T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ

Danışman:
Doç. Dr. Ahmet Ata ALTURFAN

ARITMA TESİSLERİNDEKİ ATIK SULARDA BAKTERİLERİN FENOTİPİK YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI VE ADLİ BİLİMLERDEKİ ROLÜNÜN İNCELENMESİ

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MOL. BİO. PERİHAN SEDA ATEŞ

İSTANBUL, 2016

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje Numarası: 48684

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer Hocam
Doç. Dr. Ahmet Ata Alturfan'a,

Özellikle laboratuvar konusunda bilgi ve deneyimiyle her zaman yanımda olan ve beni destekleyen Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Çakan'a,

Çalışmamın anaerop bakteriler ile ilgili kısmını birlikte yürüttüğüm Sayın Hocam Prof. Dr. Hrisi Bahar Tokman'a,

Çalışmalarımızda bize destek veren Prof. Dr. Gökhan Aygün'e

Pozitif enerjisiyle bana her zaman destek veren Sayın hocam Prof. Dr. Salih Cengiz'e

İSKİ Genel Müdürü Dr. Dursun Atilla Altay'a

İSKİ Atık Su Arıtma Daire Başkanı Osman Fındık'a

Çev. Müh. Dr. Mevra Yalvaç'a

Manevi desteğini her zaman hisettiren laboratuvar partnerim ve sevgili arkadaşım Buse Bozaslan'a,

Değerli meslektaşlarım ve arkadaşlarım Dolay Damla Çelik, Gamze Bildik ve Tuğçe Ayık'a,

Ve son olarak beni yetiştiren ve bugünlere getiren sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Perihan Seda ATEŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR ..... **I**
İÇİNDEKİLER ..... **II**
KISALTMALAR ..... **V**
TABLO LİSTESİ ..... **VI**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **VII**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. Atık Su Kavramı **4**
2.1.1. Atık Suların Fiziksel Özellikleri 4
2.1.2. Atık Suların Kimyasal Özellikleri 4
2.1.3. Atık Suların Biyolojik Özellikleri 6
2.1.4. Atık Suların Değişken Özellikleri 7
2.2. Atık Su Arıtmada Hedefler **8**
2.3. Ataköy İleri Biyolojik Atık Su Arıtma Tesisi **9**
2.4. Arıtılmış Atık Suların Yeniden Kullanım Alanları **10**
2.4.1. Tarımsal Kullanımı 10
2.4.2. Kentsel ve Evsel Kullanım 11
2.4.3. Endüstriyel Kullanım 12
2.4.4. Yeraltı Suyu Beslemesi 12
2.5. Bakterilerin Genel Özellikleri **13**
2.6. Mikrobiyal Beslenme ve Metabolizma **17**
2.6.1. Makro ve Mikroelementler 17
2.6.1.1. Karbon 17
2.6.1.2. Nitrojen (azot) 18
2.6.1.3. Hidrojen, oksijen, sülfür, fosfor 18
2.6.2. Atık Sularda Bulunan Mikro ve Eser Elementler 18
2.6.3. Bakteriler İçin Gerekli Olan Büyüme Faktörleri 19
2.6.4. Atık Sularda Bakterilerin Üremesi İçin Önemli Olan Temel Unsurlar 19
2.6.5. Bakterilerce Metabolik Olaylarda Kullanılan Makromoleküller 20
2.6.6. Bakterilerde Yüksek Enerjili Moleküller 21

2.7. Atık Suda Bulunan Bakterilerin Genel Sınıflandırması 21
2.7.1. Fakültatif Anaerop Gram Negatif Çomaklar 21
2.7.1.1. Enterobacteriaceae 22
2.7.1.2. *Vibrio* spp. 26
2.7.1.3. *Aeromonas* spp. 27
2.7.1.4. *Pseudomonas* spp. 27
2.7.1.5. *Acinetobacter* spp. 28
2.7.1.6. *Legionella spp.* 28
2.7.1.7. Koliform Bakteriler 28
2.7.2. Gram Pozitif Koklar 31
2.7.2.1. Stafilokoklar 31
2.7.2.2. *Micrococcus* spp. 32
2.7.2.3. *Streptococcus* spp. 32
2.7.2.4. *Enterococcus* spp. 33
2.7.3. Gram Negatif Koklar 34
2.7.3.1. *Neisseria* spp. 34
2.7.4. Gram Pozitif Çomaklar 34
2.7.4.1. *Bacillus* spp. 34
2.7.4.2. *Corynebacterium* spp. 35
2.7.4.3. *Listeria* spp. 35
2.7.5. Anaerop Bakteriler 35
2.7.5.1. Anaerop Gram Pozitif Koklar 36
2.7.5.2. Anaerop Gram Negatif Koklar 37
2.7.5.3. Anaerop Gram Pozitif Çomaklar 37
2.7.5.4. Anaerop Gram Negatif Çomaklar 37
2.8. Su İle Bağlantılı Bazı Enfeksiyöz Hastalıklar 38
2.8.1. Campylobacter Kaynaklı Hastalıklar 39
2.8.2. Salmonella Tiplerinden Kaynaklanan Hastalıklar 39
2.8.3. *E. coli* Kaynaklı Hastalıklar 40
2.8.4. Shigella Kaynaklı Hastalıklar 40
2.8.5. Kolera 40
3. GEREÇ VE YÖNTEM 41
3.1. Kullanılan Besiyerleri 41
3.2. Gereçler 42
3.3. Örneklerin Toplanması ve Laboratuvara Taşınması 43

3.4. Çeşitli Besiyerleri ve Hazırlanma Yöntemleri 43
3.4.1. Kanlı Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı 44
3.4.2. ENDO Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı 45
3.4.3. EMB Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı 46
3.4.4. MacConkey Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı 47
3.4.5. TSİ Besiyeri ve Hazırlanışı 48
3.4.6. SS Agar Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı 48
3.4.7. Anaerop Agar Özellikleri ve Hazırlanışları 49
3.4.7.1. Feniletil Alkollü Anaerop Agar 50
3.4.7.2. Kanamisin-Vankomisinli Anaerob Agar 50
3.5. Kullanılan Ekim Yöntemi 50
3.6. Preparat Hazırlanması 51
3.7. Gram Boyama 51
3.8. Kullanılan Kimyasal Testler 53
3.8.1. Katalaz Testi 53
3.8.1.1. Lamda Katalaz Testi 53
3.8.2. KOH Testi 54
3.8.3. Koagülaz Testi 54
3.8.3.1. Lamda Koagülaz Testi 54
3.8.4. TSİ Besiyerine Ekim 55
3.8.5. Oksidaz Testi 56
3.9. API Testleri ve Çalışma Prensipleri 57
3.9.1. API 20 E 57
3.9.2. API 20 NE 60
3.9.3. API Staph 63
4. BULGULAR 65
5. TARTIŞMA 78
6. SONUÇ 87
7. ÖZET 88
8. SUMMARY 89
9. KAYNAKLAR 90
EKLER 96
ÖZGEÇMİŞ 97

KISALTMALAR

AAT : Atık su arıtma tesisi

BOİ : Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı

DGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

EMB : Eosin Methylene-blue

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization

IMVIC : İndol, Metil kırmızısı, VP, Sitrat

KCN : Potasyum Siyanür

KOİ : Kimyasal Oksijen İhtiyacı

LİA : Lysine Iron Agar

MDSA : Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*

MSA : Mannitol Salt Agar

PCR : Polymerase Chain Reaction

SOD : Süperoksit Dismutaz

SS : Salmonella- Shigella

t-RFLP : Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism

TSA : Triptik Soy Agar

TSİ : Triple Sugar İron

VP : Voges- Proskauer

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1: API 20 E Stribinin Okuma Kılavuzu 59
Tablo 3.2: API 20 NE Stribinin Okunma Kılavuzu 62
Tablo 3.3: API Staph Stribinin Okunma Kılavuzu 64
Tablo 4.1: Tespit Ettiğimiz Bakteri Türleri 65

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Atık su arıtımının temel basamakları 9
Şekil 2.2: Şekilleri itibari ile genel bakteri yapısı 16
Şekil 2.3: Genel bakteri içeriği 16
Şekil 3.1: Tezimde kullandığım besiyerleri 41
Şekil 3.2: Örnek alım kapları 43
Şekil 3.3: Kompozit örnek alım cihazı 43
Şekil 3.4: Ekim yapılmamış kanlı besiyeri 44
Şekil 3.5: Beta hemoliz yapmış bir örnek 44
Şekil 3.6: Ekim yapılmamış ENDO Agar 45
Şekil 3.7: Ekim yapılmamış EMB Agar 46
Şekil 3.8: Ekim yapılmamış MacConkey Agar 47
Şekil 3.9: Hazırlanan TSİ besiyerleri 48
Şekil 3.10: Ekim yapılmamış SS Agar 49
Şekil 3.11: Feniletil alkollü ve kanamisin-vankomisinli anaerop agarlar 50
Şekil 3.12: Azaltma yöntemi ile ekim yapılmış bir plak 51
Şekil 3.13: Gram boyama 52
Şekil 3.14: Katalaz pozitif bir örnek 53
Şekil 3.15: KOH pozitif bir örnek 54
Şekil 3.16: Koagülaz pozitif bir örnek 55
Şekil 3.17: TSİ sonuçları birbirinden farklı örnekler 56
Şekil 3.18: Oksidaz pozitif ve negatif örnekler 57
Şekil 4.1: İzole edilen *Chromobacterium violaceum* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü 66
Şekil 4.2: İzole edilen *Citrobacter freundii* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü . 66
Şekil 4.3: İzole edilen *Enterobacter cloacae* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü 67
Şekil 4.4: İzole edilen *Vibrio parahaemolyticus* bakterisinin API 20 NE stribindeki görünümü 67
Şekil 4.5: İzole edilen *Klebsiella oxytoca* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü 68

Şekil 4.6: İzole edilen *Klebsiella pneumoniae* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü 68
Şekil 4.7: İzole edilen *Morganella morganii* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü69
Şekil 4.8: İzole edilen *Proteus penneri* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü..... 69
Şekil 4.9: İzole edilen *Proteus mirabilis* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü 70
Şekil 4.10: İzole edilen *Proteus vulgaris* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü..... 70
Şekil 4.11: İzole edilen *Providencia rettgeri* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü71
Şekil 4.12: İzole edilen *Providencia stuartii* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü 71
Şekil 4.13: İzole edilen *Vibrio algnolyticus* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü. 72
Şekil 4.14: İzole edilen *Vibrio cholerae* bakterisinin API 20 NE stribindeki görünümü ... 72
Şekil 4.15: İzole edilen *Escherichia coli* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü 73
Şekil 4.16: İzole edilen *Rahnella aquatilis* bakterisinin API 20 E stribindeki görünüm.... 73
Şekil 4.17: İzole edilen *Staphylococcus aureus* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü..... 74
Şekil 4.18: İzole edilen *Staphylococcus haemolyticus* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü..... 74
Şekil 4.19: İzole edilen *Staphylococcus saprophyticus* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü..... 75
Şekil 4.20: İzole edilen *Staphylococcus sciuri* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü..... 75
Şekil 4.21: İzole edilen *Staphylococcus epidermidis* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü..... 76
Şekil 4.22: Pseudomonas'ın MacConkey agardaki saf kültürü 76
Şekil 4.23: *Prevotella spp.'*nin ışık mikroskobundaki görüntüsü 77
Şekil 4.24: *Bacteroides fragilis* 'in ışık mikroskobundaki görüntüsü..... 77

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Su insanoğlunun vazgeçilmezidir. Dünyamızın yaklaşık %70'i sularla kaplıdır. Buna rağmen bu suların ancak %3 kadarı kullanılabilir tatlı sudur ve bu tatlı suyun %75'i donmuş halde kutuplarda bulunmaktadır. İnsanoğlunun kullanma amaçlı ulaşabileceği tatlı sular dünyadaki su miktarının yaklaşık olarak ancak %1'idir. Bu durum göz önüne alındığında tatlı su kaynaklarının korunmasının ve atık suların uygun şekilde arıtılarak yeniden kullanılmasının önemi gelecekte çok daha iyi anlaşılacaktır. Hızlı nüfus artışı, kentleşme ve sanayileşme sonucunda insan ihtiyaçlarına bağlı olarak evsel ve endüstriyel atık sular gün geçtikçe artmakta, kullanılan suyun kalitesi ise her geçen gün azalmaktadır.

Ticari ya da endüstriyel faaliyetin yürütüldüğü alanlardan ve evsel faaliyetler ile insanların günlük yaşam faaliyetlerinin yer aldığı okul, hastane, otel gibi hizmet sektörlerinden kaynaklanan sulara atık sular denmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde arıtma işleminden geçen atık sular park, bahçe, tarım arazilerinin sulanması, içme suyu, binalarda kalorifer suyu ve tuvalet gider suyu, yangın söndürme suyu, taşıt yıkama suyu gibi çeşitli alanlarda alternatif olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden ileri biyolojik atık su arıtma tesislerindeki suyun bakterilerce etkin bir şekilde arıtılması hayati önem taşımaktadır.

Sağlık açısından suyun miktarı kadar temizliği de önemlidir. İnsanoğlunun ihtiyacı olan temiz suya ulaşabildiğinde dünyadaki hastalıkların %80'inden fazlasının önlenebileceği bildirilmiştir. Bu dikkate değer önemli bir tespittir. (1). Su ile ilgili sağlık sorunlarının çoğunluğu suyun kirliliği ile ilgilidir. Temiz ve içilebilir su kaynaklarının lağım, kanalizasyon ve sanayi atıkları ile kontamine olması en büyük kirlilik sebebidir. Öyle ki yeryüzündeki tüm hastalıkların yarıya yakını su ile bulaşmaktadır. Son literatür bilgisine göre yılda 250 milyon kişi hastalanmakta ve 5 milyondan fazla ölüm gerçekleşmektedir. Su ile bulaşan ishal etkenleri sonucu yılda 2 milyondan fazla ölüm görülmekte ve bu ölümlerin yarısından fazlası çocuklarda görülmektedir (2). Atık sularda bulunabilen *Vibrio cholerae, Escherichia coli, Klebsiella sp, Campylobacter sp, Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Norwalk virus,* Shigella dysenteriae, *Enterobacter cloacae, Proteus sp, Entamoeba histolytica, Giardia lamblia,*

Cryptosporidium parvum mide ve barsak enfeksiyonlarına neden olabilen patojen özellikteki sadece birkaç mikroorganizmadır (3).

Ülkemizde ve dünyada iklimsel değişiklikler sebebi ile sık sık sel felaketleri ve taşkınlar meydana gelmektedir. Arıtma tesislerine gelen giriş suyu ile hemen hemen benzer özellik gösteren atık ve lağım sularının olası bir sel felaketi ile çevreye yayılması önemli bir sorundur. Ayrıca bu suların sızıntı yolu ile şebeke suyuna karışma ihtimalini de göz önünde bulundurmak gerekir. Buna benzer bir durum 2009 yılı Eylül ayında Ayamama ve Tavukçu Derelerinin taşmasıyla İstanbul'da yaşanmıştı. Kanalizasyon sularının yağmur suları ile karışması sonucunda sel felaketinin çevreye verdiği hasarın yanı sıra salgın hastalık tehdidiyle de karşı karşıya kalınabilmektedir. Buradan yola çıkarak arıtma tesislerinin giriş sularının mikrobiyolojik özelliklerinin iyi analiz edilmesi ve bu sularda bulunma ihtimali olan patojen bakterilerin bir envanterinin çıkarılmasına katkı yapmak çalışmamızın amaçlarından biridir.

Atık su arıtma tesisleri açık bakteri rezervuarlarıdır. Burada bulunan patojen bakteriler tesiste çalışan personel için risk oluşturmaktadır. Çalışmamızda amaçladığımız arıtma tesisinin giriş suyundaki bakteri profilinin ortaya konulması tesis çalışanlarının atık su ile kontamine olmaları durumunda hangi tip hastalıklara maruz kalabileceklerini ortaya koymak ve bununla ilgili gerekli tedbirlerin alınmasını sağlamaya katkıda bulunacaktır. Bu şekilde iş sağlığı, iş güvenliği ve hijyen kurallarının gözden geçirilmesi, eğer gerekli ise ek tedbirlerin alınmasının yanı sıra konu ile ilgili çıkartılan yasa ve yönetmelikler insan sağlığını korumak ve kollamak içindir.

Atık suların yukarıda bir bölümü sayılan patojen mikroorganizmalardan ve çeşitli toksik kimyasal maddelerden arındırılmaksızın deniz, göl ve akarsu gibi alıcı ortamlara verilmesi hem halk sağlığını tehdit etmekte hem de çevre kirliliğine neden olmaktadır. İyi arıtılmadan alıcı ortama verilen atık sular deniz, göl ve akarsularda yaşayan canlıları enfekte edebilmekte, bunları besin olarak bünyesine alan insan dahil her canlı da hastalık riski ile karşı karşıya kalabilmektedir. Bu nedenlerle AAT'lerinde çeşitli sebeplerle etkin arıtım yapılamaması durumunda nehir, akarsu, deniz gibi alıcı ortama verilen suyun neden olabileceği çevre kirliliği ve olası hastalık tiplerini ön görmek çalışmamızın amaçlarından bir diğeridir. Kamu sağlığına karşı işlenen suçlarda (TCK 185. Madde) içilecek, kullanılacak ya da tüketilecek sulara toksik maddeler

katarak insan hayatının tehlikeye atılması hakkında cezai uygulama gözardı edilmemelidir.

Biyolojik arıtma atık su içerisindeki çözünmüş organik maddelerin bakteriyolojik faaliyetlerle ayrıştırılarak giderilmesi işlemidir. İleri biyolojik atık su arıtma tesislerinde arıtım çeşitli cinslerdeki bakteriler tarafından yapılmaktadır. Etkin arıtım yapılabilmesi için belirli bakteri cinslerinin mutlaka ortamda bulunması gerekmektedir. Çünkü bu bakteriler aktif çamur havuzuna giderek orada çoğalarak arıtıma katkıda bulunacaklardır. Çalışmamız amaçlarından biri de bu bakterilerin varlığını tespit etmektir.

Yukarıda amaçları özetlenen çalışmamızın özellikle atık su arıtma tesislerinde sağlıklı ve güvenli bir çalışma ortamı oluşturulmasına, mevcut standartların daha da yükseltilmesine bunun yanı sıra su kirliliği ve halk sağlığı ile ilgili mevcut yasaların gözden geçirilerek yeni yasa ve yönetmeliklerin çıkarılmasına katkı sağlayacağına inanmaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ATIK SU KAVRAMI

Evsel, endüstriyel, tarımsal ve diğer kullanımlar sonucunda kirlenmiş veya özellikleri kısmen ya da tamamen değişmiş sulara atık su denilmektedir. Anayasa'nın Çevre Kanunu'na göre; "Atık sular önlemsiz olarak doğaya bırakılamaz" (4). Evsel atık sular; evler, siteler, konutlar, motel ve oteller gibi yerleşim birimlerindeki kullanım sonucu oluşan kirli kanalizasyon sularıdır. Bu sulardaki en büyük kirlilik yüklerini; deterjanlar, organik maddeler ve yağlar oluşturmaktadır (5).

Endüstriyel atık su ise endüstriyel kuruluşlardan, imalathanelerden, atölyelerden, tamirhanelerden, küçük sanayi sitelerinden ve organize sanayi bölgelerinden kaynaklanan her türlü işlem ve yıkama artığı olarak oluşan sulardır (6).

2.1.1. Atık Suların Fiziksel Özellikleri

Ortalama olarak evsel atık sular 720 mg/l toplam katı madde içerir. Toplam katı maddenin yaklaşık 500 mg/l'si çözünmüş hâlde, geri kalanı ise askıda katı durumdadır. Çözünmüş ve askıdaki katılar sabit ve uçucu hâlde olabilir. Atık suda bulunan organik maddelerin bozulmasıyla oluşan gazlar kokuya neden olmaktadır. Yağlar, petrol ve organik çözücüler de atık suyun kokmasına sebebiyet verir. Genellikle atık su sıcaklığı, kış aylarında hava sıcaklığından daha yüksektir. Yaz aylarında ise hava sıcaklığından daha düşüktür.

Su renksiz ve kokusuz bir maddedir. İçilebilir nitelikte bir su renksiz ve berraktır. Suyun rengi; içerisindeki endüstriyel atıklara, organik ve inorganik bir takım eriyiklere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Atık suların rengi gri, kahverengi ve siyah olabilmektedir (7).

2.1.2. Atık Suların Kimyasal Özellikleri

Atıksular organik maddeler içerdiğinden, bunların konsantrasyonları, yani sudaki miktarları, kirlilik derecesinin ölçüsü olarak kabul edilir. Organik maddenin ölçüsü olarak, biyokimyasal oksidasyon sırasında harcanan oksijen miktarı esas

alınabilir ve bu değer de BOİ olarak adlandırılır. İçerisinde mikroorganizmalar bulunan kanalizasyon veya endüstri atık sularına oksijen verildiği takdirde, bakteriler aracılığı ile, kararsız (çürüyebilen) maddeler aerobik parçalanmaya uğrar. Bu ayrışma sırasında bir miktar oksijen sarf edilir. Çürüyebilen maddeler kararlı hale dönüşürler. Organik maddelerin aerobik şartlarda kararsız halden kararlı hale gelmeleri için bakteriler tarafından kullanılan oksijen miktarına, "biyokimyasal oksijen ihtiyacı" denir (7).

Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) sudaki yükseltgenebilir maddelerin kimyasal yolla oksitlenmeleri için gerekli oksijen miktarıdır. Evsel ve özellikle endüstriyel atıksuların kirlilik derecesini belirlemede kullanılan en önemli parametrelerden biri kimyasal oksijen ihtiyacıdır. BOI' den farklı olarak organik maddenin biyokimyasal reaksiyonlarla değil redoks reaksiyonlarıyla oksitlenmesi esasına dayanır (7).

Atık suyun pH değeri biyolojik ve kimyasal arıtma işlemlerinin belirlenmesinde önemlidir. İçme suyunun pH değeri 6–8 arasında, deniz suyunun 8, ve evsel atık suyun ise 7–8 arasındadır.

Evsel atık sularda klorürlerin belli başlı kaynağı insan idrarıdır. Su sertliğinin yüksek olduğu yörelerde, su yumuşatıcılarının kullanılması ile büyük miktarda klorür atık suya karışmaktadır.

Atık suda alkalinite; kalsiyum, magnezyum, sodyum, potasyum gibi elementlerin hidroksit, karbonat ve bikarbonatların varlığından veya amonyaktan oluşmaktadır. Atık su genelde alkalidir.

Azot ve fosfor atık sudaki mikroorganizmalar için besin maddesidir. Azot yeterli olmadığı durumlarda atık suyun arıtılması için azot ilavesi gerekebilir. Evsel atık suda azot, biyolojik arıtım için gerekli miktarda vardır. Alıcı ortama deşarj edilen arıtılmış atık suda fosfor varsa alıcı ortamda ötrifikasyona sebep olabilir.

Sülfat iyonu doğal olarak atık suda mevcuttur. Sülfatlar, kimyasal olarak anaerobik koşullarda bakteriler tarafından sülfürlere ve hidrojen sülfüre (H_2S) indirgenir. Daha sonra H_2S biyolojik olarak sülfürik aside oksitlenir.

Nikel, kuşun, krom, kadmiyum, çinko, bakır ve cıva gibi ağır metaller ve oluşturdukları bileşikler mikroorganizmalar için toksiktir. Bu nedenle atık suyun biyolojik arıtımı aşamasında sorun yaratabilir.

Evsel atık sularda normal şartlarda ağır metaller ve zehirli elementler bulunmaz. Evsel atık sularda bulunan gazlar; azot, oksijen, karbondioksit, amonyak ve metandır. Atık sulardaki oksijen miktarı, mikroorganizmaların oksijen tüketimi sebebi ile çok düşüktür. Organik maddelerin anaerobik parçalanmasının yan ürünlerinden biri metan gazıdır. Bu gaz çabuk alev alan ve patlama tehlikesi olan bir gazdır. H_2S gazı da toksik etkili bir gazdır (6,7).

2.1.3. Atık Suların Biyolojik Özellikleri

Evsel atık sularda bulunan belirgin organizma grupları; bitkiler, hayvanlar, mantarlar, protozoa, virüsler, bakteriler ve algler gibi mikroorganizmalardır. Evsel atık sudaki mikroorganizmaların birçoğu insanlar ve hayvanlar için hastalık yapıcı özelliktedir. Koliform bakteriler insan atıklarından kaynaklanan kirlenmenin bir göstergesidir. Algler ise atık su ve durgun sularda tat ve koku problemlerine yol açmaktadır (8).

Bakterilerin bir kısmı atık su arıtımına katkı sağlamaktadır. Atık suyun arıtımı esnasında organik maddeler bakteriler aracılığıyla parçalanır. Mikroorganizmalar kolloidal ve karbonlu organik maddeleri çeşitli gazlara ve protoplazmaya çevirir. Çünkü protoplazma suyun özgül ağırlığından biraz daha fazla özgül ağırlığa sahip olduğu için arıtılmış sıvıdan serbest çökelme yoluyla uzaklaştırılabilir (7).

Aktif çamur sisteminde atık su içerisindeki organik maddenin ayrışmasını sağlayan en önemli mikroorganizmalar bakterilerdir. Havalandırma tankında organik atığın bir kısmı, kalan organik maddenin yeni hücrelere sentezinde enerji elde etmek için aerobik ve fakültatif bakterilerce kullanılır. Gerçekte organik atığın yalnızca bir kısmı NO_3^- , SO_4^- ve CO_2 gibi düşük enerjili bileşiklere oksitlenir. Kalanı hücresel maddeye sentezlenir. Son ürünlerden önce ara ürünler de oluşmaktadır. Genel olarak aktif çamur sistemindeki bakteriler Pseudomas, Zoogloea, Achomobacter, Flavobacterium, Nocardia, Bdellovibrio, Mycobacterium grubunun üyeleri ile Nitrosomonas ve Nitrobacter olarak tanınan nitrifikasyondan sorumlu bakterilerdir. Bunlara ek olarak değişik şekillerdeki Sphaerotilus, Beggiatoa, Thiothrix, Lecicothrix ve Geotrichum da mevcut olabilir. Gerçekte atık sudaki organik atığı azaltan mikroorganizmalar bakteriler olsa da diğer mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri

de önemlidir. Örneğin protozoa ve rotiferler çıkış suyu parlatıcıları olarak hareket ederler. Protozoa yumaklaşmamış dağınık bakterileri, rotifer çökmeyen küçük biyolojik parçacıkları tüketir (9).

Atık sularla ilgili olarak başlıca besi maddeleri azot ve fosfordur. Bu maddeleri içeren deşarjlar alıcı su ortamlarında ötrofikasyona neden olur. Atık sularda azot genellikle amonyak veya organik azot olarak bulunur. Çok az miktarlarda da nitrit veya nitrat azotu mevcuttur. Azot gideriminde iki temel mekanizma asimilasyon ve nitrifikasyon-denitrifikasyondur. Azot bir besin maddesi olduğundan arıtma işlemindeki mevcut bakteriler amonyak azotunu asimile etmekte ve hücre kütlesi ile birleştirmektedir. Amonyak azotunun bir kısmı hücre ölümü ve bozunması nedeniyle atık suya geri döner. Nitrifikasyon-denitrifikasyon mekanizmasının ilk adımı olan nitrifikasyonu Nitrosomas ve Nitrobacter türü bakteriler sağlamaktadır. Nitrosomas amonyağı ara ürün olan nitrite okside eder. Nitrit Nitrobakter tarafından nitrata dönüştürülür (9).

İkinci adım olan denitrifikasyon nitrat şeklindeki azotun azot gazına dönüştürülerek uzaklaştırma işleminin oksijensiz ortamda biyolojik olarak gerçekleşmesidir. Nitrat dönüşümü heterotrof bakterilerce yürütülür, nitrat önce nitrite sonra nitrik ve nitröz oksite ve azot gazına aşağıdaki tepkimeye göre dönüşür (10).

$$NO_3 \rightarrow NO_2 \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$

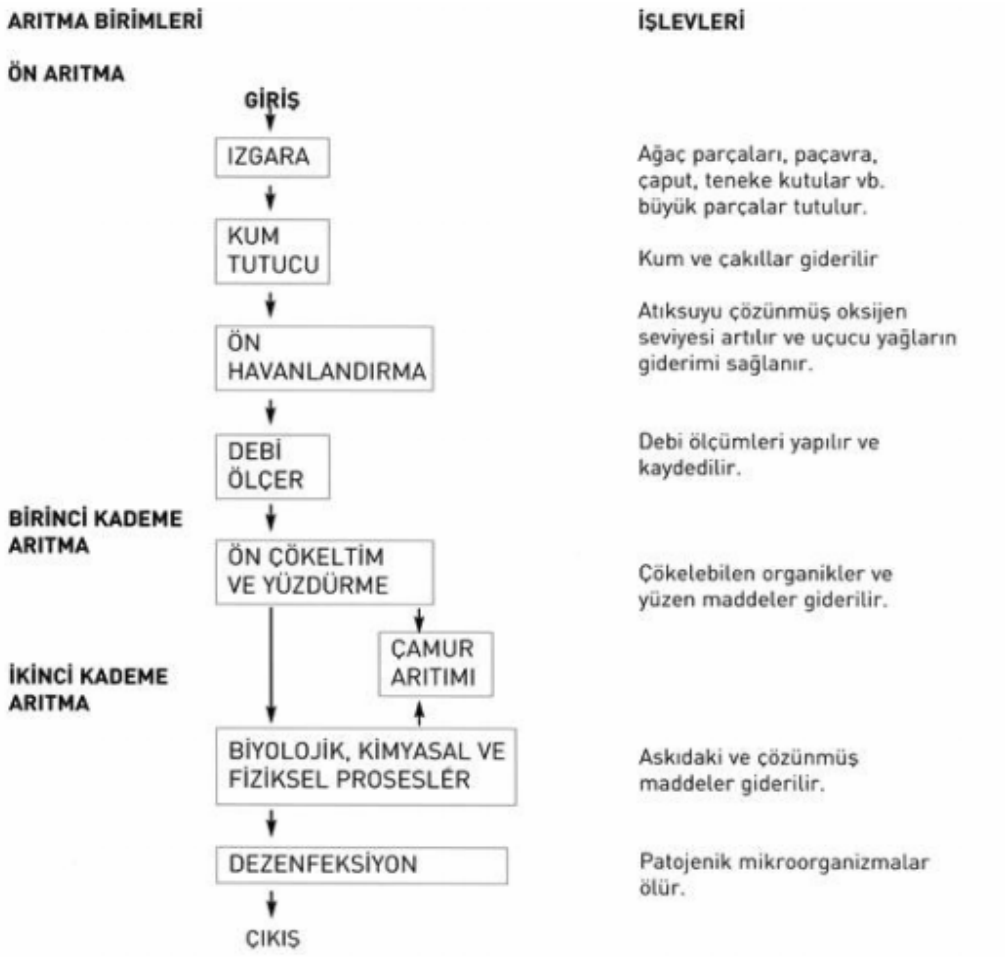
2.1.4. Atık Suların Değişken Özellikleri

Arıtma tesislerine gelen atık su karakteristikleri, debi ve atık su özellikleri ile yakından ilgilidir. Bu karakteristikler, yerleşim bölgelerinde kullanılan su miktarına ve endüstriyel faaliyetlere sıkı sıkıya bağlıdır. Yağışlı havalarda önemli miktarda yağmur suları kanallara girer. Buna sanayi bölgelerinden yapılan kaçak deşarjlar eklenince atık suyun özellikleri önemli ölçüde değiştirir. Buna bağlı olarak atık su arıtma tesislerinde arıtma yapan bakteri profili de değişime uğrar. Bu değişimin başlıca sebebi giriş suyunda bulunan asit, baz ve ağır metal içeriğindeki dramatik dalgalanmalardır. Arıtımı gerçekleştiren mikroorganizmalar bu durumdan zarar görmekte ve çoğu bakteri türü bu ekstrem şartlara dayanamayarak elimine olmaktadır (11).

2.2. ATIK SU ARITMADA HEDEFLER

Biyolojik arıtma atık su içerisindeki çözünmüş organik maddelerin bakteriyolojik faaliyetlerle ayrıştırılarak giderilmesi işlemidir. İleri biyolojik atık su arıtma tesislerinde arıtım çeşitli cinslerdeki bakteriler tarafından yapılmaktadır. Klasik atık su arıtma tesislerinde çıkış sularında azot bileşikleri ve fosfatlar tam anlamıyla giderilememektedir. Atık sudaki azot ve fosforun göl, akarsu ve deniz gibi alıcı ortama verilmesi, ötrifikasyonu hızlandırır, akuatik yaşamı tehdit eder. Atık sularda azot giderimi azot bağlayan bakterilerce nitrifikasyon ve denitrifikasyonla gerçekleşmektedir. Sonuç olarak N_2 gazı meydana gelir ve havaya karışır. Fosfor ise tüm canlılar için gerekli olan bir makronütrienttir. Atık sularda fosfor giderimi yapan bakteriler fosforu bünyelerine alarak depolayabilir ve metabolik reaksiyonlarında kullanabilir. Bu giderimi sağlayan Acinetobacter, Bacteroides ve Proteobacteria filumlarına ait çeşitli bakterilerdir (12,13).

Atık su arıtımında temel hedef, atık suyun deşarj edildiği ortamlarda halk sağlığına ve ekolojik dengeye etkilerinin en az düzeye indirilmesidir. Temel aşamalar; askıdaki katı maddeleri ve biyolojik olarak parçalanabilen organik maddeleri uzaklaştırmak, zararlı ağır metal ve zehirli bileşikleri elimine etmek, patojen organizmaları yok etmek ve yukarıda belirttiğimiz gibi alıcı ortam durumuna bağlı olarak azot ve fosforu ortamdan gidermektir (8).



Şekil 2.1: Atık su arıtımının temel basamakları

2.3. ATAKÖY İLERİ BİYOLOJİK ATIK SU ARITMA TESİSİ

Ataköy Atık Su Toplama Havzası konumu itibari ile kentleşme baskısını eski dönemlerden beri yoğun olarak yaşamış bir bölgedir. Ancak uzun zaman boyunca bu bölgenin atık su meselesi çözülememiş, Tavukçu ve Ayamama dereleri güzergahı boyunca toplanan atık sular, arıtılmadan doğrudan Marmara Denizi'ne akmıştır. Bu nedenle bu bölgenin kıyıları boyunca yaşanan kirlilik, denizdeki doğal hayatı ve insan sağlığını tehdit eder hale gelmiştir.

Ataköy İleri Biyolojik Atık Su Arıtma Tesisi, Marmara Denizi'ni atık su kirliliğinden korumak amacıyla ortalama 400.000 m^3/gün'lük ileri biyolojik arıtma kapasitesi ile 2010 yılında işletmeye alınmıştır. Tesis; Bakırköy, Bahçelievler, Bağcılar ilçelerinin tamamı ile Başakşehir, Küçükçekmece ve Sultangazi ilçelerinin bir bölümünün atık sularını arıtmaktadır (14).

2.4. ARITILMIŞ ATIK SULARIN YENİDEN KULLANIM ALANLARI

Arıtılmış sular; tarımsal sulama ve arazi sulaması, endüstriyel uygulamalar, çevresel uygulamalar (yüzey sularına verme ve yer altı sularına reşarj), rekreasyon faaliyetleri, şehir temizliği, yangın, inşaat gibi klasik uygulamalarda tatlı suların yerine kullanılabilmektedir (15). Birçok ülkede çevre geliştirme (sulak alan oluşturma gibi), yangın söndürme, toz kontrolü, tuvalet sifon suyu gibi alanlarda arıtılmış atıksuyun yeniden kullanımları gelişmektedir (16). Atıksuyun yeniden kullanımı özellikle sınırlı yağış alan bölgelerde ilave su kaynağı oluşturarak su tasarrufu sağlar (17).

2.4.1. Tarımsal Kullanımı

Atık suların uygun bir strateji ile kontrollü olarak tarımda kullanılması, bu suların uzaklaştırılması için iyi ve yararlı bir yöntem sunmaktadır. Kentsel atıksuların uygun stratejilerle yeniden kullanımı ile yüzeysel su kaynaklarının kirlenmesi önlenmiş olur. Bu sayede sadece değerli temiz su kaynakları korunmakla kalmaz aynı zamanda atık suların içerdiği bitki besin maddeleri bitki yetiştiriciliğinde değerlendirilmiş olur. Atık suların azot ve fosfor içeriği tarımsal gübre gereksinimini azaltmakta veya tamamen ortadan kaldırmaktadır. Atıksuların sulamada kullanılması ile bitki yetiştiriciliği için yararlı olan toprak mikroorganizmalarının metabolik aktiviteleri artmaktadır (18).

Genelde toplam tatlı su tüketiminin % 40'ı gibi oldukça önemli bir bölümünü tarımsal sulama oluşturmaktadır. Dolayısıyla, tarımda, arıtılmış atık suyun geri kullanımı önemli miktarda su korunumu sağlar ve diğer kullanımlarla birlikte planlanması halinde, geri kullanımda önemli bir yüzdeyi oluşturur (19).

Bitki ve ürün sulaması için arıtılan atık su uygulaması dünya çapında giderek artan bir uygulama olmaktadır. Tarımsal sulama için arıtılan atıksuların kullanılması ile; Su kıtlığı çözülebilir, bütün bir yıl boyunca atık suların büyük bir miktarı bertaraf edilebilir, kalitesi yüksek olan kaynaklar içme suyu olarak kullanılabilir, ekonomik faydalar sağlanabilir (20).

Birçok kurak ve yarı kurak ülkede su giderek azalan bir kaynak haline gelmektedir. Bu nedenle sulama için iyi kaliteli suların kullanımı birçok yerde su

kaynaklarının tükenmesi ile ilgili tehdit oluşturmaktadır ve birçok durumda sulu tarım, artan nüfus için yiyecek sağlayan toprakları sulamak için az ve daha düşük kaliteli su kullanımı sorunuyla karşı karşıyadır (21).

Ancak bu uygulamaya öncelikli olarak patojen mikroorganizmalar ile besinlerin kirlenmesinden dolayı insan sağlığı için riskler taşıdığı düşüncesiyle endişe ile yaklaşılmıştır (22).

Bununla birlikte, atık suyun yeniden kullanımında risk faktörlerinin bir kısmı tespit edilememiştir, bir kısmı (mikrobiyal patojenler gibi) kısa sürede etki ederken bir kısmı (topraktaki tuzluluğun etkisi gibi) uzun vadede etkili olmaktadır (23).

2.4.2. Kentsel ve Evsel Kullanım

Kentsel kullanım uygulaması, içme suyu dışındaki çeşitli amaçları içerir. Bu amaçlar; park ve eğlence (rekreasyon) alanlarının, spor alanlarının, okul bahçelerinin, oyun alanlarının, otoyol meydanları ve halka ait binaların ve tesislerin çevrelerindeki peyzaj alanlarının sulanması; işyeri, dükkân, ofis ve endüstri kuruluşlarının çevrelerindeki peyzaj alanlarının sulanması; golf sahalarının sulanması; araç yıkama tesisleri, çamaşırhane ve pestisitler, herbisitler ve sıvı gübreler için çözelti hazırlama suyu gibi ticari kullanımlar; çeşmeler, havuzlar, şelaleler gibi manzara amaçlı dekoratif kullanımlar; toz kontrolü ve inşaatlarda beton yapımı için kullanım; yangından korunmak üzere yangın söndürme suyu temini; ticari ve endüstriyel binalarda tuvalet suyu olarak kullanımını içerir (26,27).

Avustralya' da yağmur suyu ve arıtılan atık sulardan geri kazanılan su kaynaklarının 70.000 m^3 /günü tuvalet sifon suyu, açık arazileri sulama suyu olarak kullanılmaktadır ve 2000 yerleşik haneye bahçe ve tuvalet yıkama suyu olarak verilmektedir (24,26).

Havuzların, su kütlelerinin ve akarsuların rekreasyonu için kullanılan arıtılmış suların en önemli sorunları sucul çevre ve bu sular ile temasta bulunan insanların (itfaiyeciler ve açık alanlarda oynayan çocuklar gibi) korunmasıdır. Su kalitesi, sucul organizmalar ve ekosistemler üzerinde olumsuz etkiler göstermemelidir. Bu nedenle

balıklara toksik etki yapan bileşikler (endokrin sistemine zarar verenler gibi) dikkatli bir şekilde kontrol edilmeli ve izlenmelidir (28).

Kullanma ve havuz suyu amaçlı kullanılan arıtılmış sular dezenfeksiyon gibi insan sağlığını korumaya ilişkin özel gereksinimlere ihtiyaç duyar, ayrıca zararlı olabilecek dermatolojik etkiler de dikkate alınmalıdır. Kalite gereksinimleri Avrupa Banyo Suyu Kalite Direktifi 76/160/EEC ile belirlenmiştir. Banyo/havuz suyu için önemli olan iki parametre *E. Coli* ve bağırsak Enterokoklarıdır (25,28).

2.4.3. Endüstriyel Kullanım

Bilindiği gibi dünyada su tüketiminde önemli bir bileşende endüstriyel sulardır ve ülkeler teknolojik olarak geliştikçe endüstriler için su gereksinimi de artmaktadır (29).

Endüstrilerde suyun yeniden kullanımı ABD' de ve diğer gelişmiş ülkelerde geri kazanılan suyun önemli bir uygulamasını temsil eder. Arıtılmış belediye atık suları gibi dış kaynaklardan gelen geri kazanılmış suların endüstriyel kullanımları; buhar soğutma suyu, kazan besleme suyu, proses suyu ve çevre düzenlemesi ve bakım gibi uygulamaları içerir (27).

Atıksuyun geri kazanılması, endüstriyel atık suyun tesis içinde geri çevrimi ile ve/veya evsel atık su arıtıma tesislerinde arıtılan suyun kullanılması ile olabilmektedir. Bir endüstriyel tesis içinde su çevrimi çoğunlukla endüstriyel prosesin tamamlayıcı bir parçasıdır ve geri kazanılan ve yeniden kullanılan sular, suyun korunması ve zorlayıcı deşarj standardı gereksinimlerinin ortadan kaldırılması için geri çevrilmektedir (27).

2.4.4. Yeraltı Suyu Beslemesi

Yeraltı sularının doğal beslenimi çok yavaştır; uzun vadede azalan yeraltı suyu seviyesinin sebebi yeraltı sularının aşırı tüketimi ve yok oluşunun yeniden dolum oranından daha büyük olmasıdır ve sonunda bu durum yeraltı suyu kaynaklarının tükenmesine neden olur. Bu nedenle yeraltı suyu havzalarının suni beslenmesi giderek önem kazanmaktadır (30).

Arıtılmış suyun yeraltı suyu beslenim amaçları; sahil akiferlerine tuzlu su girişimini engellemek için bariyer oluşturmak ve daha sonra kullanmak üzere arıtılmış suyun depolanmasını sağlamaktır (25).

2.5. BAKTERİLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Bakteriler prokaryot mikroorganizmalardır ve prokaryot hücre özelliği gösterirler. Nükleus zarı, mitokondri, golgi cisimciği, endoplazmik retikulum taşımayan, aseksüel olarak çoğalan basit yapıda hücreleri vardır. Diğer hücrelerde olduğu gibi bakteri hücresinde sitoplazma, DNA, sitoplazma zarı ve çoğunda hücre duvarı bulunur. Sitoplazmada ancak elektron mikroskobuyla görülebilen ribozomlar vardır. Sitoplazma zarından sitoplazmaya mesozom adı verilen kesecikler uzanır. Bazı bakterilerde hücre duvarının dışında ve onu çevreleyen bir koruyucu tabaka olan kapsül bulunur. Kapsül çok ince ise mikrokapsül adını alır. Bazı bakterilerde sitoplazmadan başlangıç alan kirpik ve/veya fimbriya gibi filamensi uzantılar bulunur. Kirpikler hareket, fimbriyalar yapışma organelleridir (31-32).

Aynı bakteri türünde olan hücreler genellikle sabit şekillidir. Yani tüm hücreler morfolojik olarak birbirine çok benzer. Bazı bakteri cinslerinde ise hücre morfolojilerinin az ya da çok değişik olabildiği görülmektedir. Bu olguya pleomorfizm adı verilir (31).

Bacillaceae ailesindeki *Bacillus* ve *Clostridium* cinsinden bakteriler spor (endospor) oluşturur. Spor bakterierin canlı, fakat uykuda olan şeklidir. Isı, kuruluk, ultraviyole ışınları, kimyasal maddeler gibi bakteriler üzerinde öldürücü etkili olabilen etkenlere, bakterinin beslenen ve çoğalan şekli olan "vejetatif" şeklinden çok daha dirençlidir. Böylece bakteri spor şekline dönüşerek kendisi için olumsuz olan koşullarda canlılığını sürdürebilir (32).

İnsan ve hayvan vücudunda binlerce farklı bakteri bulunur. Aynı şekilde çevremizde, bitkiler üzerinde, hava, su ve toprakta çeşitli bakteriler vardır. Bunlardan bir kısmı infeksiyon oluşturmayan (avirulan) bakterilerdir, bir kısmı ise virulandır ve yaşamı tehdit edebilen ağır infeksiyonlar oluşturabilme yeteneğindedir. Bir sıvıda süspansiyon halinde bulunan bakteriler mikroskopta incelendiğinde; kontrastı fazla olmadığından şeffaf, renksiz, homojen veya ince granüllü olarak görülürler. Boyanmış

preparasyonlarda kontrast sağlandığından bakteri hücresi daha iyi görülür. Ancak hücrenin tüm organelleri homojen olarak boyandığı zaman, hücreye ait farklı yapılar ayırt edilemez. Bu yapılar özel boyama yöntemleri ile ya da kontrast faz mikroskobunda veya daha iyisi elektron mikroskobunda görülebilir. Bakteriler mikroskoptaki görünümlerine göre üç morfolojik gruba ayrılır; bunlar kok şeklinde, çomak şeklinde ve sarmal (spiral) şekilli bakterilerdir (31-32).

Kok şeklindeki bakteriler genellikle küresel biçimli ve 0.4-2 µm çapındadır. Bazı koklar ise oval veya bir tarafı düz (kahve tanesi şeklinde) görülür. Bölünme süreci sonunda birbirinden ayrılarak tek tek duran koklara monokok veya mikrokok adı verilir. Bölündükten sonra ayrılmayarak ikişer kalanlar diplokok (Örn; *Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae*) olarak adlandırılır. Bir eksen boyunda bölünerek yan yana duran ve zincir oluşturan koklara streptokok adı verilir. Bu özelliğe sahip bakterilerin bir bölümü *Streptococcus* cinsi içinde yer alır. Birbirine dik olmayan üç düzlemde bölünen ve ayrılmayarak kümeler oluşturan koklar stafilokok olarak adlandırılır. Bu özelliği taşıyan bakterilerin bir bölümü *Staphylococcus* cinsi içinde yer alır. Birbirine dik iki yönde bölünerek dörtlü gruplar halinde duran koklara tetrat ve birbirine dik üç yönde bölünerek sekiz kok hücresinden oluşan ve kübik paketler halinde duran koklara sarsin adı verilir (31-32).

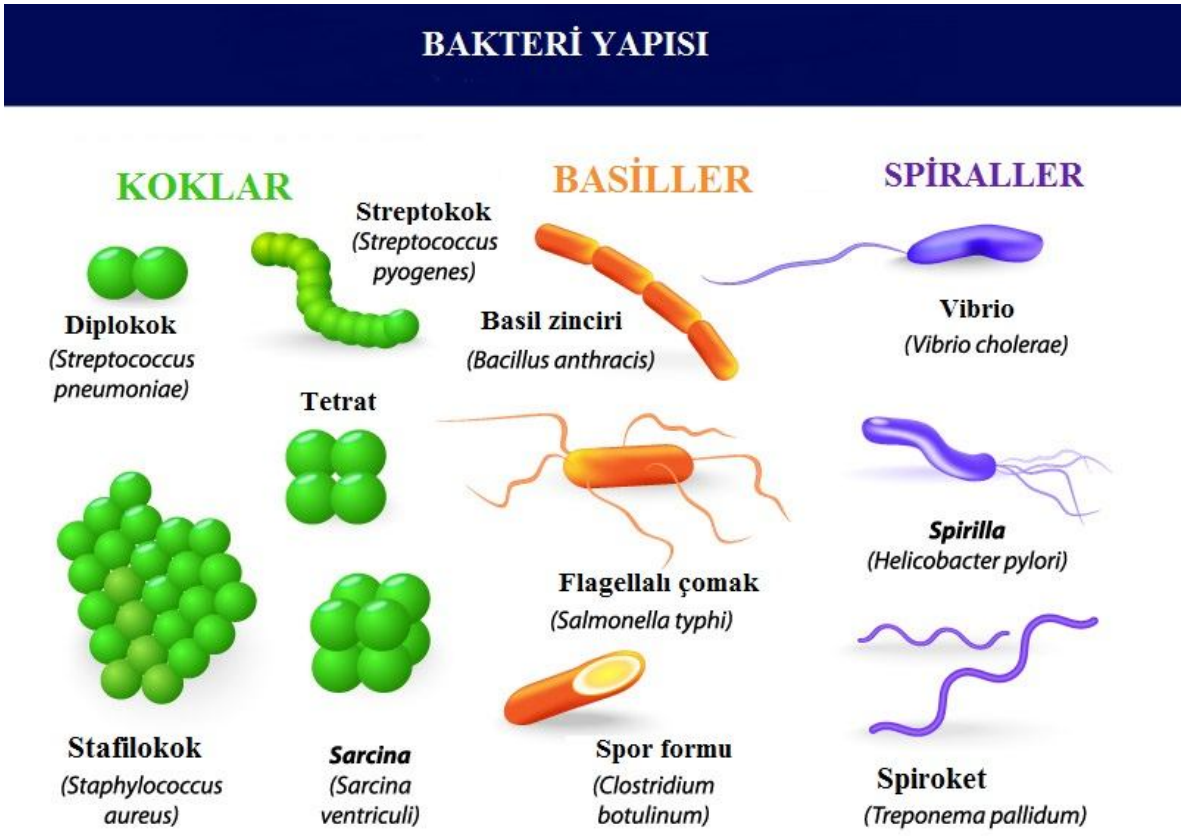
Çomaklar 1-10 µm boyunda silindirik biçimli bakterilerdir. En ve boyları farklı çok küçük çomaklar ise kokobasil olarak adlandırılır. Bazı çomakların uçları ovaldir, düzgün silindir şeklinde görülür (Örn; *Salmonella* spp., *Shigella* spp.) bazıları kalındır ve uçları bıçakla kesilmiş gibi köşelidir (Örn; *Bacillus anthracis*), bazılarının bir veya iki uçları şişkindir (Örn; *Corynebacterium diphtheriae*) ve bazı çomakların uçları mekik gibi sivridir (Örn; *Fusobacterium* spp.) (31).

Sarmal şekilli bakteri hücrelerinde bir veya daha çok kıvrım bulunur. Bu morfolojideki bakteriler, hücreleri sert ve yumuşak olanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Birinci grupta bulunanların kıvrımları sabittir, kirpikleri ile hareket ederler (Örn; *Vibrio cholerae, Spirillum minus*). İkinci grupta ise bükülebilen, kıvrılarak hareket eden spiroketler bulunur (31).

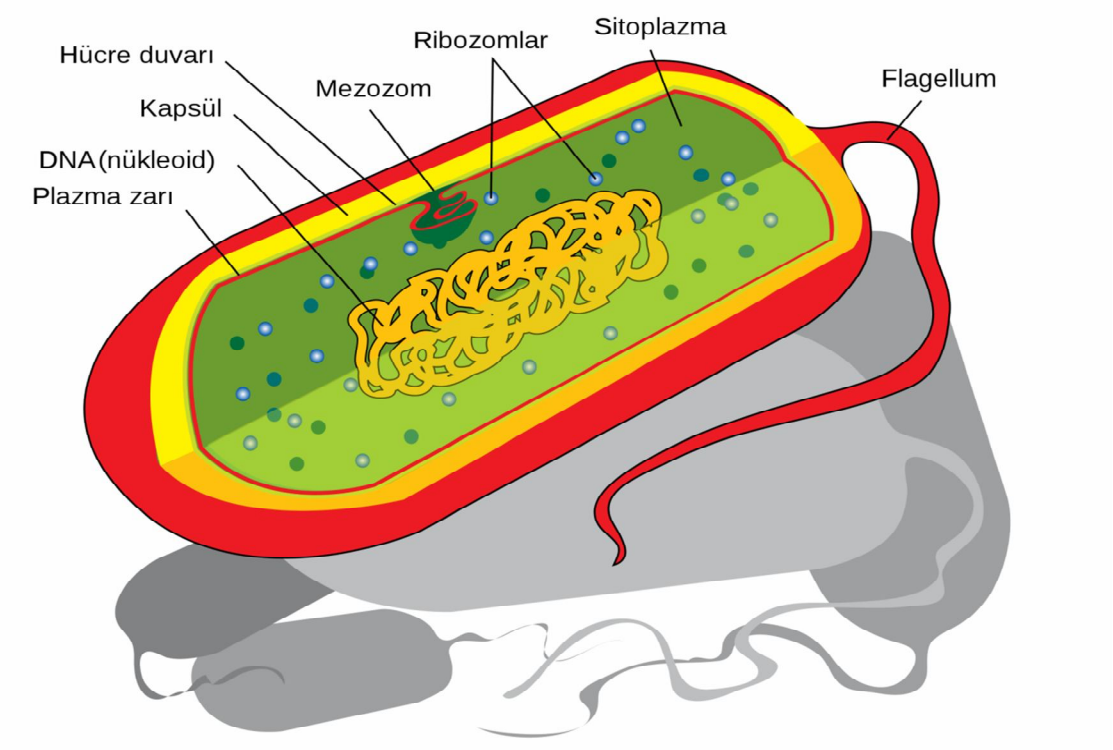
Beslenme şekillerine göre ise bakteriler iki sınıfa ayrılır; ototrof ve heterotrof bakteriler. Ototrof mikroorganizmalar doğadaki basit inorganik maddeleri ve

atmosferdeki karbondioksiti kullanarak kendi besinini kendileri üretebilirler. Kemootrof ve fotootrof olarak ikiye ayrılırlar. Kemootroflar kendi besinini kemosentez yoluyla kendileri üretir. İnorganik maddeleri oksitleyerek elde ettikleri kimyasal enerji ile inorganik besinleri organik besinlere dönüştürebilen canlılardır. Fotootrof türler ise enerji kaynağı olarak güneş ışığını kullanırlar ve besinlerini fotosentez yoluyla üretirler (31,32).

Heterotrof mikroorganizmalar beslenmek için en az bir tane sentezlenmiş hazır organik bileşiğe ihtiyaç duyarlar. Çürükçül yada parazit olabilirler. Çürükçül bakteriler çevrelerinde bulunan ölü bitki ve hayvan kalıntılarında bulunan organik maddeleri kullanarak yaşarlar. Parazit bakteriler ise sindirim enzimine sahip olmayan bakterilerdir. Gereksinimleri olan besinleri glikoz, amino asit, yağ asidi, şeklinde sindirilmiş olarak başka canlılardan sağlarlar (31,32).



Şekil 2.2: Şekilleri itibari ile genel bakteri yapısı
(Gerardi M. Wastewater Bacteria)



Şekil 2.3: Genel bakteri içeriği
(https://sites.google.com/site/rhizobiumgreatsite/structure)

2.6. MİKROBİYAL BESLENME VE METABOLİZMA

Atık su arıtma tesislerine gelen atık sular besin yönünden zengindir. Bunun temel sebeplerinden biri karbohidrat, protein ve lipitlerce zengin evsel atıkların ve lağım sularının toplandığı yer olmasıdır. Zaten yukarıda belirtilen tüm makro moleküller bütün hücreler için gerekli olan besin maddeleridir ve bakterilerce de metabolize edilirler. Yani anabolik ve katabolik olaylarda kullanılırlar. Bir kısım mikroorganizmalar da güneş ışığını kullanarak kimyasal enerji elde eder. Besin maddeleri bol miktarda karbon, hidrojen, oksijen, azot ve fosfor barındırır. Karbon protoplazmanın önemli unsurlarından biridir. Karbonun yanı sıra azot, nükleik asit ve protein gibi makromoleküllerin önemli yapı taşlarından biridir. Bir bakteri hücresi ağırlığının %90'ından fazlası C, O, H, S, P, K, Ca, Mg ve Fe ihtiva eder. Hücreler bu elementleri biyosentez ve enerji kaynağı olarak kullanır. Karbon ve sülfür elementleri enerji metabolizmasında kullanılan elementlerden sadece birkaç tanesidir (7,11).

Genelleştirmek gerekirse hücrenin üç temel ihtiyacı vardır. Bunlar su, enerji ve kimyasal bileşiklerdir. Su, bakteri hücresi içinde özellikle besinlerin çözünmesinde, biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesinde, maddeleri taşımada gereklidir. Kimyasal bileşikler hücre materyalinin meydana getirilmesinde, enzimatik reaksiyonların katalizlenmesinde ve hücre büyümesinde bakterilerce kullanılmaktadır. Enerji ise metabolik reaksiyonların işleyişinde gereklidir.

2.6.1. Makro ve Mikroelementler

2.6.1.1. Karbon

Karbon mikrobiyal büyüme için gerekli en önemli elementlerden biridir. Bakteri hücresi kuru ağırlığının %50'sini meydana getirir. Bakterilerce hücrenin temel ihtiyaçları için kullanılan karbohidrat, protein ve lipitlerin temel yapı taşıdır. Bazı mikroorganizmalar enerji kaynağı olarak karbonun okside formu olan CO_2'yi kullanır (7,11).

2.6.1.2. Nitrojen (azot)

Tüm organizmalar çeşitli şekillerde azota gereksinin duyarlar ve azotu kullanırlar. Hücre proteinlerini meydana getiren amino asitlerin temel yapısında, nükleik asitlerin pürin ve pirimidin halkalarında, karbohidrat ve lipitlerde, enzimlerin kofaktörlerinde, inorganik bileşiklerden nitrit, nitrat ve amonyum tuzlarının yapısında bulunur. Ayrıca bazı bakteriler atmosferik azotu kullanarak hücre için gerekli yeni yapı taşlarını oluşturur. Bu olaya azot fiksasyonu denir. Bakterilerce azot amonyağa dönüştürülür. Burada elde edilen azot yukarıda belirttiğimiz hücresel olaylarda kullanılır. Bünyesinde azot barındıran nitrat da bakteri hücresi tarafından elektron transport sisteminde elektron alıcısı olarak görev yapar (7,11).

2.6.1.3. Hidrojen, oksijen, sülfür, fosfor

Mikroorganizmaların beslenmesindeki diğer önemli elementler hidrojen, oksijen, sülfür ve fosfordur. Hidrojen ve oksijen pek çok organik bileşiğin parçasıdır. Serbest oksijen çoğu anaerobik bakteri ve arkeler için toksiktir. Çoğu aerobik mikroorganizma ise oksijeni oksijenli solunum için terminal elektron alıcısı olarak kullanır (7,11).

Sülfür, bakterilerde bulunan amino asitlerden sistin, sistein, metiyonin ve vitaminlerden biotin ve tiaminin biyosentezi için gereklidir. Sülfat bileşikleri de elektron transportunda terminal elektron alıcısı olarak görev yapar (7,11).

Fosfor ise yine bakterilerde nükleik asit ve adenozin trifosfat sentezinde görev alır. Ayrıca Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunan teikoik asit ve teikronik asidin yapısına girer, membran fosfolipitlerinin bütünlüğünü sağlar (7,11).

2.6.2. Atık Sularda Bulunan Mikro ve Eser Elementler

Atık sularda bulunan esansiyel, mikro ve eser elementler bakterilerce bir takım metabolik olaylarda kullanılmaktadır. Örneğin Na *Esherichia coli*'de şekerin transportunda, hücre membran bütünlüğünün sağlanmasında ve büyümede kullanılır. Pek çok esansiyel element enzimler için kofaktördür. Fe sitokromlarda ve elektron taşıyan demir-sülfür proteinlerinde anahtar rol oynayarak hücresel solunumda rol alır.

Protein sentezinde rol alan pek çok enzim potasyuma ihtiyaç duyar. Magnezyum bakteri hücresinde ribozomların, hücre membranının ve nükleik asitlerin stabilizasyonunda ve enzimlerin aktivasyonunda rol oynar. Molibden nitrojenazlar tarafından kullanılarak atmosferik nitrojenin amonyağa çevrilmesine yardımcı olur. Mangan pek çok enzime fosfat gruplarının transferinde katalizörlük yapar. Kobalt ise bakteriler için önemli bir vitamin olan B12'nin yapısına girer (7-11).

2.6.3. Bakteriler İçin Gerekli Olan Büyüme Faktörleri

Bakterilerin bulunduğu ortama ilave edilen glukoz ve tuz gibi bazı organik bileşikler fekal kirlenmenin bir belirteci olan *Eschrichia coli* gibi bazı kemoheterotfofların üremelerini hızlandırır. Bazı bakteri gruplarında da bir veya birden fazla enzim eksikliği nedeniyle besinsel gereksinimlerini karşılayamaz. Bu eksikliklerini çevreden aldıkları besinlerle kapatmak zorundadır. Organik bileşikler besinsel içerik olarak zengin olduklarından mikroorganizmalar için elzemdir. Bunlara büyüme faktörleri denir. Büyüme faktörleri amino asitler, pürin ve pirimidinler ve de vitaminler olmak üzere üç çeşittir. Proteinler 20 amino asitten meydana gelir. Bazı bakteri ve arkeler bu amino asitlerden bir veya birkaçını sentezleyemeyebilirler. Bu amino asitleri bulundukları ortamdan temin etmeleri gerekir. Buna bir örnek olarak atık sularda bulunan *Staphylococcus epidermidis'*i verebiliriz. Bu bakteri insanlarda deri üzerinde bulunmaktadır ve yaşaması için prolin, arjinin, valin, triptofan, histidin ve lösin'e ihtiyaç duyar. Laktik asit bakterileri ise gelişim ve üremeleri için pürin ve pirimidinlere gereksinim duyar. Bu bazları azot ve karbon kaynağı olarak kullanırlar. Organik bileşiklerden vitaminler de bakterilerin yaşamlarını sürdürebilmeleri açısından önem taşır. Bakteriler vitaminleri enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak kullanır. Bakterilerin en çok gereksinim duydukları vitaminler tiamin (B1), piridoksin (B6) ve siyanokobalamin (B12)' dir (7,11).

2.6.4. Atık Sularda Bakterilerin Üremesi İçin Önemli Olan Temel Unsurlar

Arıtma tesislerindeki bakteriyel çoğalmada önemli üç temel unsur vardır. Bunlar atık suyun pH'ı, sıcaklığı ve ortamdaki oksijen miktarıdır. Atık sulardaki çoğu bakterinin optimum üreme için tercih ettiği pH aralığı 6-8'dir. Bakteriler en iyi pH 7'de ürerler. Bu değerler haricindeki ortamları tolere edebilen bakteriler çok azdır. Özellikle

endüstriyel bölgelerden yapılan kaçak deşarjlar atık suların pH'ını dramatik şekilde değiştirebilmektedir. Bunun sonucunda arıtma tesislerinde istenmeyen ve etkin arıtımın yapılmasını engelleyen durumlarla karşı karşıya kalınmış olur. Bu ekstrem şartlarda arıtımı gerçekleştiren bakteriler elimine olur. Bu yüzden atık su arıtma tesislerinin çalışma pH aralığı 6.8-7.2 arasında tutulmaya çalışılır. Dramatik pH değişikliklerinde bakterilerin enzimatik aktivitelerinde değişiklikler görülür, H_2S oluşumu artar, nitrifikasyon inhibe olur, topak oluşumu azalır, istenmeyen mantar ve Nocardiaformlar ürer ve amonyak üretiminde artışlar görülür. Ayrıca pH değişiklikleri çeşitli metallerin, substratların ve toksik atıkların iyonizasyonunu sağlar ve bakteriler için gerekli olan bu maddelerin bakteri hücreleri içine girişini engeller. Bu da bakterilerce gerçekleştirilen suyun arıtımını engeller (11).

Arıtma tesislerindeki atık suyun ısısı da etkin arıtımın yapılabilmesi için önemli bir unsurdur. Isının bakteriler üzerinde iki önemli etkisi vardır. Bunlardan ilki substratların ve besinlerin bakteri hücreleri içine geçiş oranı üzerine yaptığı etkidir. İkincisi ise bakteri hücreleri içindeki enzimatik aktivite üzerine olan etkidir. Her iki etki de bakteri hücresinin bölünmesini provoke eder. Isıdaki azalma hücre içine geçişi ve enzimatik aktiviteyi düşürür (7).

Atık sulardaki serbest oksijen miktarı seviyelerinin değişiklik göstermesi bazı durumlarda bakteri sayısındaki artışa bazen de azalışa neden olur. Aerobik bakteriler oksijenli ortamda daha kolay çoğalırken anaerob bakteriler serbest moleküler oksijeni substratların parçalanmasında kullanmazlar ve üremeleri yavaşlar veya durabilir. Bu tip organizmalar atık sulardaki SO_4 ve CO_2'yi kullanır. Fakültatif anaerobik bakteriler ise substratlarını parçalamak için serbest moleküler oksijen veya farklı molekülleri kullanabilirler (11).

2.6.5. Bakterilerce Metabolik Olaylarda Kullanılan Makromoleküller

Atık sularda bulunan bakterilerin üremeleri için ve hücresel bileşenleri oluşturmak için karbon kaynağına, hücre içi aktiviteleri gerçekleştirmek için enerji kaynağına, inorganik besinlere ve de amino asit ve vitaminler gibi büyüme faktörlerine gereksinimleri vardır. Bakteriler için en önemli karbon kaynakları atık sulardaki organik bileşikler, bikarbonat ve karbonat gibi inorganik karbonlar ve CO_2'dir. Ayrıca bakteriler enerji sağlamak için indirgenmiş inorganik bileşenleri veya amonyak, hidrojen sülfid,

demir, nitrit ve nitrat gibi iyonize olmuş element ve bileşikleri kullanabilir. Örneğin atık sularda bulunan aerobik nitratlaştırıcı bakteriler çözünmüş oksijen konsantrasyonunun yüksek olduğu bakteri yumaklarının dış kenarlarında bulunur ve amonyak ile nitriti oksitler, ağır metalleri ortamdan uzaklaştırır. Sülfür ve sülfürün okside olmuş şekli olan sülfatlar da aerobik ve fakültatif anaerobik bakteriler için önemli besin kaynağıdır. Bunun yanı sıra bazı bakteriler de sülfür içeren amino asitleri sülfür kaynağı olarak kullanabilmektedir. Bir diğer besin türü olan fosfor ise bakteriler tarafından fosfatlar şeklinde alınır (11).

2.6.6. Bakterilerde Yüksek Enerjili Moleküller

Bakteriyel metabolizmada ATP gibi yüksek enerjili moleküller büyük öneme sahiptir. Bunun başlıca sebebi sitoplazmada gerçekleşen nükleik asit, protein, lipit ve polisakkaritlerin sentezinde oynadığı roldür. ATP bunun yanı sıra bakteri hücresinde aktif transport, hidroliz gibi olaylara katılır. ATP bakterilerde glikoliz, sitrik asit siklusu ve elektron transport sistemi aracılığı ile elde edilmektedir. Sitrik asit siklusunda bakteriler metabolik olaylarda kullanacakları CO_2, $FADH_2$, $NADH_2$, GDP gibi molekülleri sentezlerler. Pentoz fosfat yolu bakteriler için önemi olan bir diğer yoldur. Bu yolda elde edilen NADPH'lar biosentetik olaylarda kullanılırlar. NADPH eldesinin yanı sıra 4 ve 5 karbonlu şekerler nükleotidlerin ve aromatik amino asitlerin sentezinde kullanılır. Bu yollar aracılığıyla bakteriler nükleik asitleri ve proteinlerini meydana getirir. Bu metabolik yolların yanısıra çeşitli bakteri türleri fermentasyon ile asetaldehit, etanol, NAD ve CO_2 oluşturur. Buralardan elde edilen substratlar büyük oranlarda kimyasal enerji barındırmakta ve bu bileşikler bakteriler tarafından ilgili metabolik yollarda kullanılmaktadır (7-11).

2.7. ATIK SUDA BULUNAN BAKTERİLERİN GENEL SINIFLANDIRMASI

2.7.1. Fakültatif Anaerop Gram Negatif Çomaklar

Hem oksijen varlığında hem de yokluğunda üreyebilen Gram negatif çomaklardır. Enterobacteriaceae, Pasteurellaceae, Vibrionaceae aileleri fakültatif

anaerob çomaklara örnek teşkil eder. Bitki, hayvan ve böcek patojeni olup su, toprak ve bitkide görülebilmektedirler.

2.7.1.1. Enterobacteriaceae

Enterik bakterilerdir. İnsan ya da hayvan bağırsak florası içinde bulunurlar. Bu aile içinde Salmonella, Shigella, Yersinia, Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Citrobacter, Proteus, Serratia, Morganella, Hafnia, Providencia başlıca önemli patojenlerdir. Endospor oluşturmazlar, hareketli ve hareketsiz olan türleri bulunur. Mac Conkey agar, Salmonella- Shigella agar, Kanlı agarda ortalama 37 derecede yaklaşık olarak 18-24 saatte üreyebilirler. Kolonileri sarı, kırmızı ya da pigmentsiz olabilir. E. coli, Klebsiella pneumoniae ve *S. Marcescens*'in bazı türleri kanlı agarda geç üreyebilir. Bu tip bakterilerin izolasyon ve identifikasyonlarında inkübasyon süresi diğer türlere göre genellikle daha uzun olabilir. Proteus vulgaris*, P. Mirabilis* gibi bazı türler bazen koloni oluşturmayabilir. Pek çok türü hemolizin salgılar ve bu şekilde eritrositleri dejenere eder. Fermentatif metabolizmaları mevcut olup glukozu parçalayarak asit ve gaz oluşturur. Çoğu suş nitratları nitritlere indirger, Shigella dysenteriae O grup 1 ve Xenorhabdus nematophylus dışındaki Enterobacteriaceae bakterilerinin tümü oksidaz olumsuz, katalaz olumludur (33).

Enterobacteriaceae ailesine ait türlerde dış zar fosfolipit, protein ve lipopolisakkarit (LPS) içerir. Sitoplazma zarı peptidoglikan, LPS ve fosfolipitleri sentezleme yeteneğindedir. Peptidoglikan tabakada N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit bir ağ yapısı oluşturacak şekilde konumlanmıştır. Periplazma ve periplazmik boşluk iç ve dış zarları birbirinden ayırır. Bu familyaya ait türler hareketlerini flagellaları yardımı ile sağlarlar (33).

2.7.1.1.1. *Salmonella spp.*

Salmonella typhi gibi bazıları yalnızca insanlar, birçoğu da hem insan hem de hayvanlar için patojendir. Salmonella'lar Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz peritrik kirpikli, fimbriyalı fakültatif anaerop çomaklardır. Doğada pek çok hayvanın gastrointestinal sisteminde bulunabilir (31-32).

İzolasyon çalışmalarında 10-42 derece aralıkta Mac Conkey agar, Eozin metilen mavili agar (EMB), Dezoksikolat sitratlı agar, SS agarı, selenitli buyyon ve tetraiyonatlı buyyon gibi genel kullanım besiyerlerinde 24-48 saat arasında S veya M şeklinde koloni oluşturarak üreyebilirler. Optimum üreme ısıları 37 derecedir. Selektif besiyerinde Gram pozitif bakteriler üreyememektedir, üreyen Gram negatif çomaklar da laktoza etkilerine göre şeffaf pembe ve kırmızı renkte koloni oluşturur. Salmonella'lar laktoza ve genellikle sükroz, adonitol ve salisiline etki etmezler. Glikoz, maltoz ve mannitolü gaz yaparak fermente ederler. Genellikle H_2S üretirler. IMVIC testleri genelde -,+,-,+ şeklinde olup üreyi parçalayamazlar. Potasyum siyanürlü (KCN) besiyerlerinde üreyemezler (32,34).

TSİ besiyerinde Salmonella'lar dipte asit (sarı) ve yatıkta alkali (kırmızı) reaksiyon verir. Tanımlama deneylerinde bakterinin laktozu fermente etmemesi en önemli özelliklerinden biridir. Ancak Shigella ve Vibrio cholerae bakterileri de laktozu fermente etmediklerinden tanı, ilave bazı biyokimyasal testlerle desteklenmelidir. Lizin demir agarlı (LİA) besiyerinde dipte alkali (mor) veya normal, yatık alkali (mor) reaksiyon verirler (32,34).

Salmonella serotipleri; gastroenterit, tifo, bakteriyemi, fekal enfeksiyonlar veya yaşam boyu taşıyıcılık gibi özelliklere sahiptirler. Dünyada her yıl Salmonella'ya bağlı 16 milyon tifoid ateş, 1.3 milyon gastroenterit ve üç milyon ölüm görülmektedir (35).

2.7.1.1.2. *Shigella spp.*

Enterobacteriaceae ailesi üyesidir. Bu türler özellikle sıcak bölgelerde basilli dizanteriye sebep olurlar. Shigella türleri, gelişmekte olan ülkelerde beş yaşın altındaki 3-5 milyon arasındaki çocukta gastroenterit kaynaklı ölümlerin en önemli nedenlerinden biridir. (32,34)

Antijen yapıları ve bazı biyokimyasal özelliklerine göre A, B, C, D şeklinde alt gruplara ayrılırlar. Shigella bakterileri Gram negatif, hareketsiz ve kapsülsüz çomakçıklardır. Çoğunlukla fimbriyaları yoktur. Yaklaşık 37 derece civarında basit besiyerlerinde 18-24 saatte kolonilerini oluşturabilir. Genel kullanım besiyerlerinde kolay ürerler. Mac Conkey ve EMB besiyerinde 24 saatte renksiz (laktoz negatif)

koloniler yaparlar. SS agarda renksiz, bazen ortası siyah noktalı, Hektoen agarda yeşil-mavi koloniler oluşturur (36).

Karbohidratlarla ilgili aktiviteleri zayıftır. *E. coli* ile biyokimyasal testleri karışabilir. Glukozu asit yaparak fermente ederler. Sükrozu parçalayamazlar. Gaz oluşturmazlar. *S. Typhi* glukozdan yalnız asit oluşturduğundan ayırıcı tanıda hareket özelliği çok önemlidir. Laktoz fermentasyonu negatif, üreaz, lizin ve oksidaz negatif, katalaz, metil kırmızısı pozitiftir. İndol oluşumu değişkendir. H_2S oluşturmazlar. Tanı amaçlı üç şekerli demirli (TSİ) en uygun besiyerlerindendir (34-37).

2.7.1.1.3. *Proteus spp.*

Proteus vulgaris ve *Proteus mirabilis* normal bağırsak florasında bulunur. Bu cins bakterilerin en ayırt edici özelliklerinden biri kötü kokularıdır. Nemli ortamları severler. Isı ve dezenfektanlara karsı dirençsizdirler. Özellikle toprak, su ve dışkıda bulunur (37).

İdrar yolları enfeksiyonları, menenjit, septisemi, yara, yanık, yumuşak doku enfeksiyonları oluşturdukları başlıca enfeksiyonlardır. Üremeleri için fakültatif anaerop ortam en uygun ortamdır. Dairesel yayılarak üreme gösterirler. 37 derece sıcaklıkta ortalama 24 saatte S şeklinde koloniler oluştururlar (32,34).

Değişik büyüklüklerde, kokobasil görünümünde, sporsuz, kapsülsüz, peritrik kirpikli Gram negatif çomaklardır. Laktoza etki etmezler. Glukozdan gaz oluştururlar. IMVIC testleri değişik sonuç verir. TSİ'de dipte asit, yatıkta asit veya alkali reaksiyon verir. Oksidaz, VP negatif, H_2S oluşumu, katalaz ve metil kırmızısı deneyi pozitiftir. H_2S yaptıklarından besiyerinin rengi siyah olur. KCN'li ortamda üreyebilirler. Proteus cinsi içinde *P. mirabilis*, *P. myxofaciens*, *P. penneri*, *P. vulgaris* türleri bulunur (38).

2.7.1.1.4. *Providencia spp.*

Fakültatif anaerop ortamlarda yaklaşık 37 derece civarında iyi üreyebilen hareketli, kapsülsüz Gram negatif çomaklardır. *P. Alcalifaciens*, *P. Stuartii*, *P. Rettgeri* gibi türleri mevcuttur. Glukozu ve diğer karbohidratları fermente edebilme

yeteneğindedir. Jelatini hidrolize edemezler. Oksidaz deneyi negatif, fenilalanin deaminaz ve katalaz deneyleri pozitif sonuç verir. Mannozdan asit oluştururlar. Maltoza etki etmezler. Bazı suşları gaz oluşturur. H_2S oluşturmazlar. Sitratlı besiyerlerinde ürerler. IMVIC testleri +,+,-,- 'dir. Mac Conkey, endo besiyerlerinde 24 saatte renksiz, 48 saatte pembe, EMB'de hafif morumsu renksiz, SS agarda renksiz koloniler yaparlar. *P. Alcalifaciens*, *P. Stuartii*, *P. Rettgeri* türleri hariç üreaz deneyi pozitiftir (39).

2.7.1.1.5. *Morganella morganii*

İnsan ve bazı memelilerin bağırsak florasında bulunur. Proteus ve Providencia türleri ile benzerlikleri bulunmaktadır. Önceleri Proteus cinsi içinde incelenmiştir. Fakültatif anaerop, peritrik kirpikli, hareketli, sporsuz, kapsülsüz Gram negatif çomaklardır. Genel kullanım besiyerlerinde yayılarak kolay ürerler. Optimum üreme derecesi 37'dir. Çeşitli enfeksiyonlara sebep olur. Karbohidratlar üzerine etkileri azdır. Glukozdan gaz oluşturmazlar. Üreaz deneyi olumludur. IMVIC testleri +,+,-,- 'dir. Mac Conkey ve SS agarda renksiz koloniler yaparlar. TSİ besiyerinde dipte asit, yatıkta alkali reaksiyon oluştururlar. Laktoza etkisizdirler. Oksidaz deneyi negatif, katalaz deneyi pozitif, H_2S oluşumu negatif, indol pozitiftir (40).

2.7.1.1.6. *Serratia* spp.

Sıklıkla görülen patojen tür *S. Marcescens*'dir. İdrar yolları enfeksiyonları, üst solunum yolu enfeksiyonları, septisemi, menenjit, endokardit, gibi enfeksiyonlara neden olur. Kokkobasil görünümünde, küçük, kapsülsüz ve genellikle peritrik kirpiğe sahip bakterilerdir. Düşük sıcaklıklarda ürediklerinde kabarık, kırmızı pigmentli opak ve etrafları renksiz, düzensiz koloniler meydana getirirler. Mac Conkey ve Endo besiyerlerinde 24 saatte renksiz, 48 saatte pembe, EMB'de hafif morumsu yada renksiz, SS agarda renksiz koloniler yaparlar. TSİ'de dipte asit, yatık kısımda alkali reaksiyon verir. Laktoza etki etmezler. B-galaktozidaz enzimine sahiptirler. Üreaz enzimi bulunmaz, H_2S meydana getirmezler. Glukoz ve diğer karbohidratlardan gaz oluşturmazlar. IMVIC testleri -,-,+,+'dır. Peritrik kirpiğe sahip, laktoz pozitif, Gram negatif çomaklardır. Potansiyel patojendir. Glikoz ve diğer karbohidratlardan gaz üretmeden asit oluşturur (41).

2.7.1.1.7. *Hafnia* spp.

Hafnia'lar fırsatçı patojen olarak çeşitli enfeksiyonlar oluştururlar. Dışkı, kan, balgam, yara, irin gibi klinik materyallerden soyutlanmışlardır. Sporsuz, peritrik kirpikli, kapsülsüz, Gram negatif çomaklardır. Endo agar ve Mac Conkey agarda kolonileri ilk 24 saatte renksiz, 48 saatte ise renklidir. EMB agarda hafif morumsu ve renksiz, XLD agarda çeşitli renkte ve SS agarda şeffaf görünür. KCN besiyerinde üreyemezler. Glukozu fermente edebilir, H_2S oluşturmazlar. İndol deneyi negatiftir. VP 22 derecede pozitif, 35 derecede negatif sonuç verir. Lizin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz olumlu, arjinin dihidrolaz ve üreaz olumsuzdur. Jelatini eritme yeteneği vardır (34,37).

2.7.1.1.8. *Yersinia* spp.

Veba etkenidir. Öncelikle hayvan patojenidir ancak insanları da enfekte ederler. Genel özellikleri ile Enterobacteriaceae ailesine benzer. Gram negatif, sporsuz, birkaç türü hariç peritrik kirpikli, fakültatif anaerop çomaklardır. 37 derecede hareket etmezler. Çoğu tür metabolik açıdan düşük ısılarda daha aktiftir. 28-30 derece arasında daha iyi ürerler. Karbohidratlardan asit oluşturma yeteneğindedir. Gaz oluşturmazlar. Oksidaz deneyi ve H_2S negatif, katalaz pozitiftir. İndol deneyi türe göre değişkendir. Üreaz genellikle pozitiftir. VP ve nitrat deneyleri 37 derecede negatif sonuç verir (34-37).

2.7.1.2. *Vibrio* spp.

Enterobacteriaceae ailesiyle ortak özelliklere sahiptir. 30'un üzerinde türe sahiptir. Gram negatif, spor içermeyen, fermentatif, polar kirpikli, oksidaz pozitif özelliktedir. Vibrionaceae hayvan bağırsaklarında, deniz ürünlerinde, denizlerde bulunabilen geniş bir gruptur. Gastrointestinal sistemde enfeksiyonlara sebep olur. V. Cholerae kolera, V. Parahaemolyticus diyare yapar. 18-37 derece arasında üreyebilirler. Oksidaz deneyi ve kolera kırmızısı deneyi pozitiftir. D-glukoz ve diğer karbohidratları asit oluşturarak fermente etme özelliğine sahiptir (32,34,37).

2.7.1.2.1. *Vibrio cholerae*

Kolera etkeni olan ve kitle ölümlerine sebep olan *Vibrio cholerae* ilk olarak 1886'da Robert Koch tarafından izole edilmiştir. Primer rezervuarı insandır.

Gram negatif özellikte, kapsül ve spor içermeyen, virgül şeklinde, tek kirpikle hareket eden, hafif kıvrık, kısa spiral veya S şeklinde çomaklardır. Aerop veya fakültatif anaerob ortamda 24 saat civarında 16-42 dereceler arasında S tipi koloni yaparak ürerler. Optimum üreme ısıları 37 derecedir. Glukoz, mannoz, maltoz, sükroz ve mannitolü birkaç günde asit yaparak fermente eder. Laktoz ve arabinoza etkileri negatiftir. Kolera kırmızısı, katalaz ve oksidaz deneyleri pozitiftir. Büyük çoğunluğu indol yapabilme yeteneğindedir. Kanlı agarda kolonilerinin etrafında hemoliz görülür. Endotoksin ve enterotoksinleri vardır. Bu şekilde klinik tablonun ortaya çıkmasına neden olurlar. *V. Cholerae* ısı ve kuruluğa duyarlıdır. Klordan çabuk etkilenir. Kaynatmakla kısa sürede canlılığını yitirir (32,42).

2.7.1.2.2. *Vibrio parahaemolyticus*

Fakültatif anaerop bakterilerdir. Glukoza pozitif, laktoza negatif etki eder. O ve K antijenleri mevcuttur. Enterotoksin içermez. Kanlı agarda hemoliz yapar. Daha çok besin zehirlenmelerinde görülür. Halofilik bir türdür. Doğada, özellikle sığ deniz sularında bulunur. Kontamine deniz ürünlerinin yenmesi ile besin zehirlenmesi görülür. Japonya'da akut diyarenin temel nedenidir. Özellikleri *V. Cholerae*'ye benzer (43).

2.7.1.3. *Aeromonas* spp.

Fakültatif anaeroptur. Sularda sıklıkla görülür. Balık ve kurbağa patojenidir. Kontamine su kullananlarda diyare ve bakteriyemiye neden olur. Morfolojik olarak Enterobacteriacea ailesine benzer. Polar kirpiklidir. Optimum üreme derecesi 22-28'dir. Üreaz deneyi negatif, oksidaz, katalaz, jelatinaz ve DNAaz pozitiftir (44).

2.7.1.4. *Pseudomonas* spp.

Toprakta, bitkilerde, suda, denizde, insan ve hayvanda potansiyel patojen olarak bulunur. Toksin ihtiva eder. Nonfermantatif çomaklardır. Doğada organik maddelerin parçalanmasında rol alırlar. Hareketli bakterilerdir. Zor şartla bile kısa sürede üreyebilirler. Bazı suşları kapsüllü, sporsuz Gram negatif özelliktedir. Üreme aralığı 10-42 derecedir. Optimum üreme derecesi ise 37 derecedir. Hemolizin salgılama

yeteneklerinden dolayı kanlı agarda kolonilerin etrafında eritrositlerin dejenere olması sonucu hemoliz bölgesi görülür. Glukoz ve ribozu fermente eder. Katalaz pozitif, indol, VP ve metil kırmızısı deneyleri negatiftir. Sitokrom oksidaz ihtiva eder. Bu şekilde Enterobacteriaceae ailesinden ayırt edilebilir (32,34).

2.7.1.5. *Acinetobacter* spp.

Nonfermentatif gram negatif çomaklardır. Toprak ve özellikle lağımda yaygın olarak bulunur. Kok veya kokobasil şeklinde görülürler. Polar fimbriyaları bulunur. 20-30 derece arasında ürerler. Katalaz deneyi pozitif, oksidaz, indol ve nitrat deneyleri ise negatiftir (45).

2.7.1.6. *Legionella spp.*

Özellikle sularda ve nemli toprakta yaygın olarak bulunur. Kültürden hazırlanan preparatlarda uzun flaman şekillidir. Hareketlidirler. Gram boyama ile zor, Gimenez boyası ile kolay boyanırlar. Üremeleri özellikle demir ve sisteinle zenginleştirilmiş besiyerlerinde gerçekleşir. Nonfermentatif, kapsülsüz, sporsuz Gram negatif çomaklardır. Katalaz ve jelatinaz deneyleri pozitif, oksidaz, üreaz, nitrat deneyleri negatiftir. Hemolizin, proteaz, esteraz, fosfataz, aminopeptidaz ve endonükleaz salgılama yeteneğindedirler (46).

2.7.1.7. Koliform Bakteriler

E. coli'ye benzer olarak laktozdan asit ve gaz oluşturan bakterilerdir. *E. coli*, Klebsiella, Enterobacter ve Citrobacter bu grupta yer alır. *E. coli* su ve besin maddelerinin lağım suları ile kirlendiğine işaret eder. Bu özelliğiyle indikatör bir türdür (32).

2.7.1.7.1. *Escherichia coli*

Gram negatif, az hareketli, ortalama 5 mikrometre büyüklüğünde olan 18 saatte yaklaşık 3-4 mm çapında koloni yapabilme özelliğinde, 37 derecede iyi üreyebilen, soğuğa karşı dirençli, peritrik kirpiğe sahip, çoğunda fimbriya bulunan, sporsuz kapsül içermeyen çomaklardır. En sık görülen türü *E. coli*'dir. İnsanların ve sıcak kanlı

hayvanların bağırsaklarında kommensal olarak bulunur. Gastrointestinal sistemde hastalık yapmazken vücudun steril bölgelerine ulaştığında enfeksiyona sebep olur. Hijyen şartlarının uygun olmadığı yerlerde diyare sebebidir. Genel kullanım besiyerlerinde ürerler. Mac Conkey agarda pembe kırmızı, EMB'de mor-siyahımsı ve madeni parlaklık veren koloniler oluştururlar. SS agarda üremeleri baskılanır. Ürerlerse pembe-kırmızı büyük, mat renkli koloniler yaparlar. Laktoza etki etme özellikleri, laktoza etki edemeyen Salmonella ve Shigella cinsi bakterilerden ayırt edilmesine olanak sağlar. Karbohidratlardan asit ve gaz oluşturur. En önemli özelliklerinden biri laktozu fermente etme yeteneğidir. Adonitol, inozitol ve sellobiyozu nadiren fermente ederler. Nişastadan gaz oluşturmazlar. E. coli türlerinin tanımlanmasında IMVIC deneyi kullanılır. *E. coli* ve Shigella cinsi bakterilerin genetik özellikleri benzerdir. Bu yüzden özellikle laktoz negatif, gaz oluşturmayan hareketsiz E. coli suşlarının ayırt edilmesi problem teşkil edebilir. İlave deneyler yapılmalıdır. Sitrat, oksidaz, üreaz, VP ve H_2S deneyleri negatiftir. TSİ'de H_2S oluşturmazlar, dipte ve yatık kısımda asit reaksiyon verirler. Katalaz, indol ve metil kırmızısı deneyleri pozitiftir. Suşların çoğu nitratları nitritlere indirgeyebilir. Fimbriya antijenleri mevcuttur. Enterotoksinler, sidoforlar ve salgıladığı bazı maddeler virülans faktörlerini oluşturur. Bazı türleri hemolizin salgılama özelliğine sahiptir. Bu şekilde enfeksiyonlara neden olurlar (32,34).

2.7.1.7.2. *Klebsiella* spp.

Klebsieleae kabilesinde Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Pantoea ve Hafnia gibi çeşitli cinsler bulunur. Doğada, insan ve hayvan bağırsağında bulunur. Patojen bir türdür. Hastane enfeksiyonlarının temel nedenidir. İdrar yollarında ve solunum sisteminde enfeksiyona neden olur. Biyokimyasal özelliklerine göre çeşitli türlere ayrılır. En önemlileri *K. pneumoniae*, *K. oxytoca, K. subsp ozeane, K. pneumoniae* subsp rhinoscleromatis'tir (8,11,32,34).

2.7.1.7.2.1. *Klebsiella pneumoniae*

Gram negatif, hareketsiz, spor içermeyen kapsüle sahiptir. Kapsül bakteriyi fagositoza karşı korur. En iyi glukozlu ve kanlı besiyerinde kapsüllenirler. Otopside kan ve organ sürüntülerinde bol kapsüllü bakteriler görülür. İnsanların %5'inin bağırsak florasında ve üst solunum florasında bulunurlar. Doğada da yaygın olarak bulunur. Özellikle üst solunum sistemi, idrar yolları ve bağırsakta enfeksiyonlara neden olur.

Pnömoni oluşturduğu olgularda balgamdan, idrar yolları enfeksiyonlarında idrardan, menenjitte BOS'dan, septisemide kandan soyutlanırlar. Optimum üreme ısıları 37 derecedir. 18-48 saatte S şeklinde, kapsüllü olanlar M tipinde koloni oluşturur. KCN besiyerinde ürerler. Mac Conkey besiyerinde pembe mukoid, EMB besiyerinde morumsu, Hektoen agarda sarı-turuncu, XLD agarda sarı, SS agarda pembe koloni oluştururlar. TSİ besiyerinde H_2S olumsuz olup gaz oluştururlar. Dip kısımda asit, yatık kısımda alkali reaksiyon verirler (32,34).

Şekerleri asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. Klebsiella pneumoniae nişastayı en geç 4 gün içinde parçalayıp gaz oluşturması ile diğer bağırsak bakterilerinden ayrılır. IMVIC testleri -,-,+,+'dır. Oksidaz deneyi negatif sonuç verir. Katalaz ve üreaz deneyleri pozitiftir. O ve K antijenleri mevcuttur. Bazı suşlar enterotoksin salgılama özelliği gösterir. Isı ve dezenfektan maddelere duyarlı, kuruluğa karşı dirençlidirler. Kurutulmuş sebze ve meyve içinde yaşayabilirler (32,34).

2.7.1.7.3. *Citrobacter* spp.

Bu genusta insan için patojen olan önemli türler *C. Freundii* ve *C. Diversus*'tur. İnsan dışkı florasında, toprak ve suda yaygın olarak bulunabilmektedir. Genel kullanım besiyerlerinde kolay ürerler. Gram negatif, hareketli, sporsuz, kapsülsüz çomaklardır. En belirgin özelliklerinden biri sitratı karbon kaynağı olarak kullanmalarıdır. Glukozu asit ve gaz olarak parçalarlar. IMVIC deneyleri -,+,-,+ olup H_2S oluşturabilirler. Mac Conkey ve Endo besiyerinde 24 saatte renksiz, 48 saatte pembe koloniler yaparlar. EMB'de hafif mor renksiz, SS agarda ise renksiz koloniler oluşturur. TSİ besiyerinde dipte asit, yatıkta alkali bazen de asit reaksiyon yaparlar. Çoğunlukta H_2S ve gaz oluştururlar. Enterotoksin salgılar ve beta laktamaz pozitif bir türdür. *C. Koseri ve C. Amaloraticus* diğer türleridir (34).

2.7.1.7.4. *Enterobacter* spp.

Bu genusta insanlarda enfeksiyon oluşturan türler *E. aerogenes* ve *E. cloacea*'dır. Normal insan bağırsak florasında bulunabilen Gram negatif çomaklardır. Daha çok fırsatçı patojen olarak idrar yolları, üst solunum, yara, yanık enfeksiyonları, septisemi ve menenjit oluşturabilirler. Spor içermezler, kapsülsüz veya ince kapsüllüdür. Peritrik kirpikleri bulunur. Glukozu gaz oluşturarak parçalarlar. IMVIC

testleri -,-,+,+'dır. Mac Conkey ve Endo agarda pembe, EMB agarda morumsu koloniler yaparak ürerler. TSİ besiyerindeki üremeleri Klebsiella'lar gibidir. Doğada yaygın olarak bulunur. Ornitin reaksiyonunun pozitif olması diğer türlerden farklılığını ortaya koyar (34).

2.7.2. Gram Pozitif Koklar

Oldukça geniş bir grubu içine alır. Oval, spor içermeyen, hareketsiz bakterilerdir. Oksijen ihtiyaçları cins ve türlere göre farklılıklar gösterebilir. Micrococcaceae ve Streptococcaceae aileleri Gram pozitif koklar içinde yer alır. İnsan ve hayvan patojenidirler. Bakteriler morfolojilerine ve diğer bazı özelliklerine göre gruplandırıldığında, küme yapmış katalaz pozitif ve bazı sitokromlara sahip türler Micrococcaceae; kısa veya uzun zincir oluşturan katalaz negatif olanlar Streptococcaceae ailesi içinde yer alırlar. Staphylococcus, Micrococcus, Stomatococcus türleri birinci; Streptococcus, Enterococcus, Lactococcus, Aerococcus cinsleri ikinci grupta yer alır. Gram pozitif koklar oksijene olan gereksinmelerine göre de zorunlu aerop (Micrococcus), zorunlu anaerop ve fakültatif olarak gruplandırılabilirler. Tıbbi önemi olan başlıca patojenler Staphylococcus, Streptococcus ve Enterococcus cinsleridir. Micrococcus, Stomatococcus ve diğer cinsler deride kolonize olan nadir patojenlerdir. Gram pozitif bakterilerde hücre çeperi, sitoplazma zarı, peptidoglikan ve bu yapılar üzerinde yer alan teikoik asit, protein A gibi çeşitli maddelerden oluşmuştur (32,34).

2.7.2.1. Stafilokoklar

Mikroskoptaki morfolojik şekilleri üzüm salkımı şeklindedir. Gram pozitif özelliktedir. Spor içermez. Katalaz deneyi pozitif, oksidaz deneyi ise negatiftir. Çeşitli hibridizasyon çalışmaları stafilokokların Enterococcus, Bacillus ve Listeria cinsleri ile benzer özellikler içerdiğini ortaya koymuştur. Stafilokoklar insan ve hayvanda boğaz, burun gibi vücut bölgelerinde bulunur. Plazmayı koagüle etme özelliklerine göre tanımlanabilirler. İnsanlarda patojen olan ve plazmayı pıhtılaştıran tek tür Staphylococcus aureus'tur. Bunu koagülaz negatif *olan S. Epidermidis* ve *S. Saprohyticus* izler. Sarı ve beyaz renklerde pigment oluşturur. Stafilokokların aerop, fakültatif anaerop ve zorunlu

anaerop türleri vardır. Büyük kısmı fakültatif anaerop'tur. Anaerop koşullarda üreyen türler genelde katalaz negatiftir (32,34).

2.7.2.1.1. *Staphylococcus aureus*

Doğada yaygın olarak bulunur. İnsan ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olur. Çeşitli enzim ve toksinleri salgılama yeteneğindedirler. Klinik tablo bu şekilde oluşur. Koagülaz pozitif stafilokok olarakta bilinmektedir. Mikroskoptaki görüntüleri üzüm salkımı şeklindedir. Hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüzdürler. Katı besiyerinde 37 derecede 18-24 saatte, 3-4mm çapında üzerleri düz koloni oluşturarak ürerler. Pigmentleri genelde altın sarısıdır. Kanlı agarda hemolizin salgıladıklarından kolonilerinin etrafında hemoliz bölgesi görülür. Başta glukoz olmak üzere pek çok karbohidratı parçalar. Laktik asit oluştururlar. Nitratları nitritlere indirgeyebilirler. Üreaz ve katalaz deneyleri pozitif, genellikle oksidaz negatiftir (47).

Hücre duvarlarında bakteriye şekil veren ve dayanıklılığını sağlayan peptidoglikan tabaka bulunur. Peptidoglikan, N-asetilmuramik asit ve N-asetilglukozamin alt ünitelerinden oluşur. Diğer önemli bileşen de teikoik asittir. Peptidoglikan tabaka ve teikoik asit, stafilokokların mukoza hücrelerinin yüzeyindeki reseptörlere bağlanmasını sağlarlar. Hücre yüzeyinde peptidoglikan tabakasına bağlı bulunan diğer bir yapı da Protein A'dır. Protein A fagositozu önler (34).

2.7.2.2. *Micrococcus* spp.

Koloni morfolojisi yönünden stafilokoklara oldukça benzeyen Gram pozitif koklardır. İnsanların deri ve mukozalarında bulunan normal flora bakterisidir. Klinik örneklerde kontaminasyon bakterisi olarak bulunabileceklerinden Gram pozitif kokların özelliklerini, cins düzeyinde inceledikten sonra tanı konulmalıdır (32).

2.7.2.3. *Streptococcus* spp.

Gram pozitif koklardır. Streptococcaceae ailesindendirler. Koklar şekil itibarı ile oval, zincir şeklinde ve farklı uzunlukta olabilir. Bazı Streptococcus türleri, kokobasil hatta çomak biçiminde görülebilirler. Bu yüzden Gram pozitif ve katalaz negatif Lactobacillus cinsi ile karıştırılabilir. Hareketsiz, sporsuz, bazı tipleri de kapsüllüdür. Çoğunlukla fakültatif anaerop, bazıları zorunlu aeroptur. Katalaz deneyi eritrosit

içermeyen besiyerlerinde yapılmalıdır. Eski kültürlerden hazırlanan preparatlarda Gram negatif görünebilirler. Tanımlama testlerinde bu durum gözardı edilmemelidir. Streptococcus cinsi Streptococcus, Enterococcus ve Lactococcus olmak üzere üç cinse ayrılmıştır. Streptococcus cinsi insan ve hayvanlarda bulunur. Enfeksiyonlara ve besin zehirlenmelerine sebep olurlar. Doğadaki bazı türleri saprofittir. Kolay üremeyen bakterilerdir. Kan katılarak zenginleştirilmiş agar besiyerinde eritrositleri hemoliz ederler. S tipi koloni yaparlar. Buna göre 1- Şeffaf hemoliz yapanlar (beta hemolitik streptokok) 2- Yeşil hemoliz yapanlar (alfa hemolitik streptokok) 3- Hemoliz yapmayanlar (gamma hemolitik veya nonhemolitik streptokok) olarak tanımlanırlar. Eritrositlerin tamamen eridiği hemoliz, beta hemoliz; kısmen eridiği ve hemoglobinin farklı şekilde reaksiyona uğradığı hemoliz ise alfa hemolizdir. Streptococcus cinsi glukozu parçalayarak laktik asit meydana getirir. Bu nedenle ortam pH'sı kısa sürede aside döner ve yüksek miktarda glukoz bulunan besiyerinde bakteri kısa sürede ölür (32,34).

2.7.2.4. *Enterococcus* spp.

Ortalama 1 mikrometre büyüklüğünde oval şekilli, kanlı agarda alfa hemoliz yapan fakültatif anaerop koklardır. Hareket etmeyen, sporsuz, kapsül içermeyen bakterilerdir. Optimum üremelerini 37 derecede gerçekleştirirler. Karbohidratların çoğunu fermente ederler. Gaz oluşturmadan laktik asit meydana getirerek ortam pH'sı 4,2-4,6'ya dönüştürebilirler. Katalaz deneyi negatiftir. Nitratları nitritlere indirgerler. Çok seyrek olarak bazılarının kirpiği vardır. Önceleri Streptococcus cinsi içinde yer alan Enterococcus özellikle toprak, su ve besinlerde ayrıca insan ve hayvanların ve özellikle vertebraların gastrointestinal sistemlerinde yoğun olarak görülmektedir. Başlıca türleri *E. faecalis* ve *E. faecium'*dur. *E. faecalis* insan dışkısından izole edilir. Bazı türlerde nadiren orofarinks vagina ve deride bulunur. Bakteri ve koloni morfolojisi alfa hemolitik streptokoklarla aynıdır. Bu yüzden farklı özellikleri saptanarak tanı konur. PYR pozitifliği tanı için yeterli olmaktadır (34).

2.7.3. Gram Negatif Koklar

2.7.3.1. *Neisseria* spp.

İnsan için primer patojen türleri vardır. Bu türler çeşitli enfeksiyonlardan izole edilmişlerdir. İnsan ve hayvanda normal flora bakterisidir. *N. gonorrhoeae* belsoğukluğu; *N. meningitidis* menenjit etkenidir. Hareketsiz, sporsuz, kapsül ve pilus içerebilen aerop Gram negatif koklardır. Diplokok olanların birbirine bakan yüzeyleri çukur, diğer tarafları ise düzdür. Mikroskop incelemesinde bazen tetrat şeklinde de görülebilirler. *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis* renk giderme işlemine direnç gösterme eğiliminde olduklarından Gram pozitif olarakta boyanabilirler. Neisseria'lar yapı bakımından bazı Gram negatif bakterilerle benzerlik gösterebilirler. *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis* yalnız kanlı agar, çukulatamsı agar gibi özel besiyerlerinde ürer. Üreme esnasında ortaya çıkan serbest yağ asitleri üremeyi baskılar. Ortama eğer kan, nişasta gibi maddeler eklenirse bu inhibisyon engellenebilir. Optimum üreme ısıları 37 derecedir. Patojen olmayan türler 24 derecenin altındaki ısı derecelerinde, patojen olanlar ise 24-41 dereceler arasında, 6-8 arası pH'da ürerler. Türler 24 saatlik kültürde 0,5mm çapında opak, gri, sarı beyaz pigmentli S tipi koloni oluştururlar. Bazı suşlar güç ürer ve hemolitiktir. Tüm Neisseria suşlarında katalaz ve sitokrom oksidaz reaksiyonları pozitif özellik gösterir (32,34).

2.7.4. Gram Pozitif Çomaklar

Gram pozitif çomaklar çevrede yaygın olarak bulunan, enfeksiyon yapabilen geniş bir gruptur. Bu grupta atık sular açısından önem taşıyan Corynebacterium, Bacillus, Listeria, Mycobacterium, Nocardia, Arthrobacter, Rhodococcus vb türler bulunur. Morfolojileri, Gram boyama ve spor oluşturma özelliklerine göre ayrılırlar; hücre şekilleri düzgün sporsuz bakteriler (Listeria), sporlu gram pozitif çomaklar (Bacillus), hücre şekilleri düzgün olmayan bakteriler (Corynebacterium), dallanmış flamanlı bakteriler (32).

2.7.4.1. *Bacillus* spp.

Bacillus cinsi endospor oluşturan doğada, toz, toprak ve sularda yaygın olarak bulunan oldukça geniş bir gruptur. Bazı türleri peritrik kirpikli ve hareketlidir. Kalın ve uçları köşelidir. Termofilik ve psikrofil türleri vardır. Üreme aralığı pH'ları 2-10

arasıdır. Katalaz deneyi genelde pozitif sonuç verir. Doğada en yaygın bulunan türü Bacillus subtilis'tir. Gram pozitif özelliktedir. Sporları otoklav ve etilen oksit sterilizasyonunda kontrol olarak kullanılmaktadır (34).

2.7.4.2. *Corynebacterium* spp.

Şekilleri düzensiz, sporsuz, aerop özellikte, Gram pozitif çomaklar korineform olarak adlandırılır. İnsan ve hayvanlarda bulunurlar. Orofarinks, genital bölge ve deri florasını oluşturur. Hastalık yapmayan gruba difteroid denir. Corynebacterium jeikeium atık sularda raslanan türdür. Vankomisine karşı duyarlıdırlar. Glukoza etki ederler, nitrat redüksiyonu ve üreaz deneyleri negatiftir (32,34).

2.7.4.3. *Listeria* spp.

Doğada yaygın olarak bulunur ve çok sayıda türü vardır. Saprofit türleri toprak, su, lağımda ve çürüyen sebzelerde bulunur. İnsan ve hayvan dışkısından da izole edilmektedir. Atık sularda sıklıkla bulunan türü Listeria monocytogenes'dir. Hayvanlarda enfeksiyona neden olur. Yaptığı enfeksiyona listeryoz adı verilir. Morfolojik şekilleri değişken olabilir. Kapsül içermeyen, sporsuz, peritrik kirpikli Gram pozitif çomaklardır. Kanlı agarda küçük koloniler oluşturur ve yarı şeffaf olarak ürerler. Beta hemolitik streptokok kolonilerle karıştırılabilirler. Katalaz ve glukoz deneyleri pozitif, oksidaz ve H_2S deneyi ise negatif sonuç verir (34-37).

2.7.5. Anaerop Bakteriler

Anaeroplar ortamda serbest oksijen bulunmadığında ya da çok az bulunduğunda üreyebilen bakterilerdir. Moleküler oksijen anaerop bakteriler için öldürücü etki yapar. Doğada yaygın olarak derin deniz sularında, toprak, çamur ve dışkıda insanda ise bağırsakta, deride, ağızda, üst solunum sisteminde ve ürogenital sistem florasında bulunur (31,32).

Aerop bakteriler ve fakültatif anaerop bakteriler serbest oksijen radikallerinin etkilerini bertaraf edebilen süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi enzimlere sahiptir. Anaerop bakterilerin büyük çoğunluğu ise SOD ve katalaz enzimlerinden yoksundur ya da az miktar içermektedirler. Strikt anaeroplarda peroksidaz enzimi de

bulunmaz. Bu nedenle hidrojen peroksit ve superoksit gibi oksijenin toksik ürünlerinin etkilerinden korunamazlar. Oksijen etkisinde kalan anaeroplar eğer uygun oksijensiz ortam sağlanmazsa ölürler (32,34,37).

Anaerop bakteriler, oksijene olan duyarlılıklarına göre farklı oksijen konsantrasyonlarında ürerler. Zorunlu anaeroplar: ≤ %4 O_2' de, ılımlı anaeroplar: ≤ %8 O_2' de, mikroaerofil bakteriler: %2,5 - %10 O_2' de üreyebilirler. Bu bakterilerin oksijene olan toleransları SOD ve katalaz enzim sistemleri ile yakından ilişkilidir (48).

Anaerop bakteriler terminal oksijen alıcısı olarak oksijeni kullanamazlar, gerekli enerjiyi fermentasyon ile elde ederler. Anaerop bakteriler normal koşullarda insanda hastalık yapmazlar ve zedelenmemiş doku yüzeylerinden sağlam dokulara geçip üremezler. Hastalık oluşabilmesi cerrahi girişim ve travma gibi koşullara bağlıdır. İnsanlarda enfeksiyon oluşturabilen anaerop bakteriler Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas ve Fusobacterium cinsinde bulunan anaerop Gram negatif çomaklarla, Peptostreptococcus, Clostridium cinsleridir (48).

2.7.5.1. Anaerop Gram Pozitif Koklar

Anaerop Gram pozitif koklara örnek olarak Peptostreptococcus, Peptococcus, Streptococcus, Ruminococcus, Coprococcus, Gemminger ve Sarcina cinslerini verebiliriz. Anaerop koklar diğer anaerop bakterilerin ürediği sıvı besiyerleri ve selektif olmayan besiyerlerinde ürer. Özel besiyeri olarak fenil etil alkol, vankomisin, kanomisin, neomisin içeren besiyerleri kullanılır. Besiyerlerinde üremeleri yavaş olur. En az 48 saat veya daha uzun zamanda üremeleri gerçekleşir. Gram boyama ile boyandıklarında aerop ve mikroaerofil diğer koklardan morfolojik olarak tanımlanmaları güçtür (31,34).

Kanlı agarda şeffaf beyazımsı, küçük, çoğunlukla hemolizsiz koloniler meydana getirirler. Üreaz ve koagülaz deneyleri negatiftir. Hücreler çift çift, tetratlar şeklinde görülürler. Bazı anaerop koklar hyaluronidaz, koagülaz ve üreaz gibi patojeniteye sebep olabilen enzimler oluştururlar (31).

2.7.5.2. Anaerop Gram Negatif Koklar

Anaerop Gram negatif koklara Veillonella cinsi *Acidaminococcus fermentans* ve *Megasphaera elsdenii* örnek olarak verilebilir. Veillonella cinsi ağızda, gastrointestinal sistemde ve vaginanın normal florasında bulunabilen virülansı düşük bir bakteridir (31,32).

2.7.5.3. Anaerop Gram Pozitif Çomaklar

Deri ve mukozalarda kolonize olan zorunlu, bazı türleri fakültatif anaerop bakterilerdir. Mikroskopta çomak şeklinde, kalın, dallanan flamansı yapıda olmak üzere görünebilirler. Sıklıkla karşılaşılan Gram pozitif çomaklara örnek olarak Actinomyces, Mobilincus, Lactobacillus, Propionibacterium, Eubacterium, Bifidobacterium cinsleri verilebilir. Bunlar için en önemli ayrım içerdikleri G+C oranlarına göre yapılır. Ayrıca bakterilerin ürettikleri uçucu yağ asitleri de cins ayrımında önem taşır. Propionibacterium cinsleri propionik asit, Lactobacillus türleri sadece laktik asit oluşturur. Lactobacillus cinsinin G+C oranlarının düşük olmasına karşın, Actinomyces, Bifidobacterium ve Propionibacterium cinslerinin G+C oranları yüksektir (31,32,34).

2.7.5.3.1. *Sporlu Gram Pozitif Çomaklar*

Sporlu Gram pozitif çomaklar denildiğinde Clostridium cinsi bakteriler akla gelmektedir. Bu grupta 100'den fazla tür bulunur. Su, toprak ve bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadırlar. Çoğu zorunlu anaeroptur. Putrefikasyonda önemli rol alırlar. En önemlileri *C. perfringens, C. tetani, C. botulinum ve C. difficile'dir*. Bu türlerden bazıları insan ve memelilerin gastrointestinal sisteminde bulunur. Ekzotoksin oluşturabilirler. Çoğu türü hareketli ve kapsülsüzdür. Eskimiş kültürlerde Gram negatif görünebilirler. 120 derece ısıya 10-15 dakika dayanabilme kabiliyetindedirler. Anaerop koşullarda en geç 48-72 saatte ürerler. Gazlı gangren, tetanoz, botilusmusun yanı sıra çeşitli enfeksiyonlara ve besin zehirlenmesine neden olurlar (31,32).

2.7.5.4. Anaerop Gram Negatif Çomaklar

Anaerop bakterilerin en geniş grubunu oluşturup Bacteroidacae familyasında yer alırlar. *Bacteroides spp., Prevotella spp., Porphyromonas spp.* ve *Fusobacterium spp.*

en çok bilinen cinslerdir. Gram negatif özelliktedirler. Morfolojik olarak kokobasil ve flamansı fusiform şekillidirler. Çoğu tür hareketsizdir. Daha çok gastrointestinal sistem, orofarinks ve genital organlarda yerleşmişlerdir. Anaerop Gram negatif çomakların en önemli grubu Bacteroides cinsi özellikle de Bacteroides fragilis grubudur (32).

Anaerobik Gram negatif çomaklar büyük çoğunluğu kapsülsüz, hareketsiz, sporsuz bakterilerdir. Besin gereksinimleri çeşitlidir. Taze hazırlanmış kanlı agarda iyi ürerler. Bazı türlerin gözle görülebilir kolonilerinin oluşması için en az 48 saate ve CO_2 mevcudiyetine ihtiyacı vardır (31-34)

Mikroskop incelemelerinde uçları düzgün veya bipolar, düzensiz boyanmış, pleomorfizm gösteren çomaklar daha çok Bacteroides cinsini, küçük kokobasil şeklinde veya oval görünen çomaklar Prevotella ve Porphyromonas cinsini, uzun, flamanlar oluşturan, heterojen boyanan iğ veya mekik şeklinde görülen çomaklar ise Fusobacterium cinsi bakterilerin olabileceğini düşündürür. Pek çok tür taze hazırlanmış kanlı besiyerlerinde üreyebilirse de, besiyerine koyun veya at kanı, maya özeti, hemin ve K vitamini katılması üremeyi hızlandırır. Besiyerlerine ayırt edici olarak kanamisin, vankomisin ve gentamisin gibi maddelerde ilave edilebilir. Bacteroides cinsi bakterilerin çoğu en geç 48 saatte üreyebilirse de diğer Gram negatif çomakların izolasyonu için daha uzun süreler beklemeye gerek duyulur. Anaerop Gram negatif çomaklardan B. Fragilis grubunda bulunan mikroorganizmaların çoğunun beta laktamaz aktiviteleri vardır. Bazı Porphyromonas, Prevotella ve Fusobacterium cinsleri de bu enzimi meydana getirebilmektedir (31,32,34).

2.8. SU İLE BAĞLANTILI BAZI ENFEKSİYÖZ HASTALIKLAR

Tüm dünyada hastalıkların hemen hemen yarısı sularla ilişkilidir. Daha da ötesinde sularla bulaşan enfeksiyöz ishallerin ölüm nedenleri içinde 2. sırada olduğu bilinmektedir. Az gelişmiş ülkelerde görülen her dört hastalıktan birisi suyla bulaşan hastalıklardandır. Ayrıca bu ülkelerdeki hastalıkların %80'i temiz su eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Enfeksiyöz ishaller, Dizanteri, Giardiyaz, Barsak parazitozları, Dracunculiasis, Tifo ve paratifo, Yersinya enfeksiyonu, Kolera, Hepatit A ve E, Trahom, Sıtma, Şistosomiazis, Dengue humması, Mantar hastalıkları, Legionella enfeksiyonu, Leptospira enfeksiyonu, Kampilobakter enfeksiyonu, Norwalk vb virüs

enfeksiyonu, Siyanobakteri toksikozları, Onchocerciasis, Fluorosis en sık rastlanan su ile bağlantılı başlıca hastalıklardır (49).

2.8.1. Campylobacter Kaynaklı Hastalıklar

Dünya çapında diyare ile seyreden hastalıkların majör sebebi bütün diyare olgularının %5-%14'ünün etkeni olan Campylobacterler olup en yaygın görülenidir. Gelişmiş ülkelerde gıda ile bulaşan örneğin Salmonella enfeksiyonlarından daha sık görülür. Gelişmekte olan ülkelerde özellikle 2 yaş altında görülen ve ölüme sebep olan Campylobacter enfeksiyonları gelişmiş ülkelerde de bilinmeyen bir nedenle giderek artmaktadır. Campylobacterilerin 16 tipi ve 6 alt tipi vardır. İnsanlarda sıklıkla hastalık yapanlar *C. jejuni, C. coli, C. laridis ve C. upsaliensis'dir*. Campylobacteriosis bu bakterilerin oluşturduğu bir hastalıktır. Genelde etkenle karıştıktan 2-5 gün sonra semptomlar başlar. En sık görülen semptomlar; çoğunlukla kanlı olarak ortaya çıkan ishal, karın ağrısı, ateş, baş ağrısı, bulantı ve kusmadır (50).

2.8.2. Salmonella Tiplerinden Kaynaklanan Hastalıklar

Dünya çapında yılda 17 milyon vakaya sebep olan Salmonella bakterisinin değişik tipleri primer olarak insanarda enfeksiyonlara neden olurlar. Genellikle dışkı ile kontamine olmuş yiyecek ve içeceklerle alınır ve çoğunlukla oral yolla vücuda girerler. Bu nedenle gelişmekte olan ülkelerde su-gıda hijyen sorunu olan yerlerde sık görülen sorunlardandır (51).

Enterik ateşte (tifoid ateş) etkenle karşılaşıldıktan 10-14 gün sonra semptomlar başlar. Başlıca semptomları ateş, rahatsızlık hissi, başağrısı, kabızlık, bradikardi ve kas ağrısıdır. Paratifo ve tifo benzer semptomlara sahiptir sadece şiddeti biraz daha fazladır. Oral yolla alınan Salmonella ince barsağa ulaştıktan sonra buradan önce lenfatiklere daha sonra da kana ulaşır. Etken barsağın lenfatik dokularında çoğalmaya başlar ve dışkıya karışır.

Enterekolit en sık rastlanılan Salmonella enfeksiyonudur. Herhangi bir salmonella tipi ile meydana gelebilir fakat çoğunlukla rastlanılanı *S. Typhimurium*'dur. Oral alımdan 8-48 saat sonra bulantı, başağrısı, kusma ve şiddetli diyare başlar (51).

2.8.3. *E. coli* Kaynaklı Hastalıklar

E.coli sıcak kanlı hayvanların ve insanların barsaklarında yaşayan bir bakteridir. E.coli'nin birçok türü zararsızdır ancak Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC) gibi bazı türleri su ve gıdayla bulaşan hastalıklara yol açabilirler.

Shigella dysenteriae tarafından üretilen toksinlere benzer şekilde EHEC'de toksin üretir. Bu toksine verotoksin veya Shiga-like adı verilir. EHEC tarafından oluşturulan hastalığın semptomları; abdominal kramp, ishal (bazı olgularda kanlı ishal) ateş, bulantı ve kusmadır. Etkenin 3-8 gün inkübasyon periyodu vardır (52).

2.8.4. Shigella Kaynaklı Hastalıklar

Shigella dysenteriae type 1 (Sd1), *S. flexneri, S. sonnei ve S.bodyi* gibi tipleri vardır. Halk sağlığı açısından en tehlikeli tip Sd1'dir.

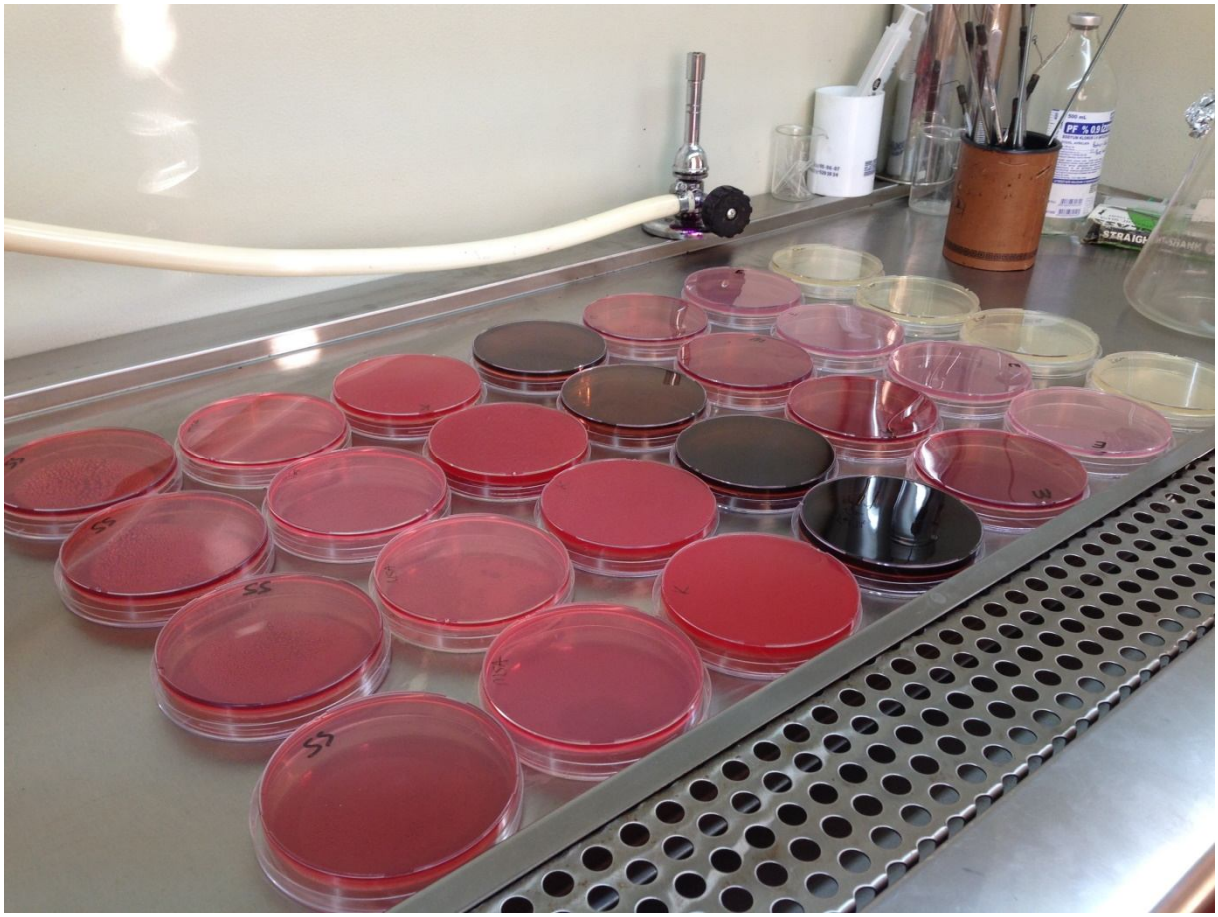
Shigella enfeksiyonları mukozal ülserlere neden olabilir ve intestinal kanal ile sınırlıdır, kan yoluyla yayılım son derece nadirdir. Temel patoloji mukozal epitelyumun invazyonu, kalın barsak ve terminal ileumda mükoz membranın nekrozuna yol açan mikroabseler, yüzeysel ülserasyon, kanama ve ülserli bölgede psödomembran oluşumudur. *S. dysenteria*'nın ürettiği ısıya duyarlı ekzotoksin barsak ve santral sinir sistemini etkiler. Bu toksin bir enterotoksin gibi etkiyerek diyareye neden olur. Ayrıca bu toksin insanda barsaktan şeker ve amino asit emilimini engeller. Nörotoksin gibi etki gösterip meningismus ve komaya yol açarak ölüme neden olabilir (49).

2.8.5. Kolera

Su ile kolaylıkla bulaşabilecek en önemli ve en tehlikeli hastalıklardan biridir. *Vibrio cholerae* kontamine sularda 3 hafta canlı olarak kalabilir. Özellikle dip çamurlarda yaşam süresi çok uzundur. *V. cholerae* sadece insanlar için patojeniktir. İnkübasyon dönemi 1-4 gündür. Aniden ortaya çıkan bulantı-kusma ve abdominal kramplarla seyreden ishal vardır. Pirinç suyunu andıran gaita mukus, epitelyal hücreler ve çok sayıda Vibrio içerir. Hızlı sıvı ve elektrolit kaybı sonucu ileri derecede dehidratasyon, dolaşım sisteminde kollaps ve anüri gelişir (53).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN BESİYERLERİ



Şekil 3.1: Tezimde kullandığım besiyerleri

Kanlı agar

ENDO agar

MacConkey agar

EMB (Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose)

SS agar

TSİ

Ticari olarak satın alınan diğer besiyerleri (MSA-Mannitol Salt Agar-, Krom agar)

Anaerop bakteriler için Schadler KV agar, Schadler feniletil alkol agar

3.2. GEREÇLER

Distile su

Otoklav

Petri

Mikroskop

Kenarı buzlu cam lam ve lamel

Gram boyama kimyasalları (kristal viyole, lugol, alkol, fuksin)

Gram boyama küveti

Piset

Steril kabin

Vatman kağıdı

Hassas terazi

Balon joje, beher gibi çeşitli büyüklüklerde cam lab. malzemeleri

Bunsen beki

Pastör pipeti

Etüv

Buzdolabı

Metal öze

Durham tüpü

İmmersiyon yağı

Bek

Üç ayak

Kafesli tel

Tüplük (sport)

Spatül

Pens

Eküvyon çubuk

Çeşitl API®i testleri (20 E, 20 A, 20 NE, 20 Staph)

Çeşitli API® reaktifleri (VP1, VP2, NIT 1, NIT 2, ZYM A, ZYM B, NIN, JAMES, Zn, TDA, BCP, EHR, XYL, mineral yağ, süspansiyon medyumu)

McFarland standardı

Apiweb™

Oksidaz test şeritleri

H_2O_2 (hidrojen peroksit)

KOH (potasyum hidroksit)

İnsan kanı

3.3. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE LABORATUVARA TAŞINMASI

Örnekler kompozit örnek cihazı yardımıyla duruma göre kompozit veya anlık olmak üzere; ızgara sonrası, kum-yağ tutucu öncesi bölümünden, steril ve sodyum tiyosülfatlı 250 ml'lik kaplara alınmıştır. Tüm su numuneleri alındıktan sonra güneş ışınlarından korunarak ve birbirlerine bulaş olmasını engelleyecek önlemler alınarak, soğuk zincir taşıma çantaları ile en kısa sürede (maksimum 1 saat) laboratuvara ulaştırılmıştır.



Şekil 3.2: Örnek alım kapları



Şekil 3.3: Kompozit örnek alım cihazı

3.4. ÇEŞİTLİ BESİYERLERİ VE HAZIRLANMA YÖNTEMLERİ

Besiyerleri (besi ortamı, ortam, vasat, kültür ortamı, kültür vasatı, kültür besiyeri) mikroorganizmaların geliştirilmesi için formülize edilmiş ortamlardır. Bunlar, mikroorganizmaların geliştirilmesi, izolasyon, identifikasyon, sayım, duyarlılık testleri, sterilite testleri, klinik örneklerin incelenmesi, gıda, su ve çevre kontrolleri, biyolojik ürünlerin elde edilmesi, antibiyotik ve vitamin analizleri, endüstriyel analizler vb. gibi çok farklı amaçlara yönelik olabilir.

Deneylerin bir kısmı ticari olarak satılan hazır besiyerleri yardımı ile yapılırken, tükenen veya zamanla kontamine olan besiyerlerinin yerine laboratuvar ortamında yenileri hazırlanmıştır.

3.4.1. Kanlı Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı

Triptik soy agar (TSA) toz besiyeri 40,0 g/L konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide tartılarak gerekli miktarda distile su içinde homojen hale gelinceğe dek el yordamı ile çalkalanarak eritilir ve otoklavda 1 atm basınç, 121 ^{o}C'de 15 dakika sterilize edilir. Otoklav çıkışında 45-50 ^{o}C'e soğutulur 40-50 cc/L konsantrasyonda insan kanı ilave edilir, karıştırılır ve petri kutularına kapların 1/3'ünü dolduracak şekilde dökülür. Kan ilave edilmiş besiyeri buzdolabında en çok 3 ay depolanabilir. Mikroorganizmaların hemolitik aktivitelerinin incelenmesinde kullanılır. Alfa hemoliz; bakteri kolonisi etrafında hemoliz sahalarına mikroskobun küçük büyütmesi ile bakıldığında ortamda sağlam eritrositlerin varlığı görülür. Hemoliz bölgesi yeşilimsi renktedir. Beta hemoliz; tam hemolizdir. Bakteri kolonileri etrafında tam bir saydam alan görülür. Bu bölgedeki eritrositler tamamen erimiştir. Petri kutusunun arkası görülebilir. Gama hemoliz; kanlı agarda üreyen bakteri kolonisi hiç hemolilz oluşturmamıştır. Gram negatif ve gram pozitif bakteriler kanlı agarda üreyebilirler.



Şekil 3.4: Ekim yapılmamış kanlı besiyeri

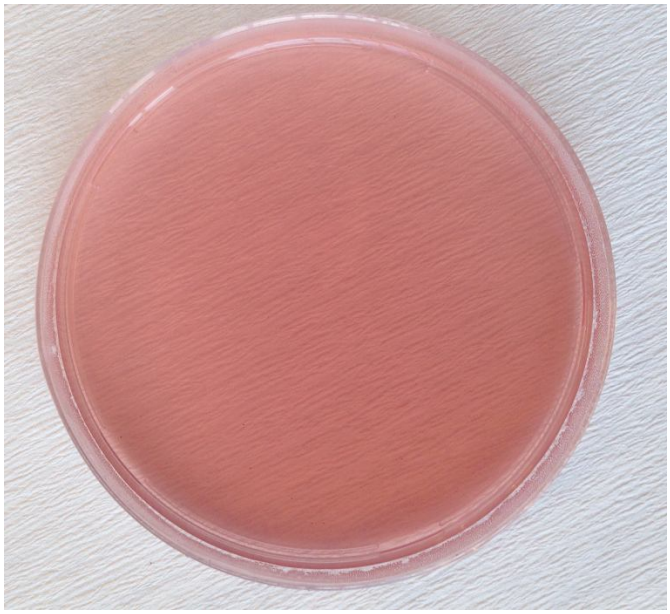


Şekil 3.5: Beta hemoliz yapmış bir örnek

3.4.2. ENDO Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı

ENDO toz besiyeri 39,0 g/L konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide tartılarak gerekli miktarda distile su içinde homojen hale gelinceğe dek el yordamı ile çalkalanarak eritilir ve otoklavda 1 atm basınç, 121 ^{o}C'de 15 dakika sterilize edilir. Otoklav çıkışında 45-50 ^{o}C'e soğutulur ve petri kutularına kapların 1/3'ünü dolduracak şekilde dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve soluk pembe renklidir. Besiyerinin oksijene maruz kalması sonucunda renk giderek kırmızılaşır. Bu nedenle hazırlanmış besiyeri karanlıkta ve buzdolabında olmak üzere en çok birkaç gün depolanabilir.

Besiyeri bileşimindeki sodyum sülfit ve fuksin gram pozitif bakterilerin gelişimini baskılar. *E. coli* ve koliform bakteriler laktozu asit ve aldehit oluşturarak metabolize ederler. Oluşan aldehit, fuksin-sülfit bileşiğindeki fuksini serbest bırakır ve böylece koloni rengi kırmızı olur. *E. coli* ve diğer bazı koliform grup üyelerinde bu reaksiyon çok kuvvetli olarak gerçekleşir ve kolonideki fuksin kristalleri koloni renginin metalik parlak yeşil (fuksin parlaklığı) olmasını sağlar. İnkübasyon 37 °C'da 24 saat süre ve aerobik koşulda yapılır.

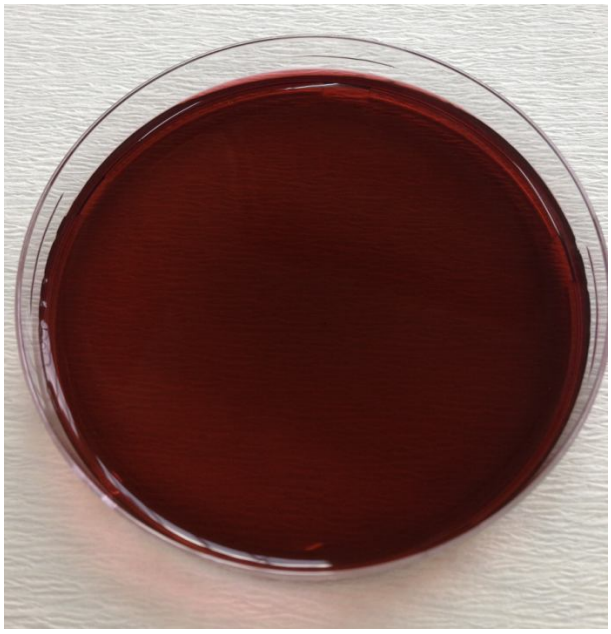


Şekil 3.6: Ekim yapılmamış ENDO Agar

3.4.3. EMB Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı

Dehidre besiyeri 36,0 g/L olacak şekilde hassas terazide tartılarak gerekli miktarda distile su içinde homojen hale gelinceğe dek el yordamı ile çalkalanarak eritilir ve otoklavda 1 atm basınç, 121 ^{o}C'de 15 dakika sterilize edilir. Otoklav çıkışında 45-50 ^{o}C'e soğutulur ve petri kutularına kapların 1/3'ünü dolduracak şekilde dökülür. Besiyeri rengi berrak, kırmızımsı kahve, menekşe kahve rengidir.

EMB, içinde laktoz ve eozin metilen mavisi (pH indikatörü) bulunduran; gram pozitif bakterileri inhibe eden (engelleyen) ve gram negatif bakterilerin üremesini sağlayan seçici besiyeridir. Aynı zamanda, gram negatif bakterilerin laktozu kullanıp kullanmadığını test eden ayırıcı besiyeridir. EMB besiyerine ekilen bir bakteri laktozu kullanabiliyorsa fermantasyon sonucu oluşan asit, ortamın pH'ını düşürür ve indikatörün renk değiştirmesiyle koyu renkli koloniler oluşur. *Escherichia coli* ve Klebsiella laktoz pozitif bakterilerdir. *Escherichia coli*, metalik röfle veren koloni oluşturur. Eğer bakteri laktozu fermente edemezse asit oluşmaz ve ortamın pH'ı değişmez ve oluşan koloniler renksiz ve şeffaf görünür. Salmonella, Shigella ve Proteus laktoz negatif bakterilerdir.



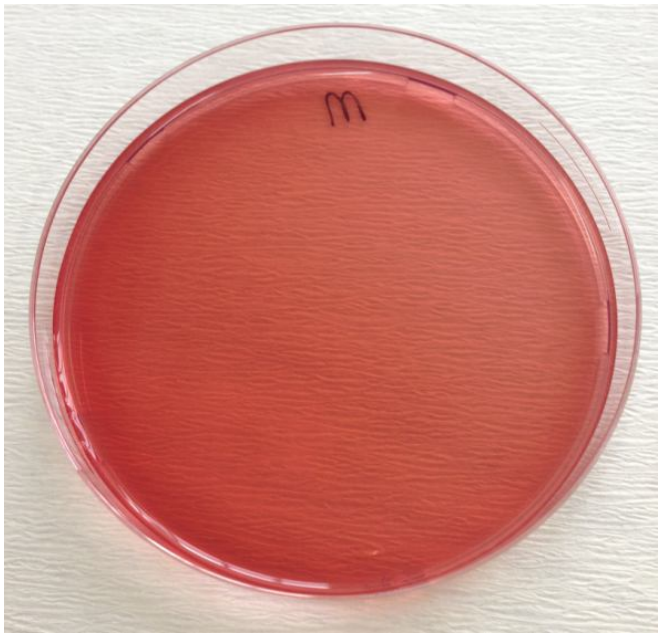
Şekil 3.7: Ekim yapılmamış EMB Agar

3.4.4. MacConkey Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı

Dehidre besiyeri 50,0 g/L olacak şekilde hassas terazide tartılarak gerekli miktarda distile su içinde homojen hale gelinceğe dek el yordamı ile çalkalanarak eritilir ve otoklavda 1 atm basınç, 121 ^{o}C'de 15 dakika sterilize edilir. Otoklav çıkışında 45-50 ^{o}C'e soğutulur ve petri kutularına kapların 1/3'ünü dolduracak şekilde dökülür.

Koliform grup bakteriler ve özellikle *Escherichia coli* 'nin geliştirilmesi ve sayılması için selektif katı besiyeri olarak kullanılır. Besiyeri bileşiminde bulunan safra tuzları ve kristal viyole gram pozitif refakatçi florayı baskılar, pH indikatörü olan nötral kırmızı laktozun kullanıldığını ya da kullanılmadığını gösterir. 35-37 ^{o}C 'da 18-24 saat inkübasyon sonunda laktoz negatif bakteriler renksiz koloniler yaparken, laktoz pozitif olanların kolonileri kırmızı olur ve etrafları pH düşmesine bağlı olarak safra asitlerinin presipitasyonu nedeni ile bulanık bir zon ile çevrilir.

Koloni Görünümü	Mikroorganizmalar
Renksiz, yarısaydam	Salmonella, Shigella ve diğerleri
Büyük, kırmızı, etrafı bulanık zon ile çevrili	Escherichia coli
Büyük, pembe, mukoz	Enterobacter, Klebsiella
Çok küçük, opak, tek koloniler	Enterococci, Staphylococci

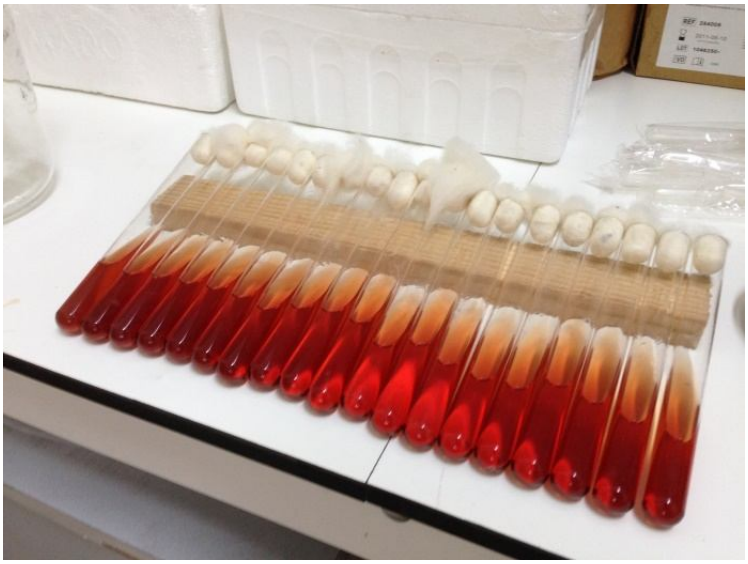


Şekil 3.8: Ekim yapılmamış MacConkey Agar

3.4.5. TSİ Besiyeri ve Hazırlanışı

Dehidre besiyeri, 65,0 g/L olacak şekilde distile su içinde tam olarak eritilir. Otoklavda 1 atm basınç, 121 ^{o}C'da 15 dakika sterilize edilir. Otoklav çıkışında besiyeri henüz sıvı iken tüpler 1-1,5 cm yüksekliğinde bir çubuğa yatırılarak (tüpün dibinde 2-2,5 cm yüksekliğinde bir besiyeri kalınlığı olacak şekilde) besiyerinin katılaşması beklenir. Hazırlanmış besiyeri berrak kırmızı renklidir.

TSI, özellikle Salmonella gibi bazı enterik bakterileri tanımlamak amacıyla kullanılan üç şekerli-demirli bir besiyeridir. Bu besiyerinde; şekerlerin fermantasyonu, fermantasyon sonucu gaz ve H_2S oluşumu olmak üzere, bakterilerin üç temel özelliği incelenir. Besiyeri glukoz, laktoz ve sükroz olmak üzere üç farklı şeker, pH indikatörü olarak fenol kırmızısı ve H_2S oluşumunun göstergesi olan ferrik ammonyum sülfat içerir.

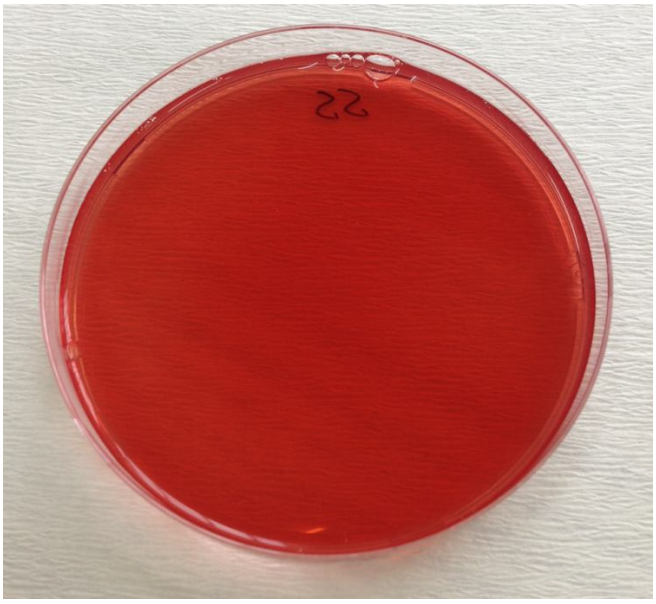


Şekil 3.9: Hazırlanan TSİ besiyerleri

3.4.6. SS Agar Besiyeri Özellikleri ve Hazırlanışı

Dehidre besiyeri 60,0 g/L olacak şekilde hassas terazide tartılarak gerekli miktarda distile su içinde homojen hale gelinceğe dek el yordamı ile çalkalanarak eritilir. Bu besiyeri otoklavlanmaz tümüyle çözülünceye kadar kaynar su banyosunda eritilir. Sterilizasyon kaynar su banyosunda besiyerini eritirken yapılmış olur. Aşırı ısıtmadan kaçınılmalıdır. Petri kutularına kapların 1/3'ünü dolduracak şekilde dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kırmızımsı kahve renkli olup, 25 °C'da pH'sı 7,0±0,2'dir.

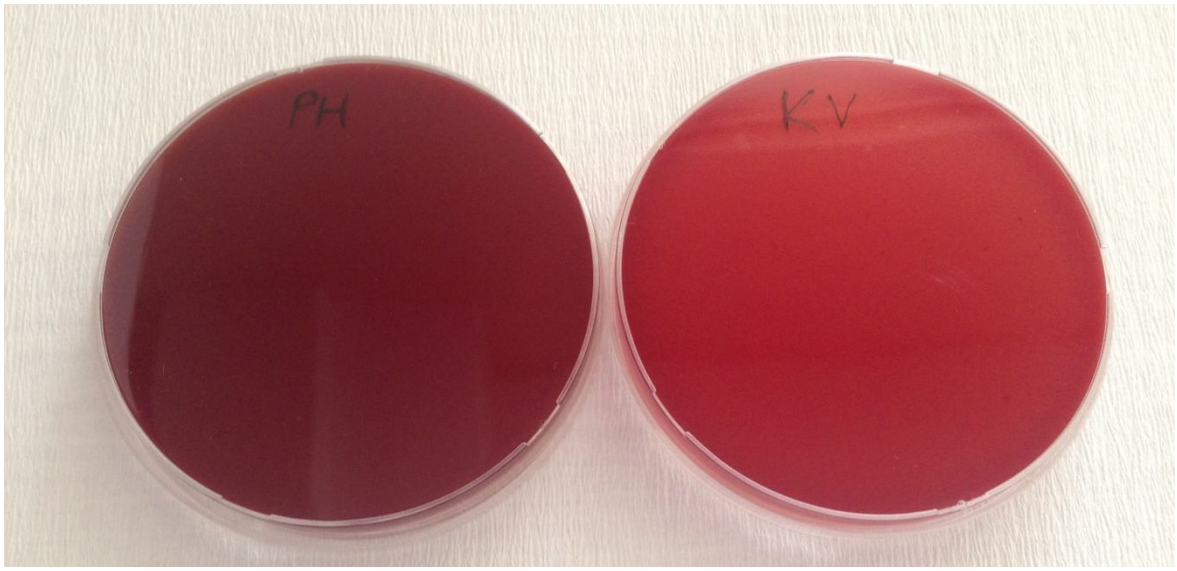
Besiyeri bileşimindeki brilliant green, safra tuzları, tiyosülfat ve sitrat çoğu refakatçi floranın gelişimini engeller. Hidrojen sülfür oluşumu tiyosülfat ve demir iyonları ile belirlenir koloni merkezi siyah renkli olur. Renksiz-yarı saydam (laktoz negatif) koloniler Shigella ve pek çok Salmonella için tipiktir. Bazı Salmonella türleri siyah merkezli yarı saydam koloni oluştururlar. Aynı morfoloji Proteus türleri için de geçerlidir. Pembe-kırmızı koloniler *E. coli* olarak tanımlanırken, pembe-beyaz ya da krem renkli olanlar Enterobacter aerogenes kolonileridir. Bu besiyerinde Salmonella kolonilerinin Shigella kolonilerinden ayrımı besiyerinde koloni etrafındaki renk değişiminin Salmonella 'da sarı, Shigella 'da kırmızı olması ile yapılır.



Şekil 3.10: Ekim yapılmamış SS Agar

3.4.7. Anaerop Agar Özellikleri ve Hazırlanışları

Anaeropları ve varsa fakültatif anaeropları da üretebilen genel üretici bir besiyeridir. Schaadler agar ya da Brucella agar ile hazırlanabilir. Besiyerine %5 koyun kanı yanı sıra indirgeyici ve zenginleştirici faktörlerden eksik olanlar ayrıca ilave edilir.



Şekil 3.11: Feniletil alkollü ve kanamisin-vankomisinli anaerop agarlar

3.4.7.1. Feniletil Alkollü Anaerop Agar

Anaerop kanlı agara (Schaedler agar) feniletil alkol (2.5 ml/L) ilave edilerek hazırlanır. Anaerop bakterileri üreten ancak içerdiği feniletil alkol nedeniyle aerop gram negatif çomakların üremesini baskılayan seçici bir besiyeridir.

3.4.7.2. Kanamisin-Vankomisinli Anaerob Agar

Anaerop kanlı agara (Schaedler agar) kanamisin (100 mg/mL) ve vankomisin (7,5 mg/mL) ilave edilerek hazırlanır. İçerdiği kanamisin nedeniyle aerop gram negatif çomaklar ve vankomisin nedeniyle aerop gram pozitif bakterilerin çoğunluğu bu besiyerinde üremez (vankomisin dirençli enterokok dışında). Buna karşın anaerop gram pozitif bakteriler bu besiyerinde kolayca ürer ve en önemlisi anaerop gram negatif çomakların büyük bir çoğunluğu da bu besiyerinde üremezken *Bacteroides fragilis* ürer. Bu nedenle bu *besiyeri B.fragilis* ön tanısı için kullanılan temel besiyerlerinden biridir.

3.5. KULLANILAN EKİM YÖNTEMİ

Atık su örnekleri yoğun miktarda bakteri içerdiği için besiyerine kolonileri tek tek düşürmek büyük önem taşımaktadır. Aksi takdirde karışık örnekler elde edilecek ve gerek biyokimyasal testlerde gerek API testlerinde sağlıklı sonuçlar alınamayacaktır.

Atıksu örnekleri iyice çalkalanıp homojen hale getirildikten sonra bir öze dolusu kadar örnek alınıp katı besiyerinin 1. bölgesine sürülüp çam ağacı şekli oluşturularak ekim yapılır 2. 3. ve 4. bölgelerde tekrar örnek alınmadan aynı öze ile ekim işlemi devam ettirilerek 4. bölgeye kolonilerin teker teker düşmesi sağlanır.

Koloniler teker teker düştükleri halde API uygulaması için yeterli miktarla elimizde bulunmadıkları taktirde iğne öze yardımıyla gerekli koloniye dokundurularak ve yeni besiyerine çizilerek ekim yapılır.



Şekil 3.12: Azaltma yöntemi ile ekim yapılmış bir plak

3.6. PREPARAT HAZIRLANMASI

Temiz bir lam üzerine öze ile bir damla steril fizyolojik tuz çözeltisi damlatılır. Öze bunzen alevinde sterilize edilir, soğuması için kısa süre beklenir. Steril öze ile katı besiyerinden bir miktar kültür alınır. Kültür lam üzerine damlatılmış su ile karıştırılır. Öze bunzen alevinde sterilize edilip, yerine konur. Preparatın kuruması için bir süre beklenir. Bir pens yardımıyla bir ucundan tutulan lam bunzen aleviden 3 kere geçirilir ve gram boyamaya hazır hale getirilir.

3.7. GRAM BOYAMA

Gram boyama mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık kullanılan işlemlerden biridir. Gram boyama ile hem klinik örneklerden direkt ön tanıya varılabilir, hem de kültürlerde üreyen bakterilerin temel morfolojik özelliklerini değerlendirmek mümkün

olur. Bakteriler hücre duvarlarının yapı özelliklerine göre "gram pozitif" veya "gram negatif" boyanırlar. Gram pozitif türler hücre duvarlarında kalın bir peptidoglikan tabaka ile büyük miktarda teikoik asitlere sahiptir. İşlem için uygulanan ilk madde "kristal viyole" boyasıdır ve bu boya, takiben eklenen zayıf iyot solüsyonunun sabitleştirici etkisiyle bakteri hücre duvarına tutunur; öyle ki, renk giderme işleminden etkilenmez, boya hücrede kalır ve bakteri koyu-menekşe rengi görünür. Gram negatif türler ise proteinler de içeren bir lipopolisakkarit-fosfolipid dış membrana yapışık ince bir peptidoglikan tabakaya sahiptir. Gram boyama sırasında dış membran renk giderme işleminde alkol etkisi ile hasar görür ve kristal viyole-iyot kompleksini bırakır; hücre renksizleşir. Hücre son işlem adımında kullanılan bir zıt boya (safranin, sulu fuksin vb.) ile boyanır ve zıt boyanın renginde (pembe) görünür.

Preparat hazırlanır, kurutulur ve tespit edilir. Kristal violet solusyonu ile 2-3 dakika boyanır. Boya dökülür ve preparat üzerine lugol solusyonu konarak 1-2 dakika beklenir. Lugol solusyonu dökülür. Mutlak alkolde dekolere edilir (alkol renksiz akıncaya dek) Su ile yıkanır. Safranin (veya sulu fuksin) ile 5-10 saniye boyanır. Su ile yıkanarak boya giderilir. Kurutma kağıdında veya hava yolu ile kurutulur.



Şekil 3.13: Gram boyama

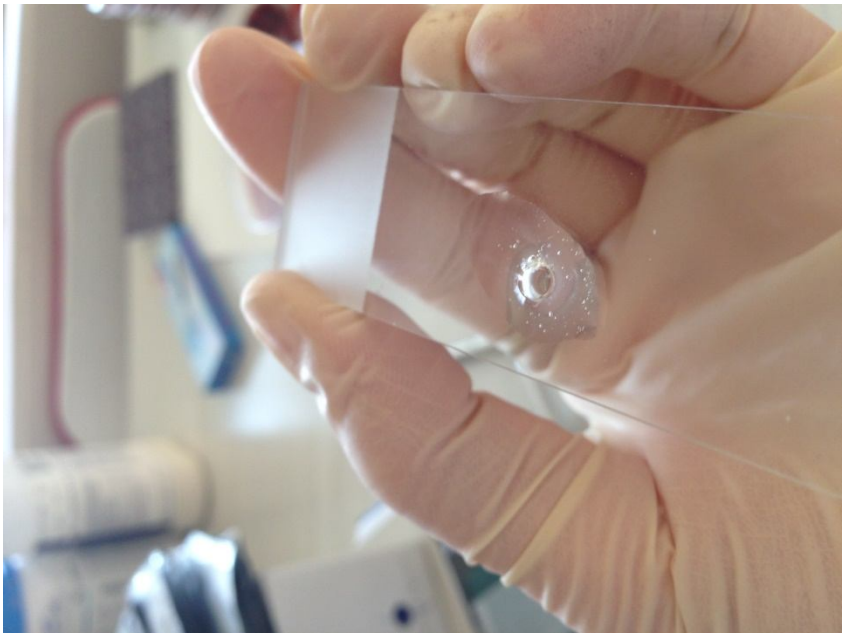
3.8. KULLANILAN KİMYASAL TESTLER

3.8.1. Katalaz Testi

Stafilakokları, streptokoklardan ayırt edebilmek için besiyerinde oluşan hemoliz, koloni ve gram boyamanın özellikleri yeterli değildir. Bu ayrımı yapabilmek için katalaz testi kullanılır. Katalaz, streptokokların dışında birçok aerobik ve fakültatif bakteri tarafından üretilen bir enzimdir. Katalaz enzimi, eritrositlerde de bulunduğundan dolayı; test edilecek bakteri kolonisi, kan içermeyen bir besiyerinden alınır. Katalaz testinde, süspanse bakteri kolonisine hidrojen peroksit (H_2O_2), damlatarak katalaz enzimini tespit etmek amaçlanmaktadır. Sıvı ve katı besiyerlerinde üremiş bakterilere H_2O_2 ilave edildiğinde, oksijenin kabarcıklar halinde çıkması H_2O_2'nin ayrıştığını, dolayısıyla katalaz enziminin varlığını gösterir. Stafilokoklar'da katalaz pozitif, Streptokoklar'da ise katalaz negatiftir.

3.8.1.1. Lamda Katalaz Testi

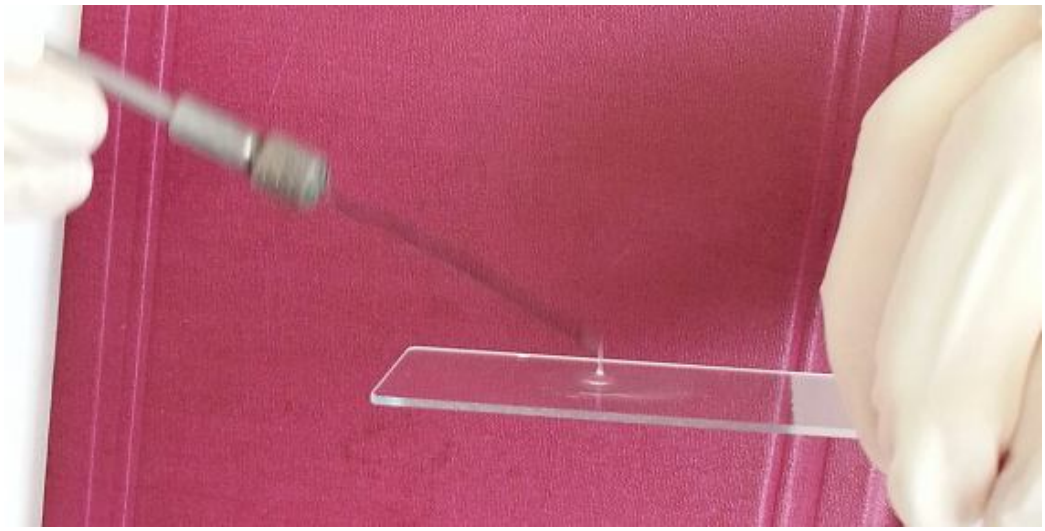
İncelenecek bakteri kolonisinden özeyle alınarak temiz bir lam üzerinde, bir damla distile su ile süspanse edilir. Üzerine %3'lük H_2O_2 damlatılır ve karıştırılır. Karışım içinde oksijene bağlı köpürme-hava kabarcıklarının oluşması, testin pozitif olduğunu gösterir.



Şekil 3.14: Katalaz pozitif bir örnek

3.8.2. KOH Testi

Gram boyamasından emin olamadığımız bakteri türlerini pozitif ya da negatif oluşunu kesinleştirmek için kullanılan testtir. %3'lük KOH 1 damla lama damlatılır ve özenin ucuyla alınan koloni ile karıştırılır. Sümüksü bir karışım meydana geldiyse bu gram negatif, gelmediyse gram pozitif olduğunun göstergesidir.



Şekil 3.15: KOH pozitif bir örnek

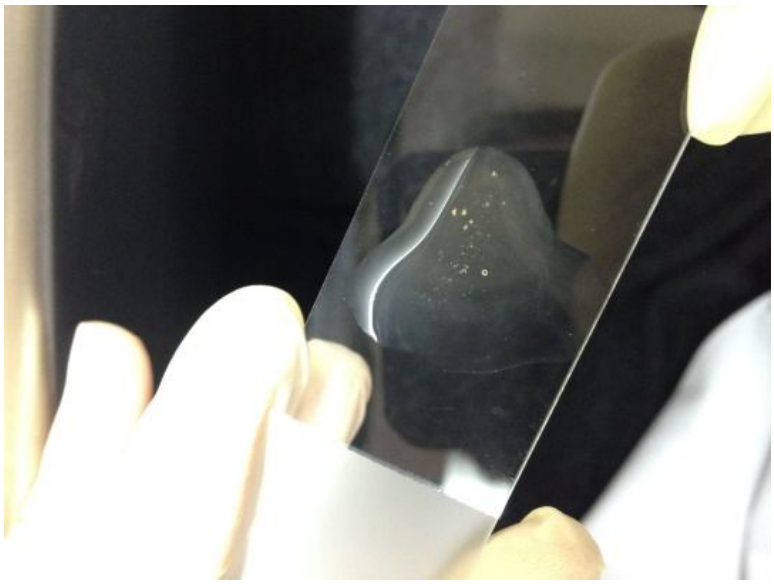
3.8.3. Koagülaz Testi

Koagülaz, özellikle patojen Stafilokoklar tarafından üretilen ve fibrinojeni fibrine dönüştürerek plazmayı pıhtılaştıran bir enzimdir. Koagülaz testi, Staphylococcus aureus'un diğer stafilokoklardan ayırt edilmesinde kullanılan en önemli, enzimatik bir testtir. Stafilokoklarda; serbest koagülaz ve bağlı koagülaz olarak iki enzim türü vardır. Serbest koagülazın varlığı tüpte koagülaz testiyle, bağlı koagülazın varlığı ise lamda koagülaz testiyle tespit edilir. Tüpte koagülaz testi, lamda koagülaz testine göre daha güvenilir sonuç verdiğinden tercih edilir. Fakat zaman tasarrufu açısından deneylerimizde lamda koagülaz testi tercih edilmiştir.

3.8.3.1. Lamda Koagülaz Testi

Bu yöntemde amaç, bakterinin yüzeyinde bulunan bağlı koagülazı tespit etmektir. Testin yapılış tekniği; Lam üzerine bir damla distile su konur. Üzerine özeyle şüpheli bakteri kolonisinden alınıp karıştırılır. Daha sonra bir öze dolusu insan plazması

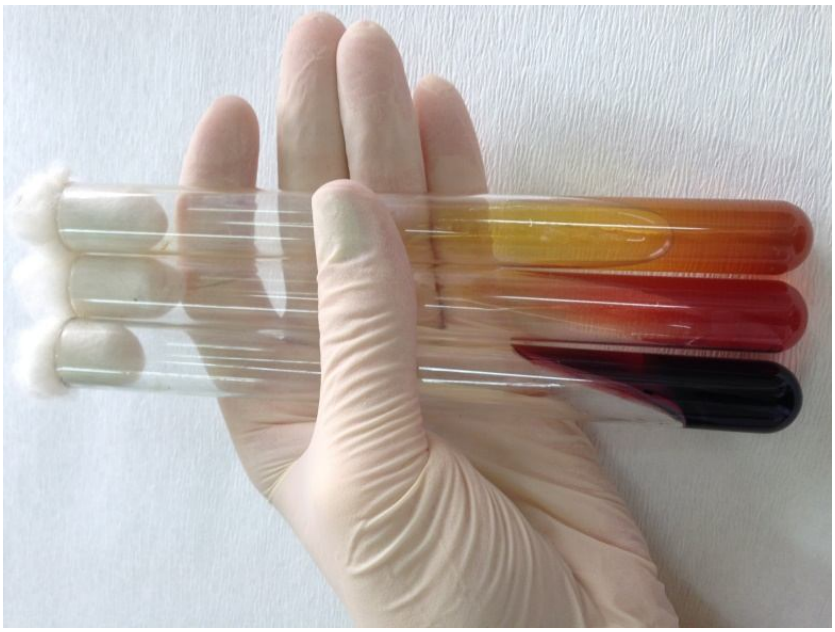
ilave edilerek karıştırılır. 1-2 dakika içinde kümeleşme-pıhtılaşma olup olmadığına bakılır. Pıhtılaşma oluşması pozitif, oluşmaması ise negatif olarak değerlendirilir.



Şekil 3.16: Koagülaz pozitif bir örnek

3.8.4. TSİ Besiyerine Ekim

Karbonhidrat fermantasyonu testinde reaksiyon, her gün izlenir ve pozitif sonuç alındığında analize son verilir. Aksi halde karbonhidratın tüketiminden sonra besiyeri bileşimindeki peptonların kullanımına bağlı olarak pH yükselir ve renk kırmızıya dönüşür. Testin yapılış tekniği; İncelenecek bakteri kolonisinden iğne öze ile bir miktar alınıp yatık karbonhidrat içeren TSİ besiyerine ekim yapılır. Etüvde, 37°C'de 24-48 saat inkübe edilir. Her gün besiyeri, asit oluşumu ve gaz oluşumu yönünden incelenir. Tüpün dibindeki sarıya dönen renk değişimi, glikozun kullanıldığını gösterir. Yatık yüzeydeki sarıya dönen renk değişimi ise laktozun kullanıldığını gösterir. Laktozun kullanımı birçok bakteri identifikasyonunda önemlidir.

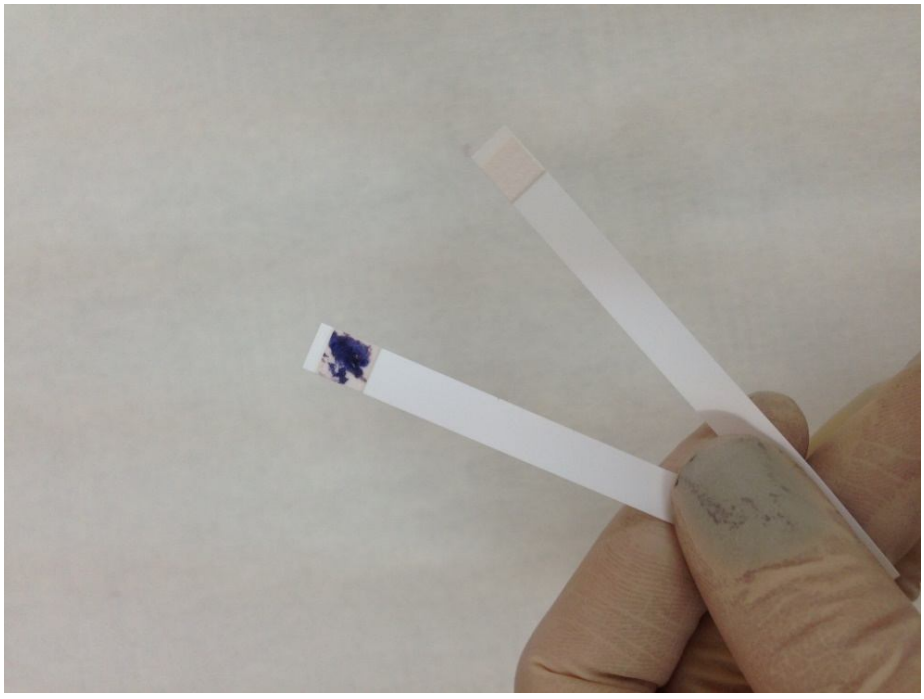


Şekil 3.17: TSİ sonuçları birbirinden farklı örnekler

3.8.5. Oksidaz Testi

Oksidaz testi sitokrom oksidaz enziminin gösterilmesi amacıyla kullanılır. Oksidaz testi özellikle gram negatif bakterilerin ilk tanımlanma basamağında yararlıdır. Oksidaz pozitif gram negatiflerin hatalı tanımlanmasını önlemek için tüm gram negatif çomaklara oksidaz testi yapılmalıdır. Bütün Enterobacteriaceae üyeleri oksidaz negatiftir. Aeromonas, Pseudomonas, Neisseria, Moraxella, Campylobacter, Pasteurella ve Vibrio kökenleri ise oksidaz pozitiftir.

Testin uygulanışında doğrudan tek koloni ya da tek koloniden elde edilmiş yoğun bakteri süspansiyonu platin bir öze ile alınıp test bölgesine aktarılır. 20-60 saniye içinde kutu üzerindeki renk skalası ile kıyaslanmak üzere mavi-menekşe renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilir. Şeridin test bölgesine el sürülmemelidir.



Şekil 3.18: Oksidaz pozitif ve negatif örnekler

3.9. API TESTLERİ VE ÇALIŞMA PRENSİPLERİ

Ticari olarak satılan APİ kitleri, üzerinde çeşitli biyokimyasal testler bulunduran pratik kitlerdir. Genel kit içeriği; API stripleri, inkübasyon kutusu, sonuç kağıtları şeklindedir. Farklı türleri mevcut olmakla birlikte pahalı oluşları ve atık su mikrobiyolojisi çalışmanın getirdiği karışık örnek riski API kitlerini dezavantajlı kılabilmektedir. Fakat zamandan tasarruf sağlamaları ve tek bir test şeridi ile birden çok testi gerçekleştirebilmemizi sağlamaları nedeniyle deneylerimizin bel kemiğini oluşturmuşlardır. Deneylerimizde; Enterobacteriaceae ailesi üyelerinin tespiti için API 20 E, Staphylococcaceae ailesi üyelerinin tespiti için API Staph, Non-enterik gram negatif çomakların tespiti için API 20 NE kitleri kullanılmıştır. API testleri yapıldıktan sonra oluşan renklere göre sonuçlar API sonuç kağıtlarına kaydedilip API web veritabanı kullanılararak yüzdeye dayalı bir sonuç elde edilir.

3.9.1. API 20 E

API 20 E, 21 minyatür hale getirilmiş biyokimyasal test ve veritabanı kullanan Enterobacteriaceae ve zor üremeyen gram negatif çomaklar için standart hale getirilmiş tanımlama sistemidir. API 20 E stribi dehidrate substratlar içeren 20 mikrotüpten

oluşmaktadır. Bu testler ortamın yeniden hazırlanmasını sağlayan bir bakteriyel süspansiyon ile inoküle edilir. İnkübasyon sırasında, metabolizma sonucu spontan olarak ya da reaktiflerin eklenmesiyle renk değişimi oluşmaktadır. Reaksiyonlar, okuma tablosuna göre okunur ve tanımlama, analitik profil indeksi ya da bilgisayar ortamında tanımlama programı kullanılarak sonuçlar elde edilir.

API 20 E uygulanırken gerekli reaktifler ve bileşenler şu şekildedir; API NaCl 0.85 % 5 ml Medium veya API 5 ml süspansiyon medium, TDA, JAMES, VP 1 + VP 2, NIT 1 + NIT 2, oksidaz, mineral yağ.

Teste tabi tutulacak koloninin taze saf kültürü elde edildikten sonra tek düşen kolonilerden biri süspansiyon mediumun içine alınarak iyice ezilir ve homojen hale getirilir. CIT, VP ve JEL testlerinin tüp ve küpülleri pipet yardımıyla süspansiyondan alınarak doldurulur. ADH, LDC, ODC, H_2S ve URE teslerinin yalnızca tüp kısımları doldurulup küpülleri mineral yağ ile doldurularak anaerobik ortam oluşması sağlanır. Geri kalan testlerin ise yalnızca tüp kısımları doldurulur. İnkübasyonda nemli bir ortam oluşturmak adına tepsi kuyucuklarına bir miktar distile veya demineralize su konur ve strip 18-24 saat süreyle 36°C ± 2°C inkübe edilir. 3 ya da daha fazla test pozitif ise sonuçlar kaydedilir ve reaktiflerin eklenmesini gerektiren testler yapılır. Reaktifleri ilave etmeden önce, pozitif testlerin sayısı 3 'den az ise reaktifleri ilave etmeden önce strip 24 saat (± 2 saat) daha inkübe edilir.

TDA Testi : Bir damla TDA reaktifi ekleyin kırmızı kahverengi bir renk ortaya çıkması sonuç şemasına kaydedilmeyi gerektiren pozitif bir reaksiyonu gösterir.

IND Testi : Bir damla JAMES reaktifi eklenir. Pembe bir rengin oluşması pozitif reaksiyonu gösterir. (İndol üretim testi gaz oluştuğundan ve diğer testlerle reaksiyona girdiğinden dolayı en son yapılmalıdır.)

VP Testi : VP 1 ve VP 2 reaktiflerinin her birinden birer damla eklenir. En az 10 dakika beklenir. Pembe veya kırmızı renk pozitifliği gösterir. 10 dakika sonra hafifçe pembe renk meydana gelirse, reaksiyon negatif olarak kabul edilmelidir.

Çok açık sarı pozitif olarak düşünülmelidir. 36-48 saat inkübasyondan sonra turuncu renk negatif kabul edilmelidir. Okuma küpülde (aerob) yapılır. Fermentasyon

tübün alt kısmında başlarken, oksidasyon küpülde başlar. 10 dakika sonra hafifçe pembe renk negatif kabul edilmelidir.

Tablo 3.1: API 20 E Stribi Okuma Kılavuzu

TESTLER	AKTİF İÇERİKLER	MİKTAR (mg/küp.)	REAKSİYONLAR / ENZİMLER	SONUÇLAR	
				NEGATİF	POZİTİF
ONPG	2-nitrofenil-UD-galaktopiranozid	0.223	U-galaktozidaz (Ortho Nitrofenil-UD-Galaktopiranosidaz)	renksiz	sarı
ADH	L-arjinin	1.9	Arjnin DiHidrolaz	sarı	kırmızı / turuncu
LDC	L-lizin	1.9	Lizin Dekarboksilaz	sarı	kırmızı / turuncu
ODC	L-ornithin	1.9	Ornithin Dekarboksilaz	sarı	kırmızı / turuncu
CIT	trisodium sitrat	0.756	CITrate (sitrat) kullanımı	açık yeşil / sarı	mavi-yeşil / mavi
H_2S	sodium thiosülfat	0.075	H_2S üretimi	renksiz / grimsi	siyah çökelti / ince çizgi
URE	Üre	0.76	UREaz	sarı	kırmızı / turuncu
TDA	L-triptofan	0.38	Triptofan DeAminaz	TDA/hemen sarı	kırmızımsı kahverengi
IND	L-triptofan	0.19	INDole üretimi	JAMES/hemen renksiz zayıf yeşil/ sarı	pembe
VP	sodium pirüvat	1.9	Asetoin üretimi (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 10 dk Renksiz / açık Pembe	pembe / kırmızı
GEL	Jelatin (sığır kaynaklı)	0.6	GELatinaz	Siyah pigment yaygın değil	Siyah pigment yaygın
GLU	D-glikoz	1.9	fermentasyon / oksidasyon (GLUkoz)	mavi / mavi-yeşil	sarı / grimsi sarı
MAN	D-mannitol	1.9	fermentasyon / oksidasyon (MANnitol)	mavi / mavi-yeşil	sarı
INO	inositol	1.9	fermentasyon / oksidasyon (INOsitol)	mavi / mavi-yeşil	sarı
SOR	D-sorbitol	1.9	fermentasyon / oksidasyon (SORbitol)	mavi / mavi-yeşil	sarı
RHA	L-rhamnoz	1.9	fermentasyon / oksidasyon (RHAmnoz)	mavi / mavi-yeşil	sarı
SAC	D-sukroz	1.9	fermentasyon / oksidasyon (SACcharoz)	mavi / mavi-yeşil	sarı
MEL	D-melibioz	1.9	fermentasyon / oksidasyon (MELibioz)	mavi / mavi	sarı
AMY	Amygdalin	0.57	fermentasyon / oksidasyon (AMYgdalin)	mavi / mavi	sarı
ARA	L-arabinoz	1.9	fermentasyon / oksidasyon (ARAbinoz)	mavi / mavi	sarı
OX	(oksidaz test prospektüsüne bakınız)		Sitokrom-Oksidaz	(oksidaz test prospektüsüne bakınız)	

3.9.2. API 20 NE

API 20 NE, Enterik olmayan, zor üremeyen Gram-negatif çomakların (örneğin. *Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium, Moraxella, Vibrio, Aeromonas,* gibi.) tanımlanması için 8 geleneksel testi ve 12 asimilasyon testini ve bir veritabanını kombine eden standartlaştırılmış bir sistemdir.

API 20 E uygulanırken gerekli reaktifler ve bileşenler şu şekildedir; API AUX medium, API 2 ml NaCl 0.85 % Medium, JAMES, NIT 1 + NIT 2, Zn, Mineral yağ, 0.5 McFarland Standart.

API AUX Medium 7 ml	Amonyum sülfat	2 g
	Agar	1.5 g
	Vitamin solüsyonu	10.5 ml
	Eser elementler	10 ml
	Monosodyum fosfat	6.24 g
	Potasyum klorid	1.5 g
	Demineralize su	1000 ml
	Son pH : 7.0-7.2	

API 20 NE sadece Enterobacteriaceae ailesine ait olmayan, zor üremeyen Gram-negatif çomaklarla kullanılmalıdır. Şüphelenilen taze ve saf koloniden örnek alınarak API NaCl 0.85 % Medium (2 ml) içinde 0.5 Mcfarland'a eşdeğer bir bakteriyel süspansiyon hazırlanır. NO_3 ile PNPG testlerinin tüp kısımları bu süspansiyon ile doldurulur. Kalan süspansiyondan 200 µl alınarak API AUX mediumun içine boşaltılır ve iyice karıştırılır. GLU ve PAC testlerinin tüpleri ve küpülleri hazırlanan 2. süspansiyon ile doldurulur. Altı çizili 3 test için (GLU, ADH ve URE) küpüllere konveks bir yapı oluşuncaya kadar mineral yağ eklenir. Nemli bir ortam oluşturmak adına bir miktar distile su inkübasyon kutusuna dökülür ve strip içine yerleştirilerek 24 saat (± 2 saat) süreyle 29°C ± 2°C inkübe edilir.

İnkübasyondan sonra, strip okuma tablosuna göre okunur. Tüm spontan reaksiyonlar (GLU, ADH, URE, ESC, GEL ve PNPG) sonuç şemasına kaydedilir. İki

testin, NO_3 ve TRP'nin okunması sırasında asimilasyon testlerini hava yolu kontaminasyonundan koruyarak gerçekleştirilmelidir. Bunu uygulamak için asimilasyon testlerini NO_3 ve TRP testlerinin okunması sırasında inkübasyon kutusunun kapağı ile kapatılır.

NO_3 testi için; NO_3 küpülüne 1 damla NIT 1 ve 1 damla NIT 2 reaktifleri eklenir. 5 dakika sonra, kırmızı bir renk sonuç şemasına yazılmayı gerektiren bir pozitif reaksiyonu gösterir. Negatif bir reaksiyon, nitrojen oluşumuna bağlı olabilir: NO_3 küpülüne 2-3 mg çinko reaktifi eklenir. 5 dakika sonra küpülün renksiz kalması sonuç şemasına yazılmayı gerektiren bir pozitif reaksiyonu gösterir. Eğer küpül pembe-kırmızıya dönerse, tüp içinde nitratlar mevcut olduğundan ve çinko ile nitrite indirgendiğinden reaksiyon negatiftir. Bakterilerin tanımlanması için kullanılan reaksiyon nitratların indirgenmesidir. Yukarıdaki reaksiyonlardan biri (NO_2 ya da N_2 üretimi) pozitif olduğunda reaksiyon pozitif olarak kabul edilir. Bununla birlikte N_2 üretimi analitik profil indeksinde listelendiği gibi tek başına ilave bir test olarak yararlı olabilir.

TRP testi için 1 damla JAMES reaktifi eklenir. Hızla reaksiyon oluşur: tüm küpülde pembe bir rengin oluşması sonuç şemasına kaydedilmeyi gerektiren pozitif bir reaksiyonu gösterir.

Tablo 3.2: API 20 NE Stribinin Okunma Kılavuzu

TESTLER	AKTİF İÇERİKLER	MİKTAR (mg/küp.)	REAKSİYONLAR/ENZİMLER	SONUÇLAR	
				NEGATİF	POZİTİF
NO_3	potasyum nitrat	0.136	nitrattan nitrite indirgeme	NIT 1 + NIT 2 / 5 dk.	
				renksiz	pembe-kırmızı
			nitrattan nitrojen'e indirgeme	Zn / 5 dk.	
				pembe	renksiz
TRP	L-tryptophan	0.2	indol üretimi (TRyptoPhane)	JAMES / hemen	
				renksiz açık yeşil / sarı	pembe
GLU	D-glukoz	1.92	fermentasyon (GLUcoz)	Mavi yeşil	sarı
ADH	L-arginin	1.92	Arginine DiHydrolaz	sarı	turuncu / pembe / kırmızı
URE	üre	0.76	UREaz	sarı	turuncu / pembe / kırmızı
ESC	esculin ferric citrate	0.56 0.072	hidroliz (p-glukosidaz) (ESCulin)	sarı	gri / kahverengi / siyah
GEL	gelatin (bovin orijin)	0.6	hidroliz (proteaz) (GELatin)	Siyah pigment yaygın değil	Siyah pigment yaygın
PNPG	4-nitrofenil-pD-galaktopiranozid	0.22	p-galaktosidaz (Para-NitroPhenyl-UD-Galaktopiranosidaz)	renksiz	sarı
GLU	D-glukoz	1.56	asimilasyon (GLUkoz)	şeffaf	opak
ARA	L-arabinoz	1.4	asimilasyon (ARAbinose)	şeffaf	opak
MNE	D-mannoz	1.4	asimilasyon (ManNosE)	şeffaf	opak
MAN	D-mannitol	1.36	asimilasyon (MANnitol)	şeffaf	opak
NAG	N-asetil-glukozamin	1.28	asimilasyon (N-Acetyl-Glucosamine)	şeffaf	opak
MAL	D-maltoz	1.4	asimilasyon (MALtoz)	şeffaf	opak
GNT	potasyum glukonat	1.84	assimilation (potassium GlucoNate)	şeffaf	opak
CAP	Kaprik asit	0.78	assimilation (CAPric asit)	şeffaf	opak
ADI	Adipik asit	1.12	assimilation (ADIpic asit)	şeffaf	opak
MLT	Malik asit	1.56	asimilasyon (MaLaTe)	şeffaf	opak
CIT	trisodyum sitrat	2.28	asimilasyon (trisodium CITrate)	şeffaf	opak
PAC	fenilasetik asit	0.8	asimilasyon (PhenylACetic asit)	şeffaf	opak
OX	(oksidaz test prospektüsüne bkz.)	-	sitokrom oksidaz	(oksidaz test prospektüsüne bkz.)	

3.9.3. API Staph

API Staph, özel olarak hazırlanmış bir veri tabanı ile birlikte standartlaştırılmış ve minyatür hale getirilmiş biyokimyasal testler kullanan, *Staphylococcus, Micrococcus* ve *Kocuria* türleri için bir tanımlama sistemidir.

API 20 Staph uygulanırken gerekli reaktifler ve bileşenler şu şekildedir; API Staph medium, VP 1,+ VP 2, NIT 1 + NIT 2, ZYM A, ZYM B, McFarland Standart.

Kanlı agarda 18-24 saat süreyle 36°C ± 2°C organizmanın alt kültürünü hazırlanılır. Suşun *Micrococcaceae* ailesine ait olduğunu kontrol edilir (morfoloji, gram yayma, katalaz vs.) ve aynı zamanda kültürün de saf olduğunu kontrol edilir. API Staph Medium ampulü açılır. 0.5 McFarland'a eşdeğer bir türbidite ile homojen bir bakteriyel kültür hazırlanır. Genç kültürler kullanılması tavsiye olunur (18-24 saatlik). Süspansiyon hazırlandıktan hemen sonra kullanılmalıdır.

Mikrotüpler steril bir pipet ile API Staph Medium ile doldurulur, küpül kısımları doldurulmaz. Baloncuk oluşumunu önlemek için stribi öne eğerek pipetin ucunu mikrotüpün kenarının karşısında tutulur. Küpüller konveks bir tepecik oluşturmak üzere mineral yağ ile doldurarak ADH ve URE testlerinde anaerobik ortam sağlanır. Nemli bir ortam sağlandıktan sonra inkübasyon kapağı kapatılır ve 18-24 saat süreyle 36°C ± 2°C 'de inkübe edilir.

VP testi için; VP 1 ve VP 2 reaktifleri eklenir ve 10 dakika beklenir**.** Mor-pembe renk pozitif bir reaksiyonu gösterir. 10 dakika sonra açık pembe veya açık pembe renk negatif olarak düşünülmelidir. NIT testi için; NIT 1 ve NIT 2 reaktifleri eklenir ve 10 dakika beklenir. Kırmızı renk pozitif bir reaksiyonu gösterir. PAL testi için; ZYM A ve ZYM B reaktifleri eklenir ve 10 dakika beklenir**.** Mor renk pozitif bir reaksiyonu gösterir.

Tablo 3.3: API Staph Stribinin Okunma Kılavuzu

TESTLER	AKTİF İÇERİKLER	MİKTAR (mg/küp)	REAKSİYONLAR/ENZİMLER	SONUÇ	
				NEGATİF	POZİTİF
0	Substrat yok		Negatif kontrol	kırmızı	—
GLU	D-glukoz	1.56	(Pozitif kontrol) (D-GLUcose)	kırmızı	sarı
FRU	D-fruktoz	1.4	asidifikasyon (D-FRUctose)		
MNE	D-mannoz	1.4	asidifikasyon (D-ManNosE)		
MAL	D-maltoz	1.4	asidifikasyon (MALtose)		
LAC	D-laktoz (inek orijinli)	1.4	asidifikasyon (LACtose)		
TRE	D-trehaloz	1.32	asidifikasyon (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1.36	asidifikasyon (D-MANnitol)		
XLT	Xylitol	1.4	asidifikasyon (XyLiTol)		
MEL	D-melibioz	1.32	asidifikasyon (D-MELibiose)		
				NIT 1 + NIT 2 / 10 dk.	
NIT	potasyum nitrat	0.08	NITratların nitritlere indirgenmesi	renksiz-açık pembe	kırmızı
				ZYM A + ZYM B / 10 dk.	
PAL	lî-naftil fosfat	0.0244	ALkalin Fosfataz	sarı	mor
				VP 1 + VP 2 / 10 dk.	
VP	sodyum piruvat	1.904	Asetil-metil-karbinol üretimi (Voges Proskauer)	renksiz-açık pembe	mor-pembe
RAF	D-raffinoz	1.56	asidifikasyon (RAFfinose)	kırmızı	sarı
XYL	D-ksiloz	1.4	asidifikasyon (XYLose)		
SAC	D-sakkaroz (sukroz)	1.32	asidifikasyon (SACcharose)		
MDG	metil-aD-glükopiranozid	1.28	asidifikasyon (Metil-aD-Glükopiranozid)		
NAG	N-asetil-glükozamin	1.28	asidifikasyon (N-Asetil-Glükozamin)		
ADH	L-arginin	1.904	Arginin DiHidrolaz	sarı	turuncu-kırmızı
URE	üre	0.76	UREaz	sarı	kırmızı - mor

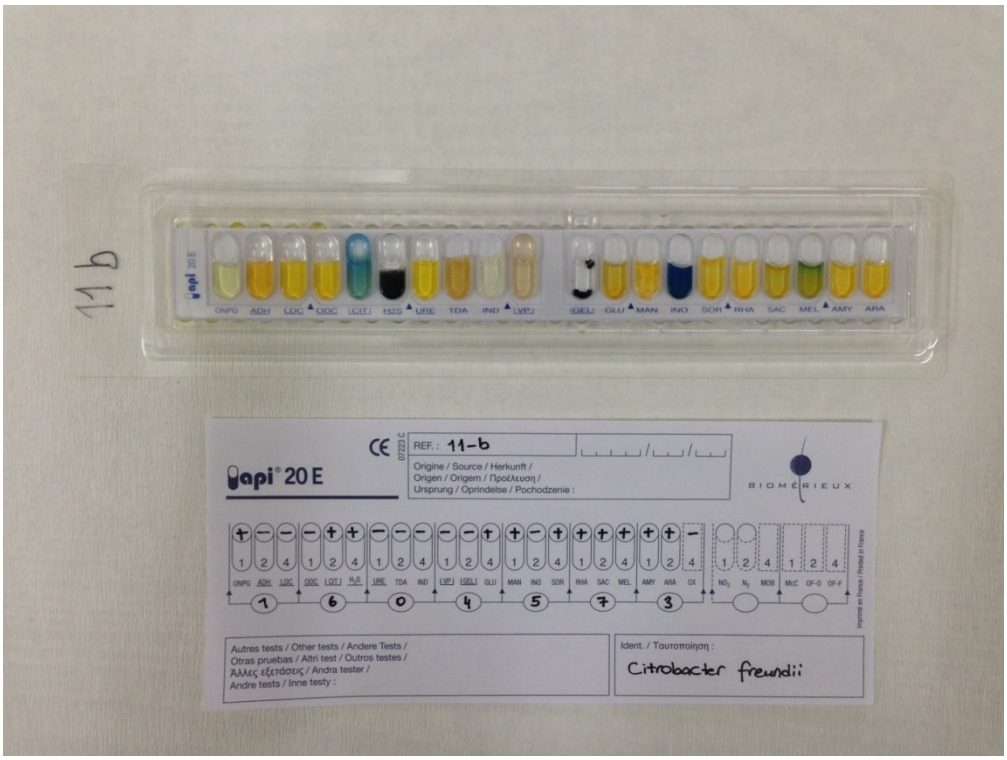
4. BULGULAR

Tablo 4.1: Tespit Ettiğimiz Bakteri Türleri

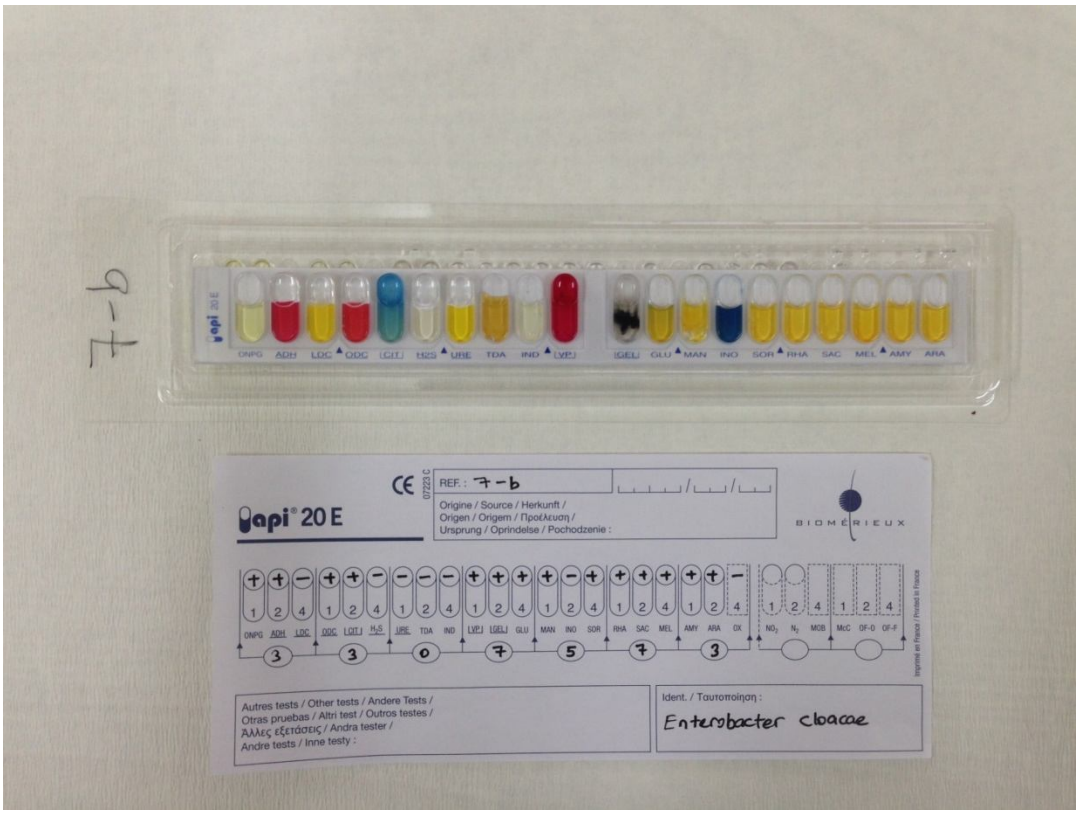
Fakültatif anaerop bakteriler	
Gram negatifler	**Gram pozitifler**
Chromobacterium violaceum	*Staphylococcus sciuri*
Citrobacter freundii	*Staphylococcus aureus*
Vibrio cholerae	*Staphylococcus epidermidis*
Vibrio parahaemolyticus	*Staphylococcus haemolyticus*
Klebsiella pneumoniae	*Staphylococcus saprophyticus*
Klebsiella oxytoca	
Enterobacter cloacae	
Morganella morganii	
Proteus penneri	
Proteus mirabilis	
Proteus vulgaris	
Providencia rettgeri	
Providencia stuartii	
Rahnella aquatilis	
Vibrio alginolyticus	
Escherichia coli	
Pseudomonas	
Zorunlu anaerop bakteriler	
Gram negatifler	
Bacteroides fragilis	
Prevotella spp.	



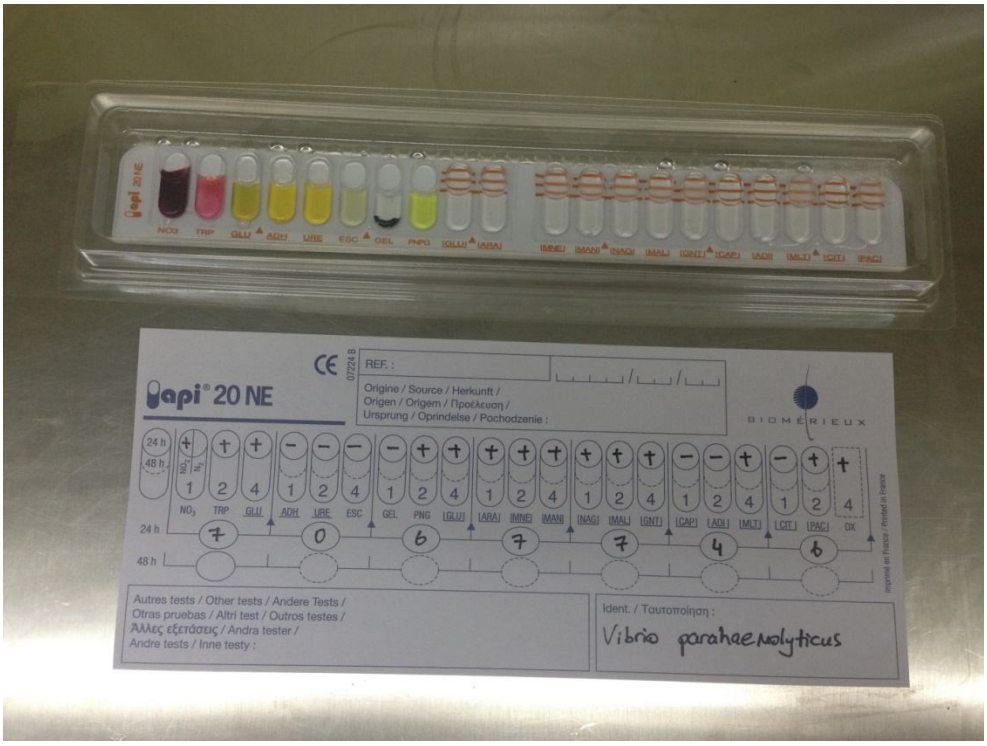
Şekil 4.1: İzole edilen *Chromobacterium violaceum* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



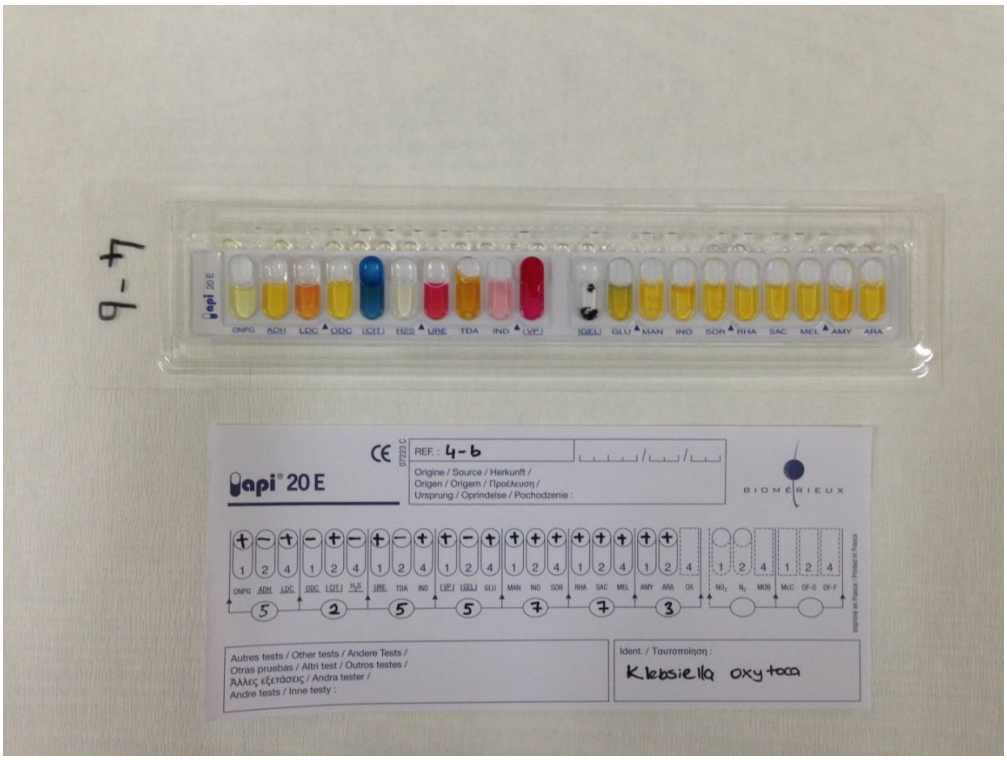
Şekil 4.2: İzole edilen *Citrobacter freundii* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



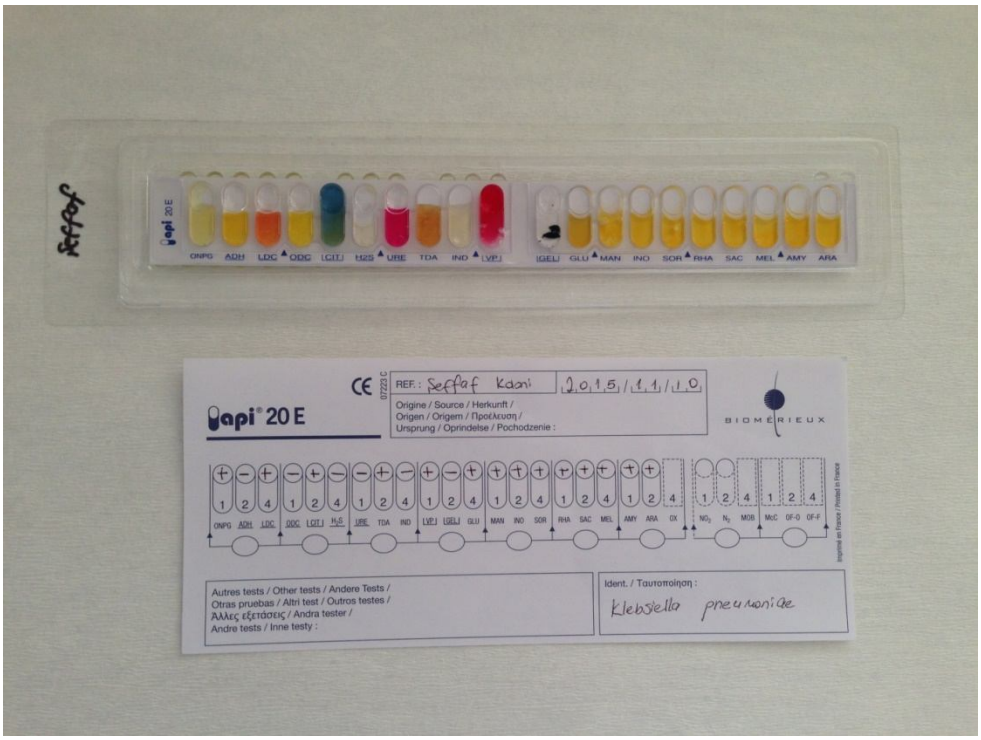
Şekil 4.3: İzole edilen *Enterobacter cloacae* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



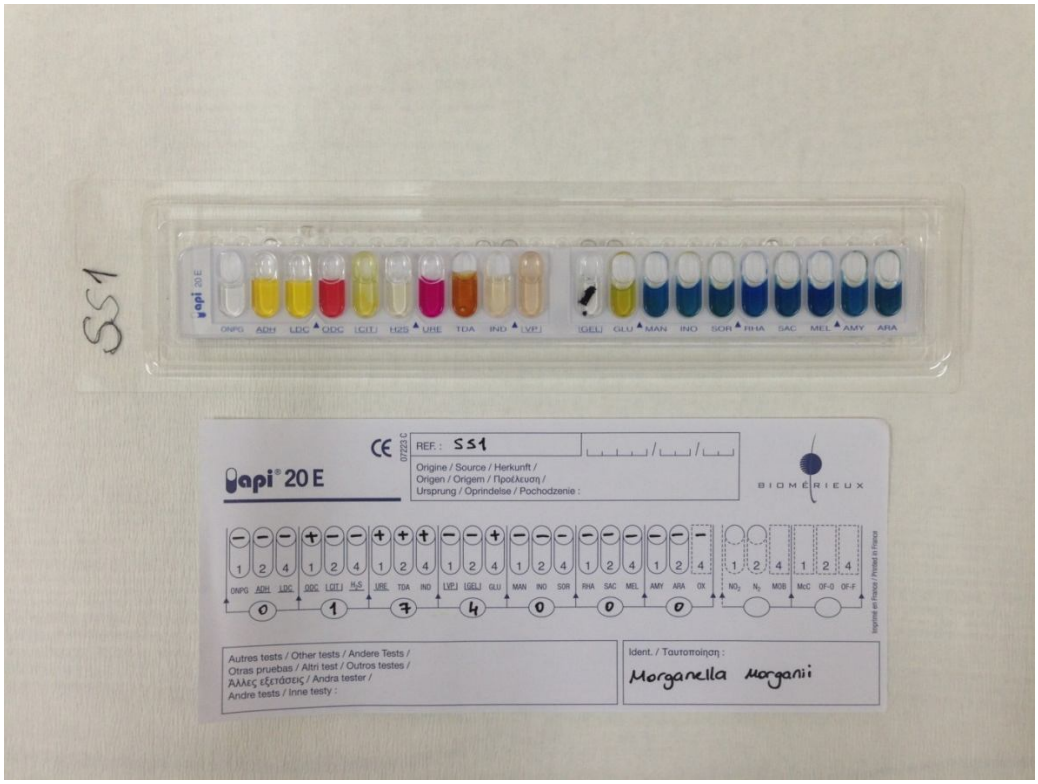
Şekil 4.4: İzole edilen *Vibrio parahaemolyticus* bakterisinin API 20 NE stribindeki görünümü



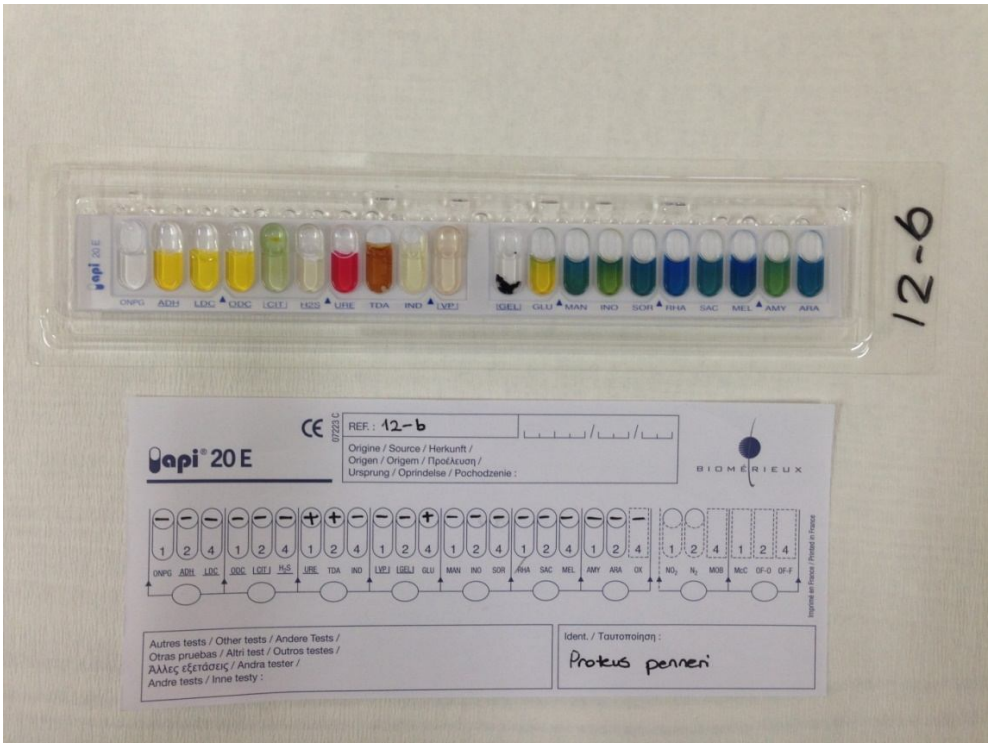
Şekil 4.5: İzole edilen *Klebsiella oxytoca* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



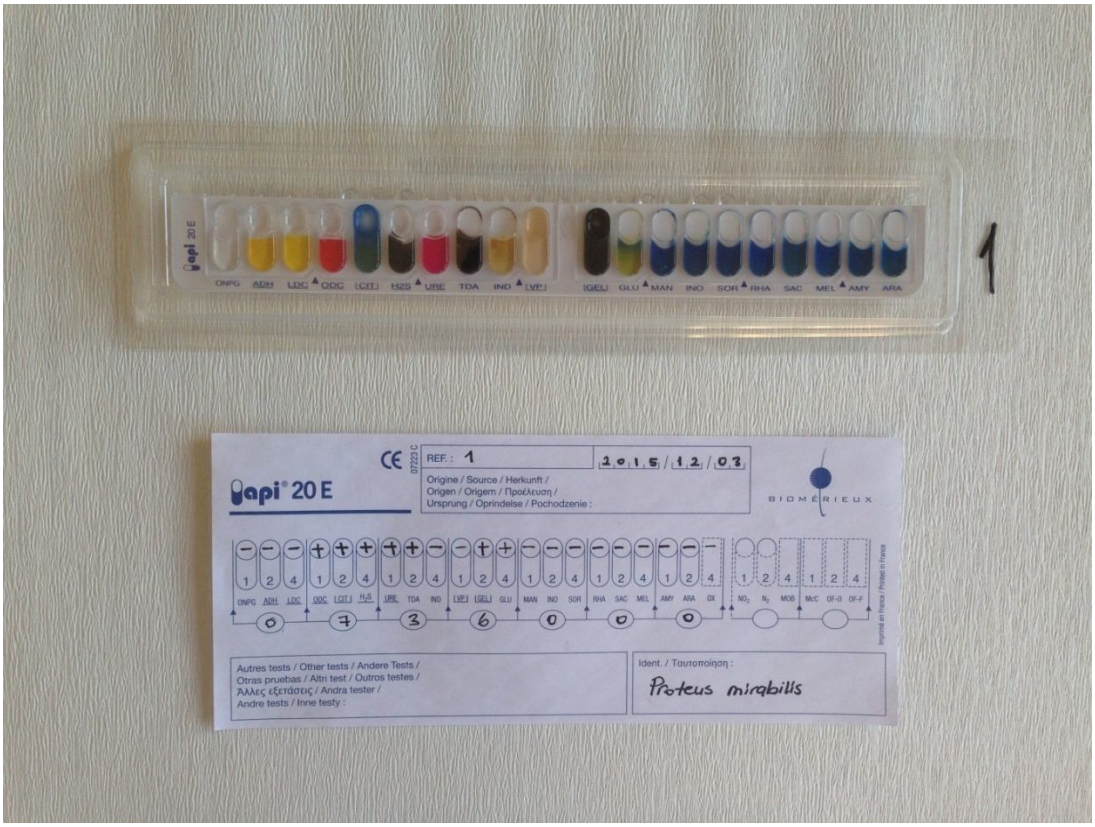
Şekil 4.6: İzole edilen *Klebsiella pneumoniae* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



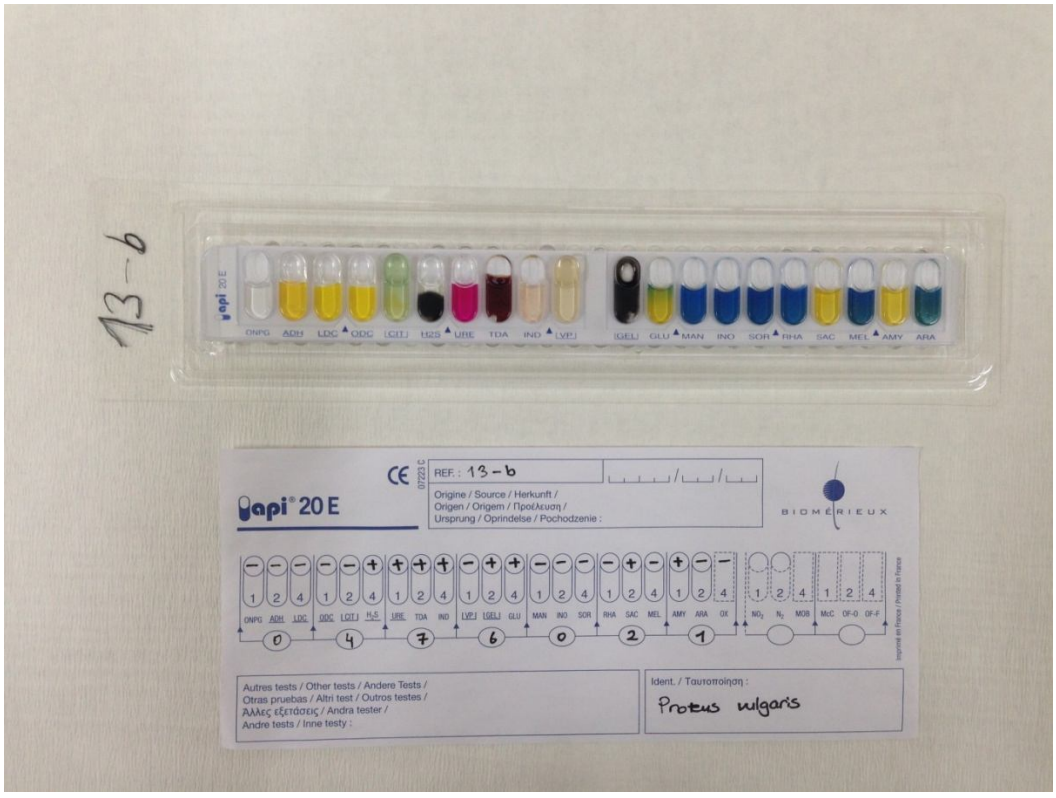
Şekil 4.7: İzole edilen *Morganella morganii* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



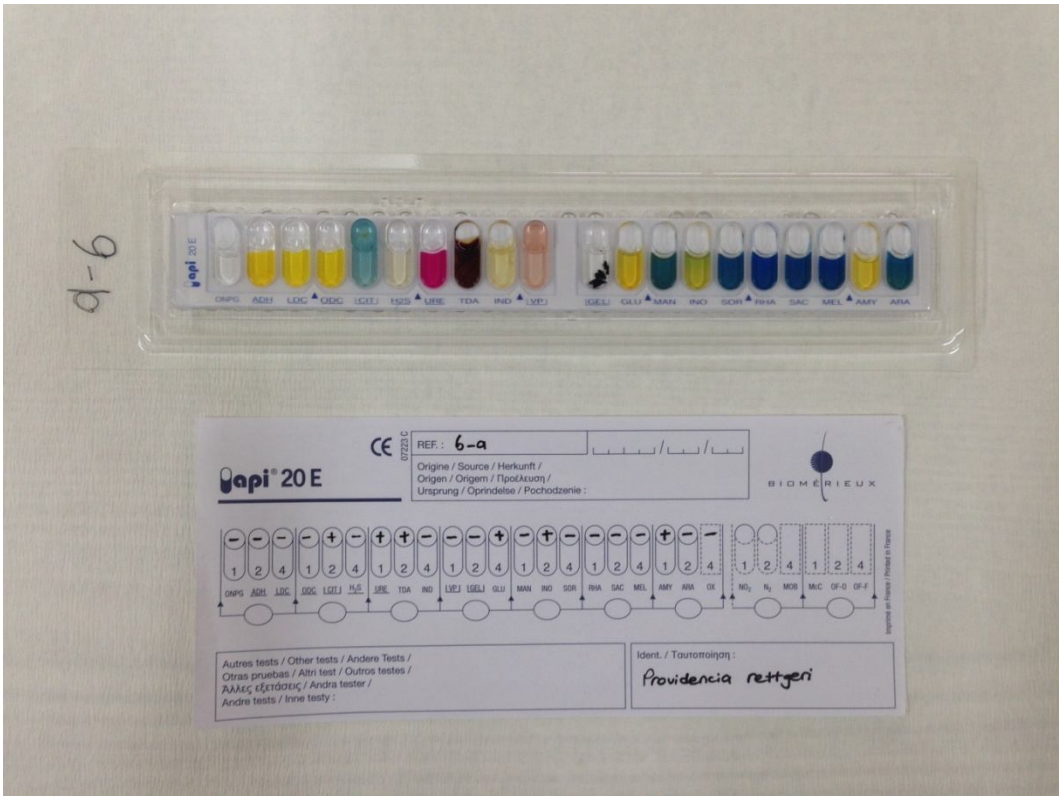
Şekil 4.8: İzole edilen *Proteus penneri* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



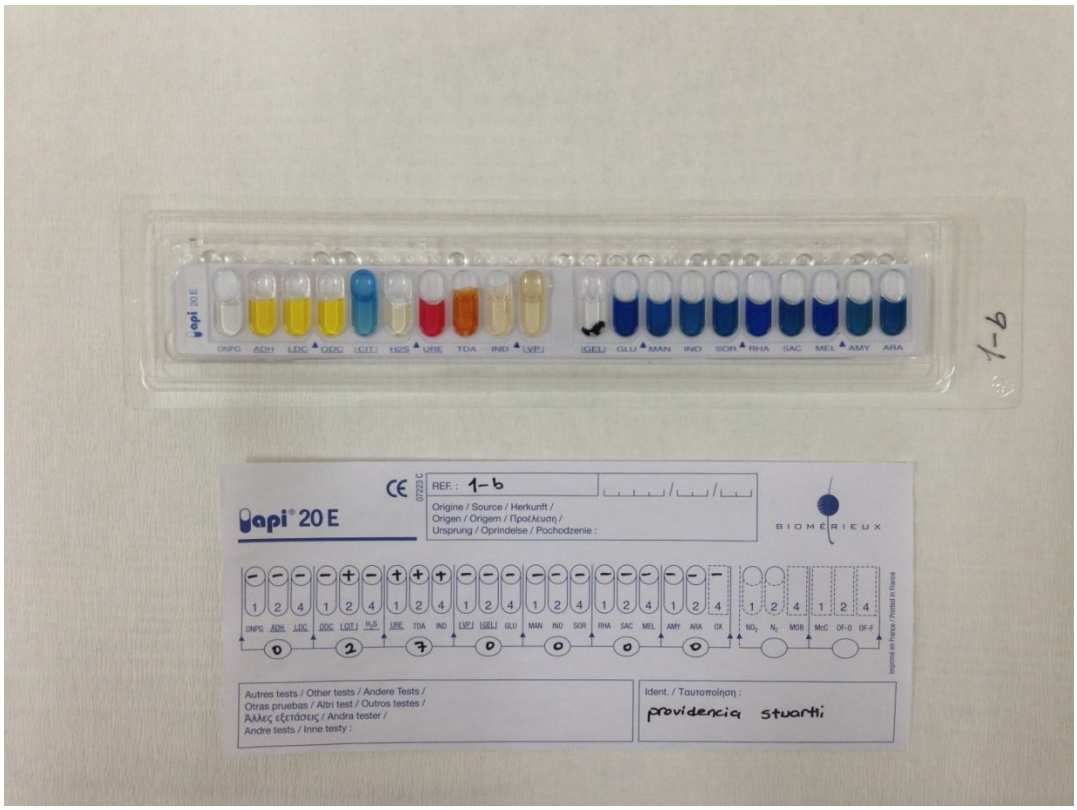
Şekil 4.9: İzole edilen *Proteus mirabilis* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



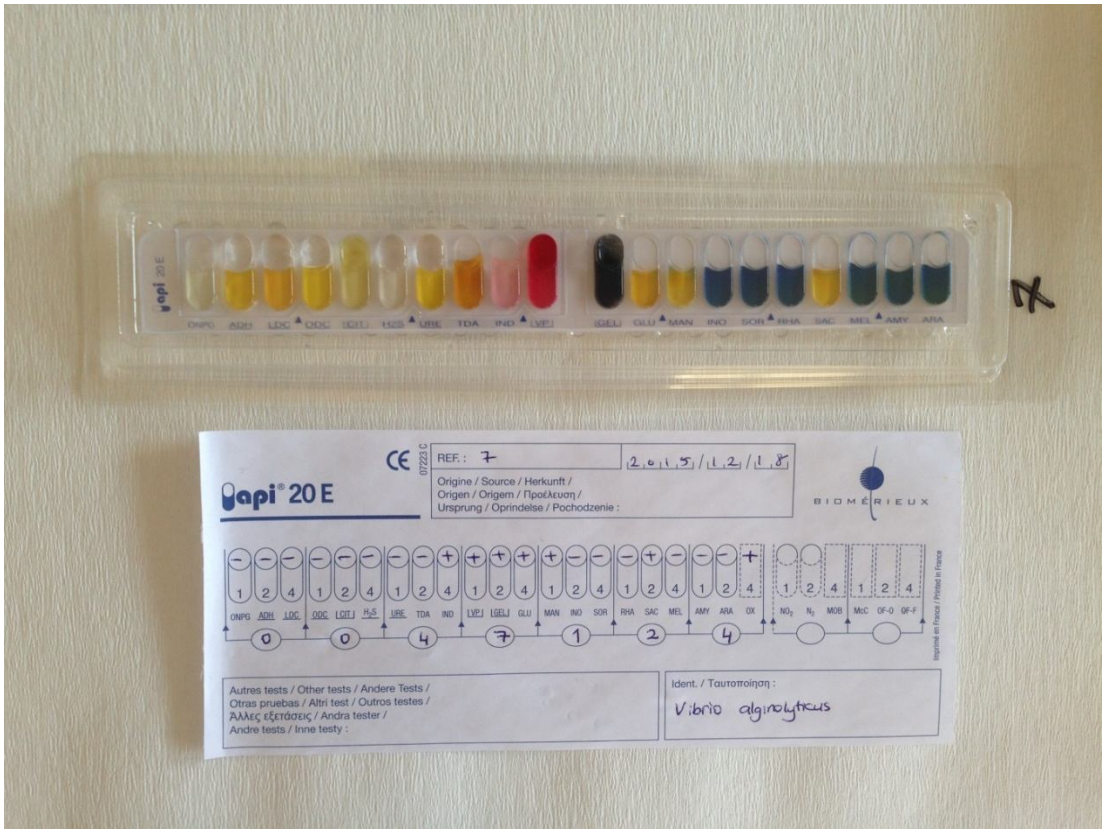
Şekil 4.10: İzole edilen *Proteus vulgaris* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



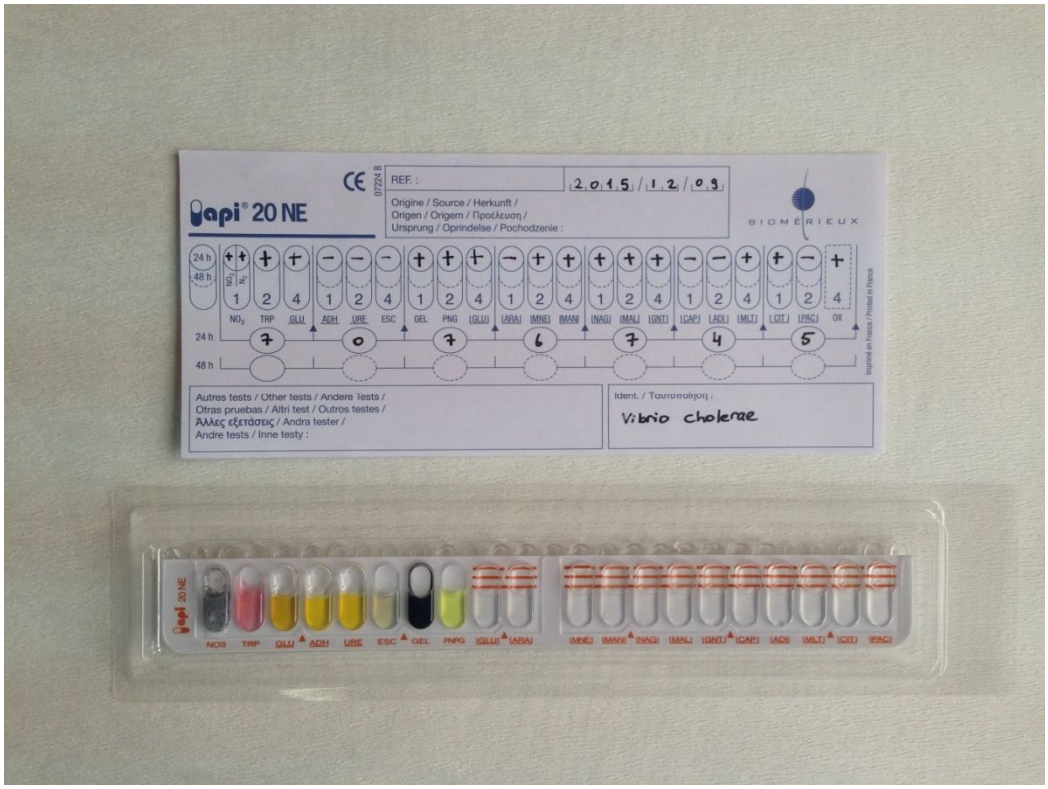
Şekil 4.11: İzole edilen *Providencia rettgeri* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



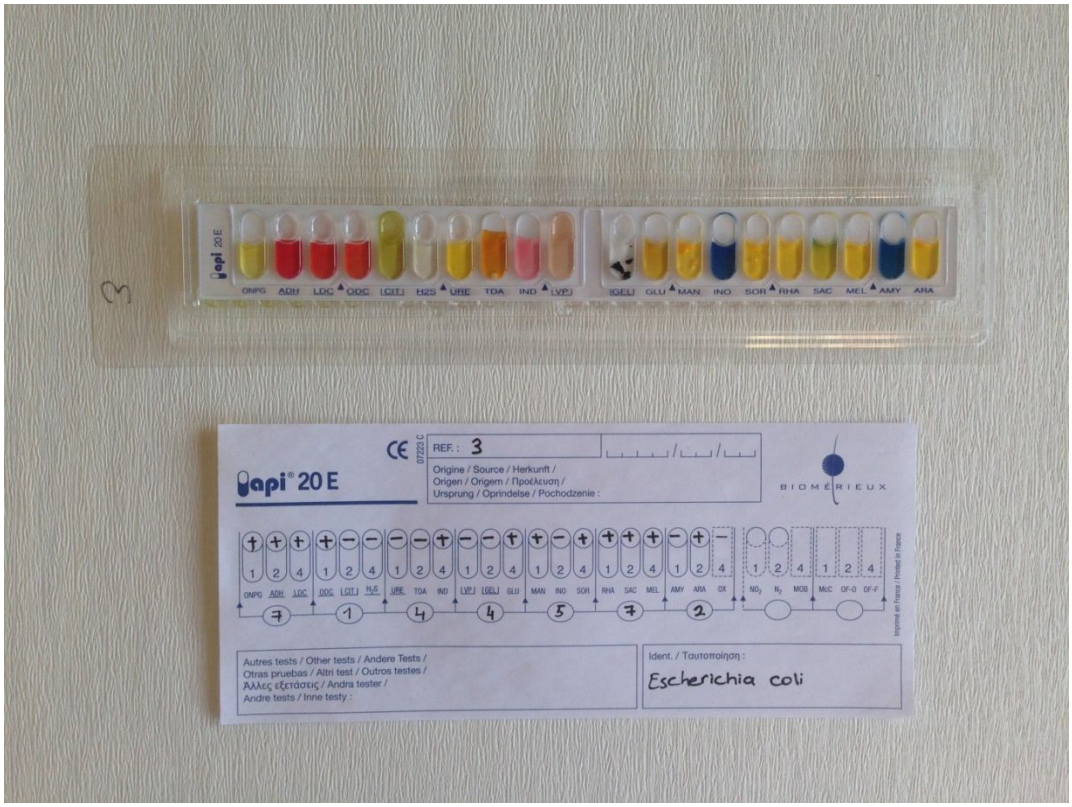
Şekil 4.12: İzole edilen *Providencia stuartii* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



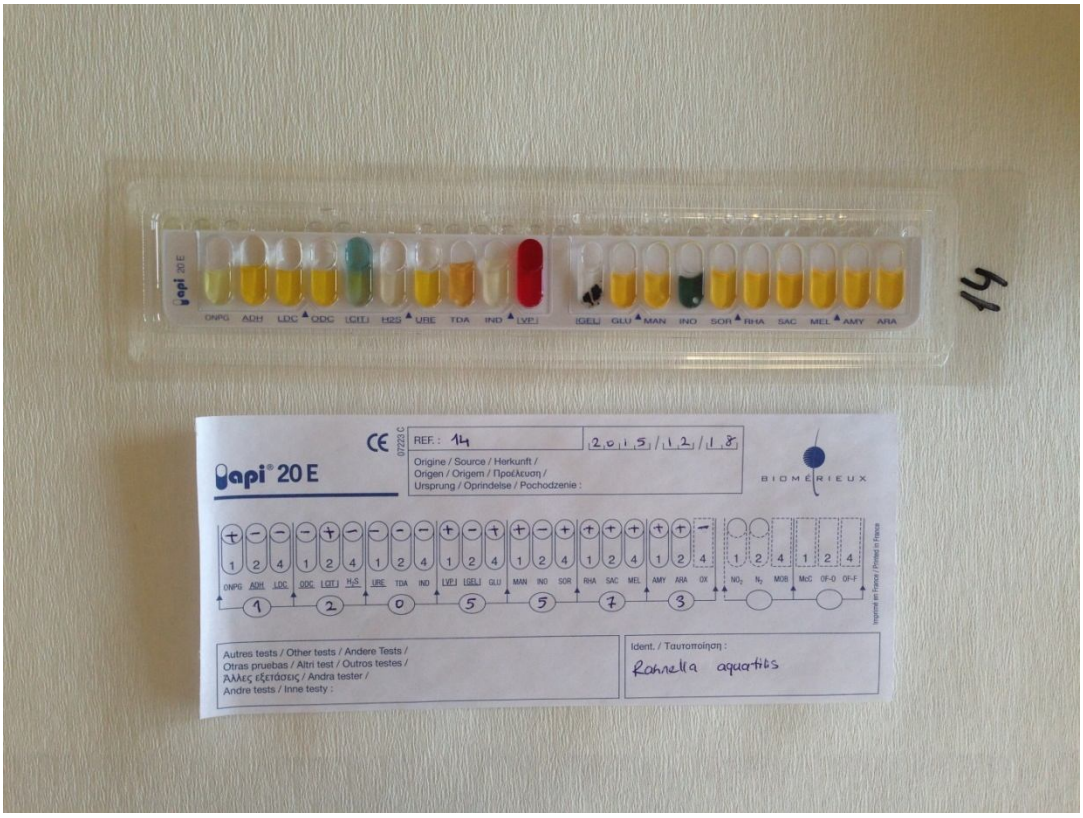
Şekil 4.13: İzole edilen *Vibrio algnolyticus* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



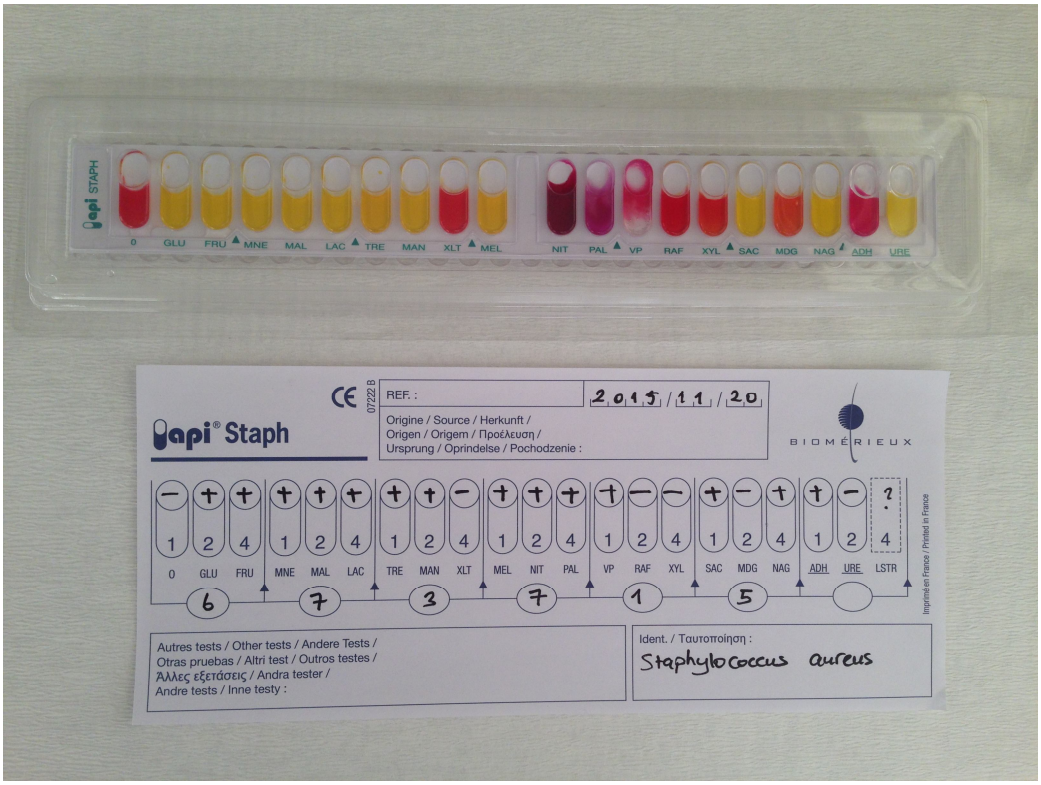
Şekil 4.14: İzole edilen *Vibrio cholerae* bakterisinin API 20 NE stribindeki görünümü



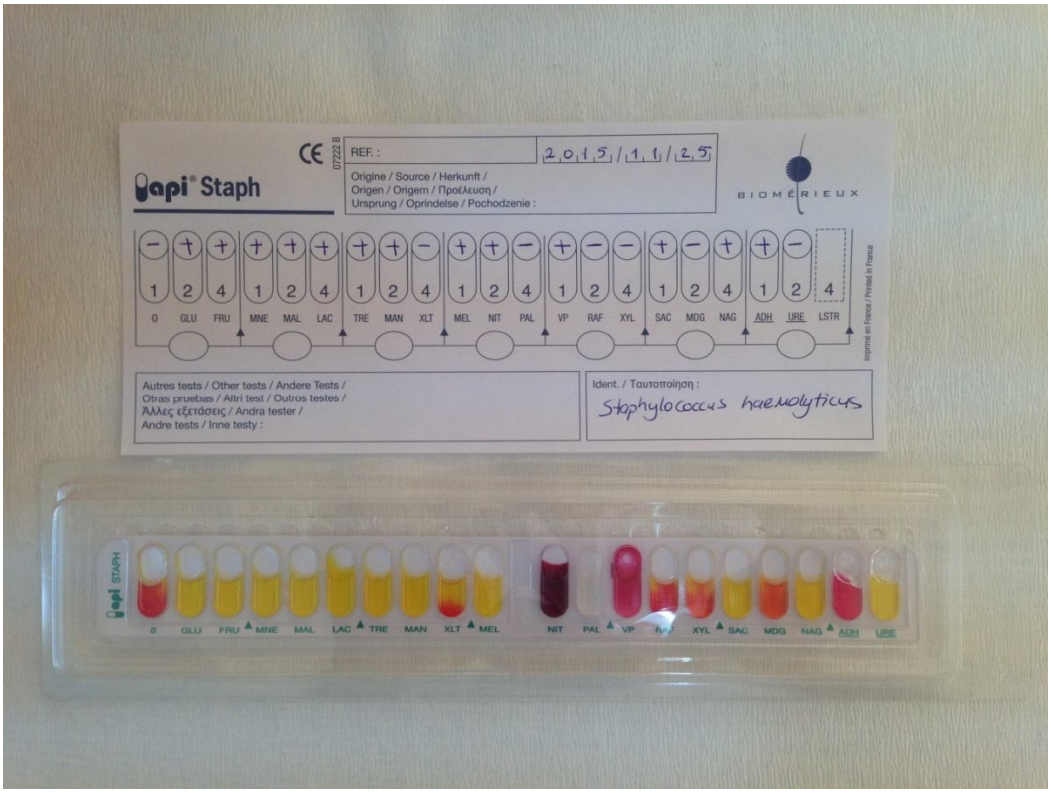
Şekil 4.15: İzole edilen *Escherichia coli* bakterisinin API 20 E stribindeki görünümü



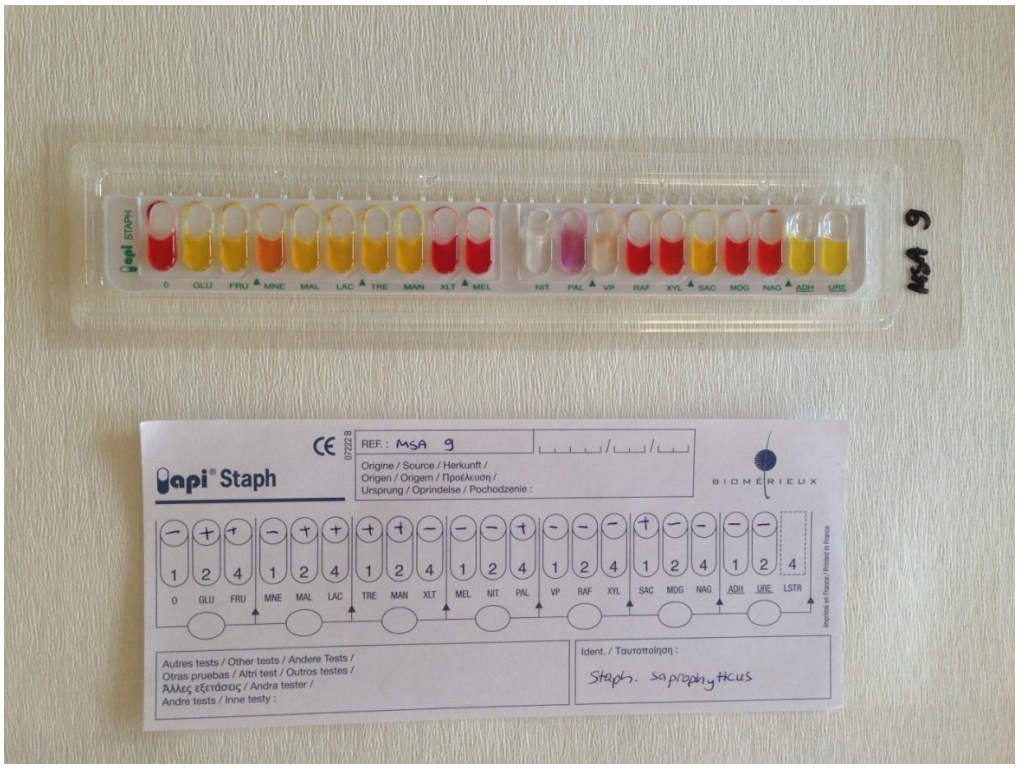
Şekil 4.16: İzole edilen *Rahnella aquatilis* bakterisinin API 20 E stribindeki görünüm



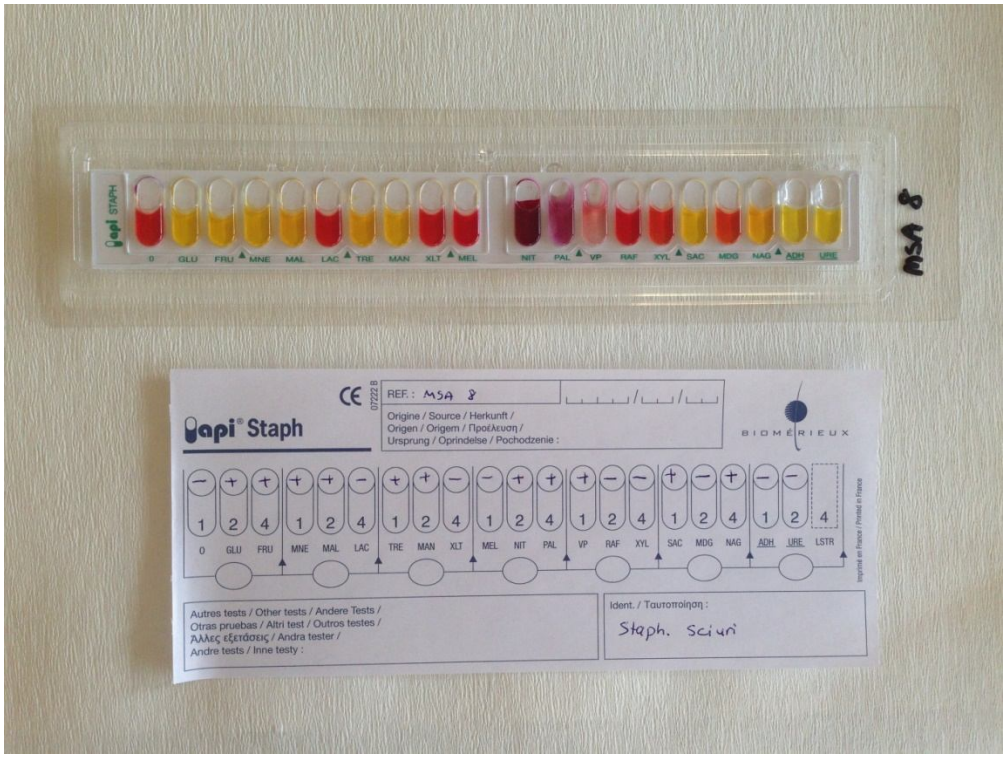
Şekil 4.17: İzole edilen *Staphylococcus aureus* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü



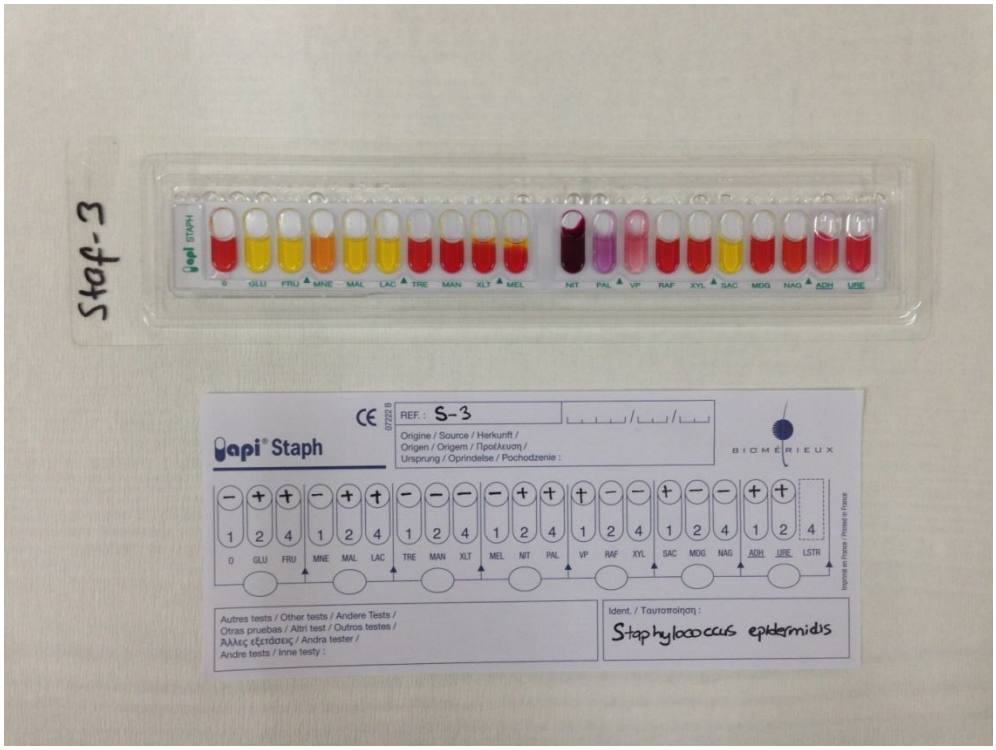
Şekil 4.18: İzole edilen *Staphylococcus haemolyticus* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü



Şekil 4.19: İzole edilen *Staphylococcus saprophyticus* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü



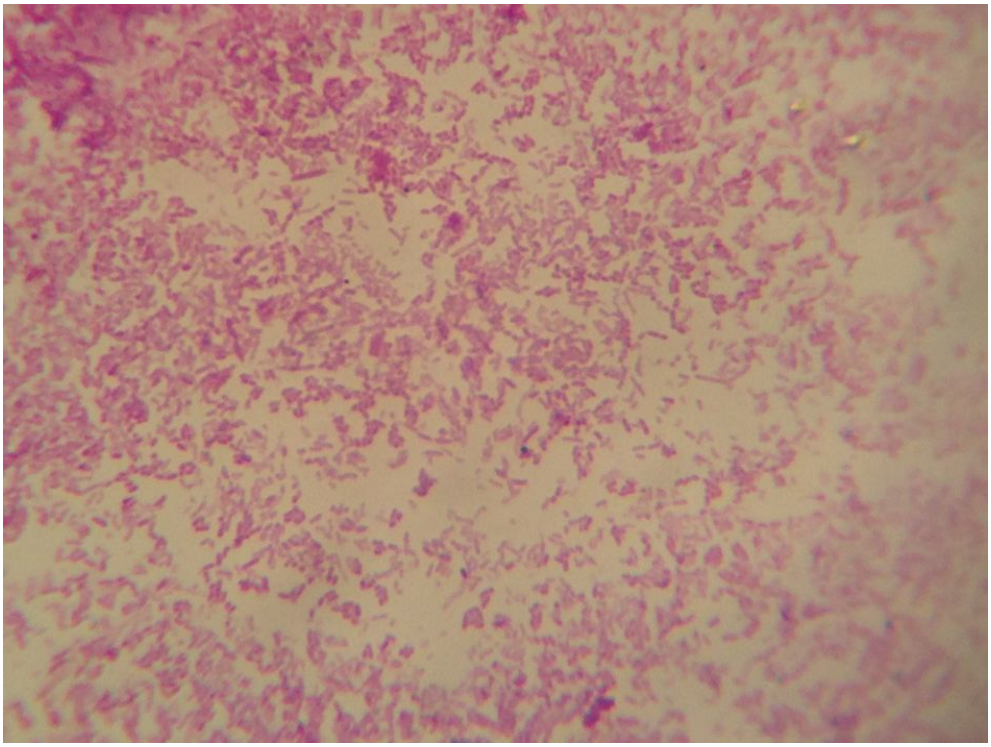
Şekil 4.20: İzole edilen *Staphylococcus sciuri* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü



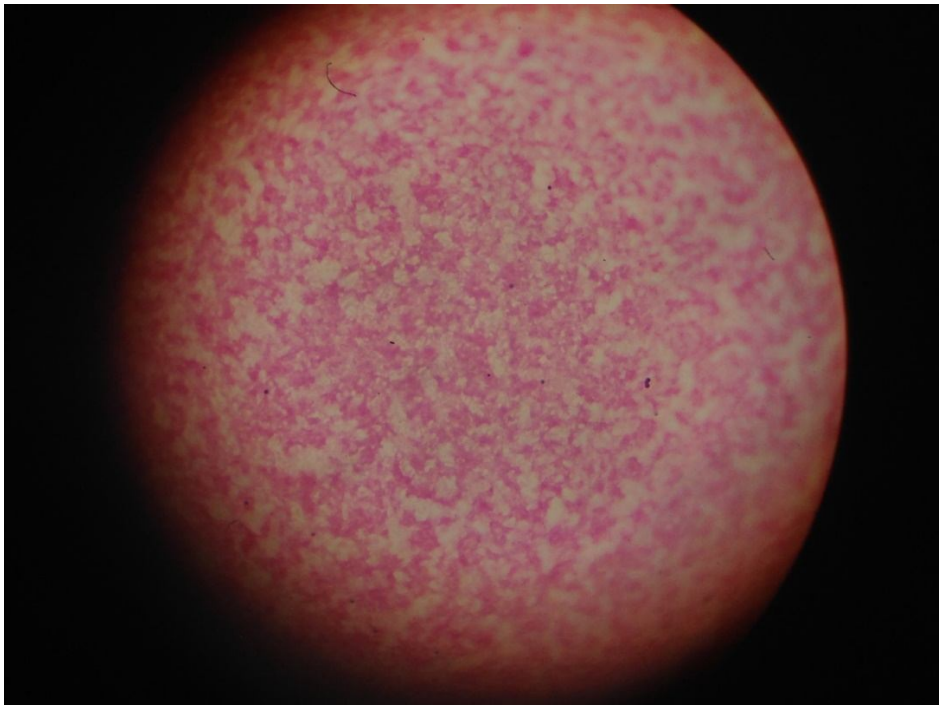
Şekil 4.21: İzole edilen *Staphylococcus epidermidis* bakterisinin API 20 Staph stribindeki görünümü



Şekil 4.22: Pseudomonas'ın MacConkey agardaki saf kültürü



Şekil 4.23: *Prevotella spp.'*nin ışık mikroskobundaki görüntüsü



Şekil 4.24: *Bacteroides fragilis* 'in ışık mikroskobundaki görüntüsü

5. TARTIŞMA

Evsel, endüstriyel, tarımsal alanlarda kullanımlar sonucunda kirlenmiş ve özelliklerini yitirmiş sular olan atık suların tarım ve endüstride yeniden kullanılabilmek üzere geri kazanılması özellikle su kıtlığı olan ve su kaynakları tükenmeye başlamış ülkelerde öncelikli politika olmuştur. Ancak atık sular mikroorganizmalarca oldukça zengindir. İçeriğinde bakteri, virüs, protozoan ve mantarlar bulunmaktadır. Literatürde atık su kaynaklı 100'den fazla hastalığa sebep olabilen mikroorganizma olduğu bildirilmiştir. Atık sulardaki bakterilerin sebep olduğu kolera, tifo ve paratifo bu hastalıkların en tehlikeli olanlarından sadece birkaçıdır (49). Bu yüzden atık suların etkin bir şekilde arıtılması büyük önem taşımaktadır.

Biyolojik arıtma atık su içerisindeki çözünmüş organik maddelerin bakteriyolojik faaliyetlerle ayrıştırılarak giderilmesi işlemidir. İleri biyolojik atık su arıtma tesislerinde arıtım çeşitli cins ve türlerdeki bakteriler tarafından yapılmaktadır. Bu tesislerde genelde Gram (-) bakteriler bulunur. Bu bakteriler organik maddelerin oksidasyonundan ve besin maddelerinin gideriminden sorumludur. Bakteriler, ürettikleri polisakkarit ve polimerik materyaller ile aktif çamur içinde yumak oluşumuna katkıda bulunur. Besinlerle yüklü yumak oluşturan bakteriler dibe çöker ve ortamdan uzaklaştırılır (8).

Etkin bir arıtım yapılabilmesi için belirli bakteri cinslerinin atık su arıtma tesislerinde bulunması gerekmektedir. Ancak bu durum iki tarafı keskin kılıca benzer. Çünkü atık suları arıtma özelliği olan bakterin patojen olma ihtimali bulunmaktadır. Bu açıdan bakıldığında arıtma tesisindeki bakteri profilinin belirlenmesi önem arz eder.

Arıtım havuzlarında bakteriler arasında karmaşık ilişkiler yumağı vardır. Örneğin Pseudomonas cinsi bakteriler serbest oksijen moleküllerinin varlığında çeşitli substratları, fenolleri ve fenolik bileşikleri oksitleyebilme yeteneğindedir. Pseudomonas'ın yanı sıra Alcaligenes ve Flavobacterium türleri atık su arıtma tesislerinde sıklıkla görülen ve organik maddelerden proteinleri degrade eden türlerdir. Bu bakteriler arasında simbiyotik ilişkiler de görülür. Örneğin Nitrosomonas cinsi bakteriler iyonize amonyağın nitrite oksidasyonuna neden olur. İyonize amonyağın da oksidasyonu nitritin Nitrobacter tarafından kullanılmasında önemlidir. Atık sularda

metan oluşumuna neden olan bakteriler hidrojeni ortamdan uzaklaştırmakta ve metan gazı oluşumuna neden olmaktadır. Hidrojenin ortamdan uzaklaştırılmasıyla asetojenik bakteriler asetat oluşumuna katılır ve oluşan asetat ortamda bulunan diğer bakteri türleri tarafından substrat olarak kullanılır. Özetle atık su içinde bazı bakterilerin metabolik atıkları diğerleri için bir substrat olabilme potansiyeli taşır (11).

Tez çalışmamızda sadece arıtma tesisine gelen giriş suyu numuneleri ile çalıştık. Atık suyun kimyasal içeriğinin ani değişimlerine bağlı olarak bazı bakteri türleri bu değişiklikleri tolere edemeyerek elimine olur. Bu açıdan bakıldığında atık sulardaki bakteri çeşitliliği günlük, aylık ve mevsimsel olarak değişikliğe uğramaktadır. Çalışmalarımızın neticesinde 2015 yılı sonbahar ve kış döneminde arıtma tesisi giriş sularında toplam 24 farklı bakteri türünü tespit ettik. Bu türlerden bazıları patojenik, bazıları da patojenik olmayan türlerdi. Bakterileri tanımlarken çeşitli biyokimyasal testleri, mikroskobik ve makroskopik yöntemleri ve hala hazırda mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan API Kitlerini kullandık. Dünya literatüründe bizim çalıştığımız yöntemin dışında DGGE, t-RFLP, FISH, PCR gibi ileri tanımlama teknikleri kullanılmaktadır. Ancak çalışmamızın limitli bir bütçeye sahip olması tezimize bazı kısıtlamalar getirmiştir. Çalışmamızın özgünlüğü ise İstanbul Ataköy'de bulunan ileri biyolojik atık su arıtma tesisine gelen atık su örneklerinde patojen bakterilerin varlığını ortaya koyan ilk çalışma olmasıdır.

Deney çalışmalarını yaparken dikkatimizi çeken en önemli gözlemimiz alınan her su örneğinde Enterobacteriaceae familyasından bir türe rastlamamızdı. Bunun nedeninin atık sulara karışan kanalizasyon suları olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda tespit edilen bakteri türleri ve bu türlerin atık sularda bulunması, ilgili literatürler ışığında aşağıda bölümler halinde tartışılmıştır.

Literatürde Enterobacteriaceae familyasına ait koliform ve fekal koliformlara evsel ve hastane kaynaklı atık sularda bol miktarlarda rastlandığına dikkat çekilmiştir. Koliform bakterilerin doğal yaşam alanları insan ve sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal sistemi olabildiği gibi toprak ve bitki kökenli de olabilir. Çoğu sağlıkla ilgili sorunlara neden olur. Biz de çalışmamızda atık sularda bu familyaya ait olan *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Rahnella aquatilis*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii, Proteus mirabilis*,

Proteus vulgaris, *Proteus penneri*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii* türlerini tanımladık. Bu tip bakteriler kanalizasyon sistemine verilen evsel atık sular aracılığı ile, hayvan kesim merkezlerinin atıklarının, kedi, köpek gibi hayvanların dışkılarının ve hastane atıklarının kanalizasyon sistemine verilmesiyle veya toprağa karışması sureti ile arıtma tesisine ulaşmaktadır (54).

Fekal koliformlar koliform bakterilerin alt grubu olup dışkı kökenlidir. Fekal koliformlar yüksek orandaki *E. coli* içerikleri nedeni ile fekal kontaminasyonun belirlenmesinde önemli bir göstergedir. Eğer ortamda *E. coli* varsa dışkı bulaşmış demektir. Atık su arıtma tesislerine *E. coli* lağım suları ile gelmektedir. Koliform grup bakterilere süt ve süt ürünleri gibi hayvansal gıdalarda, besinsel değeri zengin olduğu düşünülerek lağım suları ile sulanan sebze ve meyve üzerlerinde, etkin bir şekilde arıtılmamış atık sularla sulanan bitkilerin üzerinde rastlanabilmektedir (11).

Escherichia, Klebsiella ve Proteus türleri atık suların arıtımı ve ortamda bulunan diğer bakteriler için iyi bir substrat rezervuarı sağlar. Bunun yanı sıra biyolojik fosfor giderimi asit ve asetat üretimi ve denitrifikasyon gibi olaylara katılırlar. Bu türlerin varlığının atık sulardaki tespiti arıtım stratejilerinin belirlenmesinde önem taşır (8). Enterobacteriacea ailesinden Klebsiella ve Enterobacter cinsleri patojenik olma özelliğinin yanı sıra atık sularda etkin fosfor giderimine katılır. Fosfor özellikle göl, lagün gibi kapalı sularda ötrofikasyona neden olur. Su yüzeyinde biriken fosfor ve türevleri güneş ışığının geçişine engel olarak suda yaşayan pek çok canlının ölümüne sebebiyet verir. Fosfor atık su arıtma tesislerinde organik ve inorganik formlarda bulunur. Bu fosforun kaynağı insan atıkları, endüstriyel atıklar ve deterjanlardır. Bu yüzden fosfor gideren bakterilerin atık su arıtma tesislerinde varlığının belirlenmesi hem arıtım, hem halk sağlığı hem de çevre kirliliğinin kontrol altında tutulması bakımından önemlidir (11). Biz fosfor giderimi yapan bakterilerden Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Pseudomonas ve Vibrio türlerini arıtma tesisinin giriş sularında tespit etmiş bulunmaktayız.

Atık sularda tanımladığımız Enterobacteriaceae ailesinden Gram negatif özellikteki *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Escherichia coli* ve anaerop gram negatif tür Bacteroides fragilis cinsi gibi fermentatif bakteriler amino asitleri, yağ asitlerini ve şekerleri asetat, bütirat, format, laktat ve propiyonat gibi organik asitlere çevirir. Atık su arıtma tesislerinde anaerobik şartlarda bulunan

fermentatif bakteriler metan gazı oluşturan bakteriler için kompleks substratları daha basit substratlara ayırır. Bunun sonucunda arıtma tesislerinde metan gazı oluşumu artar. Metan gazı hem arıtma tesislerinde hem de evlerde ısınmada ve sıcak su eldesinde kullanılır. Ayrıca fermentatif bakteriler arıtım esnasında fosfor giderilmesi ile ilgili olarak ortamdaki fosforu uzaklaştıran P-bakterileri için dış ortamdan alınması gerekli olan organik asitleri üretir. Fermentatif bakteriler bu özellikleri ile biyolojik arıtıma katkıda bulunur (11).

Yukarıda belirttiğimiz Enterobactereaceae familyasına ait türlerin yanı sıra Gram negatif özellikteki Pseudomonas, *Vibrio cholerae, Chromobacterıum violaceum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus,* anaerop tür olarak yine Gram negatif özellikteki *Bacteroides fragilis*, Prevotella ve Gram pozitif özellikte *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*'u da atık sularda tespit ettik.

Arıtma tesisi aktif çamurunda en çok bulunan bakterilerden biri olan atık sularda fosfor giderimi yapan Pseudomonas türleri daha çok evsel, hastane ve endüstriyel kaynaklı atık sularda bulunmaktadır. Pseudomonas'lar denitrifikasyon yapma özelliğine sahip fakültatif anaerob bakterilerdir. Serbest moleküler oksijen yokluğunda nitratları kullanarak azot gazı ve nitröz oksit gazı açığa çıkarır. Atık sulardaki nitratlar bu bakteriler aracılığı ile azot gazına çevrilerek azot döngüsüne katılır. Arıtma tesislerinde Pseudomonas'ın varlığı hem etkin atık su arıtımı yapılabilmesi açısından hem de halk sağlığını tehdit etme potansiyeli bakımından takip edilmesi gereken bir durumdur. Pseudomonas üremek için daha çok lavabo, tuvaletler, küvet gibi oksijenle temas edebileceği yerleri tercih eder. Antibiyotiklere karşı dirençlidir. Arıtma tesisi çıkış sularında bu bakterilerin yaklaşık %90'ının uzaklaştırıldığı bildirilmektedir (8,32). Özellikle antibiyotiklere karşı dirençli bakteri türlerinin çıkış sularında tespit edilmesinin önemi büyüktür. Atık suların tarım alanlarının, park ve bahçelerin sulanmasında kullanılabilmesinden dolayı etkin bir arıtımın yapılması ve bu tür bakterilerin çıkış sularında varlığının kontrolü hayati önem taşır. Bu sular yeniden kullanılmasalar bile göl, nehir ve deniz gibi alıcı ortamlara deşarj edilirler. Pseudomonas gibi antibiyotiklere karşı direnç gösterebilen mikroorganizmalar sucul yaşamı, çevre ve halk sağlığını tehdit etmekle kalmayıp uzun vadede ekonomik sorunlara neden olabilmektedir. Bu açıdan bakıldığında özellikle hastane atık suları alıcı

ortama verilmeden önce bir ön arıtma işleminden geçirilerek dezenfeksiyona tabi tutulmalı ve ancak bu aşamadan sonra alıcı ortama verilmelidir. Bazı Pseudomonas türlerinin atık sulardaki furanları CO_2, asetat, H_2'ye metabolize ettikleri de literatürde gösterilmiştir. Burada meydana gelen asetat ve CO_2 diğer bakteri türleri tarafından substrat olarak ve enerji elde edilmesinde kullanılır (55-57).

Citrobacter freundii insan bağırsağı, su, toprak, kanalizasyon gibi her türlü ortamda bulunabilen, zor şartlara karşı dayanıklı, antibiyotiğe karşı direnç gösteren nozokomial patojen bir türdür. Varlığı fekal kontaminasyonu gösterir. Pnömoni ve menenjit etkeni olup özellikle hastane atıklarında bulunur. Atık sularda uzun süre canlı olarak yaşayabilir. Üremesi ancak antimikrobiyel bazı kimyasallarla durdurulabilmektedir (58). Çalışmamızda kullanılan giriş suyu örneklerinde bu bakterinin tespit edilmesi enfeksiyon riski açısından değerlendirilmesi gereken önemli bir bulgudur.

Toksik tekstil azo boyaları endüstride sıklıkla kullanılan boyalardır. Bu boyaların çevre sağlığı ve halk sağlığı üzerine olumsuz etkileri bulunur. Örneğin insanda tirozinaz enzimini inhibe ederek melanin sentezini baskılar ve hipopigmentasyona neden olur. Azo boyaları özellikle sanayi bölgelerinden atık su arıtma tesislerine endüstriyel atıklar olarak gelmektedir. Atık sularda bulunan *Providencia rettgeri* ve Pseudomonas türleri azo boyaları degrade etmek suretiyle aromatik aminleri meydana getirir. Aminler karada ve suda yaşayan organizmalar için toksik özellikte olup insan ve hayvanlarda karsinojenik ve mutajenik etki gösterir. Aminler daha sonra oksidasyona uğrayarak biyoçözünür (biodegradable) özellikteki aldehit ve ketonları meydana getirir. Giriş suyu örneklerinde Providencia türlerinin arıtma tesisi atık sularında bulunması sanayi kaynaklı azo boyaların bu bakteriler tarafından metabolize edilebileceğini göstermektedir (59).

Chromobacterium violaceum özellikle tarım atıklarında, toprakta ve atık sularda bulunabilen Gram negatif özellikteki, saprofit bakterilerdir. Hava sıcaklığının yüksek olduğu bölgelerde daha kolay ürerler. Hidrosiyanik asit ve siyanid oluşturma yeteneğindedir. Böylelikle ortamdaki diğer mikroorganizmaları inhibe ettiği bildirilmiştir. Kleid ve arkadaşları yaptıkları çalışmalar neticesinde atık sularda bulunan *Chromobacterium violaceum*' un siyanid oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir. Siyanid özellikle geçiş metalleriyle kompleksler oluşturabilmekte ve bu şekilde

sulardaki siyanide bağlı ağır metal toksisitesini arttırmaktadır. Çalışmamızda giriş su örneklerinde Chromobacterium tespiti literatürle uygunluk göstermektedir (60-62).

Kolera, *Vibrio cholerae*'nin neden olduğu bağırsak enfeksiyonuna neden olan ve şiddetli ishal ile seyreden bir hastalıktır. *Vibrio cholerae* tüm amino asitlere, peptid ve proteinlere karşı kemotaktiktir. Ayrıca Vibrio'lar atık su yüzeyinde bulunan biyofilm tabakasındaki glukoz, fosfor, azot ve diğer besinleri kullanarak enerji sağlayabilmekte ve besinin yetersiz olduğu şartlarda yaklaşık 700 güne kadar yaşamını sürdürebilmektedir. Besin yokluğunda hücre içi glikojeni karbon kaynağı olarak kullanır, glikojen ve inorganik fosfor depolar. Depo edilen fosfor, bakterinin yüksek asiditeye maruziyet durumunda ayrıca hidrojen peroksite ve aşırı tuza karşı korunmasında önemli rol oynar. Fosfor ayrıca bakterinin atık su üzerindeki yüzey kolonizasyonuna yardımcı olur. Giriş suyu örneklerinde bu bakterinin tespit edilmesi hastalık ve salgın riski açısından değerlendirilmesi gereken önemli bir bulgudur (63).

Vibrio parahaemolyticus bakteriyel gastroenteritin en önemli nedenidir. Görülme sıklığı açısından *Vibrio parahaemolyticus* kaynaklı gastroenterit koleradan hemen sonra gelir. Özellikle iyi arıtılmamış atık suların tarım alanları, park ve bahçelerin sulanmasında kullanılması sonucu bu bakteri çevreye yayılabilmektedir. Epidemilere neden olur. Doğada, daha çok iyi yıkanmamış sebze ve meyvelerde, sıklıkla da deniz ürünlerinde rastlanır. Yaşamını sürdürebilmesi için tuza gereksinimi vardır. Özellikle deniz suyu arıtan arıtma tesislerinde yaz aylarında görülür. Atık su arıtma tesislerine de çoğunlukla kanalizasyon yolu ile gelir. Glukozu fermente ederek enerji sağlar. Üre hidrolizi yaparak ortamı alkaliye çevirir, CO_2 ve amonyak oluşur. Atık sulardaki amonyağı oksitleyebilen bakteriler bu metabolitleri çoğalmaları adına karbon, azot ve enerji kaynağı olarak kullanır. Bu bakterinin atık sulardaki tespiti hastalık oluşturma riski bakımından önem taşır (64-66).

Vibrio algynolyticus kirli denizlerin kıyı kesimlere yakın bölgelerinde bulunan bir türdür. Hem insanlar hem de denizde yaşayan diğer canlılar için patojeniktir. Antibiyotiklere ve çoğu ilaca karşı direnç gösterir. Bu türü içeren deniz ürünlerinin tüketilmesi sonucunda yara enfeksiyonları, otit ve gastrointestinal enfeksiyonlar görülebilir. Bu bakteri ile enfekte olmuş balıklarda ölümler görülür, ekonomik kayıplar yaşanır. Sulardaki varlığı halk ve çevre sağlığını tehdit eder. Arıtma tesislerine evsel ve hastane atıkları aracılığıyla gelir. Özellikle 26-29 derece arası sıcaklıklarda 6.3-8.7 pH

aralığında ve Nisan, Mayıs, Haziran aylarında hızlı üredikleri gözlemlenmiştir. Biz de ön denemelerimizi bu aylarda gerçekleştirmiştik. Literatürde *Vibrio algynolyticus*'un fekal koliform bakterilerle beraber görüldükleri belirtilmektedir. Bu bulgu bizim çalışmamıza koşut bir bulgudur (67,68).

Oksijensiz ortamda nitrit ve nitratın bakteriler tarafından redükte edilmesi ve elementer azota dönüştürülmesine denitrifikasyon denir. Temel besin maddelerinden biri olan azot atmosferin %78'ini oluşturur ve doğadaki azot "azot çevrimi" denilen bir döngü içinde sürekli dolanım halinde bulunur. Tüm mikroorganizmalar proteinleri sentezlemek ve gelişimleri için azota ihtiyaç duymaktadır. Diğer taraftan da azotun canlılar için öneminin yanı sıra kullanma suyu ve içme suyu kaynaklarının nitrat ile kontaminasyonu ciddi bir problemdir. Nitratların nitritlere indirgenmesi kanserojen olarak bilinen nitrozaminlerin oluşmasına neden olabilir. Bu yüzden atık sulardan, kullanma ve içme sularından nitratların uzaklaştırılması önem arz etmektedir. Biyolojik denitrifikasyonu atık su uygulamalarında hala hazırda heterotrofik veya ototrofik mikroorganizmalar kullanmaktadır. Denitrifikasyon enzimleriyle ilgili çalışmalar daha çok atık sularda bizim de tanımladığımız *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp*., *Corynebacterium sp., Enterobacter sp*. üzerinde yapılmıştır. Denitrifikasyonda metanol, etanol, glikoz, asetik asit ve formik asit gibi birçok organik madde karbon kaynağı olarak kullanılır. Ayrıca metan ve karbonmonoksit gibi gaz halindeki organik maddeler de substrat olarak tüketilir. Bu maddeler atık sularda bol miktarda bulunur. Atık sularda bulunan diğer mikroorganizmalar da karbon kaynağı olarak yukarıda saydığımız molekülleri kullanarak hücre içi yapıtaşlarını oluşturur ve enerji elde eder (69-71).

İnsanoğlu için içme suyu kaynaklarına karışan en tehlikeli bileşiklerden birinin nitrat olduğu ve belli bir konsantrasyonun üzerindeki seviyelerin sindirim sisteminde ve ürogenital sisteminde çeşitli patolojilere neden olduğu ve ayrıca nitratın nitrite indirgenmesiyle nitritin hemoglobin ile birleşerek methemoglobin oluşturması sonucu mavi bebek hastalığının görüldüğü literatürde yer almaktadır. (70,71). Bundan dolayı atık su arıtım tesisinde tespit ettiğimiz denitrifikasyon yapan *Escherichia coli*, Pseudomonas, Corynebacterium, Enterobacter cinsi bakterilerin varlığının tespit edilmesi etkin biyolojik arıtımın yapılabilmesi yönünden önem taşır.

Atık sularda tanımladığımız Gram negatif anaerop bakteriler *Bacteroides fragilis* ve Prevotella türleridir. *Bacteroides fragilis* zorunlu anaerob Gram negatif bakteri olan

ve insan dışkısının yanı sıra hayvan dışkısında bulunan bu bakteri türü Avrupa Birliği ülkelerinde fekal kirlenmenin bir göstergesi olarak tanımlanmaktadır. *Bacteroides fragilis* aynı zamanda normal kolon florasının da bir parçasıdır. Anaerob mikroorganizmalar tarafından oluşturulan ağır enfeksiyonların temel sebeplerinden biri olan bu tür aynı zamanda da polisakkarit özellikteki kapsülünü koruma kalkanı olarak kullanarak fagositoza ve zorlu ortam şartlarına karşı bakterinin direnç gücünü arttırır. Oksijene karşı tolerandır. Çalışmamızda su örneklerinde tesbit ettiğimiz bu türün arıtma tesislerine lağım suları yoluyla geldiğini düşünmekteyiz (72).

Prevotella sp. ise üst sindirim yollarının normal flora bakterisidir. Hücre duvarında güçlü bir endotoksini bulunur. Laboratuvardaki tanımlaması *Bacteroides fragilis*'le benzerlik gösterir. Kanlı agarda siyah kolonileri gözlemlemek mümkündür. Bacteroides ve Prevotella cinsleri nonkoliform gruplar olarak nitelendirilip hayvan ve insan kaynaklı fekal kirlenmenin göstergesi olarak fekal koliformlar ile birlikte de anıldığı yayınlar bulunmaktadır. Arıtma tesislerine insan ve hayvan dışkıları ile gelir (73-74).

Literatürde de atık sularda anaerop özellikteki *Bacteroides fragilis* ve Prevotella türlerine rastlandığı bildirilmektedir. Bizim de atık su örneklerinde her iki tipteki bakteriyi de tespit etmiş olmamız yine atık su örneklerinde fekal kirlenmenin varlığını göstermektedir.

Çalışmamızda tanımladığımız bir diğer grupta Gram + özellikteki Stafilokok türleridir. Dünyadaki çeşitli ülkelerde antibiyotikler hayvanların büyüme ve gelişimlerini hızlandırmak amaçlı kullanılmaktadır. Ancak günümüzde Avrupa Birliği ülkelerinde antibiyotiklerin bu amaçla kullanımı yasaklanmıştır. Hayvanlarda kullanılan bu antibiyotikler antibiyotiğe karşı dirençli bazı bakterilerin çevreye yayılmalarına sebebiyet vermektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde atık su arıtma tesislerinde Rosenberg-Goldstein ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada metisiline dirençli Staphylococcus aureus'un (MDSA) varlığının yaygın bir şekilde tespit edildiği gösterilmiştir. Yapılan deneylerde atık sudan izole edilen MDSA suşlarının % 93'ünün FDA tarafından onaylanan iki sınıf antibiyotiğe karşı direnç gösterdiği ve kaynağı henüz ortaya konamayan bu bakteri tipine daha çok hastanelerde rastlanıldığı, tedavisinin de güç olduğu bildirilmiştir (75). Hızlı bir şekilde yayılma olanağına sahip bu bakteri türünün menşeinin arıtma tesisleri olabileceği ihtimali üzerinde

durulmaktadır. Rosenberg-Goldstein ve arkadaşları arıtılmış suların park, bahçe ve yeşil alanların sulamalarında kullanıldığı bazı arıtma tesislerinde yaptıkları incelemelerden sonra, bu arıtma tesislerine gelen suların %83'ünde MDSA türüne rastlandığını bildirmişlerdir. Yaptıkları deneylerde arıtım faaliyetleri sonucunda bu oranın kayda değer biçimde düştüğüne ve klorlamanın önemine dikkat çekmişlerdir (75,76). Biz de atık su örneklerinde literatür bilgisine uygun olarak *Staphylococcus aureus*'un yanı sıra *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus* türlerini tanımlamış bulunmaktayız.

Bakterilerin kesin teşhisinde kullanılan ileri tekniklerden olan hibridizasyon yöntemleri (Southern blot, Northern blot) ve PCR ile birleştirilen teknikler kullanılarak bakterilerin ileri düzey tanımlanması yapılabilmektedir. Daha ileri teknikler kullanılarak bizim çalışmamızda tanımlanamayan türlerin teşhisleri yapılabilir. Bunun yanı sıra çalışma süresinin daha uzun bir zamana yayılması daha fazla sayıda bakteriyi tanımlama şansını yakalamamıza neden olabilirdi.

Tezimizin atık sularda mikrobiyal patojenlerin tespitine yönelik çalışmaların yaygınlaşmasına, bu alanla ilgili yeni yasa ve yönetmeliklerin çıkarılmasına, denetimlerin sıklaştırılıp yaygınlaştırılmasına, özel sektör tarafından arıtımı yapılmadan çevreye deşarj edilen sular hakkında daha ağır cezai yaptırımların gündeme alınmasına ve doğru arıtım teknolojilerinin uygulanabilmesine ışık tutacağına inanmaktayız.

6. SONUÇ

Çalışmamızın sonucunda öngördüğümüz bir bakteri profili ile karşılaştık. Toplam 24 adet bakteri türü tanımlayabildik. Arıtma tesisi giriş sularında fekal kirlilik belirlenmiş, patojen ve patojen olmayan bakteri türlerine rastlanmıştır. Bu sular arıtma tesisinde çeşitli aşamalardan geçtikten sonra bir kısmı yakın bölgedeki akarsulara deşarj edilirken bir kısmı da geri kazanılmakta ve yeniden kullanılmaktadır. Atık su arıtma tesislerine gelen giriş sularının mikrobiyal patojenler açısındandan araştırılması öncelikle arıtım sonrası alıcı ortama deşarj edilen ve bunun sonucunda da halk sağlığını tehdit edebilecek salgın hastalıkların ön görülmesinde, olası taşkın ve sel felaketlerinde çevreye yayılması muhtemel patojen bakteri türlerinin ortaya konulmasında önem arz etmektedir. Ayrıca çalışmamızda tanımladığımız koliform ve fekal koliform bakterilerin yanı sıra antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin varolma ihtimali göz önünde bulundurulduğunda arıtma tesisi çıkış sularının mutlaka etkin dezenfeksiyon yöntemleriyle muamele edilmesi gereği açığa çıkmaktadır.

Patojen bakteriler arıtma tesislerinde biyoaerosol şeklinde, atık su yüzeyinde biyofilm ve aktif çamurdaki köpük yüzeylerde, aktif çamur içinde topak şeklinde ve kontamine olmuş beton ve metal yüzeylerde bulunabilmektedir. Bu bakterilerin çoğu endospor ve kapsül oluşturma yeteneğindedir. Her iki yapı da bakteriyi zorlu hava şartları, kimyasallar ve dezenfektanlara karşı dirençli kılar. Bunun yanı sıra ölen bakterilerin endotoksin salgılaması da göz ardı edilmemesi gereken bir durumdur. Endotoksinler deriden difüze olup insan vücuduna girerek gastrointestinal sistem ve solunum yolu rahatsızlıklarına sebebiyet verir. Bu yüzden arıtma tesisi personeli her daim hastalık riski ile karşı karşıyadır. Buradan yola çıkarak olası tehlike ve risklerden korunmak için tesis çalışanları hiyjen kurallarına uymalı, koruyucu kıyafet, eldiven ve maske kullanmalı, belli periyotlarda sağlık kontrolünden geçirilmeli ve personel koruyucu aşılarla aşılanmalıdır.

İnsan yaşamının vazgeçilmez bir unsuru olan suların temizliği, arıtma işlemlerinde yapılan uygulamaların güvenilirliği, insan sağlığı açısından uygunluğunun araştırılması önem arz eden bir durumdur. Dolayısıyla sağlıklı toplum ve bunları oluşturan bireylerin yaşam alanlarındaki risklerin belirlenmesini ve önlenmesini ve de kontrollerinin yapılmasını önemli bir toplumsal hizmet olarak görmekteyiz.

7. ÖZET

Ticari ya da endüstriyel faaliyetin yürütüldüğü alanlardan ve evsel faaliyetler ile insanların günlük yaşam faaliyetlerinin yer aldığı okul, hastane, otel gibi hizmet sektörlerinden kaynaklanan sulara atık sular denmektedir. Hızlı nüfus artışı, kentleşme ve sanayileşme sonucunda insan ihtiyaçlarına bağlı olarak evsel ve endüstriyel atık sular gün geçtikçe artmakta, kullanılan suyun kalitesi ise her geçen gün azalmaktadır. Bu yüzden ileri biyolojik atık su arıtma tesislerindeki suyun bakterilerce etkin bir şekilde arıtılması hayati önem taşımaktadır. Su ile ilgili sağlık sorunlarının çoğunluğu suyun kirliliği ile ilgilidir. Temiz ve içilebilir su kaynaklarının lağım, kanalizasyon ve sanayi atıkları ile kontamine olması en büyük kirlilik sebebidir. Atık sularda bulunabilen *Vibrio cholerae, Escherichia coli, Klebsiella sp, Campylobacter sp, Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Norwalk virus, Shigella dysenteriae, Enterobacter cloacae, Proteus sp, Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum* mide ve barsak enfeksiyonlarına neden olabilen patojen özellikteki birkaç mikroorganizmadır. Biz çalışmamızda 24 adet bakteri türü tanımladık. Ülkemizde ve dünyada iklimsel değişiklikler sebebi ile sık sık sel felaketleri ve taşkınlar meydana gelmektedir. Arıtma tesislerine gelen giriş suyu ile hemen hemen benzer özellik gösteren atık ve lağım sularının olası bir sel felaketi ile çevreye yayılması önemli bir sorundur. Buradan yola çıkarak arıtma tesislerinin giriş sularının mikrobiyolojik özelliklerinin iyi analiz edilmesi ve bu sularda bulunma ihtimali olan patojen bakterilerin bir envanterinin çıkarılması büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte etkin bir arıtım yapılabilmesi için belirli bakteri cinslerinin mutlaka ortamda bulunması ve bu bakterilerin varlığının takip edilmesi gerekir. Çalışmamızın özellikle atık su arıtma tesislerinde sağlıklı ve güvenli bir çalışma ortamı oluşturulmasına, su kirliliği ve halk sağlığı ile ilgili mevcut yasaların gözden geçirilerek yeni yasa ve yönetmeliklerin çıkarılmasına ve doğru arıtım teknolojilerinin uygulanabilmesine ışık tutacağına inanmaktayız.

Anahtar Kelimeler: Atık su, Bakteri, Arıtma, Fenotipik Tanımlama

8. SUMMARY

Wastewater is any water that has been adversely affected in quality by anthropogenic influence. Wastewater can originate from a combination of domestic, industrial, commercial or agricultural activities, surface runoff or stormwater, and from sewer inflow or infiltration. When we considered unrestrained population growth, urbanization and industrialization; wastewater amount is increasing due to human needs. As a result effective treatment of wastewater is vital.

Water related diseases are relevant with water contamination. *Vibrio cholerae, Escherichia coli, Klebsiella sp, Campylobacter sp, Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Norwalk virus, Shigella dysenteriae, Enterobacter cloacae, Proteus sp, Entamoeba histolytica, Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* are most common pathogens in wastewater which cause several type of diseases. We identified 24 bacteria species in our study.

Consequence of climatic changes, flood diasasters may ocur and potential flood disaster can cause to spread of wastewater and disease causing microorganisms to enviroment. That is the reason why we tried to determine the general bacterial profile in a wastewater treatment plant.

Therefore, this study may encourage the identification of wastewater bacteria in wastewater treatment plants as an indicator of public health risks and further, we also believe that this study would help the regulation of new laws and directives.

Key Words: Wastewater, Bacteria, Treatment, Phenotypic identification

9. KAYNAKLAR

1. Bonita R, Beaglehole R, Kjellström T. Basic epidemiology, ISBN 924 154446, 5th World health organisation publication. WA 105. 2003.

2. http://data.unicef.org/water-sanitation/water.html (10.03.2016)

3. J Environ. Wastewater reclamation and reuse in China: Opportunities and challenges. 2016; 39:86-96.

4. http://www.resmigazete.gov.tr (12.02.2016)

5. Physical, chemical and biological Characteristics of Wastewater. The Islamic University of Gaza- Civil Engineering Department Advanced Sanitary Engineering- ECIV 5325. Unit 1.

6. Feyza A. Nasr, Hala S. Doma, Hisham S., Abdel Halim, Saber A. El-Shafai. Review- Chemical industry wastewater treatment, 2004.

7. Mackenzie L. Davis. Su ve Atık Su Mühendisliği- Tarım Esasları ve Uygulamaları, 2014. Bölüm 18-20-22.

8. Mara D., Horan N. Water and Wastewater Microbiology. California: Academic Press, 2003; 317-597.

9. Tchobanoglous, G. and Burton, F.L. Wastewater engineering: Treatment, disposal and reuse. 1991, Metcalf & Eddy Inc., McGraw-Hill, 3. Baskı.

10. Yurtsever A, Sahinkaya E, Aktaş Ö, Uçar D, Çınar Ö, Wang Z. Performances of anaerobic and aerobic membrane bioreactors for the treatment of synthetic textile wastewater. Bioresour Technol. 2015; 192:564-73.

11. Gerardi M. Wastewater Bacteria. In: Bacteria and their environment. New Jersey, Wiley-Interscience, p:1-49, 2006.

12. Kwon S, Kim TS, Yu GH, Jung JH, Park HD. Bacterial community composition and diversity of a full-scale integrated fixed-film activated sludge system as investigated by pyrosequencing. J Microbiol Biotechnol. 2010; 20(12):1717-23.

13. Ye L, Zhang T. Bacterial communities in different sections of a municipal wastewater treatment plant revealed by 16S rDNA 454 pyrosequencing. Appl Microbiol Biotechnol. 2013 ;97(6):2681-90.

14. İski Ataköy İleri Biyolojik Atık Su Arıtma Tesisi Bilgilendirme Dergisi

15. Meneses, M., Pasqualino, J. C. ve Castells, F. Environmental Assesment of Urban Wastewater Reuse: Treatment Alternatives and Applications. Chemosphere 2010; 8: 266-272.

16. Tsiridis, V., Kougolos, A., Kotios, A. Plageras, P. ve Saratsis, Y. (2009). Wastewater Reclamation and Reuse. Discussion Paper Series, 15(7): s. 139-148.

17. Petala, M., Tsiridis, V., Samaras, P., Zouboulis, A. ve Sakellaropoulos, G. P., 2005. Wastewater Reclamation by Advanced Treatment of Secondary Effluents. Desalination 195 (2006), 109-118.

18. Kukul, Y.S., Ünal Çalışkan, A. D. ve Anaç, S. 2007. Arıtılmış Atıksuların Tarımda Kullanılması ve İnsan Sağlığı Yönünden Riskler. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 44 (3), 101-116

19. Büyükkamacı, N. ve Onbaşı A. N. 2007. Endüstriyel Atıksuların Yeniden Kullanımının Değerlendirilmesi: Entegre Et Tesisi Atıksuları. 7. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi, İzmir, 502-510

20. Lubello, C., Gori, R., Nicese, F. P. ve Ferrini, F. 2004. Municipal – Treated Wastewater Reuse For Plant Nurseries Irrigation. Water Research 38 (2004), 2939-2947

21. Alobaidy, A. H. M. J., Al-Sameraiy, M. A., Kadhem, A. J. ve Majeed, A. A. 2010. Evaluation of Treated Municipal Wastewater Quality for Irrigation. Journal of Environmental Protection, 2010, 1, 216-225.

22. Hamilton, A. J., Stagnitti, F., Premier, R., Boland, A-M. ve Hale, G. 2006. Quantitative Microbial Risk Assesment Models For Consumption of Raw Vegetables Irrigated With Reclaimed Water. Applied and Environmental Microbiology, 3284-3290

23. Alobaidy, A. H. M. J., Al-Sameraiy, M. A., Kadhem, A. J. ve Majeed, A. A. 2010. Evaluation of Treated Municipal Wastewater Quality for Irrigation. Journal of Environmental Protection, 2010, 1, 216-225.

24. Anderson, J. 2003. The Environmental Benefits Of Water Recycling And Reuse. Water Science Techonology: Water Supply Vol 3, No 4, 1 -10

25. EPA, 2004. Guidelines for Water Reuse, EPA/625/R-04/108, September, U.S. Agency for International Development, Washington, DC, 450.

26. Asano, T. 2001. Water from (Waste) Water – The Dependable Water Resource. Stockholm Water Symposium, Stockholm, Sweden

27. Metcalf and Eddy, 2004. Wastewater Engineering Treatment and Reuse, McGraw Hill, New York, 1820p

28. Huertas, E., Salgot, M., Hollender, J., Weber, S., Dott, W., Khan, S., Schafer, A., Messalem, M., Bis, B., Aharoni, A. ve Chikurel, H. 2006. Key Objectives For Water Reuse Concepts. Desalination 218 (2008), 120-131.

29. İleri, R., Sümer, B., Gezbul, H. ve Şenol, E. 1996. Atık Kağıt İşleme Endüstrisinde Atıksu Miktarının Azaltılması ve Geri Kazanımıyla Çevrenin Korunması. Ekoloji Dergisi, Sayı: 21, 16 -22.

30. Asano, T. ve Cotruvo, J. A. 2004. Groundwater Recharge With Reclaimed Municipal Wastewater: Health and Regulatory Considerations. Water Research, Volume 38, Issue 8, 1941 -1951.

31. Arı İ. Mikrobiyoloji ve Bağışıklama. (2014) 1. Baskı, Atlas Yayınları, s.31-48.

32. Bozkaya E. Tıbbi Mikrobiyoloji 2. 1. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, s.1-152.

33. Farmer J.J, B R Davis, F W Hickman-Brenner, A McWhorter, G P Huntley-Carter, M A Asbury, C Riddle, H G Wathen-Grady, C Elias, G R Fanning. Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens, 1985.

34. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklama Bilimi, Prof. Dr. Hakkı Bilgehan, 2005.

35. Keşli R, Bilgin H, Pirgon Ö, Feyzioğlu B, Güzelant A. Çocuklarda Son Üç Yılda Gaita Örneklerinden İzole Edilen Salmonella ve Shigella Suşlarının Antimikrobik Direncinin Araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2012; 42(2):66-72.

36. Öztop Y. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Ders Notları-Hastalıkların Biyolojik Temelleri

37. Madigan, M.T, Martinko J.M. Brock Mikrooganizmalarin Biyolojisi. 11. Baskı, Palme Yayıncılık, 2010, Ankara.

38. Paul G. Engelkirk, Janet L. Duben-Engelkirk. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic, 2008.

39. Yazgı H. KIA ve Triptofanlı Buyyon Besiyerindeki Biyokimyasal Özelliklerine Göre Enterik Bakterilerin Tanımlanmasında Klasik Yöntemlerin Modifikasyonu, Türk Mikrobiyol Cem Derg 32: 260-264,.

40. O'Hara C.M, Frances W. Brenner, J. Miller. Classification, Identification, and Clinical Significance of Proteus, Providencia, and Morganella, , Clin Microbiol Rev. 2000; 13(4): 534–546.

41. Calvin C. Sampson and Brenda J. Fisher, J Natl. Serratia: A Continuing Health Menace, Med Assoc. 1980; 72(9): 865–868.

42. Maheshwari M., Nelapati K. , Kiranmayi B. *Vibrio cholerae* - A Review, 1. College of Veterinary Science, Korutla, Karimnagar Dist., A.P., Hindistan. 2. College of Veterinary Science, Rajendranagar, Hyderabad-500030.

43. DePaola A., Ulaszek S., Kaysner C.A. Molecular, Serological and Virulence Characteristics of Vibrio parahaemolyticus Isolated from Enviromental, Food and Clinical Sources in North America and Asia. 2003; 69(7): 3999-4005.

44. Janda M.J , Wendy K.V., Sharon L. Abbott. The Genus Aeromonas: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. 2003; 41(6): 2348–2357.

45. Constantiniu S., Romaniuc A., Iancu L.S., Filimon R., Taraşi I. Cultural and Biochemical Characteristics of *Acinetobacter* spp. Strains İsolated From Hospital Units, The Journal of Preventive Medicine 2004; 12 (3-4): 35-42

46. Dowling JN, Saha AK, Glew RH. Virulence factors of the family *Legionellaceae*. Microbiol Rev. 1992;56:32.

47. Subhankari Prasad Chakraborty, Santanu Kar Mahapatra, and Somenath Roy. Biochemical characters and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureusisolates. Asian Pac J Trop Biomed. 2011; 1(3): 212–216.

48. Kiraz N. Klinik Mikrobiyoloji Uygulamaları. 2015. İstanbul s. 121-128.

49. Tekbaş Ö.F. Çevre Sağlığı. Ankara, 2010, s. 49-126

50. Water-related diseases, Campylobacteriosis, WHO, 2016 http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/campylobacteriosis/en/ (02.01.2016)

51. Water-related diseases, Typhoid and paratyphoid enteric fevers, http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/typhoid/en/ (02.01.2016)

52. Water-related diseases, Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), Aralık 2011, http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/ (02.01.2016)

53. Water-related diseases, Cholera, 2001, http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/cholera/en/ (02.01.2016)

54. Hocquet D, Muller A, Bertrand X. What happens in hospitals does not stay in hospitals: antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater systems. J Hosp Infect. 2016; pii: S0195-6701(16)00064-5.

55. Lee SA, Wrona LJ, Cahoon AB, Crigler J, Eiteman MA, Altman E. Isolation and Characterization of Bacteria That Use Furans as the Sole Carbon Source. Appl Biochem Biotechnol. 2016; 178(1):76-90.

56. Morgan-Sagastume F, Boon N, Dobbelaere S, Defoirdt T, Verstraete W. Production of acylated homoserine lactones by Aeromonas and Pseudomonas strains isolated from municipal activated sludge. Can J Microbiol. 2005; 51(11):924-33.

57. Combarros RG, Collado S, Díaz M. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles on Pseudomonas putida. Water Res. 2016; 1;90:378-86.

58. Chaudhry WN, Haq IU, Andleeb S, Qadri I. Characterization of a virulent bacteriophage LK1 specific for Citrobacter freundii isolated from sewage water. J Basic Microbiol. 2014; 54(6):531-41.

59. Lade H, Kadam A, Paul D, Govindwar S. Biodegradation and detoxification of textile azo dyes by bacterial consortium under sequential microaerophilic/aerobic processes. EXCLI J. 2015; 29;14:158-74.

60. Ahmad WA, Yusof NZ, Nordin N, Zakaria ZA, Rezali MF. Production and characterization of violacein by locally isolated Chromobacterium violaceum grown in agricultural wastes. Appl Biochem Biotechnol. 2012;167(5):1220-34.

61. Kleid, D.G., Kohr,W.J., Thibodeau, F.R., 1995. Processes to recover and reconcentrate gold from its ores. US patent 5,378,437.

62. Faramarzi MA1, Stagars M, Pensini E, Krebs W, Brandl H. Metal solubilization from metal-containing solid materials by cyanogenic Chromobacterium violaceum. J Biotechnol. 2004; 30;113(1-3):321-6.

63. Colwell R.R, Ceccarelli D. Frontiers Research Topics, Vibrio Ecology, Pathogenesis and Evolution- Environmental Reservoirs and Mechanisms and Persistance of Vibrio cholerae, 2014.

64. Kaysner, C.A., Abeyta, C. Jr., Stott, R.F., Lilja, J.L. & Wekell, M.M. Incidence of urea- hydrolyzing Vibrio parahaemolyticus in Willapa Bay, Washington. Applied and Environmental Microbiology 1990; 56, 904–907.

65. Yoh, M., Miwatani, T. & Honda, T. 1992 Comparison of Vibrio parahaemolyticus hemolysin (Vp-TRH) produced by environmental and clinical strains. FEMS Microbiology Letters 71, 157–161.

66. World Health Organization. 1987. Manual for laboratory investigations of acute enteric infections. CDD/83.3. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

67. Chen Ming-Xia, Li He-Yang, Li Gang, Zheng Tian-Ling. Distribution of Vibrio alginolyticus-like species in Shenzhen coastal waters, China. Braz. J. Microbiol. 2011; 42(3): 884-896.

68. Zhang J, Cao Z, Xu Y, Li X, Li H, Wu F, Wang L, Cao F, Li Z, Li S, Jin L.Complete genomic sequence of the Vibrio alginolyticus lytic bacteriophage PVA1. Arch Virol. 2014;159(12):3447-51

69. Sáez F, Pozo C, Gómez MA, Rodelas B, González-López J. Growth and nitrite and nitrous oxide accumulation of Paracoccus denitrificans ATCC 19367 in the presence of selected pesticides. Environ Toxicol Chem. 2003; 22:1993–1997.

70. Hallberg GR. Nitrate in ground water in the United States. In: Nitrogen Management and Ground Water Protection, (ed. Follet RF), 1989, s.35-74. Elsevier, Amsterdam.

71. Hile R. The mononuclear molybdenum enzymes. Chem Rev.1996; 96:2757-816.

72. McMinn BR, Korajkic A, Ashbolt NJ Evaluation of Bacteroides fragilis GB-124 bacteriophages as novel human-associated faecal indicators in the United States. Lett Appl Microbiol. 2014; 59(1):115-21.

73. Okabe S, Okayama N, Savichtcheva O, Ito T. Quantification of host-specific Bacteroides-Prevotella 16S rRNA genetic markers for assessment of fecal pollution in freshwater. Appl Microbiol Biotechnol 2007; 74:890–901.74

74. Koskey AM, Fisher JC, Eren AM, Ponce-Terashima R, Reis MG, Blanton RE, McLellan SL.Blautia and Prevotella sequences distinguish human and animal fecal pollution in Brazil surface waters. Environ Microbiol Rep. 2014 ;6(6):696-704

75. Rosenberg Goldstein RE, Micallef SA, Gibbs SG, Davis JA, He X, George A, Kleinfelter LM, Schreiber NA, Mukherjee S, Sapkota A, Joseph SW, Sapkota AR.Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) detected at four U.S. wastewater treatment plants. Environ Health Perspect. 2012; 120(11):1551-8.

76. Gómez P, Lozano C, Benito D, Estepa V, Tenorio C, Zarazaga M, Torres C. Characterization of staphylococci in urban wastewater treatment plants in Spain, with detection of methicillin resistant Staphylococcus aureus ST398. Environ Pollut. 2016; 31;212:71-76.

EKLER

T.C.
İSTANBUL BÜYÜKŞEHİR BELEDİYE BAŞKANLIĞI
İstanbul Su ve Kanalizasyon İdaresi Genel Müdürlüğü

30 Nisan 2014

Sayı : 98650867 219523

Konu : Atıksu Arıtma Tesislerinde
Verimlilik Projesi Hk.

Sn. Doç.Dr. A.Ata ALTURFAN

İlgi : 30.04.2014 tarih,219241 sayılı yazınız.

" Atıksu Arıtma Tesislerinde verimliliğin arttırılması amacıyla bakteri karışımının geliştirilmesi "isimli projenizin Tübitak tarafından desteklenmesi halinde Ataköy İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi'nden gerekli numune ve desteğin sağlanabileceği hususunu;

Bilgilerinize rica ederim.

Remzi ERŞEN
Genel Müdür Yardımcısı

İSKİ Genel Müdürlüğü Güzeltepe Mah. Alibey Cad. No: 7 34060 Eyüp / İSTANBUL
Tel.: 0212 321 00 00 Faks: 0212 321 77 19 Elektronik ağ: www.iski.gov.tr
Ayrıntılı bilgi için irtibat:
Elektronik posta:

ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI **:** Perihan Seda ATEŞ

DOĞUM TARİHİ ve YERİ **:** 15.08.1992 İstanbul

İLETİŞİM **:** perihansedaates@gmail.com

EĞİTİM DURUMU

2013-2016 İ.Ü. Adli Tıp Ensititüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans

Tez Başlığı: ARITMA TESİSLERİNDEKİ ATIK SULARDA BAKTERİLERİN FENOTİPİK YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI VE ADLİ BİLİMLERDEKİ ROLÜNÜN İNCELENMESİ

Danışman: Doç. Dr. Ahmet Ata Alturfan

2009-2013 İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik

2005-2009 Özel Evrim Lisesi, Bilgi Koleji, Şişli Lisesi

YAYINLAR

Bozaslan B.S., Çakan H.,Ateş P.S., Alturfan Emekli E., Alturfan A.A., Oz V., Cengiz S. "The examination of the growth of *Escherichia coli* (*E. coli*) strain on mac conkey agar prepared with wastewater",7th International Conference on Environmental Science and Development,Rome, Italy, 2016.

Bozaslan B.S., Çakan H., Ateş P.S., Alturfan A.A., Öz V., Cengiz S. Atık su ve distile su ile hazırlanmış besiyerinde *Escherıchıa Coli (E. coli)* türü bakterilerin üremelerinin gözlenmesi, Ulusal Su ve Sağlık Kongresi, Antalya, 2015.

Ateş P.S., Üstündağ Ü.V., Bozaslan B.S., Teratogenic Effects of wastewater on Zebrafish *(Danio Rerio)* embryos, Ulusal Su ve Sağlık Kongresi, Antalya , 2015

Bozaslan B.S., Çakan H., Ateş P.S.,Alturfan A.A., Ağız Florasındaki Streptokokların Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Kullanımının Araştırılması, 13. Adli Bilimler Kongresi, Bodrum, 2016.

Ateş P.S, Bozaslan B.S., Çakan H., Alturfan A.A. "Atık Su Arıtma Tesisine Gelen Atık Sulardaki Patojen Bakterilerin Tür Dağılımının İncelenmesi", Ulusal Su ve Sağlık kongresi, Antalya, 2015.

Bozaslan B.S., Çakan H.,Ateş P.S., Alturfan Emekli E., Alturfan A.A., Oz V., Cengiz S. The examination of the growth of *Escherichia coli* (*E. coli*) strain on mac conkey agar prepared with wastewater, *IJESD,* 2016; 7(11):793-796.