan, A., Liman, B.C., Yavuz, Akar, F., Filazi, A., 1990).

#### Antibiyotikler

1. Hücre duvarı sentezini engelleyerek
2. Stiploazmik zarın geçirgenliğini değiştirerek
2. Nükleik asit sentezini önleyerek
3. Ara metabolizmayı bozarak
4. Protein sentezini engelleyerek bakteri hücre üzerinde etkilerini gösterirler (Dökmeci, İ., Akçasu, A., Banoğlu, N., Berkarda, Ş., ve ark. 1992; Kayaalp, O., 1991).

Penisilinlerin sefalosporinlerin ve basitrasın hücre duvarının sentezini engelleyerek etki gösteren antibiyotiklere örnek olarak gösterilebilirler. Bu antibiyotikler bakteri çepri için zorunlu olan mukopeptid sentezini inhibe ederler (Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

Polipeptidler (polimiksin, kolistin), basitrasın, antiseptik ve dezenfektanlar bakteri membranında permeabilite değişikliği ve yıkılamaya neden olarak antibakteriyel etkilerini gösterirler (Şener, S., 1990).

Ara metabolizmanın bozulmasına sebep olan ilaçlar, bakteriler için gerekli bazı maddelerin (folik asit gibi) sentezini engeller. Bu grup ilaçlara örnek olarak sulfanomidler, kinolonlar, sülfanlar, trimetoprin, p-aminosalisilik asit ve izoniazid gösterilebilir (Şener, S., 1990). Protein sentezinin engellenmesine yol açan ilaçlar bakterilerde ribozomlarla birleşerek

mRNA ile yönetilen protein sentezini bozarlar. Memeli hücrelerinin ribozomları 80s, bakteri hücrelerinin ise 70s özellikte olduğundan, memelilerde protein sentezini engellemezler. Bu sınıfta yer alan antibiyotiklere terasiklinler, makrolidler, aminoglikozidler ve linkozamidler örnek olarak gösterilebilirler (Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

#### **2.4 Antibiyotiklere Direnç (Rezistans)**

Rezistans; bakteri ve diğer mikroorganizmaların bir özelliği olup, genel anlamıyla bakterilerin kemoterapötik ilaçlardan etkilenmemesi demektir (Dökmeçi, İ., Akçasu, A., Banoğlu, N., Berkarda, Ş., ve ark. 1992; Kayaalp, O., 1991; Şener, S., 1990)

Günümüzde hayvanlarda verim gücünün artırılması, hastalıkların sağaltımı ve önlenmesinde antibiyotikler önemli bir yer tutar. Ancak 1950' lerden sonra hayvanlarda gelişmenin hızlandırılması amacıyla yem katkı maddesi halinde antibiyotiklerin yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanması ile duyarlı bakterilerde dirençli suşların ortaya çıkması kaçınılmaz olmuştur (Acet, A., 1989; Kaya, S., 1984; Kaya, S., Şahal, M., 1989; Kaya, S., Yavuz, H., Akar, F., Liman, B. C., Filazi, A., 1993; Sağmanlıgil, H. 1989).

Bazı bakteri türleri, belirli bir antibakteriyel ilaca doğal olarak dirençlidirler. Buna doğal rezistans denir. Bir ilaca dirençli olan bir bakteri türü benzer kimyasal yapı ve etki şekline sahip diğer bir ilaca da direnç gösterir. Buna da çapraz direnç denir. Örneğin;  $\beta$ -laktam halkasına sahip olan penisiline dirençli bir bakteri türü aynı halkayı taşıyan sefalosporinlere de dirençlidir (Kayaalp, O., 1991; Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

Bakterilerde tek aşamalı mutasyon, ilaçla bir veya daha fazla temas sonucu hızlı ve ileri dereceli direnç şeklinde ortaya çıkar. Bu durum streptomisin tipi direnç olarak adlandırılır. Bakterilerde çok aşamalı mutasyon ile dirençlilik durumu yavaş ama derecesi artan şiddette ortaya çıkarsa buna da penisilin tipi direnç adı verilir. Bazı bakterilerin penisilinlere karşı penisilinaz salgılaması, kloramfenikole karşı asetil transferaz salgılaması bu duruma örnek olarak gösterilebilir. Bakterilerin bu şekilde direnç kazanmalarını önlemek için ilaçların yeterli doz ve sıklıkta ve mümkün olduğunca kısa süre verilmesi önerilmektedir. Yine antibiyotiklerin birlikte kullanılmaları bakteriler arasında direncin ortaya çıkış hızı ve sıklığını azaltır (Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

## 2.5 Antibiyotiklerin Kullanılmasını Etkileyen Bazı Faktörler

Antibakteriyel etkinlik sağlamak amacıyla kullanılan antibiyotikler; vücuda verilme yolları, vücutta meydana gelen atık maddeler, fizyolojik durum ve canlıda bulunan doğal engellerden etkilenebilir. İstenen antibakteriyel etkinin sağlanması için antibiyotiklerin seçiminde bu önemli koşullara dikkate edilmesi yerinde olur.

Doku döküntüleri ve irin; aminoglikozidleri, sülfonamidler ve polimiksinlerin etkisini azaltırlar. Penisilinler ise irin varlığından etkilenmezler. Bakterilerle bulaşık hematomlarda fazla miktarda hemoglobinin varlığı penisilin ve tetrasiklinlerin etkinliğini azaltır. Oral kullanılan tetrasiklinler mide-barsak içeriğinin kalsiyumdan zengin olması durumunda gerekli antibakteriyel etkilerini göstermezler. İki değerli mineraller ise fluorokinolonların etkisini önemli ölçüde azaltırlar.

Vücutta bulunan doğal bariyerler antibiyotiklerin kullanımını önemli ölçüde kısıtlayabilirler. Seröz zarlar; penisilinlerin geçişine izin vermezken tetrasiklinler ve fluorokinolonlar bu zarları kolayca aşabilirler. Plasenta, antibiyotiklerin geçişinde önemli bir engel oluşturmaz. Çoğu antibiyotikler plasentadan kolayca penetre olurlar. Sülfonamid-trimetoprim karışımları, fluorokinolonlar ve Ampisilin göz sıvısına yüksek oranda geçebilir. Kan-beyin bariyerini fluorokinolonlar, sülfonamidler, rifampin, izoniazid ve metronidazol kolayca geçerken penisilinler, sefalosporin, tetrasiklinler ve kanamisin yangılı durumlarda geçebilir. Streptomisin, gentamisin ve eritromisin ise kan-beyin bariyerini geçemez (Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

## 2.6 Antibakteriyel İlaçlar Arasında Etkileşme Tipleri

Antibakteriyel ilaç kombinasyonlarının bakteri üremesini inhibe edici ya da bakterileri öldürücü etkisinin derecesini, bunların tek başlarına gösterdikleri etkinin derecesi ile karşılaştırmak suretiyle söz konusu ilaçlar arasındaki etkileşmenin üç şekilde olabildiği saptanmıştır.

1. **Additif etki ve sinerjizma:** İki antibakteriyel ilacı bir arada uygulanması durumunda elde edilen etki, bu ilaçların tek başına uygulanmaları halinde elde edilen bireysel etkilerin toplamına eşitse bu şekilde etkileşim additif etkileşim ya da sumasyon olarak adlandırılır. Eğer ilaçların kombinasyonu bu ilaçların tek başlarına kullanımında daha

fazla antibakteriyel etki gösteriyorsa bu tip etkileşmeye de sinerjizma ya da sinerjistik etkileşime adı verilir.

2. **Antagonizma:** Antibakteriyel ilaç kombinasyonunun etki gücü, ilaçların en güçlüsünün tek başına gösterdiği etkiden daha düşük ise ortaya çıkan etkileşim antagonizma ya da antagonistik etkileşme şeklinde kendini gösterir.
3. **Aldırmazlık:** Güçlü bir antibakteriyel ilaca daha az güçlü bir diğerinin ilavesi birincinin antibakteriyel etki gücüne belirgin artma veya azalma katkısı sağlamıyorsa buna da aldırmazlık adı verilir (Kayalap, O., 1991; Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

## 2.7 Antibakteriyel İlaçların Tanımı ve Sınıflandırma

Enfeksiyöz hastalıkların sağaltımında antibiyotik önemi ikinci dünya savaşının sonlarına doğru başlamıştır. Fakat antibiyotik teriminin kaynağını oluşturan “antibiosis” kavramı çok daha önceden ortaya atılmıştır. Bu kavram, ilk kez 1877 yılında, saprofit bakterilerin antraks basili üzerindeki inhibitör etkilerini gözlemleyen *Pasteur* ve *Joubert* tarafından kullanılmıştır. Antibiosis olayının bazı mantar ve bakteriler tarafından hazırlanan antagonist etkili maddelerden ileri geldiği 1929’da *A. Fleming* tarafından açıklanmıştır. *Penicillum* türü mantarların Stafilokoklar üzerindeki inhibitör etkilerini saptayan bu araştırmacı, aynı mantar kültürlerinden elde ettiği filtratların, fareleri Stafilokok enfeksiyonlarına karşı koruduğunu deneysel olarak göstermiştir (Şanlı, Y., 1999).

Antibiyotiklerle yapılan sağaltım, penisilinin keşfi ve kullanıma sokulması ile birlikte başlar. Bu maddenin enfeksiyöz hastalıklar üzerindeki kesin etkisi anlaşıldıktan sonra, diğer doğal kaynaklı antibiyotiklerin araştırılması yoğunlaştı. Bu amaçla dünyanın çeşitli bölgelerinden sağlanan toprak örnekleri, yeni antibiyotik çeşitleri üretimine olanak sağlayacak küf ve aktinomiset türleri yönünden birçok üniversite ve ilaç endüstrisinin araştırma laboratuvarlarında sistemli bir şekilde incelendi. Böylece, kloratetrasiklin (1942), streptomisin (1944), polimiksin (1947), kloramfenikol ve kloramisetin (1950) ile diğer antibiyotiklerin keşfi kısa aralıklar ile birbirini izledi. Bugün için yüzden fazla antibiyotik çeşidi izole edilmiş ve yapıları açıklanmış olmakla beraber, bunlardan yeterli ölçüde kemoterapötik indekse sahip olan 15 kadarı halen yaygın olarak sağaltımda kullanılmaktadır (Dökmeci, İ., Akçasu, A., Banoğlu, N., Berkarda, Ş., ve ark. 1992).

Önceleri, antibiyotik üretimin özel Roux şişeleri kullanarak, yüzeyde kültür üretimiyle ve sadece mikrobiyologlar tarafından yapılamaktaydı. Bu üretim yöntemi, uzun ve masraflı olduğu için elde edilen ilk antibiyotiklerde çok pahalıya satılmaktaydı. Daha sonra gerçekleştirilen derin kültür yöntemiyle 8 m<sup>3</sup> kültür ortamı içeren büyük fiçilerde sürekli havalandırma sistemi uygulamak suretiyle çok bol miktarda ve ucuz fiyatla antibiyotik üretme olanağı geliştirilmiştir. Üretim işlemi tamamlandıktan sonra kültür ortamındaki antibiyotikler filtrasyon, çeşitli solventlerle ekstraksiyon, iyon değiştirici geniş kolonlarda absorpsiyon ve vakum altında yoğunlaştırma gibi, temizleme işlemleri ile arılaştırılarak, kullanıma hazır duruma getirilirler. Bugün tüm dünya da üretilen yıllık antibiyotik miktarı binlerce tona ulaşmıştır(Şanlı, Y., 1999).

Son yıllarda kullanılan antibiyotik çeşidinin artması, hepsinin de kimyasal yapı yönünden ayırım göstermeleri değişik fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olmaları ve terapötik niteliklerinin farklı olması nedenleriyle, birçok sınıflandırma şekli önerilmiştir. Etkili oldukları mikroorganizma türüne ve kullanım amacına göre antibiyotikler, a) antibakteriyel, b) antifungal ve c) antimitotik etkili antibiyotikler olmak üzere, başlıca üç grupta toplanırlar. Fakat son yıllarda yayınlanan farmakoloji kitaplarının büyük bir çoğunluğunda antibiyotikleri kimyasal yapıları arasındaki benzerliğe ve ortak fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre gruplandırarak incelemek genel bir kural haline gelmiştir. Belirtilen bilimsel yaklaşım şekline göre, tüm antibiyotikleri aşağıdaki şekilde sınıflandırmak olanaklıdır. (Şener, S., 1990)

◇ **Aminoasit türevi antibiyotikler:**

a. İki aminoasit (sistein, valin) yapılı olan betalaktam türevi antibiyotikler.

**Penisilinler:**

**Doğal penisilinler:**

Penisilin G, Penisilin V

**Yarı-sentetik penisilinler:**

*Penisilinaza dayanıklı olanlar:*

Metisilin, oksasilin, koloksasilin, dikloksasilin, nafsilin, flukoksasilin.

*Aminopenisilinliler:*

Ampisilin, amoksisilin, bakamsilin

*Karboksipenisilinler,*

Karbenisilin, tikarsilin, karindasilin

*Ureidopenisilinler:*

Piperasilin, mezlosilin, azlosilin

*Amidinopenisilinler:*

Mesillinam ( amidinosilin)

*Güçlendirilmiş penisilinler*

Amoksisilin + klavulanik asit

Ampisilin + sulbaktam

**Sefalosporinler***Birinci kuşak sefalosporinler*

Sefazolin, sefalotin, sefaloridin, sefapirin, sefaleksin (oral), sefadoksil, sefredin (oral), sefadroksil (oral)

*İkinci kuşak sefalosporinler*

Sefamandol, sefonisid, sefotetan, sefoksitin, sefuroksim, seftibuton, sefmetazol, sefetamet, sefaklor(oral), sefuroksim (oral)

**Üçüncü kuşak sefalosporinler**

Sefotaksim, seftizoksım, seftriakson, latamosef ( moksalaktam), sefmenoksım, sefopeazon, sefpiramid, sefpirom, seftazidim, sefsulodin sefiksin (oral)

**Monobaktamlar: Aztreonam***Kabapenemler İmipenen***b. Basit aminoasit türevi antibiyotikler**

Kloramfenikol, sikloserin azaserin

◊ **Aminoglikozid yapılı antibiyotikler:** Bu grupta yer alan bileşikler polisakkarid veya şekerlerin aminli türevleridir.

Streptomisin, dihidrostreptomisin, kanamisin, gentamisin, neomisin, framisetin, paramomisin, viyomisin

◊ **Makrolitler ve benzer yapılı antibiyotikleri:** Bu gruptaki bileşikler ortak bir makrosiklik lakton halkası ve buna bağlı bir ya da iki deoksiriboz molekülünden oluşurlar.

Eritromisin, Spiramisin, Oleandomisin, Karbomisin, Linkomisin, Klindamisin

◊ **Az veya çok kompleks yapılı siklik veya heterosiklik bileşikler:**

Tetrasiklinler, Fenoksazamin, Sikloheksimid veya aktidion, Novobiosin

◊ **Polipeptid yapılı antibiyotikler:** Kompleks bir polipeptid yapıya sahip olan bu gruptaki bileşikler çoğunlukla bakteri kültürlerinden elde edilirler.

Basitrasin, Polimiksin, Tirotrisin, Kolitsin, Aktinomisin

◊ **Birleşik poliyenik sistem içeren antifungal etkili antibiyotikler:**

Bu gruptan antibiyotikler dört çift veya daha fazla doymamış bağa sahiptirler.

Nistatin, Grizeofulvin, Amfoterisin B, Trikomisin, Rimosidin, Flusitozin, Piramisin



◇ **Rifamisisinler:**

Rifamisin, Rifampin

◇ **Streoid yapılı antibiyotikler:** Fusidin

◇ **Doğal nükleosid analogu antibiyotikler:** Üridin ve adenzin gibi nükleosidler yapısında olan, nispeten basit yapılı antibiyotikler: Bu gruptaki bileşikler, adenzin ve üridin gibi çok önemli role sahip doğal nükleotidlerin birer analogu niteliğindedirler ve iki alt gruba ayırırlar.

**a. Adenzin analogu antibiyotikler:** Puromisin, Tubersidin, Dekoyinin, Psikofuranin, Koridsepin, Nebularin

**b. Üridin nükleosidi analogu olan antibiyotikler:**

Şovdomisin

(Akkan, H.A., Karaca, M., 2003; Şanlı, Y., 1999)

## 2.8 Beta-Laktam Antibiyotikler

Bu gruptan antibakteriyel ilaçlar, yapılarında ortak beta-laktam halkası tutarlar. Antibakteriyel etkinlik için kesinlikle gerekli olan bu halka, biri azot ve üç adet karbondan oluşan doymuş bir yapı sergiler. Bazı antibiyotik çeşitlerinde yalnızca beta-laktam halkası bulunur. Belirtilen yapıya sahip olanlar *monobaktam* antibiyotikler diye adlandırılır. **Beta-laktam antibiyotiklerde** ise, beta-laktam halkasına 5 ya da 6 karbonlu 2. bir halka bağlanmıştır. Beta-laktam grubu antibiyotikler başlıca: *penisilinler* ( penam halkası tutarlar), *sefalosporinler* (sefam halkası içerirler), *karbapenemler* ve *monobaktam*'lardan oluşur( Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

### 2.8.1 Penisilinler

Penisilin antibakteriyel etkinliği ilk defa 1929' da A. Fleming tarafından *Penicillium notatum* adlı bir mantarda bulunmuştur. Çeşitli penisilin türleri içinde Penisilin G (benzilpenisilin) ve penisilin V (fenoksümetilpenisilin) klinikte en fazla kullanılan doğal penisilinlerdir. Bunlardan daha üstün özellikte olan penisilinlerin sentezi de yapılmıştır.

Bütün penisilinlerde temel yapı 6-APA (6-Aminopenisilanik asit) dir. 6-APA bir tiazolidin halkası ve buna bağlı dörtlü bir beta-laktam halkasından oluşur.

Penisilinler kuru toz halinde bozulmadan uzun süre kalabilirler. Sudaki solüsyonları da oda sıcaklığında 24 saat içinde etkinliğini yitirir. Bu nedenle enjeksiyonluk penisilin müstahzarları viyal içinde kuru toz halinde bulunur.

Penisilinler bakteri hücre duvarının sentezini inhibe etmek suretiyle antibakteriyel etki yaparlar. Büyüme ve üremesi hızlı olan bakteri popülasyonu üzerinde daha kuvvetli bir bakterisid etki gösterirler.

Penisilin preparasyonlarının etkinliği, ünite ile ifade edilir. Ancak, bazı yarı sentetik preparasyonların dozu mg olarak ifade edilmektedir. Yaklaşık  $0,6 \mu\text{g}=1 \text{ İ.Ü.}$  dir.

Penisilinlerin enjeksiyonluk şekilleri genellikle kas içine enjekte edilir. Ağır enfeksiyonlarda infüzyon şeklinde verilir. Absorbsiyondan sonra vücut sıvıları ve dokuları içine serbestçe dağılırlar. Yanlız serebrospinal sıvıya geçemezler. Ancak menenjit durumunda geçirgenlik artacağından, BOS'a yüksek konsantrasyonda geçerler [1].

### 2.8.1.1 Penisilinlerin Kaynakları ve Kimyasal Özellikleri

Günümüzde penisilin büyük ölçüde *Penicillium notatum* ve *Penicillium chrysogenum* türlerinden elde edilir. Penisilin sentezi çok güç ve pahalı olduğu için ticarete bu yoldan genellikle yararlanılmaz. Biyolojik yolla penisilin üretimi çoğunlukla yüzeysel ve derin kültür yöntemi olmak üzere, başlıca iki yolla yapılır. Sınırlı bir kullanım alanını olan birinci üretim yönteminde kültür ortamı jelozdan hazırlanır. Çok yaygın kullanılan derin kültür yönteminde ise, penisilin türüne göre seçilen prokürsör maddelerle hazırlanan sentetik kültür ortamlarından yararlanılır. Geniş fiçılarda yapılan üretme işlemlerinden sonra, ortamdaki penisilin organik çözücülerle ekstraksiyon yapılmak suretiyle ayrılır ve özel yöntemlerle arılaştırılır. Önceleri sarı, amorf ve arı olmayan penisilin şeklinde üretimi yapılırken günümüzde penisilin yüksek derecede arılaştırılmış beyaz kristalize bir toz halinde hazırlanır [1].

Antibakteriyel etki için 6-aminopenisillanik asit halkasının bütünlüğünü koruması gerekir. Yan zincirler, etki süresi, emilme oranı ve dayanıklılık gibi, penisilinleri diğer özellikleri üzerinde etkili olurlar. Eğer  $\beta$ -laktam halkası, bazı bakterilerce salgılanan penisilinazlar veya  $\beta$ -laktamazlar adı verilen enzimler tarafından parçalanırsa, penisilloik asit meydana gelir. Bu madde, antibakteriyel etkiden yoksundur; fakat canlı yapıda *hapten* rolü oynar ve serum proteinlerine bağlanması sonucu antijen özelliği kazanır. Böylece penisilloik asit, penisiline karşı antikor oluşmasından ve buna bağlı olarak alerjik reaksiyonların meydana gelmesinden sorumludur.

Doğal penisilinler, serbest asit halinde suda çok az çözünürler; ısı, rutubet ve hava ile değişimleri sonucu hızla etkinliklerini kaybederler. Bu nedenle de dayanıklılıkları çok azdır. Belirtilen sakıncaların giderilmesi için penisilinlerin daha dayanıklı olan inorganik ve organik tuzlar hazırlanmıştır. Günümüzde insan ve hayvan sağaltımında büyük bir çoğunlukla sodyum, potasyum ve prokain tuzları halinde kullanılırlar. Büyük ölçüde kullanılan penisilin G sodyum ve potasyum tuzları suda kolaylıkla çözündükleri için hızla emilirler ve dolayısı ile etkileri çok kısa sürer. Penisilinlerin etkilerini uzatmak amacıyla organik tuzları geliştirilmiştir. Böylece penisilin G' nin bir molekül prokain ile birleştirilmesiyle, suda daha az çözünen ve enjeksiyon yerlerinden yavaş emilen, dolayısıyla etki süreleri daha uzun olan *penisilin G prokain* tuzu elde edilmiştir (Şanlı, Y., 1999).

### 2.8.1.2 Penisilinlerin Antibakteriyel Spektrumu

Tüm penisilin türevlerinin antibakteriyel spektrumu dardır ve özellikle gram pozitif ve bazı gram negatif kokuslar üzerinde etkilidirler. Bu özellikleri nedeniyle de halen hayvanların streptokoksik enfeksiyonlarında kullanılan en iyi antibiyotik niteliğini korumaktalar. Diğer gram pozitif bakteri türleri üzerindeki etkileri ikinci derecede kalır. Gram negatif ve aside dayanıklı basiller, protozoalar, virüslerin büyük bir kısmı penisilinlerden etkilenmezler.

### 2.8.1.3 Penisilinlerin Dayanıklılığını Değiştiren Etmenler

Penisilinler, fazlaca kullanılan antibiyotikler içerisinde en az dayanıklı olan bileşiklerdir. Bu nedenle kullanımları sırasında aşağıdaki hususlara dikkat edilmesi gerekir.

**Rutubet:** Penisilinler çok higroskopik maddelerdir; yüksek rutubetli ortamda hidrolize olarak hızla bozulurlar. Kuru toz halindeki tuzları 2-3 yıl bozulmaksızın saklanabildikleri halde, aynı tuzların tamponlanmamış sulu çözeltileri 4 °C' deki 7 gün bekletildiklerinde etkinliklerinin % 16'sını ve 24 °C' de aynı süreyle bekletildiklerinde de % 78'ini kaybederler. Eğer taze hazırlanmış penisilin çözeltileri derhal bir soğutucuya konursa, bir hafta süreyle kullanılabilir; fakat en güvenli olanı 4 gün içerisinde kullanılmalıdır.

**pH:** Asit ve alkali ortamda penisilin çözeltilerinin etkinliği hızla kaybolur. pH 6–6.5 arasında tutulan penisilin çözeltileri uzun süre bozulmaksızın kalırlar. Ayrıca çözeltileri stabilize etmek için fosfat ve sitrat tamponları da kullanılabilir. Sodyum sitrat katılmış penisilin G sodyum çözeltileri 4 °C' de 2 hafta ve 24 °C' de 3 gün süreyle % 90 oranında etkinliğini korur. Sitrat

tamponu içeren prokain penisilin süspansiyonlarının etkinliği 2 yılda ancak % 5 oranında azalır. Yoğun çözeltileri seyreltik çözeltilerinden daha hızlı bozulur.

**Isı:** Daha önceki paragraflarda da kısmen değinildiği gibi, penisilinlerin bozulma hızı ısıyla birlikte artar ve kuru toz halindeki penisilinler otoklavla sterilizasyonda veya 100°C derecenin üstünde ısıtıldığında dekompozu olur. Bu nedenle bütün enjeksiyonluk çözeltilerinin aseptik yöntemlerle yapılması gerekir.

**Enzimler:** Steril sulu çözeltiler halinde tutulan penisilinlerin dayanıklılık süreleri artar. Havadan veya sudan ileri gelen mikrobik kirlenme sonucu *E. coli* gibi penisiline dayanıklı mikroorganizmaların penisilin çözeltilerinde de penisilinaz salgılamaları nedeniyle, hızla penisilini parçalarlar. Birçok mikroorganizma türü penisiline-dayanıklılık derecelerine bakılmaksızın değişen miktarlarda ve saptanabilir oranlarda penisilinaz enzimi salgırlar. Keza - sindirim kanalındaki bazı enzimatik etkiler (amidazlar) ve pH durumunda bu yoldan verilen penisilin parçalanmasından sorumludur.

**Diğer etmenler:** Penisilinler bakır, cıva, demir, çinko ve özellikle lastik tıkaç ve damlalık üretiminde fazlaca kullanılan alüminyum gibi, bir grup metalden olumsuz yönde etkilenirler. Metaller penisilinlerin tiazolidin halkasına etkiyerek parçalarlar. Keza sistein gibi alkolik veya tiyol grupları içeren organik maddelerde penisilinlere antagonistik etki gösterirler. Bu nedenle alkolle dezenfekte edilen veya alkol içinde tutulan enjektörlerin kullanılmadan önce damıtık ve steril su ile çalkalanması gerekir.

**Standardizasyonları:** Doğal penisilin preparasyonlarının etkinliği Oxford birimiyle (O.Ü) değerlendirilir. Aynı birim daha sonra standart internasyonal birimi (İÜ.) olarak da kabul edilmiştir. Bir internasyonal penisilin birimi, 0.6 mikrogram miktarındaki arı kristal benzilpenisilin G sodyum etkinliğine eşdeğerdir. Aynı penisilin çeşidinin 1 mg'lık miktarı ise 1667 Oxford birimi etkinliğine sahiptir. Penisilin preparasyonlarının etkinliğini biyolojik olarak değerlendirmek için, bunların *Bacillus subtilis*'in duyarlı bir suşunun gelişmesini inhibe eden miktarı standart benzilpenisilin G sodyum'un aynı derecede inhibisyon yapan miktarı ile karşılaştırılır. Yeni geliştirilen yarı-senetik penisilin preparasyonlarının etkinliği ve dozu ağırlık birimiyle veya en iyisi mg hesabıyla değerlendirilir. Çeşitli penisilin türevlerinin belli bir ağırlık biriminde gösterdikleri antibakteriyel etkinlik az çok ayırım gösterir. Diğer bir anlatımla penisilin türevleri arasında genellikle nitel değil, fakat nicel farklar vardır. Ağırlık esasına göre etkinlik yönünden en etkin penisilin türü, penisilin G' dir. Bununla beraber

sağaltımda kullanılan penisilin preparasyonlarının 1 mg' nin etkinliği 1500 İ.Ü 'den olmaması gerekir.

**Etki şekilleri:** Penisilinler, antibakteriyel etkilerini, hem bakterisid ve hem de bakteriyostatik olarak etkimek suretiyle gösterirler. Mikroorganizmalarla değiniminden hemen sonra bakterisid etki göstermemekle dezenfektanlardan ayrılırlar. Bakterisid etkilerini, yapılarında muramik asit içeren hücre duvarı mukopeptidlerinin sentezini inhibe etmek suretiyle gösterirler.

Penisilinlerin antibakteriyel etkileri başlıca hücre zarı sentezinin inhibisonuna dayandığı için, gelişimini tamamlanmış ve hücre duvarı etkin olmayan bakteriler üzerinde herhangi bir etkileri olmaz. İnsan ve memeli hayvan hücre duvarları muramik asit içermediğinden penisilinlerden etkilenmezler. Penisiline dayanıklı mikroorganizmalar için de aynı durum söz konusudur (Şanlı, Y., 1999; Şanlı, Y., Kaya, S., 1994).

#### **2.8.1.4 Zehirlilikleri Ve Halk Sağlığı Yönünden Önem Taşıyan Özellikleri**

Penisilinler, yan etki niteliğindeki alerjik reaksiyonlar hariç tutulursa, her çeşit klinik kullanımlarda penisilinler tüm antibiyotikler içerisinde en az toksik etkili olan maddelerdir.

Günümüzde kullanılan penisilin türevlerinin toksik ve yan etkilerini aşağıdaki şekilde gruplandırarak incelemek daha uygun olur.

**Alerjik Etkileri:** Alerji yapma özelliği bütün penisilin türlerinde vardır. Bir penisilin türüne karşı duyarlı olan bir hasta, diğer penisilin türlerine de duyarlıdır. Antijen rolü oynayan faktör, penisilin metabolizma ürünü olan penisiloik asit ve 6-aminopenisilanik asidin proteinlerle yaptığı komplekstir.

Penisilinlere bağlı alerjik reaksiyon, ürtiker, diğer cilt döküntüleri ve anjiyonörotik ödem şeklindedir. Akut sistemik anafilaksi (anafilaktik şok), penisilinlerin en ciddi yan etkisidir. Hatta bazen ölümlle sonuçlanabilir. Penisilin alerjisi olan kişilerin bazılarının sefalosporinlere de alerjisi olduğu saptanmıştır. Penisilin tedavisine başlamadan önce hastaya daha önce penisilin verilip verilmediği, reaksiyon yapıp yapmadığı mutlaka sorulmalıdır. Penisilin alerjisi şüphe edilen bir kimseye ilaç verilmeden önce şu önlemler alınmalıdır.

- Adrenalin, hidrokortizon ve antihistaminik ampulleri enjektöre çekilmiş olarak hazır bulundurulmalıdır.

- Penisilin enjeksiyonu kolun aşağı kısmına, gerektiğinde turnike uygulanabilecek şekilde yapılmalıdır.
- Önce intradermal olarak 10 Ü dozunda yapılır. Reaksiyon olmazsa yarım saatlik aralarla doz arttırılarak verilir. Reaksiyon olmazsa istenilen şekilde ve dozda parantral penisilin verilir.
- Alerjik reaksiyon görüldüğü takdirde 0,5–1 mg adrenalin ve glukokortikoid verilir. Asidozu önlemek için sodyum bikarbonat, kan basıncını yükseltmek için de noradrenalin veya dopamin fizyolojik sıvılara eklenebilir.

**Yalın Toksik Etki:** Penisilinlerin yalın toksik etkileri çok zayıftır. Yüksek dozda verildiklerinde penisilin yanındaki katyonlara ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) bağlı toksik etkiler oluşabilir. Hipertansif hastalarda, böbrek yetmezliği olanlarda, konjestif kalp yetmezliği ve diğer ödemli durumlarda zararlı etki oluşturabilirler. Oral yoldan yüksek dozda kullanıldıklarında bulantı, kusma ve diyare yapabilirler. Geniş spektrumlu penisilinler uzun süreli tedavilerde barsakta flora bozulmasına bağlı süper enfeksiyon oluşturabilirler [1].

## 2.9 Aminoglikozid Antibiyotikler

Bu grupta yer alan antibiyotikler Aminoglikozid yapıdadırlar ve moleküllerdeki polikasyonik gruplardan dolayı oldukça kuvvetli baz niteliğine sahiptirler. Antibakteriyel etkileri bazik ortamda daha fazla artar. Genellikle sülfat tuzları şeklinde kullanılırlar. Sudaki çözeltileri bozulmaksızın, oda sıcaklığında uzun süre saklanabilir.

Streptomisin grubu olarak da tanınan bu grupta başlıca streptomisin ve dihidrostreptomisin, gentamisin, kanamisin, neomisin, paramemisin, tbramisin, spektinomisin, viyomisin ve amikasin bulunur.

Bakterilerde 30S' lik ribozomal alt üniteye bağlanarak protein sentezini bozmak suretiyle etkilerini gösterirler. Genellikle mide-barsak kanalından çok az emildikleri için parenteral yollardan veya yerel olarak kullanılırlar. Sağaltım dozları ile şekillenen etkili kan yoğunluklarında bazıları bakteriyostatik (streptomisin gibi), diğerleri de bakterisid etki (gentamisin gibi) gösterirler.

## 2.9.1 Streptomisin

Streptomisin, gram negatif bakteriler etkili olabilecek antibiyotiklerin araştırılması sonucunda 1944' de Waksman, Schatz ve Bugie tarafından *Streptomyces griseus* kültürlerinden izole edilmiştir.

### 2.9.1.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Streptomisin kuvvetli bir bazdır; asitler ile tuzlar meydana getirir. Sağaltımda büyük çoğunlukla sülfat ve daha az ölçülerde de hidroklorür ve pantotenat tuzları ile kalsiyum klorür kompleksi halinde kullanılır. Tüm streptomisin tuzları kokusuz, hafif acı lezzetli, beyaz, kristalize toz halindedirler. Suda kolayca çözünürler; fakat organik çözücülerde çözünmezler.

### 2.9.1.2 Dayanıklılığı

Streptomisin, penisiline göre nispeten dayanıklı bir yapıya sahiptir. Kuru toz halinde bir aydan fazla bozunmadan kalabilir. Kapalı şişeler içerisinde iki yıldan fazla etkinliğini korur. 28 °C dolayındaki sıcaklıkta etkinliği hızla kaybolur. Bununla beraber, streptomisin penisilin kadar sıcaklıktan etkilenmez; ancak yüksek ısıda parçalanma hızı artar. Pratikte tamponsuz olarak hazırlanmış çözeltileri soğutucuda korunmak koşuluyla bir hafta içerisinde kullanılabilir.

Kuvvetli asit ve alkali ortamda hızla bozulur; pH değeri 3' den küçük ve 8' den yüksek ortamlarda hidrolitik parçalanması hızlanır ve dönüşümsüz bir şekilde yıkımlanır. Sodyum sitrat ve tamponlanmış sulu çözeltileri önemli bir etkinlik kaybına uğramaksızın bir yıl süre ile saklanabilir.

Oksitleyici ajanların birçoğu (hidroksilamin gibi) streptomisinin etkinliğini azaltır. Günümüze değin penisilnazlar derecesinde streptomisini parçalayan bakteriyel bir enzimin varlığı saptanmamıştır. Ancak streptomisine dirençli bakteri suşlarının geliştiği ve hatta gelişimleri için streptomisine gereksinim gösteren suşların varlığı bilinmektedir. In vitro koşullarda antibiyotiğin bulunduğu ortamda yapılan birkaç pasaj sonunda ve in vivo koşullarda da birkaç gün içerisinde bakteriyel direnç gelişebilmektedir.

### 2.9.1.3 Antibakteriyel Etki Spektrumu

Streptomisin, geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Fakat duyarlı mikroorganizmalar üzerinde penisiline eşdeğer bir etki elde edebilmek için 50–100 katı daha fazla streptomisin gerekir.

Bilhassa *Pasteurella*, *Brucella*, *Hemophylus*, *Salminella*, *Klebsiella*, *Shigella* ve *Mycobacterium* türü bakteriler üzerinde etkilidir.

#### 2.9.1.4 Zehirliliği

Streptomisin, ihmal edilemeyecek derecede toksik etkili bir antibiyotiktir. Histamin yapılı kirliliklerden yoksun olduğu halde başlıca akut, kronik ve yerel duyarlılık belirtileri gibi olumsuz etkileri vardır.

İlaç kullanımına bağlı olarak şekillenen hasarın derecesine göre önce baş dönmesi ve ilerlemiş olaylarda da dönüşümsüz şekilde denge yeteneği kaybolur.

### 2.10 Mikroorganizmaların Üretildiği Ortamlar

Mikroorganizmaların uygun çevre koşulları sağlanarak çoğaltılmaları işleme üretme diyoruz. Mikroorganizmaların üretilmeleri için gerekli maddeleri içeren hazırlanmış ortamlar **besiyeri** olarak adlandırılır. Besiyerleri, mikroorganizmaların üretilmelerini dışında, benzerlerinden ayırt edilebilmelerinde ve özelliklerinin belirlenmelerinde kullanılır. Mikroorganizmaların canlı ortamlarda üretilmelerini için, deney hayvanlarından ve doku kültürlerinden yararlanılır.

Bazı mikroorganizmalar basit inorganik maddelerle beslenirler. Organik maddelere ihtiyaç göstermeyen bu mikroorganizmalara **ototrof** mikroorganizmalar adı verilir. Eğer mikroorganizma gerekli enerjiyi inorganik maddelerden oksidasyon yoluyla elde ederse bunlara **kemo ototrof** mikroorganizmalar adı verilir. Ototrof mikroorganizmalar enerjilerini güneş ışığından sağlarsa bunlara da **foto ototrof** mikroorganizmalar adı verilir.

Beslenmeleri için en az bir organik maddeye ihtiyaç gösteren maddelere **heterotrof** mikroorganizmalar denir. Kemoheterotrof ve fotoheterotrof özellikler burada da söz konusudur.

#### Mikroorganizmaların üretilme nedenleri:

Mikroorganizmaların üremeleri, insan sağlığı açısından tanımsal amaç taşır. Hastalık yapıcı etkenlerin ilgili vücut bölgelerinden üretilmeleri sonucunda hastalığın adının belirlenmesi imkanı doğar. Takiben patojen mikroorganizmaların yine besiyerlerinde antimikrobik maddelere duyarlılıkları saptanabilir. Sağlıklı tedavi yaklaşımları gerçekleşir. Ayrıca tedaviye cevap alınıp alınmadığı testlerle belirlenebilir. Çevremizde bulunan ve insan sağlığına etkili



su, süt, çeşitli yiyecek maddeleri, bazı ortam, araç ve gereçlerin mikroorganizma taşımaları açısından zaman zaman kontrol edilmeleri toplum ve çevre sağlığı açısından önem taşır.

Mikroorganizmalardan aşı, antiserum, antijen gibi gerekli maddelerin elde edilmeleri ve bilimsel araştırma amaçlı olarak üretilmeleri gerekir.

### **2.10.1 Mikroorganizmaların Besleme ve Üremeleri İçin Gerekli Maddeler**

Mikroorganizmaların canlılık faaliyetlerini sürdürebilmeleri için bazı ihtiyaçları vardır. Bu ihtiyaçlarından beslenme ve üremeleri için gerekli faktörler aşağıda belirtilmiştir.

#### **Su**

Bakteri hücresinin %70-90'ını su oluşturur. Suyun yeterli olmadığı ortamda bakterilerin üremesi düşünülemez. Metabolizma için gerekli çoğu maddeler suda çözülmüş olmalıdır.

#### **Karbon Kaynağı**

Bakteri hücresinin yapı taşlarının sentezi için gereklidir. Polisakkarit, lipid ve proteinlerin yapısında gerekli karbonlar için; CO<sub>2</sub>, karbonatlar ve organik kaynaklar kullanılır.

#### **Azot Kaynağı**

Bakterilerin protein yapısına girer ve ayrıca nükleik asitlerin bununla ilgili purin, primidin ve çeşitli enzimlerin yapısında bulunur. Azot kaynağı olarak, amonyum tuzları, nitrit, nitrat ve aminoasitlerden yararlanır.

#### **Mineraller**

Mikroorganizmaların ve enzimlerinin yapılarında çeşitli mineraller bulunur. Mikroorganizmalar için gerekli en önemli mineraller, kükürt, fosfor, magnezyum, kalsiyum, demir, potasyumdur.

#### **Hidrojen Verici ve Hidrojen Alıcı Maddeler**

Bütün mikroorganizmalar hidrojen verici nitelikteki enerji kaynağı maddelere ihtiyaç gösterirler. Bu nedenle okside olabilen maddeler gerekir. Hidrojen alıcı maddeler ise, aeroplara için oksijen, anaeroplara için inorganik veya organik bileşiklerdir.

#### **Gelişme Faktörleri ve Vitaminler**

Bazı bakteriler bu maddeleri kendileri sentez edebildikleri halde bazı bakteriler 30-40 temel maddeye gereksinim duyabilirler. Mikroorganizmaların gerek duydukları gelişme faktörlerinden bazıları biotin, riboflavin, piridoksin, nikotinik asit... gibi maddelerdir.

#### **Oksijen**

Bakterilerin bir grubu üremeleri için mutlak oksijen varlığına ihtiyaç duyarken, bir kısmı için ortamda hiç oksijen bulunmaması gereklidir. Bazı bakteriler ise ortamda oksijen bulsun

veya bulunmasını rahatlıkla üreyebilirler. Bir grup bakteri ise düşük miktardaki oksijen varlığında üreyebilir.

### **Karbondiyoksit**

Ototrof ve heterotrof bakteriler için karbondiyoksit hayati önem taşır. Bazı tıbbi önemi olan bakterilerin % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda üremeleri daha kolay olur.

## **2.10.2 Mikroorganizmaların Üremelerinde Etkili Faktörler**

Mikroorganizmalar ortamın sıcaklığı, basıncı, asitlik/bazlılığı ve oksidasyon koşullarından etkilenirler. Bu koşullar mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerinde de değişiklikler oluşturur. Özellikle mikroorganizmaların üremeleri üzerinde farklı etkileri vardır. Bu etkiler aşağıda ayrıntıları ile belirtilmiştir.

### **Isı**

Her bakterinin üreyebildiği bir minimum bir de maksimum ısı derecesi bulunmakla birlikte, en iyi üreyebildiği optimal ısı derecesi vardır. Isı değişikliğinden en çok bakteriyel enzimler etkilenir. Bakteriler üreyebildikleri ısılarına göre üç gruba ayrılırlar.

**Psikrofil bakteriler:** Bu grupta daha çok su ve toprakta yaşayabilen saprofit bakteriler yer alır. Genellikle -8° ile 15°C arasında üreyebilirler.

**Mezofil bakteriler:** İnsanlarda ve hayvanlarda hastalık yapan bakterilerin büyük bir kısmı bu grupta yer alır ve 20° ile 45°C arasındaki ısılarda üreyebilirler. Bu bakteriler vücut ısısı olan 37°C'de üretilirler.

**Termofil bakteriler:** Isıyı seven bakterilerdir. Termofil bakteriler 50°C'nin üzerindeki ısılarda üreyebilirler. Özel protein yapısı ve enzime sahip olduklarından yüksek ısılarda denatüre olmazlar.

### **Hidrojen İyon Yoğunluğu**

Ortamın hidrojen iyon konsantrasyonu (pH) başka bir deyişle ortamın asit veya alkali olması mikroorganizmaların üremesini etkiler. Her bakterinin üreyebildiği minimum ve maksimum pH değerleri vardır. Genelde bakteriler pH 6-8 arasında iyi üremekle birlikte en iyi pH 7,2 - 7,4 de ürerler.

### **Osmotik Basıncı**

Bakterilerin sitoplazmasında 5–10 atmosferi bulan osmotik basınç vardır. Mikroorganizmalar belirli bir mekanizma ile hücre içindeki osmotik basıncı dengede tutarlar. Bu durum potasyum (K<sup>+</sup>) iyonunun aktif olarak hücre içerisine alınması ve pozitif yüklü bir organik madde olan putrescine'nin dışarı atılması ile sağlanır. Bazı mikroorganizmalar ise beslenip üreyebilmek

için yüksek osmotik basınçlı ortamlara ihtiyaç duyarlar. Bunlara halofil mikroorganizmalar denir.

### **Oksidasyon Redüksiyon Potansiyeli**

Ortama oksidan yani elektron verebilme gücündeki maddelerle elektron alabilme yeteneğindeki redüktan maddeler bulunur. Oksidan maddelerin fazlalığında oksidasyon-redüksiyon potansiyeli yüksek, redüktan maddelerin fazlalığında ise düşük olur. Bazı bakteri grupları düşük oksidasyon redüksiyon potansiyelinde üreyebilirken, bazıları da yüksek potansiyelde üreyebilirler.

Bir ortamda elektron verici (oksidan) veya alıcı (redüktan) güç (oksidasyon redüksiyon potansiyeli) milivolt cinsinden ölçülmekte ve (Eh) simgesi ile ifade edilmektedir. Anaerob mikroorganizmaların üreyebilmesi için besiyerinin Eh derecesi 0.2 milivolt olmalıdır.

### **2.10.3 Besiyerlerinin Sınıflandırılması**

İnsan ve hayvanlarda çeşitli mikroorganizmalar hastalık oluştururlar. Bu mikroorganizmaların izolasyonu, tanımlanması ve üretilmesinde besiyerleri kullanılır. Besiyerleri canlı ve cansız ortamlar olarak ikiye ayrılırlar. Canlı ortamlar olarak sıklıkla hücre kültürleri, embriyonlu yumurta ve deney hayvanlarından yararlanılmaktadır.

Cansız ortamlar, genellikle bakterileri izole etme, üretme, çeşitli testleri uygulamak suretiyle ayırıcı tanı yapabilmeye kullanılan sıvı veya katı besiyerleridir. Klinik örneklerden ekim yapılırken üretilmesi düşünülen mikroorganizmanın özelliklerine göre uygun olan besiyeri veya besiyerleri seçilmelidir. Besiyerleri kullanım amacı içeriklerine göre gruplara ayrılmaktadır. Besiyerleri aşağıdaki başlıklar altında toplanarak, kısaca anlatılacaktır.

#### **2.10.3.1 Genel Kullanım Besiyerleri**

Günlük (= rutin) laboratuvar çalışmalarında kullanılan, insan ve hayvanların normal flora üyeleri ile bir çok hastalık etkeni mikroorganizmanın üreyebildiği besiyerleridir. Üreticilik özelliklerine göre temel ya da basit maddeler ile zenginleştirilerek hazırlanmış olmak üzere iki çeşit genel kullanım besiyeri bulunmaktadır.

Temel (basit) besiyerleri; et suyu, pepton, tuz gibi maddelerden hazırlanmaktadır. En sık kullanılan sıvı besiyerine **buyyon** denir. Buyyona agar eklenmek suretiyle elde edilen basit besiyerine ise **jelo** denir.

Zenginleştirilmiş besiyerleri, temel besiyerlerine kan, serum, glikoz, yumurta gibi maddelerin ilavesi ile hazırlanır. Basit besiyerlerinde üretilmeyen bazı mikroorganizmalar bu ortamlarda üretilbilirler.

### 2.10.3.2 Özel Besiyerleri

Üremeleri güçlük gösteren bazı mikroorganizmaların üretilmeleri için hazırlanan besiyerleridir. Bu tür besiyerleri çalışma amacına göre hazırlanarak kullanılır ve daha kompleks yapıdadırlar (Bilgehan, H., 2004).

### 2.10.4 Besiyerlerinde Üremelerin Değerlendirilmesi

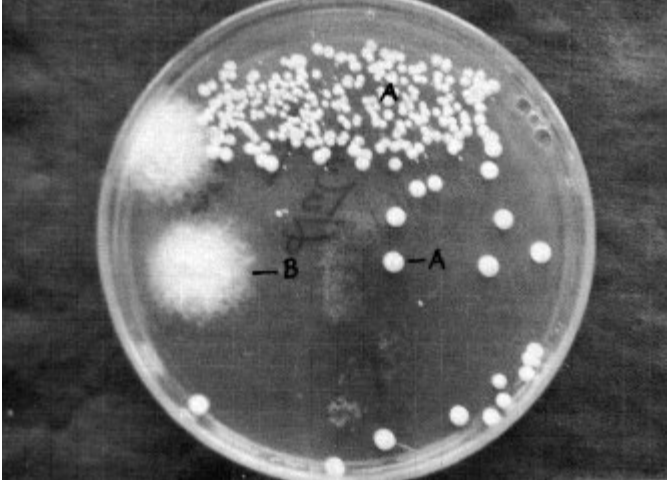
Sıvı besiyerlerinde ekimi takiben oluşan bulanıklık, tortu ya da zar oluşumu üremeyi gösterir. Üreme, bir öze dolusu alınan sıvının preparat yapılarak boyanması ve mikroskopta x100 büyütmede incelenmesi ile belirlenir.

Katı besiyerlerinde üreme, **koloni** oluşumu ile gözlenir. Her bir mikroorganizmanın bir koloni oluşturduğu kabul edilir. Kolonilerden alınan parçaların bir başka besiyerine ya da deney hayvanına aktarılması işlemine **pasaj** adı verilir. Koloni özellikleri bakteri türüne göre farklılıklar gösterir. Bu farklılıklar bakterileri tanımlamada bize yardımcı olur. Bununla birlikte bakteriler farklı besiyerlerinde farklı koloniler oluşturabilirler.

Bir bakteri kolonisinde, koloninin büyüklüğü, şekli, koloni kenarlarının ve yüzeyinin düzgün olup olmadığı, koloninin mat ve parlaklık durumu, rengi, kokusu, kıvamı ile kanlı besiyerlerinde oluşmuş bir koloni ise, hemoliz yapıp yapmadığı gözlenerek belirlenir.

Besiyerlerinde mikroorganizmaların üremelerinin sağlanması dışında onlara ait çeşitli biyokimyasal özellikler ile enzimatik aktiviteler belirlenebilir. Besiyerine katılan karbonhidratlardan asit ve/veya gaz oluşumu sitratın karbon "C" kaynağı olarak kullanılması, üreli bir ortamda üreaz enziminin varlığı araştırılır. Deneylerin sonuçlarının daha rahat gözlenebilmesi için indikatör madde olarak belirli pH'larda farklı renklere dönüşebilen boyalar besiyerlerine eklenir. Bu nedenle kanlı ve çukolata agar dışındaki pek çok besiyeri çok çeşitli renklindedir. Günlük mikrobiyolojik değerlendirmeler yapan laboratuvar elemanları besiyerlerini genellikle renkleriyle tanırlar. Örnek olarak, üreli agarda üreaz enzimi olan bir bakteri üremişse besiyerini pembe renge, sitratlı agarda, sitratı "C" kaynağı olarak kullanan bakteri besiyerini yeşilden maviye dönüştürmektedir.

**Mantarlar**, Sabouraud dekstroz agar (SDA) denen besiyeri en çok olmak üzere, çeşitli özel ortamlarda üretilirler. Genellikle 22°C'de (oda ısısında) bazen hem 22°C hem de 37°C'de (vücut ısısında) ekimi takiben 2–3 günden 7–10 güne kadar değişebilen sürelerde inkübe edilir. Maya ya da küf kolonileri yaparlar. Kolonilerin incelenmesi tanıda değerlidir.



**Şekil 2.1** : SDA da üretilmiş maya = candida (A) ve küf mantarı (B) kolonileri görülmektedir. [1]

**Viruslar**, canlı hücreler içinde üreme zorunluluğundadırlar. Bu amaçla doku kültürleri ve embriyonlu yumurta kullanılır. Sağlam ve düzenli hücrelerden tüp ve şişelerde hazırlanan doku kültürlerine, virus ya da virus taşıdığı düşünülen vücut sıvı veya salgıları ekilerek üremelerin ortaya çıkaracağı değişiklikler incelenir. Alınan örnekler, bazı etkenlerin üretilmelerini için embriyonlu yumurtanın farklı bölgelerine ekilir. Oluşturdukları değişiklikler incelenir ya da alınan sıvılarda çeşitli deneyler yapılır.

**Parazitler**, tanımlanmaları için besiyerlerine ekimleri kısıtlı gruba oluştururlar. Günlük çalışmalarda laboratuvarlarda parazitlerin üretilmesi işlemleri yapılmaz.

### 2.11 Antibiyotik Duyarlılık

İnfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kemoterapötiklerin, etkene yönelik seçilmesinde duyarlılık deneylerine gerek vardır. Antimikrobik ajanın etken mikroorganizma üzerinde in vitro aktivitesi tedavide göz önüne alınması gereken faktörlerden biridir. Bir antibiyotik antimikrobik aktivitesinin saptanması için uygulanan in vitro işlemlere genel olarak duyarlılık testleri adı verilmektedir (Jorgensen JH., 1997; Gülay Z., 1999).

Antimikrobik ilaçlara karşı duyarlılık birçok yöntem ile saptanabilmektedir. Rutin laboratuvarlarda uygulanan testlerle genellikle ilaçların inhibitör (bakteriyostatik) aktivitesi değerlendirilir. Bu amaçla uygulanan yöntemler:

1. Katı veya sıvı besiyerlerinde seyreltme (dilüsyon) yöntemleri
2. Disk difüzyon yöntemi
3. Gradyent difüzyon (Etest®) yöntemi

4. Antimikrobik ajanları inaktive eden enzimlerin saptanması olarak sıralanabilir (Jorgensen JH., 1997; Gülay Z., 1999).

Seyreltme yöntemlerinde standart sayıda bakteri topluluğu (inokulum), iki katlı dilüsyonlar şeklinde değişen yoğunluklarda antimikrobik ajan ile karşılaştırılır. İnkübasyon süresi sonunda gözle görünür üremeyi engelleyen en düşük antimikrobik ilaç yoğunluğu saptanır. Buna Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) denir ve (mg/L) şeklinde ifade edilir. MİK değerinin duyarlılığı mı yoksa direnci mi temsil ettiğini belirlemek için, bulunan konsantrasyon duyarlılık sınırı adı verilen bir değer ile karşılaştırılır. MİK, bu sınırdan düşük ise mikroorganizma söz konusu ajana “duyarlı” olarak değerlendirilir. Bunun dışında “orta” ve “dirençli” kategorileri de saptanır. Her antimikrobik ajan için bakteri türüne göre de değişen ayrı bir sınır değer söz konusudur. Seyreltme temeline dayanan testler kantitatif sonuç verdiği için yeğlenmektedir. Sıvı besiyerindeki seyreltme yöntemleri, tüpte uygulanıyorsa makro (tüp) dilüsyon, mikrodilüsyon plaklarında uygulanıyorsa mikrodilüsyon olarak adlandırılır (Jorgensen JH., 1997; NCCLS, M7-A4, 1997).

Disk difüzyon yönteminde belirli bir miktar antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakları yüzeyine yerleştirilir. Böylelikle, diskteki antibiyotik agar içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı oluşur. Bu alanın çapı ölçülerek “duyarlı”, “orta” ve “dirençli” olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlenir. Bu kategoriler ile ilgili sınır değerleri, her antimikrobik ajan için MİK ile korele edilerek ve erişilebilir serum düzeyleri göz önüne alınarak saptanır (Jorgensen JH., 1997; Gülay Z., 1999; NCCLS, M2-A5, 1997).

Etest: Difüzyon temeline dayanan ancak diskler yerine belirli ve sürekli bir konsantrasyon değişimi olacak şekilde antibiyotik içeren plastik striplerin kullanıldığı bir yöntemdir. İnkübasyon süresi sonunda, elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MİK olarak belirlenir. Bu yöntem özellikle *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* gibi güç üreyen bakteri türlerinin MİK değerlerinin saptanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Jorgensen JH., 1997; Baker CN, Stocker SA, Culver DM, 1991).

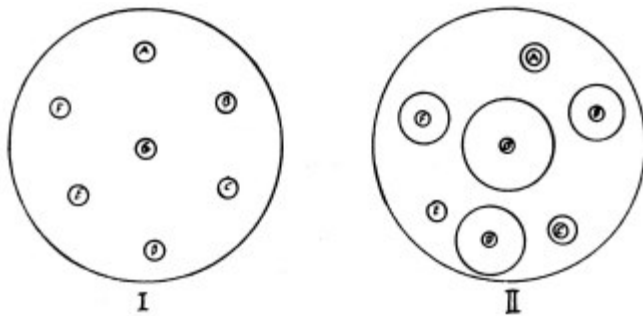
Enzim üretiminin saptanması: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *N. gonorrhoeae* gibi türlerde nitrosetin ile b-laktamaz aktivitesinin saptanması ya da *H. influenzae*

izolatlarında kloramfenikol asetil transferaz enzimi aktivitesinin biyokimyasal yöntemlerle gösterilmesi, antibiyotik direncinin klasik yöntemlere kıyasla daha hızlı saptanabilmesini sağlamaktadır (Jorgensen JH., 1997).

Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarının tekrarlanabilir olması, yani aynı koşullarda tekrarlandığında sonuçların aynı veya birbirine yakın olması gereklidir. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları birçok faktörden etkilenebilmektedir. Bu nedenle testlerin uygun koşullarda yapıp yapılmadığı kalite kontrol suşları ile denetlenir. Kalite kontrol suşları, sonuçlarının tekrarlanabilirliği %95'in üzerinde olan suşlardır. Bu suşlarla beklenen sonuçlar elde edilemezse antibiyotik duyarlılık testlerinin tekrarlanması gerekir (NCCLS, M7-A4, 1997; NCCLS, M2-A5, 1997; Kaygusuz A., 2000).

Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarının yorumlanması, yeni antibakteriyellerin ve bunlara karşı direnç oranlarının gelişimine paralel olarak, son 10 yıl içerisinde bakterilerin direnç mekanizmaları ile ilgili bilgilerin de çok arttığı görülmektedir. Direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, standart antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumlanmasına ve dolayısıyla akılcı tedavi seçimine katkıda bulunmaktadır.

Sürekli yeni antibiyotikler geliştirilmesine rağmen, genel olarak, bir antibiyotik ailesindeki üyelerden birine karşı duyarlılık veya direnç bulunması, diğerleri ile ilgili yorum yapılabilmesini sağlamaktadır (Courvalin P., 1996).



**Şekil 2.2 :** Disk difüzyon yöntemi kullanılarak petri kutusunda yapılmış bir antibiyotik duyarlılık deneyi (I) ile sonucu (II) şematik olarak görülmektedir. (A, C, E antibiyotikleri dirençli, F orta duyarlı, B, D, G duyarlı bir bakteri örneklenmiştir) [1]

### 3 MATERYAL VE METODLAR

Clemizole benzilpenisilin ve Streptomisin sülfate mikrobiyolojik miktar tayini çalışmasında kullanılan madde ve malzemeler ile metotlar bu başlık altında açıklanmıştır.

#### 3.1 Materyal

Miktar tayini çalışması için gerekli bütün madde ve malzemeler aşağıda belirtilmiştir.

##### 3.1.1 Kullanılan Malzemeler

Miktar tayini çalışmalarında kullanılan malzemeler, gerekli olanlar için markaları ile beraber, aşağıdaki listede belirtilmiştir. Çalışmalara başlamadan önce laboratuarda tüm bu malzemelerin bulunduğu ve çalışır durumda olduğu kontrol edildi.

- Roux şişesi
- Fisher-Lilly marka zon okuma cihazı
- Astell Scientific marka otoklav
- GFL marka su banyosu
- Hamilton marka mikropipet
- Heidolph marka manyetik karıştırıcı
- Sartorius marka hassas terazi
- Ender marka Pastör fırını
- Steril mikropipet uçları
- Steril pens
- Steril spatül
- Bek alevi
- Magnet
- Cam kalemi
- 10 ml. 'lik steril pipet
- 2 ml.'lik steril pipet
- Beko marka buzdolabı
- Petri kapları (121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilir.)
- Santrifüj tüpleri (121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilir.)
- Santrifüj
- 2 adet 200 ml.'lik balon joje



- 2 adet 50 ml.'lik balon joje
- 2 adet 500 ml.'lik balon joje
- 4 adet 50 ml.'lik balon joje
- İnkübatör, 37 °C 'ye ayarlanmış.
- Silindir (paslanmaz çelik) boncuklar (121 °C' 15 dakika otoklavda steril edilir.)

### 3.1.2 Kullanılan Maddeler

Kullanılan maddeler çalışma standartları, test mikroorganizmaları ve kimyasal maddeler olarak üç başlık altında toplanmıştır.

#### 3.1.2.1 Çalışma Standartları

Streptomisin sülfat çalışma standardı

Benzil penisilin çalışma standartları

#### 3.1.2.2 Test Mikroorganizmaları

*Bacillus subtilis* ATCC 6633 ( USP 29, <81>)

*Staphylococcus aureus* ATCC 12228 ( USP 29, <81>)

#### 3.1.2.3 Kimyasal Maddeler

Kimyasal maddeler tedarikçisinden sertifikalı olarak ve son kullanma tarihlerinin geçmiş olmaması kontrol edilerek temin edilir.

Çizelge3.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Adı	Markası
$KH_2PO_4$	J. T. Baker
$K_2HPO_4$	J. T. Baker
NaOH	J. T. Baker
$H_3PO_4$	J. T. Baker
NaCl	Riedel-de Haen

### 3.1.2.4 Besiyerleri

Miktar tayini çalışmalarında kullanılan besiyerleri USP <81>' de belirtilen özelliklere uygun olmalıdır. Besiyerleri tedarikçisinden sertifikalı olarak ve son kullanma tarihlerinin geçmiş olmaması kontrol edilerek temin edilir.

Çizelge 3.2 Kullanılan besiyerleri

Adı	Markası
Tryptic Soy Agar ( TSA)	Merck
Antibiotic Medium_I	Difco
Antibiotic Medium_II	Difco
Antibiotic Medium_V	Difco

## 3.2 Metodlar

Clemizole Benzilpenisilin ve Streptomisin sülfat için iki farklı metot kullanılmıştır. Her iki metot aşağıda ayrı ayrı açıklanmıştır.

### 3.2.1 Clemizol Benzilpenisilin Miktar Tayin Yöntemi

Clemizol Benzilpenisilin miktar tayini yöntemi deneysel koşulları açıklanmaktadır.

#### 3.2.1.1 Prensip

Mikrobiyolojik yöntem –disk difüzyon metodu- ile test organizması *Staphylococcus aureus* 12228 ATCC dirençliliğinin oluşturduğu inhibisyon zonunun ölçümü ve potens miktarının saptanmasıdır.

#### 3.2.1.2 Yöntem

Analize başlamadan önce ve bittikten sonra tezgah % 70'lik etilalkol ile temizlenir.

Çalışmalar sırasında mutlaka steril eldiven ve maske takılır.

Analizlere başlamadan önce besiyerleri ve tampon çözeltiler taze olarak hazırlanır.

### **Petrilere Ekim**

Petrilerin alt kısımlarının sırasıyla, **S<sub>1</sub>**, **S<sub>2</sub>**, **T<sub>1</sub>** ve **T<sub>2</sub>** yazıldı.

Petriler düzgün şekilde tezgah üzerine dizildi.

Petrilerin iki kat besiyeri bulunan yüzeyine dörder adet silindir pens yardımıyla birbirlerine eşit mesafede dikkatlice yerleştirildi.

Kalibrasyonu yapılmış mikropipet 0.1 ml damlatma derecesine ayarlandı.

Steril mikropipet uçları aseptik şartlar altında mikropipetin ucuna takıldı.

Her solüsyondan mikropipet ile tek çekim yapılarak petri içerisindeki solüsyonu temsil eden silindire damlatıldı.

Her çözelti için ayrı mikropipet uçlarının kullanılmasına dikkat edilmedi.

Tüm bu işlemler bittikten sonra inhibisyon zonu oluşması için bu petrileri oda sıcaklığın da bir süre beklettikten sonra petriler silindirler sarsılmayacak şekilde yavaşça etüve yerleştirildi. 35–37 °C 'de 18–24 saat inkübasyona bırakıldı.

### **3.2.2 Streptomisin Sülfat Miktar Tayini Yöntemi**

Streptomisin sülfat miktar tayini yöntemi deneysel koşulları açıklanmaktadır.

#### **3.2.2.1 Prensip**

Mikrobiyolojik yöntem –agar difüzyon metodu- ile test organizması *Bacillus subtilis* 6633 ATCC dirençliliğinin oluşturduğu inhibisyon zonunun ölçümü ve potens miktarının saptanmasıdır.

#### **3.2.2.2 Yöntem**

Analize başlamadan önce ve bittikten sonra tezgah % 70'lik etilalkol ile temizlenir.

Çalışmalar sırasında mutlaka steril eldiven ve maske takılır.

Analizlere başlamadan önce besiyerleri ve tampon çözeltiler taze olarak hazırlanır.

### **Petrilere Ekim**

Petrilerin alt kısımlarının sırasıyla, **S<sub>1</sub>**, **S<sub>2</sub>**, **T<sub>1</sub>** ve **T<sub>2</sub>** yazıldı.

Petriler düzgün şekilde tezgah üzerine dizildi.

Petrilerin iki kat besiyeri bulunan yüzeyine dörder adet silindir pens yardımıyla birbirlerine eşit mesafede dikkatlice yerleştirildi.

Kalibrasyonu yapılmış mikropipet 0,1 ml damlatma derecesine ayarlandı.

Steril mikropipet uçları aseptik şartlar altında mikropipetin ucuna takıldı.

Her solüsyondan mikropipet ile tek çekim yapılarak petri içerisindeki solüsyonu temsil eden silindire damlatıldı.

Her çözelti için ayrı mikropipet uçlarının kullanılmasına dikkat edildi.

Tüm bu işlemler bittikten sonra inhibisyon zonu oluşması için bu petrileri oda sıcaklığın da bir süre beklettikten sonra petriler silindirler sarsılmayacak şekilde yavaşça etüve yerleştirildi.

35–37 °C 'de 18–24 saat inkübasyona bırakıldı.

## 4 DENEYSEL ÇALIŞMA

### 4.1 Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Besiyerlerinin Hazırlanması

Bu çalışmada üç adet kimyasal çözelti hazırlığı ve dört adet besiyeri hazırlığı yapıldı. Hazırlık aşamasında tartım alma işlemine ve otoklavda sterilizasyon aşamasına dikkat edildi.

#### 4.1.1 pH 6.00 Tampon Çözelti Hazırlanması

8 gr.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 2gr. $\text{K}_2\text{HPO}_4$  tartıldı. Bu tartım 1000ml' ye destile su ile tamamlandı.

Çözelti pH = 6'ya 10 N NaOH veya 18N  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ile ayarlandı.

Sterilizasyon için 121 °C 'de 15 dakika otoklavda bekletildi.

#### 4.1.2 pH 8.00 Tampon Çözelti Hazırlanması

0,523 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 16,73 gr  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  tartıp tartımı destile su ile 1000 ml' ye tamamlandı.

Çözelti pH = 8'e 10N NaOH veya 18 N  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ile ayarlandı.

Sterilizasyon için 121 °C 'de 15 dakika otoklavda bekletildi.

#### 4.1.3 İzotonik Sodyum Klorid Çözelti Hazırlanması

9 gr Sodyum klorid tartıp, 1,000 ml.' lik bir balon jojeye alındı.

Destile su ile şişedeki işaretli yere kadar tamamlandı.

Sterilizasyon için 121 °C 'de 15 dakika otoklavda bekletildi.

#### 4.1.4 Besiyerlerinin Hazırlanması

- **Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinin hazırlanması:**

40 gr TSA tartılır ve 1000 ml destile su içersinde iyice çözüne kadar karıştırıldı. Otoklavda 121 °C 'de 15 dakika steril edildi.

- **Antibiotic Medium\_I Besiyerinin Hazırlanması:**

30.5 g tartılır ve 1000 ml destile su içersinde iyice çözüne kadar karıştırıldı. Otoklavda 121 °C 'de 15 dakika steril edildi.

- **Antibiotic Medium\_II Besiyerinin Hazırlanması:**

25.5 g tartılır ve 1000 ml destile su içersinde iyice çözüneneye kadar karıştırıldı. Otoklavda 121 °C 'de 15 dakika steril edildi.

- **Antibiotic Medium\_V Besiyerinin Hazırlanması:**

26.5 g tartılır ve 1000 ml destile su içersinde iyice çözüneneye kadar karıştırıldı. Otoklavda 121 °C 'de 15 dakika steril edildi.

## 4.2 Clemizol Benzilpenisilin Miktar Tayini Ön Hazırlık Çalışmaları

Ön hazırlık çalışmalarında test süspansiyonunun hazırlanması, petrilerin hazırlanması, standart ve numune çözeltilerinin hazırlanması anlatılmaktadır.

### 4.2.1 Test Organizma Süspansiyonunun Hazırlanması

- 200 ml TSA besiyer 4.1.4' de anlatıldığı şekilde hazırlandı.
- Hazırlanan TSA besiyeri Roux şişesine yavaşça aktarıldı. Şişenin ağız kısmı önce pamuk ve alüminyum folyo ile kapatıldı.
- Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edildi.
- Otoklavdan çıkarıldıktan sonra düz bir zemine yatırarak oda sıcaklığında donması beklendi.
- Stok kültür olarak buzdolabında 2<sup>0</sup>-8<sup>0</sup> C' de muhafaza edilen *Staphylococcus aureus* 3 ml serum fizyolojik ile yıkandı.
- Serum fizyolojik ile eğik agarda yıkanan *Staphylococcus aureus* Roux şişesindeki agar üzerine yayıldı ve homojen olarak dağılması için öne-arkaya ve sağa-sola doğru çalkalandı.
- Yayma işleminden sonra Roux şişesi içerisinde kalan süspansiyon döküldü.
- Roux şişesi 35° -37 °C 'de iki (2) gün inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda Roux şişesinde üreyen mikroorganizma 50 ml serum fizyolojik ile yıkandı.
- Mikroorganizma süspansiyonunu steril erlene alev yanında aktarıldı.
- Bu süspansiyondan 1 ml 19 ml' lik steril fizyolojik su ile dilüe edildi (1:20).
- Süspansiyon 14 gün buzdolabında 2<sup>0</sup>-8<sup>0</sup> C' de muhafaza edilebilir.

#### 4.2.2 Test Petrilerinin Hazırlanması

- Her numune için on iki (12) adet petri hazırlandı.
- Steril petrilere taban agar olarak gerekli miktarda 4.1.4' de anlatıldığı gibi Medium I hazırlandı.
- Besiyeri steril şartlar altında önceden Pastör fırınında 180<sup>0</sup>C 'de iki (2) saat süre tutularak steril edilmiş petrilere 15–20 ml döküldü.
- Besiyerinin petrilere donmasını beklendi.
- Üst katmanı ise Medium II oluşturdu.
- 4.1.4' de belirtildiği şekilde Medium II besiyeri gerekli miktarda hazırlandı. Su banyosunda 35–40 °C' ye kadar soğuması beklendi.
- Mikroorganizma süspansiyonu 100 ml için 1 ml olacak şekilde Medium II besiyeri içine inoküle edildi.
- İçerisinde mikroorganizma süspansiyonu inoküle edilmiş Medium II besiyeri, önceden tabana dökülen Medium I besiyeri üzerine aseptik şartlar altında döküldü ve donmasını beklendi.

#### 4.2.3 Standart Hazırlanması

- 17,08 mg. Benzil penisilin çalışma standardı hassas terazide tartıldı.
- 24,38 mg. Streptomisin sülfat çalışma standardı hassas terazide tartıldı.
- Standart tartımları 500 ml.'lik steril balon jöjeye aktarıldı. Bu tartımların üzerine bir miktar pH 6.00 tampon çözeltisi eklendi ve çözününceye karıştırıldı.
- Balon üzerindeki işaretli yere kadar tampon çözelti ile tamamlandı ve tekrar iyice çalkalandı (Stok solüsyon). Stok solüsyonu her çalışma için taze olarak hazırlanmalıdır.
- Stok solüsyondan 1 ml alınıp 50 ml' lik balon jöjeye aktarılır ve balonun üzerindeki işaretli seviyeye kadar tampon çözelti ile tamamlandı.
- 50ml 'lik balon içerisindeki bu çözeltiye **Büyük Doz** denir.
- Büyük dozdan 12 ml pipetle 50 ml'lik balon jöjeye aktarıldı.
- 12 ml'nin üzerini yine balon üzerindeki işaretli seviyeye kadar tampon çözelti ile tamamlandı. Buna da **Küçük Doz** denir.

#### 4.2.4 Numune Hazırlanması

- 41,81 mg numune hassas terazide tartıldı.
- Tartım 500 ml'lik balon jojeye alıp bir miktar tampon çözelti tampon çözeltisi eklendi ve çözününceye karıştırıldı.
- Balon üzerindeki işaretli yere kadar tampon çözelti ile tamamlandı ve tekrar iyice çalkalandı (Stok solüsyon). Stok solüsyonu her çalışma için taze olarak hazırlanmalıdır.
- Stok solüsyondan 1 ml alınıp 50 ml'lik balon jojeye aktarıldı ve balonun üzerindeki işaretli seviyeye kadar tampon çözelti ile tamamlandı.
- 50ml 'lik balon içerisindeki bu çözeltiye **Büyük Doz** denir.
- Büyük dozdan 12 ml pipetle 50 ml'lik balon jojeye aktarıldı.
- 12 ml'nin üzerini yine balon üzerindeki işaretli seviyeye kadar tampon çözelti ile tamamlandı. Buna da **Küçük Doz** denir.

#### 4.3 Streptomisin Sülfat Miktar Tayini Ön Hazırlık Çalışmaları

Ön hazırlık çalışmalarında test süspansiyonunun hazırlanması, petrilerin hazırlanması, standart ve numune çözeltilerinin hazırlanması anlatılmaktadır.

##### 4.3.1 Test Organizma Süspansiyonunun Hazırlanması

- 200 ml TSA besiyer 7.3.4.1' de anlatıldığı şekilde hazırlandı.
- Hazırlanan TSA besiyeri Roux şişesine yavaşça aktarılır. Şişenin ağız kısmı önce pamuk ve alüminyum folyo ile kapatıldı.
- Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edildi.
- Otoklavdan çıkarıldıktan sonra düz bir zemine yatırarak oda sıcaklığında donması beklendi.
- Stok kültür olarak buzdolabında 2<sup>0</sup>-8<sup>0</sup> C' de muhafaza edilen *Bacillus subtilis* 3 ml serum fizyolojik ile yıkandı.
- Serum fizyolojik ile eğik agarda yıkanan *Bacillus subtilis* Roux şişesindeki agar üzerine yayıldı ve homojen olarak dağılması için öne-arkaya ve sağa-sola doğru çalkalandı.
- Yayma işleminden sonra Roux şişesi içerisinde kalan süspansiyon döküldü.
- Roux şişesi 35° -37 °C 'de yedi (7) gün inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyondan sonra Roux şişesinde üreyen mikroorganizmayı 60 ml serum fizyolojik ile yıkandı.



- Serum fizyolojik içeren süspansiyon steril santrifüj tüpüne döküldü ve tüpteki sıvının yüksekliğini işaretlendi.
- Diğer bir santrifüj tüpüne de su konulur ve her iki tüp santrifüje yerleştirildi.
- Santrifüjün devrini yavaş yavaş arttırmak suretiyle 75–80 devirde 5 dakika santrifüj edildi.
- İlk santrifüjden sonra üstteki sıvı dökülüp dipteki tortu üzerine işaretli seviyeye kadar serum fizyolojik dolduruldu ve çalkalandı.
- Bu işlemi aynı şekilde iki kez daha tekrarlandı.
- Son santrifüjden sonra eklediğimiz serum fizyolojik ile çalkalandıktan sonra, bu süspansiyon bir erlen içine alındı.
- İçerisinde süspansiyon bulunan erlei 70 °C 30 dakika su banyosunda bekletildi.
- Süspansiyon 6 ay buzdolabında 2<sup>0</sup>-8<sup>0</sup> C’ de muhafaza edilir.

#### 4.3.2 Test petrilерinin Hazırlanması

- Her numune için oniki (12) adet petri hazırlandı.
- Steril petrilere taban agar olarak gerekli miktarda 4.1.4’ de anlatıldığı gibi Medium I hazırlandı.
- Besiyeri steril şartlar altında önceden Pastör fırınında 180 °C ‘de iki (2) saat süre tutularak steril edilmiş petrilere 15–20 ml döküldü.
- Besiyerinin petrilерde donması beklendi.
- Üst katmanı ise Medium V oluşturur.
- 4.1.4’ de belirtildiği şekilde Medium V besiyeri gerekli miktarda hazırlanır. Su banyosunda 35–40 °C’ ye kadar soğuması beklendi.
- Mikroorganizma süspansiyonu 100 ml için 1 ml olacak şekilde Medium V besiyeri içine inoküle edildi.
- İçerisinde mikroorganizma süspansiyonu inoküle edilmiş Medium V besiyeri, önceden tabana dökülen Medium I besiyeri üzerine aseptik şartlar altında döküldü ve donmasını beklendi.

#### 4.3.3 Standart Hazırlanması

- 22,73 mg. Benzyl penicilin çalışma standardı hassas terazide tartıldı.
- 35,26 mg. Streptomisin sülfat çalışma standardı hassas terazide tartıldı.
- Standart tartımları 200 ml.’lik steril balon jöjeye aktarıldı. Bu tartımların üzerine bir miktar pH 8.00 tampon çözeltisi eklendi ve çözününceye karıştırıldı.

- Balon üzerindeki işaretli yere kadar tampon çözelti ile tamamlandı ve tekrar iyice çalkalandı. Bu çözeltiye **Büyük Doz** denir.
- Büyük dozdan 12 ml pipetle 50 ml'lik balon jojeye aktarıldı.
- 12 ml'nin üzeri yine balon üzerindeki işaretli seviyeye kadar tampon çözelti ile tamamlandı. Bu çözeltiye de **Küçük Doz** denir.

#### 4.3.4 Numune Hazırlanması

- 55,73 mg numune hassas terazide tartıldı.
- Tartım 200 ml.'lik steril balon jojeye aktarıldı.  
Üzerine bir miktar pH 8.00 tampon çözeltisi eklendi ve çözününceye karıştırıldı.
- Balon üzerindeki işaretli yere kadar tampon çözelti ile tamamlandı ve tekrar iyice çalkalandı. Bu çözeltiye **Büyük Doz** denir.
- Büyük dozdan 12 ml alınıp 50 ml' lik balon jojeye aktarılır ve balonun üzerindeki işaretli seviyeye kadar tampon çözelti ile tamamlanır. Buna da **Küçük Doz** denir.

#### Miktar Tayini Hesaplama Yöntemi

Potens = (% Relatif Potens / 100) x Teorik Potens

$V = (T_1 + T_2) - (S_1 + S_2)$  = Numune Zonları Toplamı - Standart Zonları Toplamı

$W = (S_2 + T_2) - (S_1 + T_1)$  = Büyük Zonların Toplamı – Küçük Zonların Toplamı

$A = V/W \times T_N$  = Numune Standart Zon Farkı / Büyük-Küçük Zon Farkı x 0,04181 Sabiti

$\text{Log } S_2$  =  $S_2$  test konsantrasyonunun logaritması

$B = A + \text{Log } S_2$

$\text{Antilog } B$  = B' nin antilogaritması

$\% \text{ Relatif Potens} = (\text{Antilog } B / S_2 \text{ Konsantrasyonu}) \times 100$

**Sonuç** = (% Relatif Potens / 100) x Teorik Potens

## 5 SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Aşağıda Clemipen-Strep bitmiş ürününe ait farklı zamanlarda gelen üç şarj için çalışılan Benzilpenisilin ve Streptomisin sülfat miktar tayini çalışması sonucu oluşan zon çaplarının ölçüm sonucu, hesaplama değişkenleri ve sonuçların bulunduğu çizelgeler verilmiştir.

### 5.1 Sonuçlar

Aşağıdaki çizelgelerde farklı zamanlarda üretilen üç şarj Clemipen-Strep numunesi için Streptomisin sülfat ve Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini çalışması sonuçları ve hesaplama yöntemi belirtilmiştir.

#### 5.1.1 Clemizol Benzilpenisilin Miktar Tayini Sonuçları

Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini için Clemipen Strep farklı üç şarj ile yapılan üç çalışma sonucu aşağıdaki çizelgelerde belirtilmiştir. Her bir çalışma için aynı şartlar altında üç çalışma yapılır. Bu üç çalışmanın ortalaması esas potens değeri olarak alınır.

Her üç çalışmada standart olarak potensi 363 IU/mg olan Clemizole Benzilpenisilin çalışma standardı kullanıldı. Test mikroorganizması *Staphylococcus aureus* ATCC 12228 kültürü ile çalışıldı. Standartların test konsantrasyonları her üç çalışma içinde  $S_1 = 0.004$  -  $S_2 = 0.02$  IU/ml' dir. Her üç çalışmada da silindirlerin içerisine 0,1 ml hazırlanan solüsyonlardan damlatıldı.

Miktar tayini çalışmalarında Clemizole Benzilpenisilin için Biochemie tarafından önceden belirlenmiş limitler belirtilmiştir.

**Alt Limit:** 330 IU/mg; **Trend Limit:** 359 IU/mg (%90–115); **Üst Limit:** 395 IU/mg

Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini 1. çalışma sonuçları çizelge 5.3' de verildiği gibi her üç çalışma sonucu, limit ve trend değerleri içerisinde bulundu. Clemipen-Strep ürününün bu şarja ait Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini çalışması için sonuç "UYGUNDUR" denir.

Clemizole Benzilpenisilin miktar tayininin ilk çalışması için yapılan üç çalışma sonucunda ortaya çıkan zon çaplarının zone readerdan ölçülen sonuçları ve her çalışma için zon çapları toplamı çizelge 5.1' de belirtilir.

Standart zon çapları, standart için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını, numune zon çapları, numune için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını ifade eder.

Çizelge 5.1 Benzilpenisilin 1. çalışma sonucu ölçülen zon çapları

1. Çalışma	Standart Zon Çapları		Numune Zon Çapları	
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
1_1. Çalışma	16,2	17,0	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,0	17,4
	16,2	17,2	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,2	17,0
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>64,8</b>	<b>68,6</b>	<b>64,6</b>	<b>68,8</b>
1_2. Çalışma	16,2	17,0	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,0	17,4
	16,2	17,2	16,0	17,2
	16,2	17,2	16,2	17,0
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>64,8</b>	<b>68,6</b>	<b>64,4</b>	<b>68,8</b>
1_3. Çalışma	16,2	17,0	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,0	17,4
	16,2	17,2	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,2	17,0
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>64,8</b>	<b>68,6</b>	<b>64,6</b>	<b>68,8</b>

Clemizole Benzilpenisilin ilk çalışması için miktar tayini hesaplaması sırasında karşılaşılan değişkenler çizelge 5.2' de gösterilmektedir.

Çizelge 5.2 Benzilpenisilin 1. çalışma sonucu hesaplama değişkenleri

1. Çalışma	V	W	A	Log S <sub>2</sub>	B	Antilog b
1_1. Çalışma	0.0	8.0	0.000	-1.69897	-1.69897	0.02
1_2. Çalışma	-0.2	8.2	-0.001	-1.69897	-1.69999	0.02
1_3. Çalışma	0.0	8.0	0.000	-1.69897	-1.69897	0.02

Çizelge 5.3 Clemizole Benzilpenisilin ilk çalışması sonucunda elde edilen % relatif potens ve sonuçlar gösterilir. Bu sonuçların ortalamaları ile Clemipen –Strep içerisindeki Benzil penisilin miktarı 362.7 IU/mg olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 5.3 Benzilpenisilin 1. çalışma sonuçları

1. Çalışma	% Relatif Potens	Sonuç
1_1. Çalışma	100.00	363.0 IU/mg
1_2. Çalışma	99.77	362.1 IU/mg
1_3. Çalışma	100.00	363.0 IU/mg
<b>Sonuç Ortalamaları</b>	99.92	362.7 IU/mg

Miktar tayini hesaplama yöntemi formülü, ilk çalışma için açık formül örnek olarak hesaplanmıştır.

### Örnek Hesaplama Yöntemi:

**Örnek; 1\_2.** Çalışma üzerinden hesaplama yönteminin açık formülü verilmiştir.

$$V = (T_1+T_2) - (S_1+S_2) = (64,4+68,8) - (64,8+68,6) = - 0,2$$

$$W = (S_2+ T_2) - (S_1+ T_1) = (68,6+68,8) - (64,8+64,4) = 8,2$$

$$A = V/W \times T_N = -0,2/ 8,2 \times 0,04181 = - 0,00101976$$

$$\text{Log } S_2 = \text{Log } (0.002) = -1,69897$$

$$B = A+\text{Log } S_2 = (- 0,001)+ (-1,7) = -1.701 = -1,69998976$$

$$\text{Antilog } B = \text{Antilog } (-1.7) = 0.01995309$$

**% Relatif Potens =**

$$(\text{Antilog } B / S_2 \text{ Konsatrasyonu}) \times 100 = 0,01995309 / 0.02 \times 100 = 99,7654679$$

$$\text{Sonuç} = (\% \text{ Relatif Potens} / 100) \times \text{Teorik Potens} = (99,7654679 / 100) \times 363 \\ = 362.1 \text{ IU/mg}$$

Clemipen-Strep ikinci şarjı için yapılan Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini çalışmaları sonucu aşağıda açıklanmaktadır.

Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini 2. çalışma sonuçları çizelge 5.6' da verilmiştir. Her üç çalışma sonucu, limit ve trend değerleri içerisinde bulunmuştur. Clemipen-Strep ürününün bu şarja ait Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini çalışması için sonuç "UYGUNDUR" denir.

Clemizole Benzilpenisilin miktar tayininin ikinci çalışması için yapılan üç çalışma sonucunda ortaya çıkan zon çaplarının zone readerdan ölçülen sonuçları ve her çalışma için zon çapları toplamı çizelge 5.4' de belirtilir.

Standart zon çapları, standart için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını, numune zon çapları, numune için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını ifade eder.

Çizelge 5.4 Clemizole Benzil Penisilin 2. Çalışma Sonucu Oluşan Zon Çapları

2. Çalışma	Standart Zon Çapları		Numune Zon Çapları	
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
2_1. Çalışma	15,8	16,1	15,8	16,2
	15,6	16,2	15,6	16,2
	15,6	16,2	15,6	16,0
	15,8	16,2	15,8	16,2
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>62,8</b>	<b>64,7</b>	<b>62,8</b>	<b>64,6</b>
2_2. Çalışma	15,8	16,2	15,6	16,0
	15,6	16,2	15,8	16,1
	15,6	16,2	15,6	16,2
	15,6	16,2	15,8	16,2
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>62,6</b>	<b>64,8</b>	<b>62,8</b>	<b>64,5</b>
2_3. Çalışma	15,8	16,1	15,8	16,2
	15,8	16,2	15,6	16,2
	15,8	16,2	15,6	16,2
	15,6	16,2	15,8	16,2
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>63,0</b>	<b>64,7</b>	<b>62,8</b>	<b>64,8</b>

Clemizole Benzilpenisilin ikinci çalışması için miktar tayini hesaplaması sırasında karşılaşılan değişkenler çizelge 5.5' de gösterilmektedir.

Çizelge 5.5 Clemizolbenzil Penisilin 2. Çalışma Sonucu Hesaplama Değişkenleri

<b>2. Çalışma</b>	<b>V</b>	<b>W</b>	<b>A</b>	<b>Log S<sub>2</sub></b>	<b>B</b>	<b>Antilog b</b>
<b>2_1. Çalışma</b>	- 0.1	3.7	- 0.001	-1.69897	-1.70010	0.02
<b>2_2. Çalışma</b>	- 0.1	3.9	- 0.001	-1.69897	-1.70042	0.02
<b>2_3. Çalışma</b>	-0.1	3.7	- 0.001	-1.69897	-1.70010	0.02

Çizelge 5.6 Clemizole Benzilpenisilin ikinci çalışma sonucunda elde edilen % relatif potens ve sonuçlar gösterilir. Bu sonuçların ortalamaları ile Clemipen –Strep içerisindeki Benzil penisilin miktarı 362. 1U/mg olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 5.6 Benzilpenisilin 2. Çalışma Sonuçları

<b>2. Çalışma</b>	<b>% Relatif Potens</b>	<b>Sonuç</b>
<b>2_1. Çalışma</b>	99.74	362.1 IU/mg
<b>2_2. Çalışma</b>	99.75	362.1 IU/mg
<b>2_3. Çalışma</b>	99.74	362.1 IU/mg
<b>Sonuç Ortalamaları</b>	99.74	362.1 IU/mg



Clemipen-Strep üçüncü şarjı için yapılan Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini çalışmaları sonucu aşağıda açıklanmaktadır.

Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini 3. çalışma sonuçları çizelge 5.9’ da verilmiştir. Her üç çalışma sonucu, limit ve trend değerleri içerisinde bulunmuştur. Clemipen-Strep ürününün bu şarja ait Clemizole Benzilpenisilin miktar tayini çalışması için sonuç “UYGUNDUR” denir.

Clemizole Benzilpenisilin miktar tayininin üçüncü çalışması için yapılan üç çalışma sonucunda ortaya çıkan zon çaplarının zone readerdan ölçülen sonuçları ve her çalışma için zon çapları toplamı çizelge 5.7’ de belirtilir.

Standart zon çapları, standart için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını, numune zon çapları, numune için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını ifade eder.

Çizelge 5.7 Clemizole Benzilpenisilin 3. Çalışma Sonucu Oluşan Zon Çapları

3. Çalışma	Standart Zon Çapları		Numune Zon Çapları	
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
3_1. Çalışma	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,2	16,4	17,4
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>65,6</b>	<b>69,4</b>	<b>65,6</b>	<b>69,6</b>
3_2. Çalışma	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,2	16,4	17,3
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>65,6</b>	<b>69,4</b>	<b>65,6</b>	<b>69,5</b>
3_3. Çalışma	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,4	16,4	17,4
	16,4	17,2	16,4	17,3
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>65,6</b>	<b>69,4</b>	<b>65,6</b>	<b>69,5</b>

Clemizole Benzilpenisilin üçüncü çalışması için miktar tayini hesaplaması sırasında karşılaşılan değişkenler çizelge 5.8' de gösterilmektedir.

Çizelge5.8 Clemizol Benzilpenisilin 3. Çalışma Sonucu Hesaplama Değişkenleri

<b>3. Çalışma</b>	<b>V</b>	<b>W</b>	<b>A</b>	<b>Log S<sub>2</sub></b>	<b>B</b>	<b>Antilog b</b>
<b>3_1. Çalışma</b>	0.2	7.8	0.001	-1.69897	-1.06979	0.02
<b>3_2. Çalışma</b>	0.1	7.7	0.000	-1.69897	-1.69843	0.02
<b>3_3. Çalışma</b>	0.1	7.7	0.000	-1.69897	-1.69843	0.02

Çizelge 5.9 Clemizole Benzilpenisilin üçüncü çalışma sonucunda elde edilen % relatif potens ve sonuçlar gösterilir. Bu sonuçların ortalamaları ile Clemipen –Strep içerisindeki Benzil penisilin miktarı 363.6 IU/mg olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 5.9 Benzilpenisilin 3. Çalışma Sonuçları

<b>3. Çalışma</b>	<b>% Relatif Potens</b>	<b>Sonuç</b>
<b>3_1. Çalışma</b>	100.25	363.9 IU/mg
<b>3_2. Çalışma</b>	100.13	363.5 IU/mg
<b>3_3. Çalışma</b>	100.13	363.5 IU/mg
<b>Sonuç Ortalamaları</b>	100.17	363.6 IU/mg

### 5.1.2 Streptomisin Sülfat Miktar Tayini Sonuçları

Streptomisin sülfat miktar tayini için Clemipen Strep farklı üç şarj ile yapılan üç çalışma sonucu aşağıdaki çizelgelerde belirtilmiştir. Her bir çalışma için aynı şartlar altında üç çalışma yapılır. Bu üç çalışmanın ortalaması esas potens değeri olarak alınır.

Her üç çalışmada standart olarak potensi 453 IU/mg olan Streptomisin Sülfat çalışma standardı kullanıldı. Test mikroorganizması *Bacillus subtilis* ATCC 6633 kültürü ile çalışıldı. Standartların test konsantrasyonları her üç çalışma içinde  $S_1 = 0,07 - S_2 = 0,3$  IU/ml' dir. Her üç çalışmada da silindirlere içerisine 0.1 ml hazırlanan solüsyonlardan damlatıldı.

Miktar tayini çalışmalarında Streptomisin sülfat için Biochemie tarafından önceden belirlenmiş limitler belirtilmiştir.

**Alt Limit:** 413 IU/mg; **Trend Limit:** 449 IU/mg (%90–115); **Üst Limit:** 493 IU/mg

Streptomisin sülfat miktar tayini 1. çalışma sonuçları çizelge 5.12' de verilmiştir. Her üç çalışma sonucu, limit ve trend değerleri içerisinde bulunmuştur. Clemipen-Strep ürününün bu şarja ait Streptomisin sülfat miktar tayini çalışması için sonuç "UYGUNDUR" denir.

Streptomisin sülfat miktar tayininin ilk çalışması için yapılan üç çalışma sonucunda ortaya çıkan zon çaplarının zone readerdan ölçülen sonuçları ve her çalışma için zon çapları toplamı çizelge 5.10' da belirtilir.

Standart zon çapları, standart için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını, numune zon çapları, numune için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını ifade eder.

Çizelge5.10 Streptomisin Sülfat 1. Çalışma Sonucu Ölçülen Zon Çapları

1. Çalışma	Standart Zon Çapları		Numune Zon Çapları	
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
1_1. Çalışma	14,8	15,8	14,8	15,6
	14,8	15,8	14,8	15,8
	14,8	15,8	14,8	15,8
	14,8	15,8	14,8	15,8
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>59,2</b>	<b>63,2</b>	<b>59,2</b>	<b>63,0</b>
1_2. Çalışma	14,8	15,8	14,8	15,7
	14,8	15,8	14,8	15,8
	14,8	15,8	14,8	15,8
	14,8	15,8	14,8	15,8
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>59,2</b>	<b>63,2</b>	<b>59,2</b>	<b>63,1</b>
1_3. Çalışma	14,8	15,8	14,6	15,7
	14,8	15,8	14,8	15,8
	14,8	15,8	14,8	15,8
	14,8	15,8	14,8	15,8
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>59,2</b>	<b>63,2</b>	<b>59,0</b>	<b>63,1</b>

Streptomisin sülfat birinci çalışması için miktar tayini hesaplaması sırasında karşılaşılan değişkenler çizelge 5.11' de gösterilmektedir.

Çizelge 5.11 Streptomisin Sülfat 1. Çalışma Sonucu Hesaplama Değişkenleri

1. Çalışma	V	W	A	Log S <sub>2</sub>	B	Antilog b
1_1. Çalışma	- 0.2	7.8	- 0.001	-0.52288	-0.52431	0.30
1_2. Çalışma	- 0.1	7.9	- 0.001	-0.52288	-0.52358	0.30
1_3. Çalışma	- 0.3	8.1	- 0.002	-0.52288	-0.52494	0.30

Çizelge 5.12 Streptomisin sülfat birinci çalışma sonucunda elde edilen % relatif potens ve sonuçlar gösterilir. Bu sonuçların ortalamaları ile Clemipen –Strep içerisindeki Streptomisin sülfat miktarı 451.5 IU/mg olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 5.12 Streptomisin Sülfat 1. Çalışma Sonuçları

<b>1. Çalışma</b>	<b>% Relatif Potens</b>	<b>Sonuç</b>
<b>1_1. Çalışma</b>	99.67	451.5 IU/mg
<b>1_2. Çalışma</b>	99.84	452.3 IU/mg
<b>1_3. Çalışma</b>	99.53	450.9 IU/mg
<b>Sonuç Ortalamaları</b>	99.68	451.5 IU/mg

Clemipen-Strep ikinci şarjı için yapılan Streptomisin sülfat miktar tayini çalışmaları sonucu aşağıda açıklanmaktadır.

Streptomisin sülfat miktar tayini 2. çalışma sonuçları çizelge 5.15’ de verilmiştir. Her üç çalışma sonucu, limit ve trend değerleri içerisinde bulunmuştur. Clemipen-Strep ürününün bu şarja ait Streptomisin sülfat miktar tayini çalışması için sonuç “UYGUNDUR” denir.

Streptomisin sülfat miktar tayininin ikinci çalışması için yapılan üç çalışma sonucunda ortaya çıkan zon çaplarının zone readerdan ölçülen sonuçları ve her çalışma için zon çapları toplamı çizelge 5.13’ de belirtilir.

Standart zon çapları, standart için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını, numune zon çapları, numune için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını ifade eder.

Çizelge 5.13 Streptomisin Sülfat 2. Çalışma Sonucu Ölçülen Zon Çapları

2. Çalışma	Standart Zon Çapları		Numune Zon Çapları	
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
2_1. Çalışma	16,2	17,2	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,4	17,2
	16,2	17,2	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,2	17,2
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>64,8</b>	<b>68,8</b>	<b>65,0</b>	<b>68,8</b>
2_2. Çalışma	16,2	17,2	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,4	17,4
	16,2	17,2	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,2	17,2
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>64,8</b>	<b>68,8</b>	<b>65,0</b>	<b>69,0</b>
2_3. Çalışma	16,2	17,2	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,2	17,4
	16,2	17,2	16,2	17,2
	16,2	17,2	16,2	17,2
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>64,8</b>	<b>68,8</b>	<b>64,8</b>	<b>69,0</b>

Streptomisin sülfat ikinci çalışması için miktar tayini hesaplaması sırasında karşılaşılan değişkenler çizelge 5.14' de gösterilmektedir.

Çizelge 5.14 Streptomisin Sülfat 2. Çalışma Sonucu Hesaplama Değişkenleri

2. Çalışma	V	W	A	Log S <sub>2</sub>	B	Antilog b
2_1. Çalışma	0.2	7.8	0.001	-0.52288	-0.52145	0.30
2_2. Çalışma	0.4	8.0	0.003	-0.52288	-0.52009	0.30
2_3. Çalışma	0.2	8.2	0.001	-0.52288	-0.52152	0.30

Çizelge 5.15 Streptomisin sülfat ikinci çalışma sonucunda elde edilen % relatif potens ve sonuçlar gösterilir. Bu sonuçların ortalamaları ile Clemipen –Strep içerisindeki Streptomisin sülfat miktarı 454.9 IU/mg olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 5.15 Streptomisin Sülfat 2. Çalışma Sonuçları

<b>2. Çalışma</b>	<b>% Relatif Potens</b>	<b>Sonuç</b>
<b>2_1. Çalışma</b>	100.329575	454.5 IU/mg
<b>2_2. Çalışma</b>	100.643678	455.9 IU/mg
<b>2_3. Çalışma</b>	100.313473	454.4 IU/mg
<b>Sonuç Ortalamaları</b>	100.43	454.9 IU/mg

Clemipen-Strep üçüncü şarjı için yapılan Streptomisin sülfat miktar tayini çalışmaları sonucu aşağıda açıklanmaktadır.

Streptomisin sülfat miktar tayini 3. çalışma sonuçları çizelge 5.18’ de verilmiştir. Her üç çalışma sonucu, limit ve trend değerleri içerisinde bulunmuştur. Clemipen-Strep ürününün bu şarja ait Streptomisin sülfat miktar tayini çalışması için sonuç “UYGUNDUR” denir.

Streptomisin sülfat miktar tayininin üçüncü çalışması için yapılan üç çalışma sonucunda ortaya çıkan zon çaplarının zone readerdan ölçülen sonuçları ve her çalışma için zon çapları toplamı çizelge 5.16’ da belirtilir.

Standart zon çapları, standart için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını, numune zon çapları, numune için yapılan silindirlere ekim işleminden 24 saat sonra oluşan zon çaplarını ifade eder.

Çizelge 5.16 Streptomisin Sülfat 3. Çalışma Sonucu Ölçülen Zon Çapları

3. Çalışma	Standart Zon Çapları		Numune Zon Çapları	
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
3_1. Çalışma	15,4	16,2	15,4	16,2
	15,4	16,4	15,4	16,4
	15,4	16,4	15,4	16,4
	15,4	16,4	15,4	16,4
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>61,6</b>	<b>65,4</b>	<b>61,6</b>	<b>65,4</b>
3_2. Çalışma	15,2	16,2	15,4	16,2
	15,4	16,4	15,4	16,4
	15,4	16,4	15,4	16,4
	15,4	16,4	15,2	16,4
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>61,4</b>	<b>65,4</b>	<b>61,4</b>	<b>65,4</b>
3_3. Çalışma	15,2	16,4	15,4	16,4
	15,4	16,4	15,4	16,4
	15,4	16,4	15,4	16,4
	15,4	16,4	15,3	16,4
<b>Zon Çapları Toplamı</b>	<b>61,4</b>	<b>65,6</b>	<b>61,5</b>	<b>65,6</b>

Streptomisin sülfat üçüncü çalışması için miktar tayini hesaplaması sırasında karşılaşılan değişkenler çizelge 5.17' de gösterilmektedir.

Çizelge 5.17 Streptomisin Sülfat 3. Çalışma Sonucu Hesaplama Değişkenleri

3. Çalışma	V	W	A	Log S <sub>2</sub>	B	Antilog b
3_1.Çalışma	0.0	7.6	0.000	-0.52288	-0.52288	0.30
3_2.Çalışma	0.0	8.0	0.000	-0.52288	-0.52288	0.30
3_3.Çalışma	0.1	8.3	0.001	-0.52288	-0.52221	0.30



Çizelge 5.18 Streptomisin sülfat ikinci çalışma sonucunda elde edilen % relatif potens ve sonuçlar gösterilir. Bu sonuçların ortalamaları ile Clemipen –Strep içerisindeki Streptomisin sülfat miktarı 453.2 IU/mg olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 5.18 Streptomisin Sülfat 3. Çalışma Sonuçları

<b>3. Çalışma</b>	<b>% Relatif Potens</b>	<b>Sonuç</b>
<b>3_1. Çalışma</b>	100	453 IU/mg
<b>3_2. Çalışma</b>	100	453 IU/mg
<b>3_3. Çalışma</b>	100.154726	453.7 IU/mg
<b>Sonuç Ortalamaları</b>	100.1	453.2 IU/mg

## 5.2 Tartışma

Clemipen-Strep antibiyotiği ile yapılan üç çalışma sonucunda elde edilen Benzil penisilin ve Sterptomisin sülfat miktar tayini sonuçları çizelde 5.19' da gösterilmektedir.

Çizelge 5.19 Benzilpenisilin ve Streptomisin sülfat miktar tayini sonuçları

<b>Çalışmalar</b>	<b>Benzilpenisilin Sonuçları</b>	<b>Streptomisin sülfat Sonuçları</b>
<b>1. Çalışma</b>	362.7 IU/mg	451.5 IU/mg
<b>2. Çalışma</b>	362.1 IU/mg	454.9 IU/mg
<b>3. Çalışma</b>	363.6 IU/mg	453.2 IU/mg

Clemipen-Strep üç farklı şarj için yapılan miktar tayini sonuçları yukarıdaki çizelgede verilmiştir. Her üç çalışmada antibiyotikler için sonuçlar limitler içerisinde çıkmıştır.

Benzilpenisilin ve Streptomisin sülfat miktar tayini çalışmasında onikişer adet petri kullanıldı. Her üç bir çalışma için grup oluşturdu. Petrilere okunan zon çapları kayıt edildi. Miktar tayini hesaplanması için oluşturulmuş formül takip edilerek sonuçlar hesaplandı. Hesaplama

sonucu çıkan sonuçlar her iki madde içinde limit ve trend değerleri içinde olduğu için Clemipen-Strep ürününün miktar tayini analiz sonuçları için “UYGUNDUR” denildi.

Miktar tayin çalışmalarında ilk ve en önemli basamak ön hazırlık çalışmalarıdır. Burada, kullanılan çalışma standartları, besiyerleri ve kimyasal maddelerin son kullanma tarihleri kontrol edilmeli son kullanma tarihi geçen madde varsa hemen imha edilmelidir. Örneğin, son kullanma tarihi geçmiş besiyeri ile son kullanma tarihi henüz gelmemiş ve kullanılmakta olan besiyeri ile aynı mikroorganizmanın aynı dilüsyon seviyesi kullanılarak besiyeri üreme kontrolü yapıldığında kullanıldığında görülecektir ki son kullanma tarihi geçmiş besiyerinde üreme diğeri kadar fazla olmayacaktır. Bu çalışmada kullanılan bütün besiyerleri ve kimyasal maddeler son kullanma tarihi gelmemiştir. Bu nedenle, ön hazırlık çalışmalarının tam ve doğru olarak hazırlandığından emin olmadan petrilere ekim aşamasına geçilmemelidir. Ön hazırlık çalışmalarında önemli olan mikroorganizmaların ön inkübasyonudur. Özellikle *Bacillus subtilis*' in ön inkübasyon süresi yedi (7) gündür. Yedi gün beklendikten sonra *Bacillus subtilis* kullanılarak miktar tayini çalışması başlatılabilir. Böyle olmadığı takdirde mikroorganizma aktivitesini gösteremeyeceği için petrilere inkübasyon sonrası oluşan zon çapları küçük olacaktır. Bu da numuneye ait gerçek potens değerini vermeyecektir.

Potens çalışmalarında en hassas aşama dilüsyon ve çelik silindirlere damlatma basamağıdır. Dilüsyon işleminde; balon jojelerin üzerindeki çizgili bölgeye kadar tampon çözelti ile tamamlanması sırasında 0,01 ml' lik eksik veya fazla damlatma standart küçük/büyük zonlarda, aynı şekilde numune büyük/küçük zonlarda farklı büyüklüklerin oluşmasına sebep olur. Bu nedenle, çalışma sırasında mutlaka dikkatli davranılmalıdır. Aksi takdirde tüm çalışma tekrarlanmak zorunda kalır. Silindirler içerisine damlatma işlemi için de aynı riskli durum geçerlidir. Petrilere içerisine yerleştirilmiş dört adet silindirin içerisine mikropipet ile 0,1 ml damlatma yapılır. Bu işleme başlamadan önce kullanılan mikropipetin kalibrasyonu kontrol edilmeli, gerekirse, işleme başlamadan önce, laboratuarda kalibrasyon yapılmalıdır. Damlatma işlemine başlamadan önce, petrilere sarsılmaz bir zemin üzerine düzenli olarak yerleştirilmiş ve dört adet silindir içerisine dizilmiş olmalıdır. Damlatma sırasında mikropipet tek hareket ile çekilip bırakılmalıdır. Bu sırada elin titrememesine, silindirin besiyeri üzerinde sallanmamasına, besiyeri üzerine damlatma yapılmamasına özen gösterilmelidir. Bu çalışmada yukarıda bahsedilen durumlardan hiçbirini gerçekleştirilmemiş ve hiçbirine rastlanmamıştır.

Besiyerleri, çalışma yapılacağı gün hazırlanmalıdır. Otoklavdan 121<sup>0</sup>C' lik sıcaklıkla çıkarılan besiyerleri ağızları kapalı olarak su banyosuna yerleştirilmelidir. Besiyerleri 45-50<sup>0</sup>C' ye soğutulduktan sonra steril edilmiş petri kaplarına dökülmelidir. Besiyerinin soğutulması sayesinde petri kutusunun kapağında buharın yoğunlaşması önlenmiş olur. Böylece petri kaplarının iç kısımlarından besiyeri üzerine su damlaması ihtimali ortadan kalkar. Aksi takdirde, yani petri kapağının iç kısmında su damlacıklarının bulunması, silindirler besiyeri üzerine yerleştirilip içerilerine standart veya numune solüsyonları damlatıldıktan sonra kapağının kapatılması ile kapağın iç kısmında kalan su damlacıklarının silindirlerin içerisine damlamasına sebep olur. Bu çalışmada böyle bir durum ile karşılaşılmasıdır. Çünkü su banyosu sıcaklığı iki termometre ile kontrol edildi ve besiyeri su banyosuna konulduktan 45 dakika sonra kullanılmaya başlandı.

Üst tabakaya dökülecek besiyerleri de 45-50<sup>0</sup>C' ye soğutulduktan sonra içerisine mikroorganizmalar inoküle edilmelidir. Mikroorganizmaların besiyerlerine sıcak inoküle edilmesi ya bütün mikroorganizmaların ölmesine veya sayılarının azalmasına sebep olur. Böylece zon çapları oluşmayacak veya olması gerekenden daha büyük zon çapları oluşacağı için antibiyotiğe ait gerçek potens değeri bulanamayacaktır. Bu nedenle analiz mutlaka tekrarlanmalı ve yapılan hataların tekrarlanmamasına özen gösterilmez. Böyle bir durum ile, yukarıda açıklanan sebeplerden dolayı, bu çalışmada karşılaşılmamıştır.

Çözeltilerden kaynaklanabilecek hatalar; Örneğin benzilpenisilin çalışması için hazırlanmış olan stok solüsyon ön hazırlık çalışmalarındaki aksaklık yüzünden aynı gün kullanılmadı ve ertesi gün kullanılmak üzere 2-8<sup>0</sup>C' deki buzdolabına kaldırıldı. Ertesi gün buzdolabından çıkarılan stok solüsyon oda ısısına getirildikten sonra kullanıma alındı ve çalışma yapıldı. Bu çalışmanın sonucunda oluşan zon çapları gerçek değeri vermez. Çünkü bir/birkaç gün bekletilen antibiyotiğin etkinliğinde kaynaklarda belirtilen değerlere göre yaklaşık % 16' sını kaybeder. Bu durumda böyle bir stok solüsyon ile yapılacak çalışmada çıkan değerleri gerçeği yansıtmayacaktır.

**KAYNAKLAR**

Acet, A., (1989), “ Hayvansal Gıdalarda Antimikrobiyal İlaç Rezidüleri” Türk Veteriner Hekimliği Derg. 3: 32–36

Akkan, H.A., Karaca, M. (2003), “Veteriner İç Hastalıklarında antibiyotik Kullanımı” YYÜ Vet. Fak. Derg., 14 (2): 72-77

Arman D., (1998), “ Etkene göre antibiyotik seçimi”, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) Çalışma Grubu, Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı kitabında, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No. 33, İstanbul, s: 9.

Baker CN, Stocker SA, Culver DM et al., (1991), “Comparison of E-test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria”, J Clin Microbiol., 29:533–8.

Bassetti D, Bassetti M, Montero E., (2000) “Strategies for antibiotic selection in empirical therapy”, Clin Microbiol Infect., 6 (suppl 3):98–100.

Başoğlu, A., (2000), “Veteriner İç Hastalıklarında Genele Tedavi”, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 109-160.

Courvalin P., (1996) “Interpretive reading of in vitro antibiotic susceptibility tests (the antibiogramme)”, Clin Microbiol Infect 2(suppl 1): S26–34.

Craig WA. (1998), “Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men”, Clin Infect Dis., 26:1

Doğan, A., Liman, B., C., Yavuz, H., Akar, F., Filazi, A. (1990), “Tavşan Dokularında Eritromisin Kalıntı Düzeylerinin araştırılması”, A.Ü. Vet. Fak. Derg. 37(2):323–329

Dökmeci, İ., Akçasu, A., Banoğlu, N., Berkarda, Ş., ve ark. (1992), “Farmakoloji İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar” Editör, İsmet Dökmeci, Nobel Tıp Kitapevleri, 705785.

Evans, R.J., (1991),” Clinical Pharmacology”, The Rational Basis of Drug Therapy. In: Canine Medicine and Therapeutics. Eds. Chandler, E.A., Thompson, D.J., Sutton, J.B., Price, C.J. 3th ed. Blackwell Science, London, 829-856

Gülay Z. (1999), “Antimikrobiyal ilaçlara direnç”, In: Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara. Güneş Kitabevi. 91–108.

Gülay, Z., (2002), “Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu”, Toraks Dergisi, Cilt 3, Sayı 1, Sayfa(lar) 075-088.

Jorgensen JH. (1997), “Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance”, Infect Dis Clin North Am., 11:785–802.

Kaya, S., (1984), “Hayvansal Üretimde Gelişmeyi Hızlandırıcı Maddeler ve Sakıncaları” A.Ü. Vet. Fak. Derg. 31(3): 410–423

Kaya, S., Şahal, M., (1989), “ Besinlerimizdeki ilaç kalıntıları, bunlara ilişkin tolerans düzeyleri, ilaç verilmiş hayvanlarda uyulması gereken kesim öncesi bekletme veya sütün kullanılmama süreleri” A.Ü. Vet. Fak. Derg. 36(2): 390–403

Kaya, S., Yavuz, H., B.C., Akar, F., Liman, B.C., Filazi, A., (1993), “Mezbahadan sağlanan sığır et, karaciğer ve böbrek örneklerinde antibiyotik kalıntıları” A.Ü. Vet. Fak. Derg. 39: (1-2) 13-29

Kayaalp, O., (1991), “Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji”, 6. Baskı, Feryal Matbaacılık. Ankara, 826–863.

Kaygusuz A., (2000), “ Hastanede sık rastlanan antibiyogram örnekleri”, ANKEM Dergisi, 14:512-7

Moellering RC Jr., (1998), “Problems with antimicrobial resistance in Gram positive cocci”, Clin Infect Dis., 26: 1177- 8.

National Committee for Clinical Laboratory Standards, (1997). Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically. Approved standart M7-A4, Wayne Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standards.

National Committee for Clinical Laboratory Standards, (1997 ). Performance standarts for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standart M2-A5, Wayne Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standards.

The United States Pharmacopeia (2006), "Antibiotics-Microbial Assays <81>" USP 29 NF 24 The United states Phaamacopeial Convention 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852.

Sağmanlıgil, H., (1989), "Antibiyorezistans Oluşumu Ve Sağlık Yönünden Getirdiği Sorunlar" U.Ü. Vet. Fak. Derg. 8-9: 249-256

Şanlı, Y., Kaya, S., (1994), "Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım Seçenekleri", Medisan Yayınevi, Ankara, 571-650

Şanlı, Y., (1999), "Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım İlkeleri", Özkan Matbaacılık, Ankara, 719-722.

Şener, S., (1990), "Veteriner Klinik Farmakoloji ve Formüller" Pethask veteriner Hekimliği Yayınları, sf. 83-91

**İNTERNET KAYNAKLARI**

[1] <http://www.aof.edu.tr/kitap/EHSM/1212/unite07.pdf>

**ÖZGEÇMİŞ**

Doğum Tarihi : 05.02.1980

Doğum Yeri : İstanbul

Lise : 1994–1997 Özel Evrim Lisesi

Lisans : 1998–2003 Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans : 2003-... Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı

**Çalıştığı Kurumlar**

2004–2005 Topkim İlaç Premiks Sanayi ve Ticaret A.Ş.

2005- Eczacıbaşı Özgün Kimyasal Ürünler San. ve Tic. A.Ş