

283924

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

SULARDA FEKAL KİRLENME DERESESİNİN  
KOLİFAJ SAYIMI YÖNTEMİ İLE SAPTANMASI

Mikrobiyoloji Programı

Doktora Tezi

Rehber Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Muvaffak AKMAN

Hazırlayan : Uğur Çiftçi

Ankara 1978

## T E Ő E K K Ü R

Bana bu tezi veren, deneyimlerinden yararlandiran ve çalışmamın her aşamasında yardımcı olan Prof.Dr. Muvaffak Akman'a, bütün çalışma boyunca her türlü yardımı esirgemeyen R.S.M.H Enstitüsü Müdürü Dr.Necmettin Alkış'a, yetişmemde emeği geçen başta Prof.Dr.Ekrem Gülmezođlu, Prof.Dr.Melahat Okuyan, Prof.Dr.Nuran Yuluđ, Doç.Dr.Ayfer Günalp, Doç.Dr.Hakkı Atun, Doç. Dr.Őemsettin Ustaçelebi olmak üzere tüm H.Ü. Mikro- biyoloji Enstitüsü öğretim üye ve görevlilerine teşekkürü bir borç bişirim.

## İ Ç İ N D E K İ L E R

1. Giriş ve Genel Bilgi. . . . .	1
2. Araç ve Gereçler. . . . .	9
3. Yöntemler. . . . .	15
4. Bulgular. . . . .	22
5. Tartışma ve Sonuç. . . . .	36
6. Kaynaklar. . . . .	40

## GİRİŞ VE GENEL BİLGİ

Ülkemizde giderek artan nüfus yoğunluğu ve endüstrileşme süreci özellikle doğal su kaynaklarımızın büyük çapta kirlenmesine yol açmaktadır. Günümüze gelinceye değin yerleşme birimlerinin küçüklüğü yanında birey başına düşen su kullanım miktarının azlığı doğal su kaynaklarının daha düşük düzeyde kirlenmesine neden olmuş; diğer taraftan, sularda mevcut olan "kendini kendine temizleme" (=self purification) (1, 2, 3) işlevi sonucu, anılan sular kolaylıkla ve büyük sorunlara yol açmadan temizlenebilmiştir. Ancak, ülkemizde bugün hızlı kentleşme sürecinde arıtılmadan doğal sulara karışan kanalizasyon atık suları, doğal suların bundan böyle yeterince kendi kendine temizlenmesine olanak bırakmayacak boyutlara varmaktadır. Bu nedenlerle yaşam için büyük gereksinme duyulan doğal su kaynaklarına karışan kanalizasyon atık sularının arıtılmasına ilişkin önlemler günümüzde, geçmişten daha büyük değer ve anlam taşımaktadır. İleri batı ülkelerinde atık sular akarsulara, göllere ve denizlere akıtılmadan önce arıtılma işlemine tâbi tutulmakta (treatment) ve bu işlemin etkinliği mikrobiyolojik yöntemlerle denetlenmektedir. Örneğin American Environmental Protection Agency'nin (EPA) "Marine Sanitation Device Standardları"na göre (4), halen denizlere dökülen kanalizasyon atıklarınının 30 Ocak 1980'e kadar 1000/100 ml fekal koliform yoğunluğunu aşmayacak biçimde düzenlenmesi gerekmekte; bu tarihten sonra yapılacak yeni kanalizasyonların ise, denize dökülmeden önce fekal koliform yoğunluğunun 200/100 ml yi aşmayacak düzeyde arıtılması uygun görülmüştür.

Ülkemiz doğal sularınının kirlenme sürecinde hiçbir önlem alınmamaktadır. Ancak sular kirlendikten sonra içme ve kullanma suyu olarak kullanılacağıında dezenfeksiyon işlemi uygulanmaktadır. Oysaki, emin ve güvenilir su temini için ham suyun kirlilik derecesi ile ilgili olarak işlem yapılması ve belirli kirlilik düzeyini aşmış sular dezenfekte edilse bile içme ve kullanma suyu olarak kullanılmaması gerekmektedir. Bu konuda Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) Uluslararası içme suyu bakteriyolojik standartlarında (5), suların koliform bakteri içeriklerine göre

tabi tutulacağı işlem aşağıdaki şekilde saptanmıştır.

---

Koliform Bakteri Sayısı, KMS <sup>(*)</sup> /100 ml	Uygulanacak İşlem
0 - 50	Sadece dezenfeksiyon yeterlidir.
50 - 5000	Koagülasyon, filtrasyon, dezenfeksiyon v.b. klasik arıtma yöntemleri gereklidir.
5000 - 50000	Çok yoğun kirlenme söz konusu olduğundan kesif arıtma yöntemleri uygulanmalıdır.
50000'den fazla	Bu çeşit sular ancak zorunlu durumlarda, özel yöntemler uygulanarak kullanılabilir.

---

Yukardaki gruplamada KMS olarak ifade edilen koliform bakterilerin % 40'dan fazlası fekal koliform grubunu oluşturuyorsa bir alt gruptaki sınıfa düşerler.

---

Ülkemizde ham suların dezenfeksiyonuna ışık tutacak hemen hiçbir bakteriyolojik kontrol yapılmamaktadır.

Yüzey sularının yanında denizlerimizin de yoğun ve hızlı bir şekilde kirlenmesi yalnız toplum sağlığı açısından değil, su ürünleri ve turizm gibi ekonomik yönden de büyük sakıncalar doğurmaktadır. Örneğin İstanbul ve çevresindeki kıyılarımızın ve özellikle Haliç'in son 20 yılda hangi noktaya geldiği (6) ve temizlenmesi için gereksinen parasal yatırımların ne denli önemli boyutlara ulaştığı (6) anımsanacak olursa, konunun taşıdığı önem ve anlam kolayca anlaşılır.

---

(\*) KMS = Kuvvetle Muhtemel Sayı (= Most Probable Number) olup, su örnekleri ondalık sulandırımalar halinde laktoz içeren sıvı besiyeri tüplerine ekildiğinde gaz meydana getirme durumlarına göre, istatistiki tablolardan % 95 güvenilirlik sınırları içinde hesaplanan koliform bakteri sayısıdır (13, 17).

Ülkemizde emin ve güvenilir su gereksiniminin karşılanması için, kirliliğe neden olan etkenlere ilişkin önlemlerin alınması, bunların etkinliğinin mikrobiyolojik yöntemlerle araştırılması ve işlem sonrası suların yeniden tüketime arz edilme sırasında mikrobiyolojik yöntemlerle sanitasyon kalitesinin kontrolü yakın gelecekte karşılaşacağımız önemli sorunlar arasında yer almaktadır. Esasen bu konu ile ilgili olarak Devlet Planlama Teşkilatı 4. Beş Yıllık Kalkınma Planı İçme Suyu ve Kanalizasyon Özel İhtisas Komisyonu Raporunda (7), tesislerin projelendirilmesi, yapımı ve işletilmesi ile Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığınca görevlendirilen denetim kadrosunun yetersizliğine değinilmektedir. Diğer taraftan 1380 sayılı "Su Ürünleri Yasası" (8), doğal suların kirlenmesini önleyecek tedbirleri içermekle beraber bu yasanın getirdiği sınırlamaları laboratuvar kontrolleri ile denetleyecek bir örgütlenmeye henüz gidilememiştir. Oysaki, emin ve güvenilir su, toplum sağlığı açısından en önemli gereksinimlerden biridir. Bu nedenle bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de sanitasyon kalitesi yüksek su elde etme ve bu suların kontrolüne ilişkin çalışma ve araştırmaların derinliğine ve genişliğine geliştirilmesinde büyük yararlar bulunmaktadır.

İçme suyu oral-fekal enfeksiyon zincirinin en önemli halkasıdır. İlgili yörenin coğrafi konumuna, toplum sağlığının düzeyine, alt yapı tesisleri ve atık maddelerin gördüğü işleme ve diğer faktörlere bağlı olarak birçok patojen bakteriler ve diğer mikroorganizmler dışkı ile sulara intikal edebilmektedir. Bu sular yeterli düzeyde işlem görmezse ve içme suyu olarak kullanılırsa insanları enfekte eder. Sularla bulaşan en önemli hastalık etkenleri şöyle özetlenebilir (9). a) Bakteriler: Salmonella, Shigella, Leptospira, Brucella, Mycobacterium ve Vibrio comma türleridir. b) Virüsler: Başlıca enfeksiyöz hepatit, poliovirus, koksakivirus, ECHO virus ve etiyolojisi bilinmeyen su yolu ile yayılan diyare ve üst solunum yolu enfeksiyonlarından sorumlu bazı virüsler. c) Protozoclar: Endamoeba histolytica. Su kontrollerinin esas amacı patojen mikroorganizmlerin mevcut olup olmadığının saptanmasıdır. Ancak patojen mikroorganizmlerin sulara saptanması karışık, güç, uzun zaman alan ve pahalı yöntemlerin kullanılmasını gerektirir. Patojen mikroorganizmler sulara dışkı ile intikal

ettiğinden pratikte rutin olarak sularda kirliliğın bakteriyel kanıtı olan dışkıya ait mikroorganizmler aranır. Patojenlerin birçoğu parazit formunda olduklarından, bunlar doğal olarak buldukları kendi konakçılarının dışındaki başka bir ortamda uzun süre yaşayamazlar. Bu nedenle dışkıya ilişkin tek bir mikroorganizm türünü gösterge (indikatör) olarak kullanmak suretiyle suların içme suyu olarak emin olup olmadığı anlaşılabilir. Gösterge mikroorganizmlerin araştırılması suların bakteriyolojik yönden kontrollerinin temelini oluşturmaktadır.

İdeal bir gösterge organizm aşağıdaki özellikleri taşımalıdır (10). 1) Her çeşit suya uygulanabilir olmalıdır. 2) Fekal kontaminasyona bağlı patojen bakterilerin varlığında kolaylıkla ve her zaman bulunabilmelidir. a) Gösterge bakterinin yoğunluğu fekal kirlenme derecesi ile doğrudan ilişkili olmalıdır. b) Suda canlı kalma süresi enterik patojenlerden daha uzun ya da eşit olmalıdır. c) Doğal veya insan eli ile yapılan işlemlerde patojenlerin kayboluşundan sonra süratle kaybolmalıdır. 3) Rutin kantitatif testlerde yabancı bakteriler gösterge bakterinin üremesini engellememelidir. 4) İnsan ve diğer hayvanlar için zararsız olmalıdır. 5) Sayısal olarak sularda çoğalmamalıdır. 6) Gösterge organizm dezenfeksiyona, patojen organizmler kadar ya da daha dirençli olmalıdır. 7) Gösterge organizmlerin sayısının saptanmasında basit ve süratli yöntemler mevcut olmalıdır. Ancak, yukardaki özelliklerin tümüne sahip olan ideal bir gösterge mikroorganizm mevcut değildir. Bugün pratikte yaygın olarak kullanılan gösterge organizm, koliform grubu bakterilerdir. Fekal kontaminasyonun en pozitif göstergesi ise koliformların yüksek ısıda laktöz fermentasyonu ile saptanan "fekal koliform" tipleridir. Bu ayırım Eikman tarafından (11), 1904'de tarif edilmiş olmakla beraber, standard yöntemler arasında yer alması 1971 yılına kadar gecikmiştir (13). İnsan ve sıcak kanlı hayvanların barsaklarındaki koliformlar çoğunlukla (% 95 ten fazlası) yüksek ısılarda üreyebilirler. Fekal kirlenmenin dışında bulunabilmeleri son derece nadir olup, çevre sularda yaşama süreleri de sınırlıdır. Bu nedenle yüksek yoğunlukta fekal koliformların bulunuşu nispeten yeni bir kirlenmeyi belirler.

Sulardaki koliform ve fekal koliform bakterilerin araştırılmasında yaygın olarak kullanılan yöntem, standard fermantasyon tüp sulandırma yöntemidir (13). Ancak bu yöntemde, a) Sonuçların 48-96 saat gibi uzun bir sürede alınması b) Nispeten az miktarda su örneğinin teste sokulabilmesi c) Fazla miktarda araç gereçe gereksinin göstermesi d) Alan çalışması bakımından uygun olmaması bakımından su bakteriyolojisinde giderek daha fazla oranda zar-süzgeç yöntemi uygulama alanına girmektedir.

Sellüloz esterlerinden yapılmış olan zar süzgeçler ilk kez Fick tarafından 1855 yılında biyolojik araştırmalarda kullanılmıştır. Sonorelli 1891'de zar süzgeçlerin bakterilerin toksinleri için geçirgen olup, kendilerini tutma yeteneğine sahip bulunduğunu bildirmiştir. 1900 lerin başlarında Bechold zar süzgeçlerin fizikokimyasal özelliklerini sistematik biçimde araştırmıştır. 1911'den sonra gene birçok ülkede aynı konuda çok sayıda araştırma yapılmıştır. 1916 - 1918 arasında Zsigmondy ve Bachman ileri üretim yöntemlerini geliştirmişlerdir. Bu tarihten sonra zar-süzgeçler "Membran-filtergesellschaft, Sartorius Werke, Goettingen Germany" patenti ile seri olarak yapılmaya başlanmıştır. 11. Dünya savaşından önce zar süzgeçler Zsigmondy tarafından su ve diğer sıvılardaki bakteri sayıları, koliformların saptanması ve patojen bakterilerin izolasyonunda kullanılmıştır. Bu konudaki aşamalar Almanya ve Rusya'da sürdürülmüştür. 11. Dünya savaşı sırasında Almanya'daki birçok laboratuvarın kullanılmaz hale gelmesi sonucu Mueller suların bakteriyolojik incelenmesinde zar süzgeç tekniklerini yaygın olarak uygulamıştır. 1947'de Goetz Almanya'da Zsigmondy zar süzgeçlerinin özellikleri, hazırlama yöntemleri ve özgül uygulamasına ilişkin edindiği bilgilerle A.B.D. ne dönmüş ve küçük çapta bir üretime geçilmesine öncülük etmiştir. Daha sonra zar süzgeç üretimi giderek geliştirilmiş ve ticari bir kuruluş tarafından(12), yapılmaya başlanmıştır. 1950'de Public Health Servis'in bakteriyologları, suların bakteriyolojik yönden kontrolünde zar süzgeçleri yaygın şekilde kullanmışlardır. Bu konuda yürütülegelen araştırmalara ilişkin ilk bulgular 1951'de açıklanmış, bunu diğer birçok araştırma izlemiştir. "Standard Methods for the Examination of Water" kitabının 1955 baskısında (15), zar süzgeçler sulardaki koliformların saptanmasında deneysel bir yön-



tem olarak yer almıştır. Bundan sonra yapılan çalışmalarda, zar süzgeçlerin yapısı ve kullanılan besiyerleri geliştirilmiş ve 1971 baskısında (13), standard yöntem olarak yer almış ve resmi bir muayene yöntemi olmuştur. Ülkemizde zar süzgeçler üzerine ilk çalışmalar 1955 yılında M. Akman (16) tarafından başlatılmış; ancak sınırlı sayıda araştırmacı (17, 18) konu üzerine eğilmiştir. Ülkemizde bugün hemen hiçbir laboratuvarında rutin olarak kullanılmamaktadır.

Zar süzgeçlerin avantajlarını şu şekilde sıralayabiliriz a) Sonuçların 18 - 24 saatte alınmasını sağlayabilirler. b) Büyük miktarda su örneğinin deneye sokulmasına olanak verirler; böylece suyu daha iyi temsil edebilen örneklerle çalışılmış olur. c) Yöntem çok az sayıda araç, gereç, besiyeri ve laboratuvar mesafesine gereksinim gösterir. d) Yöntemde sayımlar dolaysız olarak ve gözle görülerek yapılır. e) Uygulanması kolaydır; aynı yöntemi uygulayan değişik laboratuvarcılar daha yüksek oranda aynı ya da benzer sonuçlar elde etmektedirler (17, 19).

Kanalizasyon atık sularına ilişkin işlemlerin denetlenmesinde, doğal su kaynaklarının incelenmesinde, içme ve kullanma suları ile ilgili işlemlerin kontrolünde suların bakteriyolojik muayenesinin büyük öneme sahip olması, su kontrollerinin sıklaştırılmasını ve yaygınlaştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle, suların bakteriyolojik kontrolü ile ilgili yöntemler, giderek fazla önem kazanmakta ve bütün uygar ülkelerde bu konudaki araştırmalar derinliğine ve genişliğine sürdürülmektedir. Günümüzde, ileri batı ülkelerinde fermantasyon tüp yöntemi, total koliform (TK) ve fekal koliform (FK) analizleri için büyük ölçüde zar süzgeç yöntemleri ile yer değiştirmiştir. Zar süzgeçlerle total koliform ve fekal koliform analiz yöntemleri hernekadar özgül ise de, sonuçlar ancak 18 - 24 saatte alınabilmektedir. Oysaki bazı yeni çalışmalar, E. coli bakteriyofajlarının saptanması ile fekal kontaminasyonun 6 - 8 saatte saptanabileceğini göstermektedir (20, 21, 22). Kolifajlar, E. coli-lerin zorunlu parazitleridir. Bunlar konakçı bakterileri enfekte eder, çoğalır ve konakçı hücrelerini eriterek dışarı çıkarlar. Fajlar genellikle konakçılarına özgüdür. Fajların birçoğu yalnız türlere özgü değil, fakat aynı zamanda suşa özgüdür. Şimdiyedek çok iyi incelenmiş olan

kolifajların çok büyük bir çoğunluğunun monovalan (konakçılarının yalnız *E. coli* türleri) olduğu, nadir olarak bazılarının polivalan olup; *Salmonella*, *Şigella* ve *Aerobacter* türlerini de konakçı olarak kullanabildikleri bildirilmiştir (22). Ancak şimdiye kadar hiçbir kolifajının *Enterobacteriaceae* cinsi dışındaki cinslere etkili olduğu bildirilmemiştir. İnsan ve hayvanların oturmadığı bölgelerde sular kolifajları içermezler (23). Buna karşılık, yerleşim bölgelerinde kolifajlar fazla miktarda bulunurlar. Suların çok kirlendiği yerlerde kolifajların titresi de artar. Suların kirli olup olmadığının ölçülmesinde kolifajların bir gösterge sistem olarak kullanılması konusunda, pek çok araştırma yapılmıştır. Alınan sonuçlar, suda kolifajların bulunması halinde genellikle fekal bir kontaminasyon bulunduğunu kanıtlamıştır. Sularda kolifajların sayısal olarak artması, genel olarak duyarlı bakterileri (*E. coli*) içermeye oranları ile ilgilidir.

Fajları gösterge sistem olarak kullanan araştırmacılarından Guelin (24, 25, 26), *Salmonella typhi* suşuna etken fajları zenginleştirme tekniği ile sularda saptanmasına ilişkin bir yöntem geliştirmiştir. Lammers (27) kanalizasyon atıkları karışan bir nehirde, kolifajları izole ederek, kolifajların kirliliğin göstergesi olarak kullanılabileceğini bildirmiştir. Gol'Dfarb (28) ve ark., su örneklerine belli sayıda bakteriyofaj katıp enkübe etmiş ve faj titresindeki artış reaksiyonundan yararlanarak *Salmonella* ve *Şigella* gibi konakçı bakterilerin varlığının ortaya çıkarılabileceğini bildirmişlerdir. Katznelson ve Sutton (29), aynı tekniği fasulye tanelerinde iç enfeksiyonların saptanmasında kullanmışlardır. Bosco (30, 31), Tiber Nehri'nde ve deniz kenarı sularında enterofajların bulunduğunu saptayarak, bunların epidemiyolojik önemlerini belirtmiştir. Feigin (32), açık rezervuarlarda bakteriyofajların bulunmasının sanitasyon yönünden önemini bildirmiştir. Bosco, dizanteri basillerinin bulunuşu ile buna etkin bakteriyofajların bulunma sıklığının ilgisini araştırmış ve doğrudan ilgili olduğu sonucuna varmıştır. Kenard ve Valentin (20), sularda kolifaj ve konakçısı *E. coli* arasındaki sabit kantitatif ilişkiden yararlanarak örnekteki fekal koliform düzeylerinin doğru olarak tahmin edilebileceğini bildirmişlerdir.

Hilton ve Stotzky (33), aynı şekilde fekal kirlenmenin göstergesi olarak kolifajların kullanılmasının mümkün olup olmadığını araştırmışlardır.

Dell (34), su kirlenme indeksi olarak total kolifajların fekal koliformlara olan oranlarını araştırmıştır. Alessandria (35), suların içilebilirliğinin değerlendirilmesinde diğer mikrobiyolojik kontaminasyon indileri ile beraber fajların önemini araştırmıştır.

Bu araştırmada, suların sanitasyon kalitesinin saptanmasında kolifajların gösterge sistem olarak ne ölçüde kullanılabilir olduğu üzerinde durulmuştur. Bunun için doğal bir ortam olan Ankara Çayı seçilmiş ve anılan çayın çeşitli yerlerinden bir yıl boyunca su örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerde sırasıyla total kolifaj, fekal koliform ve total koliform sayıları saptanarak aralarındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde ise R.S.M. Hıfzıssıhha Enstitüsüne bakteriyolojik muayene için gelen içme ve kullanma suyu örneklerinde (temiz sularda) fekal koliform ve kolifaj ilişkileri araştırılmıştır. Dere sularında total koliform ve fekal koliform sayıları hem doğrudan sayım yöntemi olan zar süzgeç yöntemi ile hem de fermentasyon tüp yöntemi ile bulunmuştur. Böylelikle çeşitli sularda bir taraftan kolifajlarla, fekal koliformların ve total koliformların karşılıklı kantitatif ilişkileri ve korrelasyonu saptanmış, diğer taraftan, total koliform ve fekal koliform sayılarının hesaplanışında zar süzgeç ve fermentasyon tüp yöntemleri ile elde ettiğimiz sonuçlar mukayeseli olarak araştırılmıştır. Bu çalışmada deneylerimizin ayrıntıları ve sonuçlarımız verilmiş bulgularımız ve konunun bütün yönleri tartışılmıştır.

## ARAÇ VE GEREÇLER

### A) ARAÇLAR:

1. Otoklav
2. Pastör fırını
3. Enkübatorlar
  - a) 37°C lik Etüv: TK ve faj sayımları için
  - b) 0.1°C'a duyarlı, ayarlı subanyosu "Grant Inst. Co. Type SB50X" FK'lar için
4. Tüp Karıştırıcı (= Vorteks mikser)
5. Büyüteç: Faj plaklarının sayımları için

### B) GENEL GEREÇLER :

1. Zar Süzgeçler: (= Membran Filtreler)

Millipore şirketinin Type HA, delik büyüklüğü 0.45  $\mu$ m olan, 47 mm çapında, etkili süzme alanı yaklaşık 9.6 cm<sup>2</sup> olan, beyaz renkli ve önceden sterilize edilmiş zar süzgeçler.
2. Süzgeç Yastıkları : (= Absorbent pads)

Millipore firmasına ait 47 mm çapında, sellülozik kağıttan yapılmış ve önceden sterilize edilmiş kurutma kağıdına benzeyen kağıtlardır. 1.8 - 2.2 ml arasında sıvı besiyeri emebilirler.
3. Süzgeç Hunisi : (= Filter Holder)

Kullanılan süzgeç hunisi, Sartorius firmasına ait paslanmaz çelikten, 650 ml kapasiteli, 47 mm filtre boyutunda, yaklaşık 9.6 cm filtrasyon alanı olan süzgeç hunisidir. Her seri, süzme işlemi sonunda otoklavda sterilize edilir. Ancak her su örneği arasında otoklavda sterilize edilmesi gerekmez. Deneyler göstermiştir ki, süzme hunisi steril tamponlu dilüsyon sıvısı ile birkaç kez yıkanıp bu yıkama sıvısı süzülürken temizlenebilmektedir ve yeni bir su örneğinin süzülmesinden önce ve her defasında yeniden sterilizasyon gerekli olmamaktadır. Süzgeç hunisinin a) Huni b) Delikli çelik disk c) Vidalı bilezik d) Kauçuk tıpa gibi çeşitli parçaları vardır (Şekil 1).

lanan su geçirmez plastik kan torbalarına konularak su banyosuna yerleştirilmiştir.

9. Cam Araçlar

a) Petri Kutuları: Zar süzgeç yönteminde 15x60 mm boyutlarında cam petri kutuları kullanılmış ve her her defasında sterilize edilmiştir. Faj sayımlarında 15x90 mm lik petri kutuları kullanılmıştır.

b) Tüpler: 15x150mm deney tüpleri kullanılmıştır.

c) Pipetler: 1,5 ve 10 ml lik pipetler

10. Öze: Ucu 3 mm çapında su özesi

C) BESİYERLERİ

I. Standard Zar Süzgeç (Membran Filtre) Yönteminde Kullanılan Besiyerleri

a) Selektif (Ayırdedici) Besiyerleri

1. M-ENDO AGAR LES (36, 13) (= Difco Dehidrate Besiyeri) : Total koliformlar (TK) için: Bu besiyerini hazırlamak için 980 ml distile suya 20 ml etanol ilave edilmiş, üzerine 51 gr. toz besiyeri tartılarak karıştırılmış, tamamen kayıncaya kadar ısıtılarak kaynatılmış, 45°-50° C'a soğutulmuş, 60 mm çapındaki petri kutularına 4'er ml dökülmüş bilahare katılaşıncaya değin beklenilmiştir.

Yapısı (1 litre için)

Yeast Extract. . . . .	1.2 gr
Casitone . . . . .	3.7 gr
Thiopeptone. . . . .	3.7 gr
Tryptose. . . . .	7.5 gr
Laktoz. . . . .	9.4 gr
Potassium Phosphate, Dibasic. . . . .	3.3 gr
Potassium Phosphate, Monobasic. . . . .	1.0 gr
Sodium Chloride. . . . .	3.7 gr
Sodium Desoxycholate. . . . .	0.1 gr
Sodium Lauryl Sulphate. . . . .	0.05 gr
Sodium Sulfite . . . . .	1.6 gr

Bacto-Basic Fuchsin. . . . . 0.8 gr  
Bacto Agar. . . . . .15.0 gr

pH: 7.2

2. M-FK AGAR (36, 13) (Difco Dehidrate Besiyeri) = Fç için. Bu besiyerini hazırlamak için 1000 ml distile suya 52 gr hesabıyla toz besiyeri tartılmış, tamamen eriyinceye kadar ısıtılarak kaynatılmıştır. Sonra 0.2 N NaOH çözeltisi içinde hazırlanmış % 1'lik rozolic asitten 10 ml ilave edilmiş, bir dakika daha kaynatılmıştır. 50° C'a soğutulmuş ve 60 mm'lik petri kütularına 4'er ml miktarda dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

Yapısı (1 litre için)

Bacto Tryptose. . . . . 10.0 gr  
Bacto Proteose pepton. . . . . 5.0 gr  
Bacto Yeast Extract. . . . . 3.0 gr  
Bacto Lactose. . . . . .12.5 gr  
Bacto Bile Salts. . . . . 1.5 gr  
Sodium Chloride. . . . . 5.0 gr  
Bacto Agar. . . . . .15.0 gr  
Aniline Blue. . . . . 0.1 gr

pH: 7.4

- b) Zenginleştirme Besiyeri

LAURYL TRYPTOSE BROTH (36, 13): (Difco Dehidrate Besiyeri) 1000 ml distile suya 35.6 gr hesabı ile toz besiyeri tartılarak konulmuştur. Ara sıra çalkalayarak kaynama derecesine kadar ısıtılmış, eridikten sonra otoklavda 120° C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Yapısı (1 litre için)

Bacto Tryptose. . . . . 20.0 gr  
Bacto Lactose. . . . . 5.0 gr  
Dipotassium phosphate. . . . . 2.75 gr  
Monopotassium phosphate. . . . . 2.75 gr  
Sodium Chloride. . . . . 5.0 gr

Sodium Lauryl Sulphate. . . . . 0.1 gr

pH: 6.8

II. Fermentasyon Tüp Sulandırım Yöntemi ile Suların Muayenesi için  
Kültür Besiyerleri (16, 13)

1. Lauryl Tryptose Broth: 10 ml olarak tüplerde
2. Brilliant-Green Laktozlu Safralı Buyyon: 10 gr. pepton ve 10 gr laktoz 500 ml distile suda eritilmiştir. 20 gr. dehidre ox-gall 200 ml suda eritilerek ilave edilmiş, distile su ile 975 ml ye tamamlanmıştır. pH: 7.4 e ayarlanmış, % 0.1 lik brilliant-green- den 13.3 ml ilâve edilerek bir litreye tamamlanmıştır. Durham tüpü ihtiva eden fermentasyon tüplerine 10 ml olarak dağıtılmış ve 120° C'da 15 dakika sterilize edilmiştir.

III. Kolifajların Sayımı için Besiyerleri (39).

1. Phage Assay Base Agar (PABA): (= Faj Sayım Besiyeri)

Beef Extract. . . . . 3.0 gr  
Pepton. . . . . 5.0 gr  
Sodium Chloride. . . . . 5.0 gr  
Magnesium Sulfate. . . . . 0.2 gr  
Manganese Sulfate. . . . . 0.05 gr  
Bacto Agar. . . . . 15.0 gr

Yukardaki maddeler 1 litre distile suda eritildikten sonra otoklavda 120° C'da 15 dakika sterilize edilmiş 50° - 55° C'a soğutulduktan sonra 30 ml den az olmamak üzere petri kutularına dökülmüştür. Kullanılacağı zaman plaklar kapağı açık olarak 45 dakika veya kapağı kapalı olarak bir gece etüvde kurutulmuştur.

2. Semisolid Phage Assay Base Agar (SPABA): (= Yarıkatı faj sayım Besiyeri) PAB Agardan farklı olarak litreye 15.0 gr. agar yerine 7 gr. agar ilave edilerek hazırlanmıştır. 3.0 ml olarak tüplere dağıtılmış, kullanılacağı zaman kaynayan su banyosunda eritilerek ve ayarlı su banyosunda 45° C'a soğutulmuştur.

3. Phage Assay Base Broth (PABB): (= Faj Sayım Sıvı Besiyeri)

PAB Agardan farklı olarak yalnız agar ilave edilmiştir. Tek kuvvetli ve gift kuvvetli olarak hazırlanmış, tüplere 10 ml olarak dağıtılmıştır.

D. STERİL SULANDIRIM SIVISI

Fosfat-Tampon Çözeltisi (16, 13):

- a) Stok Çözelti: Steril 1000 ml lik bir balona 500 ml distile su konmuş, üzerine 34.0 gr potassium dihydrogen phosphate ( $K_2HPO_4$ ) ilave edilmiş, eritilmiştir. pH 1 N NaOH ile 7.2 ye ayarlanmış, distile su ile 1 litreye tamamlanmış ve Stok Tampon çözeltisi elde edilmiştir.
- b) Seyretilmiş Stok Tampon Çözeltisi : Bir litrelik distile suya 1.25 ml stok tampon çözeltisinden ilâve edilmiş, karıştırılmış ve otoklavda  $120^{\circ}C$ 'da 15 dakika sterilize edilmiştir. Bu şekilde steril fosfat tamponlu su hazırlanmıştır. Sulandırım şişelerine 90 ml olarak dağıtılmış ve buzdolabında saklanmıştır.

SU ÖRNEKLERİ

1. Çalışmanın 1. bölümünde kullanılan su örnekleri işlem görmemiş lağım sularının karıştığı Ankara Çayından alınmıştır.
2. Çalışmanın 2. bölümünde kullanılan su örnekleri R.S.M. Hıfzıssıhha Enstitüsüne bakteriyolojik muayene için gelen içme ve kullanma sularından alınmıştır.

SU ÖRNEKLERİNİN ALINMA YÖNTEMİ :

Su örnekleri haftalık aralarla 14.12.1976 dan 6.12.1977 tarihine değin 500 ml lik şişelerle su yüzeyinin hemen altından alınmıştır. Alındıktan sonra yarım saat içinde laboratuvara getirilmiş ve hemen işleme sokulmuştur.

SU ÖRNEKLERİNİN SULANDIRIMI

Ankara Çayından alınan sulardan  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  sulandırılmaları hazırlanmıştır. Faj sayımları için  $10^{-1}$  sulandırımı, zar süzgeçle TC ve FC sayımları için  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  sulandırılmaları, fermentasyon tüp yöntemi için  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  sulandırılmaları kullanılmıştır.

KONAKÇI BAKTERİ: Kolifajlara en fazla duyarlı olduğu saptanan E. coli B (Western Univ. Collection, U.S.A.) suşu kullanılmıştır.



## YÖNTEMLER

### I. ZAR SÜZGEÇ (MEMBRAN FİLTRE) YÖNTEMİ (16, 17, 13, 19)

Araştırmada kullanılan su örneklerinin, TK ve FK sayımları aşağıdaki sıraya göre yapılmıştır.

1. Paslanmaz çelik süzgeç hunisi sterilize edilmiştir.
2. Dişsiz penset alkole batırılıp çıkarılmış, hafifçe alevden geçirildikten sonra, birkaç saniye soğuması beklenmiş ve zar süzgeç, süzgeç hunisinde delikli çelik disk üzerine yerleştirilmiştir.
3. Total koliform (TK) için hazırlanmış olan M-Endo Agar LPS besiyeri plağı ters çevrilmiş, üst kapağına steril bir süzgeç yastığı yerleştirilmiştir. Süzgeç yastığına 1.8 - 2.0 ml Bacto Lauryl Tryptose Broth besiyeri emdirilmiş, tamamen emdikten sonra fazlası pipetle geri alınmıştır. Petrinin kapağı kapatılarak bir kenara ayrılmıştır.
4. Fekal koliform (FK) için besiyerleri bölümünde anlatıldığı şekilde M-FC Agar plakları hazırlanmıştır.
5. Dere suları çok fazla kirli olduğu için, bunların daha önce steril tamponlu sulandırım sıvısı ile 100 ml lik şişelerde hazırlanan  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  sulandırımları süzgeç hunisine ayrı ayrı süzülme üzere dökülmüştür. Sulandırım miktarı, umulan kontaminasyon düzeyi ile ilgilidir.
6. Su trombu (vakuum temini için) çalıştırılarak, suyun süzgeçten süzülmesi sağlanmış, bu şekilde bakteriler süzgecin üzerinde tutulmuştur.
7. Zar süzgeç yerinde dururken steril tampon sıvısı ile süzgeç hunisinin duvarları yıkanmış, sonra filtre edilen hacimden daha az olmamak üzere steril tamponlu dilüsyon sıvısı huniye dökülmüş, ve vakuum uygulanarak tekrar süzülmüştür. Bu yıkama işlemi bir kez daha yapılmıştır.
8. Vakuum, zar süzgeç üzerindeki suyun tamamen süzülmesi tamamlanmaya kadar devam ettirilmiş, daha sonra vakuum kapatılmıştır.

9. Süzgeç hunisi açılmış, alevde yalazlanmış penset ile zar süzgeç total koliform analizi için yerinden alınmış ve daha önce hazırlanmış petri kapağı içindeki Lauryl Tryptose Broth endirilmiş süzgeç yastığı üzerine bakterileri tutan yüzü üste gelecek biçimde yerleştirilmiştir. Süzgeç yastığına yerleştirirken hava kabarcığı kalmaması için zar süzgeç önce petri kutusunun kenarından kaydırılmak sureti ile süzgeç yastığı üzerine yerleştirilmiştir.
10. Fekal koliformlar için 2, 5, 6, 7, 8. basamaklardaki işlemler aynen uygulanmıştır. Süzme işlemi tamamlandıktan sonra süzgeç hunisi açılmış, zar süzgeç penset ile alınarak bakterileri tutan yüzü üste gelecek biçimde M-FC Agar plakları üzerine yerleştirilmiştir.
11. FK için zar süzgeç yerleştirilmiş M-FC plakları ters çevrilerek su geçirmez plastik torbalara konmuş ve  $44.5^{\circ} \text{C} + 0.1^{\circ} \text{C}$  lık su banyosuna yerleştirilmiştir.  $20 \pm 2$  saat enkübe edilmiştir.
12. TK için Lauryl Tryptose Broth endirilmiş süzgeç yastığı üzerinde  $1.1/2 - 2$  saat  $35^{\circ} - 37^{\circ} \text{C}$ 'da enkübe edilen zar süzgeçler penset ile alınarak daha önceden hazırlanmış olan M-Endo Agar LES plağı üzerine hava kabarcığı kalmayacak şekilde yerleştirilmiştir.  $35^{\circ} - 37^{\circ} \text{C}$ 'da  $18 \pm 2$  saat enkübe edilmiştir.
13. Enkübasyon süresinin sonunda petriler çıkarılmış, M-FC plakları üzerindeki zar süzgeçte mavi koloniler sayılmıştır. Bunlar fekal koliform" kolonileridir (şekil 2). Zar süzgeç üzerinde gri veya krem rengi koloniler fekal koliform kolonileri değildir. Muhtemelen sularda bulunan termofil bakterilerdir. M-Endo Agar LES plağı üzerindeki zar süzgeçte oluşan ve tipik metalik parlaklık gösteren koloniler sayılmıştır. Bunlar tipik koliform kolonileridir, (Şekil 3).
14. Kullanılan sulandırma göre ortalamaları alınarak, orjinal örnekteki TE/ml ve FK ml sayıları hesaplanmıştır.

## II. FERMENTASYON TÜP SULANDIRIM YÖNTEMİ (16, 13)

### a) Tahmin Deneyi :

Her su örneği için, su şişesi örneği kuvvetlice çalkalanarak içindeki mikroorganizmaların mümkün olduğu kadar homojen dağılımı sağlanmıştır. Beş seri tüp alınmış, her seriden 3 fermentasyon tüpüne su örneğinin ilgili sulandırımından ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ) birer ml ilave edilmiştir. Fermentasyon tüpleri  $37^{\circ}\text{C}$  da enkübe edilmiş, her tüp  $24 \pm 2$  saat sonra muayene edilmiştir. Gaz meydana gelmemişse  $48 \pm 3$  saat sonra tekrar muayene edilmiştir. Gaz meydana getirenler kaydedilmiş ve gaz meydana getiren tüplerin hepsinden doğrulama deneyine geçilmiştir.

### b) Doğrulama Deneyi :

Her tüpten avuç içinde salladıktan sonra 3 mm çapında halkası bulunan bir öze ile, bir öze dolusu alınarak 2 adet brilliant-green fermentasyon tüpüne aktarılmıştır. Brilliant-green tüplerinden biri  $37^{\circ}\text{C}$  etüvde 48 saat, diğeri  $44.5^{\circ}\text{C}$  ayarlı su banyosunda 24 saat enkübe edilmiştir.

$37^{\circ}\text{C}$  lık etüvde enkübe edilip gaz meydana getiren tüpler koliform grubu bakteriler için (total koliformlar) pozitif doğrulama olarak kabul edilmiş,  $44.5^{\circ}\text{C}$  su banyosunda gaz meydana getiren tüpler fekal koliform bakteriler için pozitif doğrulama olarak kabul edilmiştir.

Pozitif tüplerin tablodan EMS olarak karşılığı bulunup ilgili sulandırımına göre EMS olarak koliform ve fekal koliform bakterilerin yoğunluğu hesaplanmıştır.

## III. KOLİFAJLARIN SAYIMINDA AGAR-KAT YÖNTEMİ (22, 20, 34, 38).

Araştırmada kullanılan dere sularında Agar-Kat yöntemi ile kolifajların sayımı aşağıdaki sıraya göre yapılmıştır.

1. Su örneklerinin  $10^{-1}$  sulandırımları hazırlandıktan sonra kuvvetlice çalkalanmıştır.
2. Su örneğinden ( $10^{-1}$  dilüsyondan) 1 ml alınarak daha önce eritilmiş ve ayarlı su banyosunda  $45^{\circ}\text{C}$ 'a soğutulmuş içinde 3 ml yarı katı phage Assay Base Agar (SPABA) bulunan tüplere ilave edilmiştir.

3. Üzerine 18 saatlik konakçı bakteri E. coli B (Western Univ. col. U.S.A.) kültüründen 0.1 ml ilave edilmiştir.
4. Vortex mikserde 10 saniye karıştırılmıştır.
5. Önceden hazırlanmış ve etüvde 45 dak. kapağı açık olarak kurutulmuş Phage Assay Base Agar (PABA) plakları üzerine tüpün içindkiler dökülmüştür.
6. Plaklar "Standard jerm sayım yönteminde" olduğu şekilde öne arkaya, ileri geri hareket ettirilerek tüp içindkilerin eşit bir biçimde plakların üzerine yayılması sağlanmıştır.
7. 15 - 20 dakika katılaşması beklenmiş, ters çevrilerek etüve kaldırılmıştır.
8. Her su örneği için bu şekilde 10 plak dökülmüş ve her seferinde konakçı bakterinin kontrolü olarak 1 plak, steril distile su kullanılarak dökülmüştür.
9. Faj plakları 2 saat sonra belirmeye başlamış ve 6 - 8 saat sonra rahatça sayılabilir hale gelmiştir. (Şekil 4). Bütün muayenelerde, 18 saat sonunda büyüteç yardımı ile faj plakları sayılmıştır.
10. PAB Agar plaklarında oluşan faj plakları sayımlarının ortalamaları alınmış ve ilgili sulandırım oranı ile çarpılarak orijinal su örneğinin 1 ml sindeki plak meydana getiren E.coli bakteriyofajları sayısı hesaplanmıştır.

## B U L G U L A R

Sularda kolifajlar gösterge mikroorganizm olarak kullanıldığında kontaminasyon düzeyinin doğru olarak tahmin edilip edilemeyeceğini saptamak amacıyla yürütülen bu araştırmada, çeşitli su örneklerinde fekal koliformların ve kolifajların kantitatif ilişkisi incelenmiş, bunun için de 3 ayrı grup su örneği alınmıştır.

a) Dere Suları : Arıtılmamış kanalizasyon atık sularının karıştığını bildiğimiz Ankara Çayı'ndan alınan su örneklerinde Agar-Kat yöntemi ile kolifajlar, zar süzgeç yöntemi ile total koliform (TK) ve fekal koliform (FK) sayıları saptanmıştır, (Tablo 1). Tablo 1'in incelenmesinden anlaşılacağı gibi dere sularında ortalama olarak FK/Faj oranı 5.8:1 olarak bulunmuştur. En düşük ve en yüksek FK/Faj oranları ise, sırası ile 1.1:1 ve 38.1:1 olarak saptanmıştır. Dere sularının dinamik bir yapıya sahip olması nedeniyle bir yıl süreyle, birer hafta aralıkla alınan örneklerde saptanan kolifaj, FK ve TK sayıları yarı logaritmik olarak tarihlerine karşı işaretlenmiştir, (Şekil 6, 7). Şekil 6 ve 7'de görüleceği gibi, genellikle TK'ların sayısı FK'lardan, FK'ların sayısı ise kolifajların sayısından fazla bulunmuştur. Ancak birbirlerine olan oranlarda zaman zaman büyük farklılıklar gözlenmiş ve sabit bir orana yaklaşılammıştır.

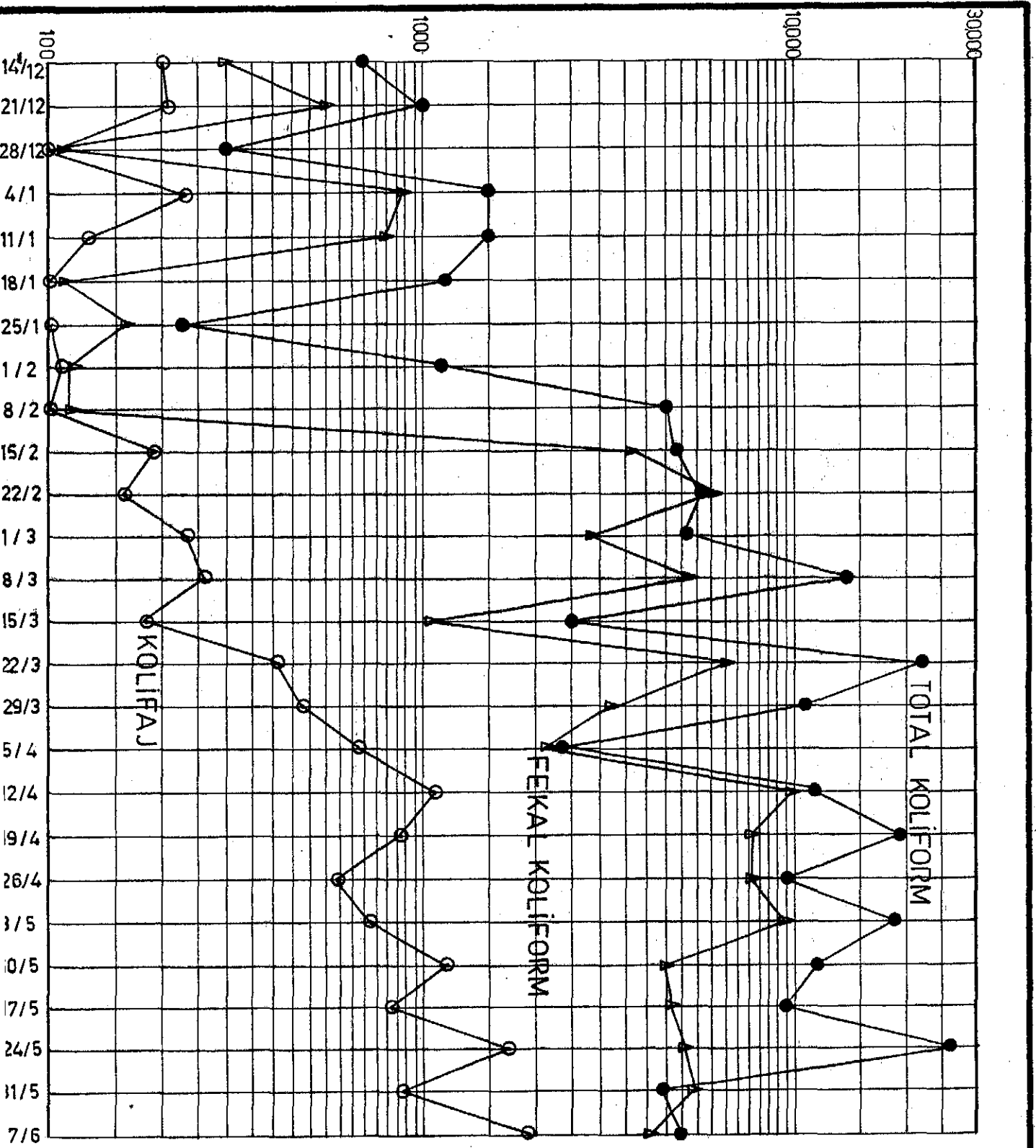
b) Klorlanmamış İçme ve Kullanma Suları : R.S.M. Hıfzıssıhha Enstitüsüne bakteriyolojik muayene için çeşitli yerlerden gelen içme ve kullanma suyu örneklerinde kolifaj ve FK'ların sayısı ve FK/Faj oranlarına ilişkin saptanan bulgular Tablo 2'de bildirilmiştir. Bu sularda kolifaj sayısı düşük düzeyde bulunduğundan, kolifajların sayımında zenginleştirme tekniğinden yararlanılmış ve sayımlar kuvvetle Muhtemel Sayı (KMS) olarak ifade edilmiştir. FK sayımlarında ise, zar süzgeç yöntemi kullanılmıştır. Tablo 2'de görüldüğü gibi, bu grup sularda ortalama FK/Faj oranı 0.5:1 olarak bulunmuştur. En düşük ve en yüksek FK/Faj oranı sırası ile 0.08:1 ve 12.6:1 olarak saptanmıştır. 11 su örneğinde fekal koliform sayısı 0 bulunmasına karşın, kolifaj; 4 su örneğinde ise, kolifaj 0 bulunmasına karşın fekal koliform bakteriler saptanmıştır.

TABLO 1. Dere sularında kolifaj, fekal koliform ve total koliform sayıları ve fekal koliformların kolifajlara oranı.

Su örneklerinin alındığı tarih	Kolifaj (100 ml) <sup>-1</sup> (x10 <sup>5</sup> )	Fekal koliformlar (100 ml) <sup>-1</sup> (x10 <sup>5</sup> )	Fekal koliformların Kolifajlara oranı	Total koliformlar (100 ml) <sup>-1</sup> (x10 <sup>5</sup> )
14.12.76	0.20	0.30	1.5:1	0.7
21.12.76	0.21	0.60	2.9:1	1.0
28.12.76	0.07	0.10	1.4:1	0.3
4. 1.77	0.23	0.90	3.9:1	1.5
11. 1.77	0.13	0.80	6.2:1	1.5
18. 1.77	0.06	0.11	1.8:1	1.2
25. 1.77	0.09	0.16	1.8:1	0.22
1. 2.77	0.11	0.12	1.1:1	1.1
8. 2.77	0.07	0.12	1.7:1	4.5
15. 2.77	0.19	3.6	18.9:1	4.8
22. 2.77	0.16	6.1	38.1:1	5.6
1. 3.77	0.24	2.8	11.7:1	5.1
8. 3.77	0.26	5.3	20.4:1	14.0
15. 3.77	0.18	1.1	6.1:1	2.5
23. 3.77	0.41	6.6	16.1:1	23.0
29. 3.77	0.48	3.3	6.9:1	11.0
5. 4.77	0.67	2.2	3.2:1	2.3
12. 4.77	1.10	10.0	9.1:1	12.0
19. 4.77	0.86	7.8	9.1:1	19.0
26. 4.77	0.59	7.7	13.1:1	9.5
3. 5.77	0.72	9.7	13.5:1	18.0
10. 5.77	1.20	4.5	3.8:1	12.0
17. 5.77	0.81	4.6	5.7:1	9.5
24. 5.77	1.65	5.1	3.1:1	26.0
31. 5.77	0.88	5.4	6.1:1	4.3

7. 6.77	1.86	4.1	2.2:1	5.0
14. 6.77	1.44	2.8	1.9:1	3.7
21. 6.77	0.63	4.3	6.9:1	3.3
28. 6.77	1.26	4.1	3.3:1	6.0
5. 7.77	0.84	1.9	2.3:1	2.5
12. 7.77	0.38	1.7	2.6:1	2.0
19. 7.77	0.19	3.1	16.3:1	3.7
26. 7.77	0.63	1.9	3.0:1	2.8
2. 8.77	2.80	5.6	2.0:1	7.1
9. 8.77	1.31	3.9	3.0:1	2.0
16. 8.77	0.49	8.2	16.7:1	7.3
23. 8.77	0.58	1.7	2.9:1	2.9
30. 8.77	0.22	1.0	4.5:1	10.0
6. 9.77	0.37	3.4	9.2:1	4.8
13. 9.77	1.76	6.3	3.6:1	9.8
23. 9.77	0.97	13.0	13.4:1	18.0
27. 9.77	0.41	1.8	4.4:1	1.7
4.10.77	0.38	5.6	14.7:1	7.7
25.10.77	0.56	4.2	7.5:1	4.5
1.11.77	1.10	3.9	3.5:1	13.0
8.11.77	0.32	4.1	12.9:1	3.8
15.11.77	0.24	1.4	5.8:1	2.7
22.11.77	0.54	4.2	7.8:1	10.0
29.11.77	1.10	1.7	1.5:1	3.8
6.12.77	0.62	4.8	7.7:1	8.0
Ortalama	0.65	3.75	5.8:1	6.73
değerler.				

# PARTİKÜL SAYISI / cc





TABLO 2. Klorlanmış içme ve kullanma suları örneklerinde kolifaj, fekal koliform sayıları ve fekal koliformların kolifajlara oranı.

Su örneği Sıra No:	Kolifaj (KMS) (100ml) <sup>-1</sup> (x10)	Fekal koliformlar (100 ml) <sup>-1</sup> (x10)	Fekal koliformların kolifajlara oranı
1	9.3	11.6	1.2:1
2	24.0	7.2	0.3:1
3	21.0	42.0	2.0:1
4	4.3	10.8	2.5:1
5	24.0	28.8	1.2:1
6	1.5	18.4	12.3:1
7	24.0	38.8	1.6:1
8	24.0	51.6	2.2:1
9	21.0	9.2	0.4:1
10	1.5	14.8	9.9:1
11	0.9	1.2	1.3:1
12	240.0	SKÇ <sup>x</sup>	
13	110.0	SKÇ <sup>x</sup>	
14	24.0	34.0	1.4:1
15	240.0	20.4	0.08:1
16	110.0	10.4	0.1:1
17	1.5	12.4	8.3:1
18	9.3	10.8	1.2:1
19	1.5	3.6	2.4:1
20	2.1	25.2	12.6:1
21	21.0	8.4	0.4:1
22	24.0	3.6	0.2:1
23	0.4	0	
24	0.9	0	
25	4.0	0	

26	240.0	SKÇ (#)	
27	240.0	40.8	0.2:1
28	24.0	20.0	0.8:1
29	240.0	SKÇ (#)	
30	1.1	0	
31	1.5	0	
32	4.3	0	
33	0	3.2	
34	0.4	0	
35	24.0	16.0	0.7:1
36	0.7	0	
37	1.5	0	
38	0	5.6	
39	9.3	2.0	0.21:1
40	24.0	6.0	0.3:1
41	0	4.8	
42	2.3	0	
43	24.0	2.8	0.1:1
44	9.3	1.6	0.2:1
45	0	6.0	
46	24.0	3.2	0.1:1
47	24.0	3.6	0.2:1
48	0.4	0	
49	240.0	SKÇ (#)	
50	21.0	16.0	0.8:1
Ortalama değerler	22.9	10.9	0.5:1

(#) = 25 ml örnekte Sayılamayacak Kadar Çok (SKÇ) koloni üremiştir. Bu değerler ortalamalara

dahil edilmemiştir.

c) Klorlu İçme ve Kullanma Suları: R.S.M. Hıfzıssıhha Enstitüsüne bakteriyolojik muayene için çeşitli yerlerden gönderilen klorlu içme ve kullanma sularında (bu su örnekleri klorun etkisini giderici sodyum tiyo-sülfatlı şişelere alınmıştır) klorlanmamış sularda olduğu şekilde kolifaj, FK sayıları ve FK/Faj oranları araştırılmıştır, (Tablo 3). Tablo 3'de görüldüğü gibi, ortalama FK/Faj oranı 0.4:1 olarak bulunmuştur. En düşük ve en yüksek FK/Faj oranları ise, sırası ile 0.04:1 ve 6.3:1 olarak saptanmıştır. 22 su örneğinde fekal koliform bulunamamasına karşın kolifaj; 2 su örneğinde ise, kolifaj bulunamamasına karşın, fekal koliformlar saptanmıştır.

Dere sularından ve içme-kullanma sularından ayrı ayrı elde edilen faj sayıları, aynı sulardan elde edilen FK sayılarına karşı log-log olarak işaretlenmiştir, (Şekil 8. 9). Fekal koliformlar ve kolifajlar arasında korrelasyon standard istatistik yöntemler kullanılarak su şekilde bulunmuştur; korrelasyon katsayısı  $(r)=0.54$  olarak saptanmıştır. Korrelasyon katsayısının 0 olması değişkenler arasında hiçbir ilişki olmadığını, 1 olması mutlak bir ilişkinin yani lineer bir denklem olarak ilişkinin varlığını belirleyecektir. İstatistik olarak 0 dan farklılığın hesabında  $t=7.71$  bulunmuştur. Bu değer % 1 S.D.'nde tablodaki 2.609 değerinden fazla olduğundan % 1 hata riski olasılığında (% 99 güvenilirlik sınırları içinde) bir korrelasyonun işaretidir.

Çalışmamızda kullandığımız zar süzgeç yöntemi, ileri batı Ülkelerinde su muayenelerinde yaygın olarak kullanılmasına karşın ülkemizde sınırlı sayıda araştırmacı tarafından kullanılmıştır. Rutin olarak su kontrollerinde henüz kullanılmamaktadır. Bu nedenle, dere sularından alınan su örneklerinde FK ve TK sayımlarında zar süzgeç yönteminin yanında klâsik su kontrol yöntemi olan fermantasyon tüp sulandırma yöntemi de paralel olarak kullanılmıştır. Her iki yöntemden elde ettiğimiz sonuçların istatistikî analizlerinde, % 95 güvenilirlik sınırları içersinde % 94 oranında uygunluk bulunduğu saptanmıştır.

TABLO 3. Klorlu içme ve kullanma sularında kolifaj ve fekal koliformların sayısı ve fekal koliformların kolifajlara oranı.

Su örneği sıra No:	KMS Kolifaj (100 ml) <sup>-1</sup> (x10)	mFK Fekal koliformlar (100 ml) <sup>-1</sup> (x10)	FK/Faj Fekal koliformların kolifajlara oranı
1	24.0	8.4	0.35:1
2	9.3	0	
3	0.9	0	
4	0.4	0	
5	1.5	4.4	2.93:1
6	4.3	1.6	0.4:1
7	9.3	3.6	0.4:1
8	0.4	0	
9	0.4	0	
10	1.5	2.0	1.3:1
11	0.9	4.4	4.9:1
12	4.3	6.4	1.5:1
13	0.4	0	
14	9.3	0.8	0.08:1
15	1.5	0	
16	2.1	0.4	0.2:1
17	0.4	0	
18	5.9	1.0	0.2:1
19	24.0	8.4	0.4:1
20	4.3	0	
21	0.7	0	
22	0.4	0	
23	0.9	0	
24	24.0	3.6	0.2:1
25	0.4	0	

26	21.0	4.4	0.20:1
27	1.5	0	
28	0.7	0	
29	0.9	0	
30	24.0	9.6	0.38:1
31	0	2.0	
32	9.3	0.4	0.04:1
33	2.0	5.6	2.8:1
34	0.4	0	
35	2.0	0	
36	0.4	1.0	2.5:1
37	21.0	10.4	0.5:1
38	24.0	11.0	0.5:1
39	4.3	0	
40	2.0	0	
41	2.8	0	
42	9.3	12.0	1.3:1
43	4.3	0	
44	3.9	1.2	0.3:1
45	0	5.6	
46	4.3	27.0	6.3:1
47	24.0	3.2	0.1:1
48	24.0	2.8	0.1:1
49	9.3	1.6	0.2:1
50	4.3	3.2	0.7:1
Ortalama	6.7	2.9	0.44:1
değerler			

KULİFAJ KİMS / 100 CC

1000

100

10

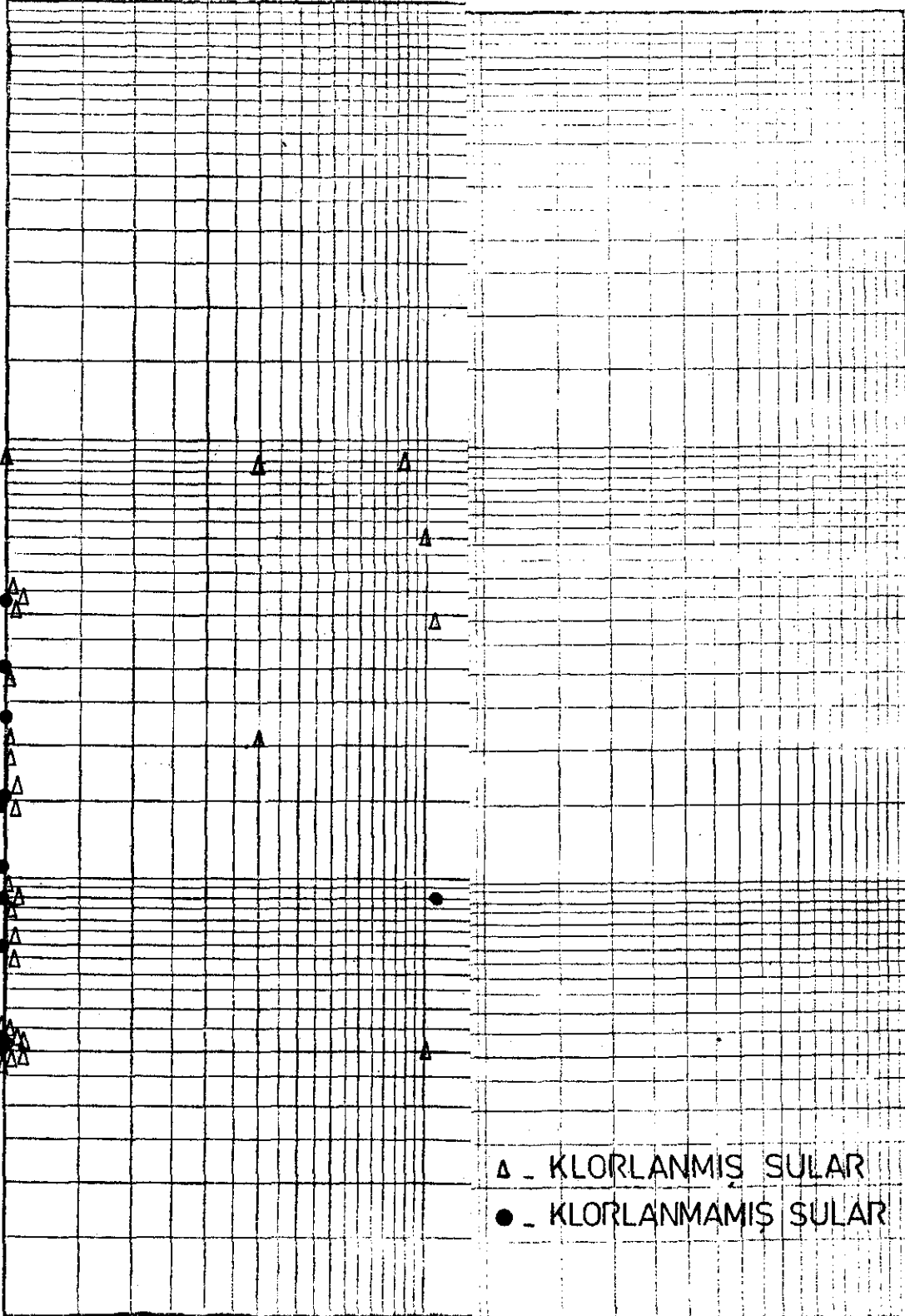
1

10 100

10.000

Δ - KLORLANMIŞ SULAR

● - KLORLANMAMIŞ SULAR



Şekil 9. Klorlanmamış ve klorlu içme-kullanma sularında kolifaj ve fekal koliformların ilişkisi.

TABLO 4. Dere sularından alınan örneklerde zar-süzgeç ve fermentasyon tüp sulandırım yöntemi ile elde edilen total koliform (TK) ve fekal koliform (FK) sayıları.

Su örneği	$m_{TK}(\#)$ (100 ml) <sup>-1</sup> (x10 <sup>5</sup> )	$KMS-TK(\#)$ (100 ml) <sup>-1</sup> (x10 <sup>5</sup> )	$m_{FK}(\#)$ (100 ml) <sup>-1</sup> (x10 <sup>5</sup> )	$KMS-FK(\#)$ (100 ml) <sup>-1</sup> (x10 <sup>5</sup> )
1	0.7	2.1	0.3 <sup>xx</sup>	2.1
2	1.0	2.1	0.6	0.93
3	0.2	0.93	0.1 <sup>xx</sup>	0.93
4	1.5	4.6	0.9	0.93
5	1.5	4.6	0.8	2.4
6	1.2	0.93	0.11	0.23
7	0.22	0.43	0.16	0.23
8	1.1	0.93	0.1	0.43
9	4.5 <sup>xx</sup>	2.4	3.1	2.4
10	4.8	2.1	3.6	0.93
11	5.6	15.0	6.1	4.6
12	5.1	9.3	2.8	2.4
13	14.0	11.0	5.3	11.0
14	2.5	2.3	1.1	2.4
15	23.0	15.0	6.6	1.5
16	11.0	24.0	3.3	24.0
17	2.3	2.3	2.2	2.4
18	12.0	46.0	10.0	11.0
19	19.0	24.0	7.8 <sup>xx</sup>	11.0
20	9.5	15.0	7.7 <sup>xx</sup>	2.1
21	18.0	21.0	9.7	9.3
22	12.0	24.0	4.5	9.3
23	9.5 <sup>xx</sup>	24.0	4.6 <sup>xx</sup>	24.0
24	26.0	240.0	5.1 <sup>xx</sup>	46.0
25	4.3	9.3	5.4	2.7



26	5.0	9.3	4.1	4.6
27	3.7	15.0	2.8	2.1
28	3.3	4.3	4.3	2.4
29	6.0	11.0	4.1	2.4
30	2.5	2.3	1.9	2.4
31	2.0	9.3	1.7	2.1
32	3.7	15.0	3.1	4.6
33	2.8	7.5	1.9	2.4
34	7.1	2.3	5.6	2.3
35	2.0	7.5	3.9	4.6
36	7.3	4.3	8.2	2.4
37	2.9	3.9	1.7	2.4
38	10.0	21.0	1.0	4.6
39	4.8	9.3	3.4	4.6
40	9.8	46.0	6.3	24.0
41	18.0	21.0	13.0	11.0
42	1.7	4.3	1.8	2.4
43	7.7	12.0	5.6	4.3
44	4.5	7.5	4.2	2.4
45	13.0	9.3	3.9	9.3
46	3.8	7.5	4.1	4.3
47	2.7	9.3	1.4	1.5
48	10.0	6.4	4.2	2.4
49	3.8	4.3	1.7	0.93
50	8.0	15.0	4.8	4.3

(\*) mTK- Zar süzgeç yöntemi ile total koliform sayısı

KMS-TK- Kuvvetle muhtemel sayı yöntemi ile total koliform sayısı

mFK - Zar süzgeç yöntemi ile fekal koliform sayısı

KMS-FK-Kuvvetle muhtemel sayı yöntemi ile fekal koliform sayısı

(\*\*) KMS- İndeksinin % 95 güvenilirlik sınırları dışında ulman değerler.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğal sular çok dinamik bir yapıya sahiptir. Bu sulara mikroorganizm popülasyonuna etki eden ısı, ışık, U.V., mekanik etki, sedimentasyon, suların kendi kendine temizlenme işlevinde rol oynayan bazı mikroorganizmalar v.b. birçok etken vardır. Bu özellikleri içeren yüzey suları, gösterge organizmaların kantitatif ilişkisinin araştırılmasında uygun bir ortamdır. Bu nedenle içme ve kullanma suyu örnekleri yanında Ankara Çayı sularından aldığımız örnekler araştırmada kullanılmıştır.

Araştırma bulgularımıza göre, incelenen su örneklerinde fekal koliform bakteriler ve kolifajlar arasında istatistikî olarak korrelasyon bulunmuş ( $r= 0,54$ ), ancak bu korrelasyon lineer bir eşitlik olarak çıkmamış ve FK/Faj oranlarında zaman zaman büyük farklılıklar bulunmuştur. Halbuki Kenard ve Valentin (1974) bizim bulgularımızın aksine, lagoon suları hariç bütün sulara fekal koliformlar ve kolifajlar arasında  $1:0.7$  olarak sabit bir oranda kantitatif ilişki ve yüksek bir korrelasyon bulmuştur ( $r= 0,95$ ). Bu suretle, kolifajların sayısının saptanması ile fekal koliformların sayısının doğru olarak hesaplanabileceğini belirtmişlerdir. Aynı konuda Hilton ve Stoty'nin (1973) çalışmalarında, kolifajlar ve E. coli arasında sabit bir kantitatif ilişki bulunmamıştır. Bell (1976), FK/Faj oranını arıtılmamış lagoon sularında ortalama  $87:1$ , arıtıldıktan sonra  $4.2:1$  ve akarsuya karıştıktan sonra  $0.15:1$  olarak bulmuş ve kolifajlarla fekal koliformlar arasında sabit bir kantitatif ilişki olmadığını göstermiştir. Araştırma bulgularımız, Hilton ve Stotky ve Bell'in bulgularını desteklemektedir. Taze dışkıda E. coli/kolifaj oranı  $100:1$ 'dir (34). Kolifajların sulara canlı kalma sürelerinin fekal koliformlardan daha uzun olduğu bilinmektedir (40, 41). Bu nedenle, dışkının suya karıştığı ilk anlarda FK/Faj oranı yüksek bulunmakta, FK'ların ölme hızı daha yüksek olduğundan, zaman geçtikçe FK/Faj oranı giderek düşmektedir. Bu suretle, kolifajlarla fekal koliformlar arasında sabit kantitatif bir ilişki bulunmaması açıklanabilmektedir. Sulara FK/Faj oranı, büyüdükçe yeni bir kontaminasyona, küçüldükçe daha eski bir kontaminasyona işaret eder. Kolifajların mevcut olduğunun gös-

terilmesi fekal koliformların belirlediği kontaminasyon seviyesinden farklı olmakla beraber, yine fekal kontaminasyonun pozitif bir göstergesidir. Araştırma bulgularımız paralelinde yapılan çeşitli çalışmalarda, Pandelescu ve ark. (42), yerleşme merkezlerinin yakınındaki ve uzağındaki akarsularda yaptıkları incelemelerde enterik bakteriofajların fekal kirlenmenin önemli bir göstergesi olduğunu, suların sanitasyon kalitesinin saptanması yanında epidemiyolojik gösterge olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Miejskiej (43), yüzey sularında enterik bakterilere özgü bakteriofajların izolasyonu ile, enfeksiyon kaynaklarının kolay ve süratli olarak bulunabileceğini bildirmiştir. Alessandria (35), içme sularında enterik bakteriofajlar ve diğer gösterge mikroorganizmlerle mukayeseli olarak yaptığı çalışmada, içme sularının muayenesinde koliform bakterilerin sayımı yanında enterik bakteriofajları arama yöntemlerinin birbirini tamamlaya bileceğini bildirmiştir. Fransız Sağlık Bakanlığının 21.1.1960 tarihli sirkülerinde (21), fekal bakteriofajların saptanmasının içme sularında tamamlayıcı bir yöntem olarak kullanılmasının uygun olduğu belirtilmektedir. Bu konuda ülkemizde yapılmış tek araştırma, M. Akman'ın (44), Dere Sularında Fekal Koliformların ve Kolifajların Doğal İlişkisinin kantitatif olarak saptanması çalışmasıdır. Bu çalışmada fekal koliformlar ile kolifajlar arasında korelasyon saptanmıştır ( $r= 0,66$ ). Sonuçlar, bulgularımızla paralelliktedir.

Koliform grubu bakterilerin suların sanitasyon kalitesinin saptanmasında gösterge sistem olarak yetersiz olduğu konusunda da bazı yeni yayınlar (45) vardır. Dezenfekte edilen sularda patojen bakterileri ve koliform grubu bakteri öldüren dezenfektan madde miktarı, insanda hastalık etkeni olabilen virusların bir kısmını ve bazı protozoenleri öldürmeye yetmemektedir (46). Yani, dezenfekte edilen bir su koliform grubu bakteriler yönünden negatif bulunsa da, patojen bazı virusların dezenfektan maddelere daha dirençli olmaları nedeniyle tam bir güvenilirlik sağlayamamaktadır (45, 46). Sulardaki viruslar ve bunların izolasyonu yönünden bilgilerimiz çoğaldıkça, koliform grubu bakterilerin gösterge sistem olarak yetersiz kaldığı ve yeni gösterge sistemlerin bulunması için çabaların yoğunlaştırıldığı görülmektedir (47, 48). Kolifajların

dezenfektan maddelere en az viruslar kadar dirençli olduğu ve sularda kolifajları elimine eden miktarda dezenfektan maddeler kullanıldığında bu suların viruslar yönünden de emin ve güvenilir olabileceği bildirilmiştir (49, 46). Bu nedenle, sularda kolifajların gösterge sistem olarak kullanılması, güvenilirlik ve emniyet yönünden koliform bakterilerden daha yararlı olacaktır.

Bugün yaygın olarak kullanılan fermantasyon tüp sulandırım yöntemi, sonuçları 48 - 96 saatte vermektedir. Zar süzgeç tekniği ile sonuçlar 18 - 24 saatte alınabilmektedir. Halbuki kolifajların saptanması 6-8 saatte mümkün olmakta ve süre bakımından büyük bir avantaj sağlamaktadır. Ayrıca kolifajların saptanması kolay ve basit bir tekniktir. Az sayıda araç gereçe gereksinim göstermesi ve yöntemin uygulanmasında fazla kalifiye personeli gerektirmemesi, kullanılabilirliği için yararlı bir noktadır.

Kolifaj yönteminin kullanılmasında en büyük handikaplardan biri, konakçı bakterinin seçimidir. Bilindiği gibi kolifajların bir kısmı konakçı bakteri yönünden yalnız türe özgü değil aynı zamanda suşa-özüdür. Bu nedenle, değişik konakçı bakteri kullanan iki araştırmacı aynı su örneğinde farklı sonuçlar bulabilirler. Bugün A.B.D. ve Avrupa'da kolifajlarla çalışanların büyük bir kısmı E.coli B veya E.coli C ile çalışmaktadır. Yapılan araştırmalarda E. coli B'nin yüzey yapışma özellikleri nedeniyle en fazla sayıda kolifaja duyarlı olduğu saptanmıştır (34). Bu araştırmada da E. coli B suşu (Western Reserve Un. Collection) kullanılmıştır. Çalışmanın başında Ankara Çayı'ndan alınan su örneklerinde E. coli B ve aynı sudan izole edilen 10 E. coli suşu konakçı bakteri olarak kullanılmıştır. Aynı su örneklerinde yapılan karşılaştırmalı deneyde, E. coli B suşunun konakçı bakteri olarak kullanıldığında 3 - 14 kat daha fazla oranda faj plağı oluşturduğu görülmüştür. Bu nedenle bu tekniği kullanacak laboratuvarların benzer sonuçlar elde edebilmek için aynı konakçı bakteriyi kullanmaları gerekmektedir.

Bizim yaptığımız deneylerde suların kirlenme düzeyinin saptanmasında kullanılan fekal koliformların sayısı ile kolifajların sayısı, sabit bir oranda bulunmadığından, kolifajların belirlediği kontaminasyon

düzeyinin fekal koliformların belirlendiği kontaminasyon düzeyinden farklı olduğu görülmektedir. Bununla beraber, a) Kolifajlarla, fekal koliformlar arasında korrelasyon bulunması b) Kolifajların, fekal kirlenmenin en pozitif işareti olan fekal koliformların zorunlu parazitleri olması c) Kolifajların dış etkilere fekal koliformlardan daha dirençli olmaları d) Yöntemin süratli ve kolay olması nedeni ile fekal kirlenmenin işareti bir gösterge sistem olarak kullanılabileceği kanısındayız. Daha kesin bir yargıya varabilmek için bu deneylerin yurdumuzun her tarafından alınacak daha fazla sayıda su örneği ile devam ettirilmesinin gereği açıktır. İleride bu konudaki uzun süreli çalışmalarımıza devam etmek arzusundayız.

K A Y N A K L A R

1. Starr, M.P., Baigent, N.L.: Parasitic interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* with other bacteria, *J. Bacteriol.*, 91: 2006-2017, 1966.
2. Guelin, A. (Çev. A. Yücel): Sularda spontan bakterioliz olayı ve mikropredatör bakteriler, *Mikrobioloji Bülteni*, 10: 73, 1976.
3. Guelin, A. (Çev. Abdülkadir Yücel): Deniz suyunun bakterisid gücü yönünden çeşitli görünüşleri, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 10: 255, 1976.
4. *Water Pollution Control Fed. J.*, 48: 1665, 1976.
5. WHO: International Standards for Drinking Water. Sayf. 41, WHO publication 1963.
6. DAMOC (A consortium): Daniel, Mann, Johnson, Mendenhall, /Alvord, Burdick Howson/ Motor-Columbus/ Cnecci and Company.) Master Plan and Feasibility Report for Water Suply and Sewerage for the Istanbul Region. WHO/UNDP/SF/TUR-20, 1971.
7. D.P.T. Yayın No: 1547 - ÖİK.: 239 "İçme Suyu ve Kanalizasyon" IV. Beş yıllık Kalkınma Planı Özel İhtisas Komisyonu Raporu. Ocak 1977.
8. 1380 Sayılı Su Ürünleri Kanunu ve Tüzüğü. Tarım Bakanlığı Su Ürünleri Gen. Md., Nüve Matbaası 1973.
9. Bonde, G.J.: Bacteriological methods for estimation of water pollution, *Health Lab. Sci.*, 3:124, 1966.
10. Sürücü, G., Evaluation of Microbiological Quality of Water, Sayf.: 7 Environmental Engineering Department. O.D.T.Ü. 1977.
11. Fijkman. C. Die Garungsprobe Bei 46° C als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. *Zentr. Bakteriöl. Parasitenk.*, I. Orig. 37: 742 ( Thatcher, F.S., Clark, D.S.: *Microorganisms in Foods*, University of Toronto Press, 1968'den alınmıştır.)
12. Millipore Corporation. Bedford, Massachusetts 01730 U.S.A.
13. American Public Health Association, 1971 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 13. Edition. American Public Health Association, Inc., Washington, D.C.

14. Ehrlich, R.: Application of membrane filters. *Advances in Appl. Microbiol.*, 2:95, 1960.
15. American Public Health Association. 1955 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 10. Edition. American Public Health Association, Inc., Washington, D.C.
16. Akman, M.: Su, Süt ve Türevlerinin Rutin Bakteriyolojik Muayeneleri, Ege Matbaası Ankara, 1961.
17. Akman, M.: Zar süzgeç (= Membran Filtre) yöntemi ile sularda E. coli sayımı, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 9: 257-265, 1975.
18. Alkış, N.: Membran filtreler ile antibiyotik rezistans deneyi, *Türk Hijyen Biol. Derg.*, 17:3, 1957.
19. Millipore: Biological Analysis of Wastewater. AM302 1972.
20. Kenard, R.P., Valentine, R.S.: Rapid determination of the presence of enteric bacteria in water, *Appl. Microbiol.*, 27: 484-487, 1974.
21. Yücel, A. (tercüme) İçme sularının analiz metodları ile ilgili sirküler. (Ministre de la Sante Publique It de la Population Recueil des Textes Officiels intéressant la Santé publique et la Population Fascicule special No. 62), *Sağlık Dergisi*, 3 - 4: 48 - 81, 1975.
22. Adams, M.H.: *The Bacteriophages*. Interscience Publ., New York., 1959.
23. Zobell, C.E.: *Marine Microbiology*. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass. Sayf. 284, 1946.
24. Guelin, A.: Sur les choix des souches étalons pour la detection du bacilli typhique dans les eaux par la recherche des bacteriophages specifiques, *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*, 79: 186, 1950.
25. Guelin, A.: Etude des bacteriophages typhiques Vi dans les eaux, *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*, 75: 485 - 496, 1949.
26. Guelin, A.: Application de la Recherche des Bactériophages à l'étude des eaux Polluées. I. La survie des entérobacteriacées dans les eaux. II. Bacteriophages des eaux à grandes et petites plages, *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*, 82: 78 - 89, 1952.

27. Lammers, W.T.: Bacteriophages populations in natural water, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 35: 1361 - 1385, 1963.
28. Gol Dfarb D.M., Kuznetsova, V.N. Direction of the technic of carrying out the phage titre rise reaction to determine dysentery and typhoid bacteria, *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 31: 36 - 40, 1960 (Kaynak 20'den alınmıştır).
29. Katznelson, H., Sutton, M.D.: A Rapid phage plaque count method for the detection of bacteria as applied to the demonstration of internally borne bacterial infections of seed, *J. Bacteriol.*, 61: 689 - 701, 1951 (Kaynak 20'den alınmıştır).
30. Bosco, G.: Isolation of enterophages from the waters of the Tiber River, *Nuovi Ann. Ig. Microbiol.*, 14: 62-66 1963. (Kaynak 20'den alınmıştır).
31. Bosco, G.: Enterophages in coastal sea-waters considerations on the general epidemiological importance of their discovery in surface waters, *Nuovi Ann. Ig. Microbiol.*, 14: 8-20, 1963 (Kaynak 20'den alınmıştır).
32. Feigin, T.S.: On the sanitary indicative significance of detection of bacteriophage lysing dysentery bacilli in the water of open reservoirs, *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 40: 132-137, 1963. (Kaynak 20'den alınmıştır).
33. Hilton, M.C., Stotzky, G.: Use of coliphages as indicators of water pollution, *Can. J. Microbiol.*, 19: 747-751, 1973.
34. Bell, R.G.: The limitation of the ratio of fecal coliforms to total coliphage as a water pollution index, *Water Research*, 10: 745-748, 1976.
35. Alessandria.: The Importance of phages in judging the potability of water in connection with the other microbiological contamination indices, *Riv. Ital. Igiene*, 19: 51-86, 1959. (Excerpta Medica Section 17'den alınmıştır).
36. Difco: Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures. Difco Laboratories Detroit Michigan 48232 U.S.A.



37. Millipore: Fecal Coliform Analysis. AB 313. Millipore Corp., Bedford. 1974.
38. Akman, M.: Bakteri Genetiği Teorik-Pratik, Cumhuriyet Üniv. Yayını No: 1, 1977.
39. Kott, Y.: Estimation of low numbers of Escherichia coli bacteriophage by use of the most probable number method, Appl. Microbiol., 14 : 141-144, 1966.
40. Pretorius, W.A.: Some observation on the role of coliphages in the number of Escherichia coli in oxidation ponds, J. Hyg., Camb. 60: 279, 1962.
41. Ware, G.C., Mellon, M.A.: Some observations on the coli/coliphage relationship in sewage, J. Hyg., Camb. 54: 99, 1956.
42. Pandelescu, M., Aronovici, A: Enteric bacteriophages and their importance as a sanitary epidemiological indicator, București Igiena, 7: 245-254, 1958. (Exerpta Medica, Section 17, 6: 68'den alınmıştır).
43. Miejskiej, W.G.: The examination of the water of the River Vistula for the presence of bacteriophages of bacteria of the alimentary tract, Hig. (Warsz.), 2: 11 - 16, 1958. (Exerpta Medica Section 17, 4: 683'den alınmıştır.)
44. Akman, M.: Dere sularında fekal koliformların ve kolifajların ilişkisi, Yayınlanmamış Araştırma 1975.
45. Holden, W.S.: Coliforms are an inadequate index of water quality, Jour. Environ. Health, 36: 39, 1973.
46. Kott, Y., Roze, N., Sperber, S., Betzer, N.: Bacteriophages as viral pollution indicators, Water Research, 8: 165-171, 1974.
47. Sürücü F., Haas C.N.: Inactivation of New Indicator Organisms of Disinfection Efficiency, 96<sup>th</sup> Ann. Conf. Proc. Vol. 2, 1976.
48. Engelbrecht, R.S., Fester, D.E., Greening, E.D.: New microbial indicators of wastewater chlorination efficiency, USEPA Env. Protection Technology series. EPA- 670/2 - 73- 082, 1974 (Kaynak 10'dan alınmıştır.)
49. Vaughn, J. M., Metcalf, T.G.: Coliphages as indicators of enteric viruses in shellfish and shellfish raising estuarine waters, Water Research, 9: 613-616, 1975.

