

SDE

**ESKİŞEHİR BÖLGESİ İÇME ve KULLANMA SULARINDA  
TÜP SULANDIRIM ve MEMBRAN FİLTRE YÖNTEMLERİ ile  
KOLİFORM BAKTERİ ARANMASI**

**Dr. Olcay BALTACI**

T.C.

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Mikrobiyoloji Bilim Dalı'nda

**DOKTORA TEZİ**

Olarak Hazırlanmıştır.

**Danışman: Prof. Dr. Filiz AKŞİT**

Nisan 1992

Anadolu Üniversitesi  
Merkez Kütüphane

## KABUL ve ONAY SAYFASI

Olcay BALTACI'nın DOKTORA tezi olarak hazırladığı "Eskişehir Bölgesi İçme ve Kullanma Sularında Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemleri ile Koliform Bakteri Aranması" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

15 105 1/1992

ÜYE : Prof. Dr. Filiz AKSİT (imza)

ÜYE : Prof. Dr. Okan TÖRE (imza)

ÜYE : Prof. Dr. Yurdanur AKGÜN (imza)

---

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25/5/1992 gün ve ...184/459... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**ASLI GİBİDİR**

**25 MAYIS 1992**

(imza)

Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN

Enstitü Müdürü

ASİME YILMAZ  
Enstitü Sekreteri

**İÇİNDEKİLER**

1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	20
4. BULGULAR .....	38
5. TARTIŞMA .....	49
6. SONUÇLAR .....	60
EKLER .....	62
KAYNAKLAR .....	67

## ÖZET

Çalışmamız, Aralık 1991 ile Mart 1992 tarihleri arasında Eskişehir'in bir kısım içme ve kullanma sularının bakteriyolojik kalitesini araştırmak, ayrıca sularda koliform bakteri aramada kullanılan standart iki yöntemi (Tüp Sulandırım Yöntemi ve Membran Filtre Yöntemi) karşılaştırmak amacı ile yapıldı. Bu iki yöntemin yanısıra 1 ml suda canlı bakteri sayısını veren Toal Germ Sayımına bakıldı.

Toplam 150 su örneğinin çalışıldığı araştırmada, 50 adet şebeke suyunun hiçbirinde üreme saptanmadı, total germ sayıları içilebilir sınırlar içinde bulundu. 93 adet tulumba suyunun 56'sında (%60) koliform bakteri üredi. Total germ sayımı ile birlikte toplam 63 (%67) örneğin içilemez ve kullanılamaz sınırlarda olduğu saptandı. Bir artezyen suyunda koliform bakteri üredi. Arıtma tesisinin değişik kademelerinden aldığımız 4 adet su örneğinin dezenfeksiyon işlemi tamamlanmamış olan 2'sinde üreme oldu. Şehir şebekesine verilen son kademe suyun mikrobiyolojik olarak içilebilir ve kullanılabilir özelliklerde olduğu saptandı.

Koliform bakteri aramada kullandığımız iki yöntem arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı. Ancak Tüp Sulandırım Yönteminin, Membran Filtre Yönteminden daha fazla sayıda koliform bakteri ürettiği gözlemlendi.

Sonuç olarak Eskişehir Şebeke sularının mikrobiyolojik açıdan güvenilir olduğu, kenar bölgelerde kullanılan tulumba sularının ise sağlığı tehdit edici özellikte olduğu saptandı.

Koliform bakteri aramada kullanılan Tüp Sulandırım Yöntemi ile Membran Filtre Yönteminin birlikte uygulanmasının daha yararlı sonuç verebileceği kanısına varıldı.

## SUMMARY

This study was performed between December 1991 and March 1992, in order to investigate the bacteriological quality of some drinking and usage water in Eskişehir and compare two standard coliform bacteria investigating methods (Multiple Tube Method and Membrane Filter Method). Besides these two methods plate count to find viable bacteria in 1 ml of water was observed.

Of 150 water specimen that was investigated, no growth was found in 50 network water and plate count was between drinkable limits. Of 93 pump water; in 56 (60%) specimen coliform bacteria were grown. With the plate count; a total of 63 (67%) specimen was found unsuitable for drinking and usage. Coliform bacteria were grown in one artesian well water.

Of 4 water specimen that was taken from different steps of purifying system and disinfecting procedure was completed; in 2 specimen growth was calculated. The last step water of city network was found suitable for usage and drinking.

Between two methods that was used for detecting coliform bacteria there was no statistical difference but multiple tube method was more effective in growing coliform bacteria than membrane filter method.

As a result; network water of Eskişehir was found microbiologically safe, but pump water was life threatening.

It's decided that; in detecting the coliform bacteria if multiple tube method and membrane filter method are used together, this will give more usefull results.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Su, canlılığın devamı, insanların biyolojik ve sosyal gereksinimleri için vazgeçilmeyecek temel bir maddedir.

Yeryüzünde bol miktarda su bulunmakta, ancak her zaman iyi kalitede su ekonomik ya da teknolojik nedenlerle halkın kullanımına sunulamamaktadır. Suyun iyi kalitede olması halk sağlığını yükseltmenin temel şartıdır.

İçme suyu denilince, akla içilebilen sular gelmektedir. Oysa gıdaların hazırlanması, temizlenmesi, alet, kap ve vücut temizliğinde kullanılan suların da aynı kalitede olması gerekmektedir. İyi kalitede sular renksiz, kokusuz, berrak olmalı, sağlığa zararlı kimyasal maddeleri ve infeksiyon etkeni olabilecek mikroorganizmaları içermemelidir (20).

Normalde doğadaki suların hepsi mikroorganizma içerir. Bunlar, yağmur suları, yerüstü suları (nehir, deniz, göl) ve yeraltı suları (kuyu, artezyen, kaynak) dır. Suların mikrop florası bölgelere ve koşullara göre farklılık gösterir. Yağmur suyu damlalar halinde yere inerken havayı yıkayarak mikroorganizmaları da kapsamına alır. Yeryüzüne değdiği andan itibaren çeşitli kirliliklerle beraber toprak mikroorganizmalarını ve diğerlerini de alır ve taşır (60).

Su, bazı infeksiyon hastalıklarının taşınması, sağlıklı kişilere bulaşması, hızla yayılarak epidemilere sebep olmasında rol oynadığı için, suyun temizliği üzerinde kesin karar verebilmek bakteriyolojik analizin yapılması ile gerçekleşir.

Bu çalışmada amaç Eskişehir bölgesinde içme ve kullanma suyu olarak, çalışmamıza başlamadan kısa bir süre önce hizmete sunulan Porsuk Arıtma Tesislerine ait şebeke suyu ile bu suyun kullanılmadığı kenar bölgelerde halen kullanılmakta olan bireysel artezyen, tulumba ve kuyu sularının bakteriyolojik yönden araştırılması ve sularda koliform bakteri aranmasında kullanılan Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemlerinin karşılaştırılmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Sularla oluşan hastalıklar uzun zamandır bilinmekte ve pek çok ülkede hala önemini korumaktadır. İnsan barsak hastalıklarının ana nedenlerinden biri mikroorganizmalardır. İçme suyunun insan ve hayvan dışkıları ile kirlenmesi bu mikroorganizmaların insanlara geçişindeki en önemli yoldur. İçilebilir suların bakteriyolojik analizi dışkı ile olan kirlenmenin araştırılması içindir.

Sularda bulunarak sağlığa zarar veren maddeler yalnız mikroorganizmalar değildir. Toprakta, çeşitli sanayi atıklarından, şebeke ve tesis materyalinden erimiş şekilde sulara karışabilen maddeler de sağlık için zararlı olabilir.

Hijyenik açıdan içme sularının öncelikle rutin bakteriyolojik kontrolleri yapılmalıdır. Ayrıca renk, tat, koku, bulanıklık gibi kimyasal incelemeler yapılmalı ve suyun bulunduğu bölge değerlendirilmelidir. Suyun bulunduğu bölgenin araştırmasında suyun çıkış yeri, geçiş yolları, yağmur ve kar erimesi ile olabilecek olası kirlilikler değerlendirilir. Yakın bölgede fosseptik çukuru olup olmadığı, yerüstü suları ile ilgisi araştırılır. Sularda normalin üzerinde amonyak, nitrit, nitrat ve organik madde varlığı genellikle dışkı karıştığını belirtmekle beraber, bitkilerin parçalanmaları sonucu da bu gibi maddeler oluşabilmektedir. Bu nedenle sulara dışkı karışıp karışmadığı en iyi bakteriyolojik yöntemlerle araştırılır (1, 13, 46, 57).

Suda bulunan bakteriler üç grupta incelenir.

### 1- Suyun doğal mikrop florası:

Spirillum, Vibrio, Pseudomonas, Achromobacter, Chromobacterium cinsi bakterilerdir. Bunların çoğu basit besiyerlerinde kolay ürerler ve optimum üreme ısıları 22°-25°C dir.

## 2- Toprakta suya karışan mikroorganizmalar:

Bacillus, Streptomyces, Enterobacteriaceae'nın saprofit türleridir.

## 3- İnsan ya da hayvan dışkısı ile kirlenme sonucu suda bulunabilen bakteriler:

Fekal koliformlar, Streptococcus faecalis, Clostridium perfringens ve diğer barsak patojenleridir (25,41).

İçme suyu açısından en yaygın tehlike doğrudan ya da dolaylı yol ile kontaminasyondur. Bu, lağım, çeşitli atıklar, insan ve hayvan çıkartıları ile oluşur. Eğer böyle bir kontaminasyon yakında olmuşsa ve bunu oluşturanlar arasında bulaşıcı enterik hastalığı olanlar ve taşıyıcılar varsa, neden olan etkenler suda bulunabilir. Böyle kirlenmiş bir suyun içilmesi ya da bazı gıda maddelerinin hazırlanmasında kullanılması, ileride o etkenin oluşturduğu hastalıkların ortaya çıkmasına yol açacaktır (14, 55, 56, 60)

İçme suları ile çeşitli virus, bakteri, protozoon ve helmint enfeksiyonları bulaşabilmektedir. Suyun kontaminasyonu toplumdaki mikrobiyal hastalıklar ve taşıyıcıların varlığı ile ilgilidir. Barsak patojenleri dünyada yaygın olarak bulunur. İçme suyu kontaminasyonu oluşturduğu bilinen bakteriyel patojenler Salmonella, Shigella, Enterotoxigenic Escherichia coli, Vibrio cholerae, Yersinia enterocolitica ve Campylobacter fetus'dur. Diğer mikroorganizmalar genelde çevrede bulunurlar ve patojen olarak dikkate alınmazlar, ancak arasına fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilirler (5, 27, 30, 35, 55).

Doğadaki su kaynakları üç grupta toplanır:

### 1- Yağmur Suları:

Bazı yerlerde damlarda toplanan yağmur suları sarnıç adı verilen depolarda biriktirilip kullanıma verilmektedir. Ancak bu sular atmosferdeki kirlilikleri de beraberinde taşımaktadır.



## 2- Yeraltı Suları:

Kaynak, artezyen ve kuyu sularıdır. Bu sular toprak tabakalarından süzüldüğü ve derinde bulunduğu için fazla mikroorganizma içermezler, ancak çatlak ve sızıntılar ile kontamine olabilirler.

## 3- Yerüstü Suları:

Dere, çay, nehir, göl ve deniz sularıdır. Bu sular yeraltı sularına göre daha fazla sayıda mikroorganizma taşımaktadır. Yüzey suları, insan, hayvan çıkartıları, yağmur ile atmosferden gelen kirlilikler, toprak ve endüstriyel atıklar ile kirlenebilmektedir (25,60).

Sudan kaynaklanan mikrobiyal enfeksiyonların tanınması insanlara temiz tüketim sularının sağlanmasını gerekli kılmıştır. Bu da suyun rutin muayenesi için çeşitli yöntemlerin geliştirilmesine yol açmıştır.

Bugün sudaki patojenlerin saptanması mümkün olmasına karşın, seyrek bulunuşları nedeniyle zor ve pratik olmayan bir yoldur. Bundan dolayı olası her patojen mikroorganizmayı içme suyunda saptamak yerine, daha kolay ve çabuk sonuç veren teknikler geliştirilmiştir (1,4,13,14,55,56,60).

## 2.1.SULARDA BULUNAN MİKROORGANİZMALAR ve ÖNEMLERİ

Suların dışkı ya da lağım suları ile kirlenip kirlenmediğini ve bu kirlenmenin derecesini anlamak için, su örnekleri bakteriyolojik yöntemlerle incelenmektedir. Kirlenmenin kısa sürede gösterilmesi ile çeşitli korunma yollarına başvurarak, tehlikeli sonuçlar önlenmektedir.

Suların bakteriyolojik analizinde uygulanan işlemler şunlardır:

- a- Koliform bakterilerin aranması
- b- Fekal streptokokların aranması
- c- Clostridium perfringes aranması
- d- Total germ sayısının saptanması

Sularda patojen mikroorganizmalar yerine yukarıda adı geçen ve "indikatör mikroorganizma" denen bazı spesifik bakteriler aranır. İdeal olarak böyle indikatörlerin bulunması, olası tüm patojenlerin varlığını gösterebilir. Koliform bakterilerin kirlenmenin indikatörü olarak değeri sınırlı olmasına karşın, hala dünyanın hemen her yerinde içme suyu kalitesinde primer indikatör olarak kullanılmaktadırlar. Kolay izole edilebilmeleri, sularda patojen mikroorganizmalardan daha uzun süre yaşamaları, dezenfektanlara daha dirençli olmaları, daha kolay tanımlanabilmeleri indikatör mikroorganizmaların tercih nedeni olmaktadır. Dışkı kirlenmesinin böyle indikatörler açısından araştırılması, içme suyunun kalite kontrolünü sağlar. İşlem görmemiş suların da bakteriyel kalitesinin araştırılması önemlidir. Bu, sadece kirlenmenin derecesini saptamada değil, aynı zamanda en iyi kaynağın ve uygulanan dezenfeksiyon yönteminin seçiminde de önemlidir (1, 4, 46, 50, 55, 56, 59).

Dışkı kirlenmesinin yukarıda adı geçen mikroorganizmalardan başka indikatörleri de vardır. Bifidobacterium ve Bacteroides gibi anaerob bakteriler feçesde koliformlardan daha fazla bulunurlar, fakat bunların saptanması ve sayımı rutin olarak uygulanmamaktadır (55).

### **2.1.1. Sularda Koliform Bakterilerin Varlığı ve Önemi**

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), su kontrol yöntemlerinde en değerli göstergenin koliform bakteriler ve özellikle dışkı kaynaklı Escherichia coli olduğu görüşündedir (55, 56).

Koliform bakteriler total koliform ve fekal koliform olarak iki grupta aranır.

#### **Total Koliformlar:**

Laktozu 35°-37°C de, 24-48 saatte asit, gaz ve aldehit

olarak fermente eden, safra tuzları varlığında üreyebilen, oksidaz negatif, sporsuz, Gram olumsuz, çomak şeklinde bakterilerdir. Suyu insan ve hayvan dışkılarından gelebildikleri gibi, toprak ve bitkilerden de karışabilirler. *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* türlerini kapsar (1,4,5,27,30,55,56).

#### **Fekal Koliformlar:**

Total koliformların alt grubunu oluştururlar. Total koliformların özelliklerine sahip olup, onlardan farklı olarak yüksek ısıda, 44°-44,5°C de üreme yeteneğindedirler. Ayrıca, bu ısıda triptofandan indol oluştururlar. Bu özelliklere sahip olan mikroorganizma *Escherichia coli* olarak tanımlanır. Fekal koliformlar, daha az olarak da *Enterobacter*, *Citrobacter* ve *Klebsiella* genusuna ait mikroorganizmaları içerirler. Ancak sadece *E. coli* spesifik olarak dışkı kaynaklıdır, *E. coli* insan, hayvan ve kuşların dışkısında çok miktarda daima bulunurken, dışkı ile kirlenmeye uğramayan su ya da toprakta nadiren bulunmaktadır (1,4,55,56).

Total koliformlar, özellikle tropikal iklimlerde doğada yaygın olarak bulduklarından, indikatör mikroorganizma olarak kabul edilmemeleri görüşü hakimdir. Ayrıca total koliformların kullanımının, korunmamış yüzeysel kaynak sularının dışkı ile kirliliğini tayin etmede değeri sınırlıdır. Bununla beraber, derin kuyu sularının fekal olmayan koliformlar ile kontaminasyonu nadiren olduğu için, bu sularda değeri olabilir (56).

Total koliformların ölçümü daha çok kullanılan suların dezenfeksiyon işlemine yöneliktir. Koliform bakteriler işlem görmüş sularda saptanmazlar, eğer bulunursa işlemin yetersizliği ya da işlem sonrası kontaminasyonu gösterir. Bu anlamda total koliform testi işlemin yeterliliğinin bir indikatörü gibidir. Ancak şebekede oluşan herhangi bir kontaminasyonun fekal orijinli olup olmadığını saptamak

önemlidir. Bu durumda hem total, hem fekal koliformlar ölçülmelidir. Yüzey suları ya da derin kuyu suları gibi işlem görmemiş su örnekleri için yalnız fekal koliformların aranması, suda patojen mikroorganizmaların bulunup bulunmadığını saptamak için yeterli bir kural olarak kabul edilmektedir (1,55, 56).

Koliform bakteriler içme sularında virusların ve parazitlerin varlığı ile doğrudan ilişkili olmamasına karşın, koliform testinin kullanımı içme ve kullanma suyunun mikrobiyal kalitesini ölçmede hala esastır. Bazı protozoon kistleri ve parazitler dezenfeksiyona koliformlardan daha dirençlidir. Dezenfekte edilmiş yüzey sularında koliform mikroorganizmaların olmaması Giardia, Amip, diğer parazit kist ve yumurtalarının olmadığını göstermez (55, 39).

### 2.1.2. Sularda Fekal Streptokokların Varlığı ve Önemi

Bir suda koliform mikroorganizma saptandığında, E. coli ve fekal koliformların bulunması şüphede kalmışsa, diğer indikatör mikroorganizmalar kirlenmenin dışkı niteliği hakkında bilgi vermede kullanılabilir. Bu mikroorganizmalardan fekal streptokoklar dışkıya ait kirlenmeyi gösterir ve normalde insan ile hayvan dışkılarında vardır (1,4,55).

Fekal streptokoklar Lancefield'in D serolojik grubuna aittir. Bu grup Streptococcus faecalis, S. faecium, S. durans, S. bovis ve S. avium suşlarını kapsar (5, 27, 30, 31).

S. faecalis, diğer streptokoklardan NaCl'ün yüksek yoğunluklarına ve ısıya daha dayanıklı oluşu ile ayrılmaktadır. Bu mikroorganizmalar 45°C de, % 40 safra tuzu bulunan ortamlarda, koliformlara ve diğer pek çok Gram olumsuz bakterilere inhibitör etki gösteren Sodyum azid varlığında üreme yeteneğindedirler. Ayrıca pH=9.6 da ve %

6.5 NaCl konsantrasyonunda üreyebilirler. Bazı türler 60°C de 30 dakika ısıtmaya dayanıklıdır, katalaz reaksiyonu negatiftir (4, 5, 27, 30, 40, 55).

Fekal streptokoklar kirli sularda nadiren çoğalır ve dezenfeksiyona koliformlardan biraz daha dirençlidirler. Bununla beraber orta derecede tuz konsantrasyonu olan sularda bulunmaları nedeni ile içme suyunun kalitesinin kontrolunda nadiren önerilirler (1, 4, 55).

Fekal koliformların, fekal streptokoklara oranı insan dışkısında 3/1'den büyük, hayvan dışkısında 0.7/1'den küçüktür. Bu farklı oran işlem görmemiş su kaynaklarının ağır kirlenmesinde fekal kirlenmenin, insan-hayvan çıkışlı olmasını saptamada önemlidir (55).

### **2.1.3. Sularda Clostridium perfringens Varlığı ve Önemi**

Clostridiumlar anaerobik, Gram pozitif, sporlu, çomak şeklinde bakterilerdir. Normal insan barsak florasında bulunan C. perfringens sporlarının suda saptanması, suyun dışkı ile kirlenmiş olduğunu gösterebilir. Dışkıdaki sayısı koliform grubu bakterilere göre çok azdır. Bu nedenle sudan izolasyonu için suya çok fazla miktarda dışkının karışmış olması gereklidir.

Clostridium sporları suda hem patojen bakterilerden, hem de koliformlardan daha uzun süre yaşayabilirler. Bu nedenle sporların saptanması suyun geçmişte dışkı ile kontamine olduğunu gösterir. Ayrıca yapılan dezenfeksiyonun konsantrasyon, temas süresi, pH gibi özellikleri yetersiz ise dezenfeksiyon işlemine direnç gösterirler. Dezenfekte edilmiş sularda bu sporların varlığı işlemin yetersizliğini gösterebilir. Ancak bu mikroorganizmalar toplanmaya eğilimli ve yaşam süreleri uzun olduğundan su dağıtım sistemlerinin rutin incelenmesinde uygun değildir (1, 55).

#### 2.1.4. Sularda Total Germ Sayısının Önemi

Rutin bakteriyolojik muayenede koliform testine ek olarak önerilen bir yöntemdir (1).

Total germ sayımı içme suyu sistemlerinin güvenilirliğinin belirlenmesi için zorunlu değildir. Fakat su arıtımında yer alan, filtrasyon, koagülasyon, dezenfeksiyon gibi kademelerin etkilerini, dağıtım sisteminin temizliğini ve doğruluğunu göstermesi bakımından önemlidir. Total germ sayımı aynı zamanda yiyecek ve içecek hazırlanan yerlere verilen suların güvenilirliğini belirlemek için de kullanılır. Buralarda kullanılan su ideal olarak hiç bir mikroorganizma içermemelidir. Bir su dağıtım sisteminden belli aralıklarla alınan su örneklerinin analizlerinde görülen değişiklik şüphe ile karşılanmalıdır. Daha önce koloni sayımlarının düşük olduğu bir kaynaktan birdenbire gözlenen yükselme değerli bir uyarı olmaktadır (40).

Suların değerlendirilmesinde fekal koliformların indikatör olarak kullanılması, viruslar açısından yeterli bir fikir vermemektedir. Enteroviruslar klorlamaya bakterilerden çok daha dayanıklı olduklarından, dezenfekte edilmiş sularda canlı viruslar bulunabilmektedir (39). Bu nedenle suların genel olarak kirlenmesinden çok, insan dışkısı ile kirlenmesinin saptanması büyük önem taşımaktadır. Ancak klasik bakteriyolojik yöntemlerle kirlenmenin insan ya da hayvan kaynaklı olup olmadığı ayrıl原因amamaktadır. Çeşitli araştırmalarda sorbitolü fermente eden bifidobakterilerin yalnızca insan dışkısında bulunduğu, hayvan dışkısında ise bulunmadığı ve bu nedenle suların insan dışkısı ile kirlendiğinin spesifik bir indikatörü oldukları ortaya konmuştur (11, 44, 46, 57).

Suların insan ve hayvan kaynaklı kirlenmelerinin ayırt

edilmesi, ayrıca kirlenmenin yeni ya da eski oluşunun belirlenmesi epidemiyolojik olarak önem taşımaktadır.

## 2.2. İÇME SUYU STANDARTLARI

İçme suyu sorunu toplum sağlığı hizmetleri içerisinde önem bakımından birinci sırada yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği içme suyu ile ilgili standartlar şöyledir (56):

	100 ml'deki bakteri sayısı	
	Fekal Koliform	Total Koliform
İşlem görmüş şebeke suyu	-	-
İşlem görmemiş şebeke suyu	-	3
Dağıtım şebekesi olmayan yerler	-	10

Avrupa içme suyu standartlarına göre ise, dezenfeksiyon işlemi tamamlanmış içme suyu şebekesine girişlerden alınan 100 ml su örneğinde koliform grubundan herhangi bir bakteri bulunmamalıdır. İçme suyu şebekesinden alınan 100 ml'lik örneklerin % 95'inde koliform grubundan herhangi bir bakteri olmamalıdır. Bu, 100 örnek tahlil edildiği zaman en fazla 5 örnekte koliform bakteri bulunmasına izin verilebileceği anlamındadır. Buna göre En Muhtemel Sayı litrede 1'den azdır (20).

Bir çok ülke bu konuda kendi koşullarına uygun standartlar belirlemişlerdir. Türkiye'de içme sularının 100 ml'sinde hiçbir koliform bakterinin bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (1).

## 2.3. SU ÖRNEKLERİNİN ALINMA SIKLIĞI

Dezenfekte edilen sularda haftada bir örnek alınır. Dezenfekte edilmeyen sularda örnek alma aralığı ise nüfusa bağlı olarak değişir (1,20).

Nüfus	Örnek alma sıklığı
2.000 - 10.000	2 ay
10.000 - 20.000	1 ay
20.000 - 50.000	15 gün
50.000 - 100.000	4 gün
> 100.000	1 gün

#### 2.4. SU ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

Bakteriyolojik amaçla alınan su örneği mümkün olduğunca çabuk bir şekilde deneye alınmalıdır. Bunun için gerekli önlemler tüm bakteriyolojik örnekler için geçerlidir.

- Örneklerin alınması için koyu renkli cam şişeler tercih edilir. Şişe ağızları pamuk ya da tıpa ile kapatılır. Şişe ağzı ve boynu kağıt ile sarılarak steril edilir.

- Örneğin alınması sırasında şişe boyun kısmından 2 cm aşağısına kadar doldurulur.

- Klorlama işlemi uygulanan sulardan örnek alınıyorsa sudaki mevcut kloru nötralize etmek için, 100 ml su örneğine 18 gr/lt sodyum tiyosülfat steril solüsyonundan 0.1 ml ilave edilir (41, 58, 59).

- Alınan su:

- Eğer çeşmeden alınıyorsa, 2 dakika süre ile su akıtıldıktan sonra musluk ağzı yakılarak steril edilir, 5 dakika süre ile su tekrar akıtılır, sonra şişe ağzı hiçbir yere değirilmeden su doldurulur.

- Dere, göl, ya da nehirden alınıyorsa, sahilden en az 1 metre öteden örnek alınır, şişe ağzı suya dik olacak şekilde batırıldıktan sonra yüzeyden 20 cm derinde, şişe akım yönünün tersine tutularak doldurulur.

- Kuyu ya da sarnıçtan örnek alınıyorsa dip kısmına taş bağlı olan şişe, boyun kısmından bağlı olan diğer ip yardımı ile, ağzı açık kalacak şekilde kuyuya sarkıtılarak doldurulur.



- Su örnekleri alındıktan sonra buz içinde tutularak, en geç 6 saat içinde laboratuvara ulaştırılır.

- Laboratuvara gelen örneklerin derhal işlemleri yapılır.

- Her örnek için bilgi formu doldurulur, su kaynağının cinsi, örneğin alındığı yer, tarih, işlem görüp görmediği, varsa artık klor miktarı kaydedilir (1,40,55,56).

## 2.5. SULARDA KOLİFORM BAKTERİLERİN ARANMASI

Bu amaçla iki temel yöntem uygulanmaktadır.

1. Tüp Sulandırım Yöntemi
2. Membran Filtre Yöntemi

### 2.5.1. Tüp Sulandırım Yöntemi

Uygun sıvı besiyeri içeren bir seri fermentasyon tüpüne su örneğinin test edilecek miktarlarının ekilmesine dayanır (1,4,6,17,50,55,56,59).

Yöntem üç basamakta yapılır:

- a- Tahmin Deneyi
- b- Doğrulama Deneyi
- c- Tamamlama Deneyi

İşlemden ilk adım tahmin deneyidir. 10 ml sıvı besiyeri içeren Durham tüplü fermentasyon tüplerine su örneği 10'un katları şeklinde, farklı volümlerde ekilir. Örneğin volümü ve sulandırım oranı incelenecek suyun şüphe edilen bakteri içeriğine göre seçilir. Alınan sonuçların güvenilirliği her bir örneğin ekildiği tüp sayısına bağlıdır. Genellikle su örnekleri 10 ml, 1 ml, 0.1 ml volümlerde, 5'er adet ekilir. Eğer su örneğinin ağır kontaminasyonundan şüphe ediliyorsa 1/100, 1/1000, .... gibi ileri sulandırımları yapılarak ekim yapılır (1,4,56).

Ekim yapılan tüplerin uygun ısıda, uygun süre inkübasyonu sonucu değerlendirmesi yapılır. Besiyeri içinde bulunan laktozun fermentasyonu ile oluşan gaz Durham tüpü içinde toplanır, ayrıca besiyeri indikatör madde içeriyorsa asit oluşumu gözlenir. Gaz ya da asit + gaz olan tüpler koliform bakteri yönünden şüpheli kabul edilerek doğrulama deneyine alınır.

Tahmin deneyinde kullanılan besiyerleri Minerals-Modified Glutamate Medium, Lauryl Tryptose Broth, Mac Conkey Broth, Lactose Broth, Balıklı Teepol'lü Laktozlu Buyyon olarak sıralanabilir (1,4,25, 53 -55).

Doğrulama deneyi işlemin ikinci basamağıdır. 10 ml Brilliant Green Lactose Bile Broth içeren Durham tüplü fermentasyon tüplerine, tahmin deneyi sonunda gaz oluşmuş tüplerden pasaj yapılır. Deneyin bu aşaması total ve fekal koliformların ayrı olarak elde edilmesi için farklı ısılarda inkübe edilmesini gerektirir. Bu nedenle tahmin deneyinde gaz oluşmuş bir tüpten 2 ayrı doğrulama deney tüpüne pasaj yapılır, tüplerden biri 37°C de, diğeri 44.5°C de inkübe edilir. 37°C total, 44.5°C fekal koliformların üremesi içindir. Fekal koliformların üremesi için Brilliant Green Bile Broth yerine EC Broth da kullanılabilir. İnkübasyon süresi sonunda gaz oluşturan tüpler koliform varlığını doğrular. Pozitif tüp sayıları ile Mac Crady'nin En Muhtemel Sayı cetvelleri kullanılarak 100 ml su örneğindeki total ve fekal koliform sayısı hesaplanır (4, 6, 17, 37, 40, 55). (Ek-1)

Koliform bakterilerin varlığının kesin olarak doğrulanması, üreyen bakterilerin izolasyonu ve tanımlanması ile gerçekleşir. Bu amaçla doğrulama deneyinde pozitif olan tüpler tamamlama deneyine alınır (1, 4, 21).

### 2.5.2. Membran Filtre Yöntemi

Tüp Sulandırım Yönteminin tersine Membran Filtre Yöntemi

suda var olan total ve fekal koliformların doğrudan sayımını verir (4,52,55).

Bu yöntem sellüloz bileşimli, 0.45 µm porçaplı bir membran filtreden suyun bilinen volümünün süzülmesi temeline dayanır. Bakteriler membran filtrenin yüzeyinde kalır. Membranlar seçici bir besiyeri üzerine yerleştirilerek uygun ısıda inkübe edilir. İnkübasyon süresi sonunda doğrudan sayılabilen total koliform ya da fekal koliform kolonileri ürer. Asit ya da aldehit oluşturan koloniler oluştuğundan ve gaz oluşumu gözlenmediğinden üreyen koloniler doğrulama deneyine alınmalıdırlar. Ancak, eğer su örneği iki ayrı membran filtreden süzülür, biri 37°C de, diğeri 44.5°C de inkübe edilirse doğrulama işlemi kolaylaştırılır, çünkü yüksek ısıda üreme ile fekal koliformlar hesaplanabilir (4,55,56).

Membran Filtre Yönteminde genelde 100 ml su volümü süzme için yeterlidir. Suyun volümü, membran filtre üzerinde 20-80 koloni (en fazla 200 koloni) üreyecek şekilde seçilmelidir. Volüm seçimi suyun tipine bağlıdır:

- |   |           |
|---|-----------|
| - İyi kalitede işlem görmüş şebeke suyu | 50-100 ml |
| - İşlem görmemiş şebeke suyu            | 10-50 ml  |
| - Yüzey suyu                            | 1-10 ml   |

olacak şekilde süzülür. Örneğin kaynağı bilinmiyorsa ve muhtemel bakteri içeriğine güvenilmiyorsa analize uygun sınır bulmak için aynı su örneği farklı volümlerde birden fazla membran filtreden süzülür. Eğer süzülecek volüm 10 ml'den az ise 20 ml steril sulandırım sıvısı ile karıştırılır (55,56).

Membran Filtre Yönteminde koliform bakterilerin üretilmesi için çeşitli besiyerleri geliştirilmiştir. Lactose Tergitol Agar, Lactose TTC - tergitol Agar, Membrane Lauryl Sulphate Broth, Mac Conkey Membrane Broth, m-Fekal coliform (m-FC) Medium, m-Endo Broth, m-Endo LES Agar gibi besiyerleri kullanılmaktadır. Bu besiyerlerinden ilk üçü hem

37°C de total koliform, hem de 44.5°C de fekal koliform üretimi için uygundur. Endo tipi besiyerleri yalnızca 37°C de total koliform, m-FC broth ve agar ise 44.5°C de fekal koliform üretiminde kullanılmaktadır (2,17,34,37,40,43,45,47,49,50).

Membran Filtre Yönteminde işlem, zenginleştirme ve tek adım yöntemi olarak iki ayrı şekilde yapılmaktadır (4,45).

Zenginleştirme yönteminde suyun süzülmesinden sonra membran filtre, selektif olmayan bir besiyeri bulunan petri kutusuna yerleştirilir, 37°C de 1.5-2 saat inkübe edilir. Bu sürenin sonunda, buradan alınan membran filtre, selektif bir besiyeri bulunan bir başka petri kutusuna aktarılır, total koliform üretimi için 37°C de, fekal koliform üretimi için 44.5°C de, 20-22 saat %90-100 nemli ortamda inkübe edilir (4,34,45,47).

Tek adım yönteminde ise, süzme işleminden sonra membran filtre, selektif bir besiyeri bulunan petri kutusuna yerleştirilerek total koliform üretimi için 37°C de, fekal koliform üretimi için 44.5°C de 24±2 saat inkübe edilir (4,43,45,50).

Her iki yöntem ile, inkübasyon süresi sonunda membran filtre üzerinde üreyen koloniler sayılarak, su örneğinin 100 ml'sindeki total ve fekal koliform miktarı hesaplanır.

Membran filtre üzerinde üreyen tek kolonilerin koliform bakteri olup olmadığının doğrulanması gerekmektedir. Bu hem incelenen suya, hem de muayene nedenine bağlıdır. Koliformların varlığının doğrulanması işlemi total koliformlar için 37°C de, fekal koliformlar için 44.5°C de laktozdan gaz oluşumunun gösterilmesine dayanır. Doğrulama deneyi Tüp Sulandırım Yönteminde uygulanan işlemler gibidir. Doğrulama deneyi pozitif olan örnekler için üreyen bakterinin saf kültürü elde edilir ve ayırıcı tanı testleri ile bakteri tanımlaması yapılır (4,6,9,23,42,56).

## 2.6. SULARDA FEKAL STREPTOKOKLARIN ARANMASI

Fekal streptokoklar suyun dışkı ile kirlenmesinin ikinci indikatörü olarak kabul edilmektedirler. Dışkıdaki sayısı koliform bakterilere göre daha azdır. Bununla beraber bir suda birlikte buldukları zaman koliform bakterilerin dışkı kaynaklı oldukları anlaşılır (25, 40).

Fekal streptokokları sularda aramak için iki yöntem kullanılır:

### 2.6.1. Tüp Sulandırım Yöntemi

Koliform bakterilerin aranmasında kullanılan besiyerinden farklı olarak, Glucose Azide Broth kullanılır. Uygun volümdeki su örneği besiyeri içeren tüplere ekilir. Streptokoklar üreme sırasında karbonhidratlardan asit oluştururlar. Uygun inkübasyon ısısı ve sürenin sonunda tüplerde asit, bulanıklık, sediment oluşumu fekal streptokok varlığını düşündürür. Pozitif reaksiyon veren tüpler doğrulama deneyine alınır. Sonuç "En Muhtemel Sayı" tablolarından hesaplanır (4,41,55,56).

### 2.6.2. Membran Filtre Yöntemi

Suyun belirli bir volümü membran filtreden süzülür, membran filtre sodyum azid ve bir karbonhidrat içeren m-Enterococcus agar ya da KF streptococcus agar besiyeri üzerine yerleştirilir. Uygun ısı ve sürede inkübe edildikten sonra membran filtre üzerinde üreyen kırmızı-kestane rengi koloniler fekal streptokok olarak sayılır (4,40).

## 2.7. SULARDA CLOSTRIDIUM PERFRINGENS ARANMASI

Clostridium perfringens aranması koliform bakterilerde olduğu gibi laktozlu bir sıvı besiyeri içeren fermentasyon

tüpleri kullanılarak gerçekleştirilir. Su örneği, besiyeri içeren fermentasyon tüplerine ekilip 80°C de 10 dakika tutularak bakteri sporları dışında tüm bakterilerin ölmesi sağlanır. Daha sonra uygun ısı ve sürede inkübe edilip gaz oluşumuna göre değerlendirilir (1,25,55).

## 2.8. TOTAL GERM SAYIMI

Total germ sayımı, adi ya da zenginleştirilmiş agar besiyerinde üreyebilen patojen ve saprofit tüm mikroorganizmaların sayılması temeline dayanır.

Deney kirlilik derecesine göre birkaç sulandırım yapılan su örneğinin (1/10, 1/100, 1/1000,....) 1 mililitresinin, 45°C de eritilmiş besiyeri ile karıştırılarak ekim yapılmasına dayanır (Pour Plate Tekniği). Bu amaçla en çok kullanılan besiyerleri Tryptone Glucose Extract Agar, Plate Count Agar'dır. 20°-22°C de 3 gün ve 37°C de 1 gün inkübasyon sonunda üreyen koloniler sayılır (40).

22°C de üreyen bakterilerin çoğu insan için hastalık yapıcı değildir. Sularda bulunan normal bakteri florası ile bu sulara hava ya da topraktan karışan bakteriler 22°C de üremektedirler. Bu deneyde ortaya çıkan koloni sayısı suda bulunabilen organik madde varlığı ile orantılıdır (25).

37°C de üreyen bakteriler arasında insan ve hayvan çıkartılarına ait bakteriler bulunmaktadır, fakat bazen bunların dışındaki bakteriler de üremektedir. Bu nedenle total germ sayımı suyun kirliliğini ölçmede tek başına kullanılmaz.

## 2.9. SULARIN BAKTERİYOLOJİK ANALİZİNDE UYGULANAN DİĞER YÖNTEMLER

Bugün hala suların bakteriyolojik kalitesini incelemede kullanılan her iki standart yöntemin (Tüp Sulandırım ve

Membran Filtre Yöntemleri), bazı eksiklikleri bulunduğundan bu konuda yeni teknikler geliştirilmiştir. Bu yeni tekniklerden biri Amerikan Halk Sağlığı Komitesince kabul edilen ve "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater"ın 16. baskısında yer alan "**Presence-Absence (PA)= Var - Yok Tekniği**" dir (4).

PA yöntemi, Tüp Sulandırım Yönteminin basitleştirilmiş bir temelde geliştirilmiş şeklidir. Test 250 ml'lik tek kültür şişesinden ibaret olup, 50 ml üç yoğunluklu laktozlu bir besiyeri ve fermentasyon tüpü içerir. Her su örneğinden bir adet 100 ml ekim yapılır. Uygun ısı ve sürede inkübasyon sonunda asit ve gaz varlığı yönünden incelenir. Tüp Sulandırım Yönteminde olduğu gibi "pozitif" örnekler doğrulama ve tamamlama deneylerine alınabilir. Bu test ile su örneğindeki koliform sayısı belirlenemez. Ancak kolay yapılabilir ve ucuz olması, Membran Filtre ve Tüp Sulandırım Yöntemlerinden daha iyi sonuçlar elde edilmesi nedeni ile yararlı bir tarama testi olarak önerilmektedir (4, 29, 42).

Bugün fekal kirlenmenin temel indikatörü olarak *Escherichia coli*'nin alınması gerektiği öne sürülmektedir. Bu amaçla spesifik olarak *E. coli*'yi saptayan iki yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden ilki *E. coli* tarafından oluşturulan  $\beta$  glucuronidase enziminin saptanmasında kullanılan "**4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronid (MUG) Testi**"dir. % 95'den fazlası fluoressan olmayan bir substrat olan MUG, *E. coli* tarafından hidrolize edilerek methyl umbelliferon'a çevrilir. Bu madde 366 nm dalga boyu UV ışığı altında fluoressan verir. Test, içine 100  $\mu$ g/ml MUG eklenen agar besiyeri ve membran filtre kullanılarak yapılır. Üreyen koloniler 366 nm dalgaboyu UV ışığı altında incelenerek MUG (+) ve MUG (-) olarak değerlendirilir. Fluoressan veren koloniler doğrulama ve tamamlama deneyine alınarak *E. coli* oldukları belirlenir (24, 37).

Shigella'ların % 50'si ve bazı Salmonella suşlarının bu enzimi üretebildikleri gösterilmiştir (26,54).

Spesifik olarak E. coli'yi saptayan diğer yöntem "**Autoanalysis Colilert (AC) Yöntemi**"dir. Hedef mikroorganizma için, spesifik bir besin indikatörü olarak hidrolize olabilen bir substrat kullanımı temeline dayanır. Bu substratı içeren bir seri tüpe suyun bilinen volümü ekilir. Tüpler uygun ısı ve sürede inkübe edilir, sarı renk oluşumu total koliform ürediğini gösterir. Pozitif tüpler 366 nm dalga boyu UV ışığı altında incelenir. Floresan veren tüpler spesifik olarak E. coli ürediğini gösterir. Pozitif tüp sayısına göre 100 ml su örneğindeki bakteri sayısı hesaplanır.

Yöntem 24 saat sonunda spesifik olarak total koliform ve E. coli'yi aynı anda saptayabilir, sularda bulunan total germlerden etkilenmez, hasar görmüş koliformları üretebilir, doğrulama testi gerektirmez, işlem basit, yorumu kolaydır (18, 19, 33).



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Aralık 1991 ile Mart 1992 tarihleri arasında Eskişehir'in değişik mahallelerinden 50 adeti şehir şebekesi, 93 adeti özel tulumba, 3 adeti artezyen ve 4 adeti arıtma tesis kademelerinden olmak üzere toplam 150 su örneği mikrobiyolojik yönden incelenmiştir.

Deneylerimizde sularda koliform bakteri aramak için Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemleri kullanıldı. Ayrıca total germ sayısı araştırıldı.

Çalışmamızda kullandığımız besiyerleri ve içerdiği maddeler ile diğer gereçlere ait teknik ve kullanım özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

#### 3.1. BESİYERLERİ ve ÇÖZELTİLER

##### 3.1.1. Lauryl Tryptose Broth (Oxoid)

a- Tek Yoğunluklu Lauryl Tryptose Broth

Tryptose	20.0 (g/lt)
Lactose	5.0
Sodium chloride	5.0
Dipotassium hydrogen phosphate	2.75
Potassium dihydrogen phosphate	2.75
Sodium lauryl sulphate	0.1

pH= 6.8±0.2

Toz halindeki bu karışımın 35.6 gramı 1000 ml distile suda eritildi. Durham tüpü içeren fermentasyon tüplerine 10'ar ml dağıtıldı. Tüplerin ağzı pamuklanarak otoklavda 121°C de 15 dakika süre ile sterilize edildi (1,49).

b- Çift yoğunluklu Lauryl Tryptose Broth

a şikkında verilen miktar 500 ml distile suda eritilerek aynı şekilde hazırlandı ve sterilize edildi.

c- Phenol Red Lauryl Tryptose Broth

a ve b şıkında verilen formüle 18 mg/lt Phenol Red ilave edilerek tek ve çift yoğunluklu olarak hazırlandı. Durham tüplü fermentasyon tüplerine 10'ar ml dağıtılarak 121°C de 15 dakika süre ile sterilize edildi (21).

**3.1.2. Brilliant Green Bile % 2 (Difco)**

Peptone	10.0 (g/lt)
Oxgall	20.0
Lactose	10.0
Brilliant green	0.0133

pH= 7.2±0.2

Bu karışımın 40 gramı 1000 ml distile suda eritildi. Durham tüpü içeren fermentasyon tüplerine 10'ar ml dağıtıldı. 121°C de 15 dakika süre ile sterilize edildi (1,16).

**3.1.3. Nutrient Agar**

Beef extract	3.0 g
Peptone	5.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000.0 ml

pH= 6.8±0.2

Besiyeri tüplerde yatık olarak hazırlandı (16).

**3.1.4. Eosin Methylene Blue (EMB) Agar (Oxoid)**

**3.1.5. Triple Sugar Iron (TSİ) Agar (Gibco)**

**3.1.6. Simmons Citrate Agar (Difco)**

**3.1.7. Üreli besiyeri**

### 3.1.8. Motility Indole Ornithine (MIO) besiyeri (Gibco)

#### 3.1.9. Clark ve Lubs besiyeri

Peptone	7.0 g
Glucose	5.0 g
Dipotassium phosphate	5.0 g
Distile su	1000.0 ml

Maddeler distile suda hafifçe ısıtılarak eritildi. Tüplere dağıtılıp 121°C de 15 dakika süre ile sterilize edildi. Clark Lubs besiyeri, Metil kırmızısı ve Voges Proskauer reaksiyonları için kullanıldı (15, 57).

#### 3.1.10. Plate Count Agar (Difco)

Tryptone	5.0 g
Yeast extract	2.5 g
Dextrose	1.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000.0 ml

121°C de 15 dakika süre ile sterilize edildi. Total germ sayımında kullanıldı (16).

#### 3.1.11. Tamponlu Sulandırım Sıvısı

Önce stok eriyik hazırlandı:

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	34.0 g
Distile su	500.0 ml

Tamamen eriyince molar NaOH eriyiği ile pH 7.2'ye ayarlandı. Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Kullanılacağı zaman 1.25 ml stok solüsyon, 1000 ml distile su ile karıştırıldı. Şişelere dağıtılıp ağzı kapatıldıktan sonra 121°C de 15 dakika süre ile sterilize edildi (1, 56).

### 3.1.12. Sodyum Tiyosülfat Çözeltisi

Sodyum tiyosülfat	18.0 g
Distile su	1000.0 ml

Çözündükten sonra 121°C de 15 dakika süre ile sterilize edildi (55).

### 3.1.13. Metil Kırmızısı Çözeltisi

### 3.1.14. Voges Proskauer Çözeltisi

### 3.1.15. Kovaks ayıracı.

## 3.2. SÜZME İŞLEMİNDE KULLANILAN GEREÇ VE ÖZEL ORTAMLAR

### 3.2.1 Membran Filtrasyon Aleti

50,100 ..... ml olarak derecelendirilmiş plastik süzgeç hunileri, geçirgen, gözenekli bir disk ve bunun bağlı olduğu bir vakum kaynağından ibaret olan "Gelman" marka filtrasyon aleti kullanıldı (40). (Resim 1,2)

### 3.2.2 Membran Filtre (= Zar Süzgeç)

Sellüloz nitrat yapısında, delik büyüklüğü 0.45 µm olan 47 mm çapında, beyaz renkli ve yüzeyi çizgili, "Millipore" marka filtreler kullanıldı (2,40,56). (Resim 3)

### 3.2.3. Absorban Pad (= Süzgeç Yastığı)

Bu amaçla Membran Filtre ile aynı çapta ve yaklaşık 2 ml sıvı besiyeri emebilen 5-6 katlı basit süzgeç kağıtları kullanıldı (4). (Resim 3)

### 3.2.4. Petri Kutusu

60 x 15 mm ebatlarında cam petri kutuları kullanıldı. İçine önceden kesilerek hazırlanmış 5-6 kat süzgeç kağıdı konularak kuru sıcak hava fırınında 170°C de 1 saat tutularak sterilize edildi (1, 2, 56). (Resim 3)

### 3.2.5. Membrane Lauryl Sulphate Broth (Oxoid)

Peptone	39.0 (g/lt)
Yeast Extract	6.0
Lactose	30.0
Phenol Red	0.2
Sodium Lauryl Sulphate	1.0

pH= 7.4±0.2

76.2 gram toz 1000 ml distile suda eritildi, 121°C de 15 dakika süre ile sterilize edildi (49).

## 3.3. UYGULANAN İŞLEMLER

### 3.3.1. Örnek Toplama Şişelerinin Hazırlanması

Örnek toplamak amacı ile 500 ml'lik koyu renk cam şişeler kullanıldı. Ağızları pamuklandıktan sonra baş ve boyun kısımları kağıt ile sarılarak indikatör bantla kapatıldı. Şişeler kuru sıcak hava fırınında 170°C de 60 dakika tutularak sterilize edildi (40, 56).

### 3.3.2. Su Örneklerinin Toplanması

Örneklerin 4'ü arıtma sisteminin çeşitli kademelerinden, 3'ü artezyen kuyularından, 93'ü özel tulumbalardan, 50'si şehir su dağıtım şebekesinin değişik bölgelerinden alındı.

Örneklerin alındığı bölgeler ve mahalleler Ek-2'de sunulan Eskişehir haritası üzerinde işaretlenmiş olarak gösterilmektedir.

Şebeke musluklarından su alınırken artık klor miktarına bakıldı. Klor içeren sular için şişelere önceden 18 mg/lt konsantrasyondaki steril sodyum tiyosülfat solüsyonundan 0.5 ml konuldu (40, 41, 58, 59).

Çeşme ve tulumbalardan su alınırken 2 dakika süre ile su akıtıldıktan sonra çeşme kapatılarak, musluk ya da tulumba ağzı yanan alkollü pamuk ile sterilize edildi. Tekrar 3-5 dakika süre ile su akıtıldıktan sonra şişe dolduruldu. Su örnekleri alındıktan sonra soğukta korunarak 3 saat içinde laboratuvara ulaştırıldı. Her örnek için örneğin alındığı yer, adres, tarih, örneğin kaynağı, bakiye klor içerip içermediği kaydedildi (40, 56).

### **3.3.3. Ekim Teknikleri**

Laboratuvara gelen su örneklerine 3 temel yöntem uygulandı.

- Tüp Sulandırım Yöntemi
- Membran Filtre Yöntemi
- Total Germ Sayımı

#### **3.3.3.1. Tüp Sulandırım Yöntemi ile Koliform Bakteri Aranması**

Yöntem 3 basamakta yapıldı:

- a- Tahmin Deneyi
- b- Doğrulama Deneyi
- c- Tamamlama Deneyi

**a- Tahmin Deneyi:** Bu basamakta çift ve tek yoğunluklu Lauryl Tryptose Broth kullanıldı. Ayrıca 20 su örneği, Fenol Red içeren Lauryl Tryptose Broth'a da ekildi (4,21,45,55).

Her bir besiyeri, içlerinde ters dönmüş Durham tüpü bulunan fermentasyon tüplerine 10'ar ml dağıtılarak önceden hazırlandı. Suyun tipine bakılmaksızın örnekler için 3 ayrı ekim yapıldı.

- Her biri 10 ml çift yoğunluklu Lauryl Tryptose Broth içeren 5 tüpe 10'ar ml,
- Her biri 10 ml tek yoğunluklu Lauryl Tryptose Broth içeren 5 tüpe 1'er ml,
- Her biri 10 ml tek yoğunluklu Lauryl Tryptose Broth içeren 5 tüpe 1/10 sulandırımındaki su örneğinden 1'er ml ekim yapıldı.

Örnekler 37°C lik etüvde inkübe edildi, 24 ve 48 saatin sonunda değerlendirmeye alındı. Bu sürelerin sonunda Fenol Red içermeyen Lauryl Tryptose Broth bulunan tüplerde gaz varlığı, Fenol Red Lauryl Tryptose Broth bulunan tüplerde asit ve gaz varlığı koliform bakteri yönünden "pozitif" olarak değerlendirildi. 48 saatin sonunda gaz ya da gaz + asit oluşmayan tüpler "koliform negatif" olarak sonuçlandırıldı. Pozitif tüpler doğrulama deneyine alındı (1,4,21,56). (Resim 4,5,6)

**b- Doğrulama Deneyi:** Bu aşamada Brilliant Green Bile % 2 (Brilliant Green Safralı, Laktozlu Buyyon) kullanıldı. Durham tüpü içeren fermentasyon tüplerine 10'ar ml dağıtılarak hazırlandı. 24 ve 48 saatin sonunda pozitif reaksiyon veren her Lauryl Tryptose Broth tüpünden 2 adet Brilliant Green Bile Broth tüpüne 1-2 öze dolusu örnek pasajlandı. Tüplerden biri 37°C de 48±3 saat, diğeri 44.5°C de 24±2 saat inkübe edildi. 1. tüpte 24 ve 48 saatin sonunda gaz oluşumu total koliform varlığını, 2. tüpte 24±2 saat

sonunda gaz oluşumu fekal koliform varlığını doğruladı. Gaz oluşumu gözlenmeyen tüpler koliform bakteri yönünden "negatif" olarak sonuçlandırıldı (1, 4, 21, 56). (Resim 7)

Pozitif tüp sayısına göre 100 ml su örneğinde En Muhtemel Koliform Sayısı (Most Probable Number= MPN), Ek-1'de verilen Mac Crady cetvellerinden bulundu (40, 56).

**c- Tamamlama Deneyi:** Gaz "pozitif" olan Brilliant Green Bile Broth tüpleri, koliform bakterilerin saf kültür halinde elde edilmesi ve tanımlanabilmeleri için tamamlama deneyine alındı. Pozitif tüplerden öze ile EMB agar besiyerine tek koloni düşürerek ekim yapıldı. 24 saat 37°C de inkübasyon sonucu üreyen tipik ya da atipik kolonilerden hem Lauryl Tryptose Broth içeren fermentasyon tüplerine, hem de yatık Nutrient agar besiyerine pasaj yapıldı. Lauryl Tryptose Broth tüpleri 37°C de 24-48 saat, yatık agar 37°C de 24 saat inkübe edildi. Lauryl Tryptose Broth'da gaz varlığı, yatık agarda üreyen kolonilerin Gram boyanmasında sporsuz, Gram negatif basillerin görülmesi koliform bakteri varlığını gösterdi. Lauryl Tryptose Broth'da gaz oluşmayan örnekler "koliform bakteri yoktur" diye sonuçlandırıldı. Gram boyama sonucu Gram negatif ve pozitif basillerin birlikte bulunması halinde yeniden Lauryl Tryptose Broth ve yatık agar besiyerlerine ekimler yapılarak aynı işlemler tekrarlandı (1, 4). (Şekil 1)

Deneylerin sonunda izole edilen bakterilerin tanımlanması için biyokimyasal ayırıcı tanı testleri uygulandı. Üreyen kolonilerden TSI agar, Simmons Sitrat agar, üreli besiyeri ve MIO besiyerine ekildi. 44.5°C de indol oluşumu araştırıldı. Bu işlemin sonunda TSI besiyerinde asit (+), gaz (+), H<sub>2</sub>S (-), sitrat (-), üreaz (-), 44.5°C de indol oluşumu (+) sonuç veren koloni fekal



kaynaklı E. coli olarak tanımlandı. Tanımlanamayan koloniler için Metil Kırmızısı ve Voges Proskauer deneyleri uygulandı (5,12,27,30,35,54).

**Metil Kırmızısı Deneyi:** Elde edilen saf suştan Clark Lubs besiyerine ekildi. 3-5 gün 37°C de inkübe edildi. Bu sürenin sonunda kültüre 5-10 damla metil kırmızısı çözeltilisinden eklendi. Besiyerinin renginin sarıdan kırmızıya dönüşümü testin pozitif olduğunu, değişmemesi ise negatifliğini gösterdi (3,15,57).

**Voges Proskauer Deneyi:** İzole edilen saf suştan Clark Lubs besiyerine ekim yapıldı, aynı şekilde 3-5 gün 37°C de inkübe edildi. Daha sonra A çözeltilisinden 0.6 ml, B çözeltilisinden 0.2 ml ilave edildi. Oda sıcaklığında 30 dakika içinde menekşe renginin oluşumu "pozitif", oluşmaması "negatif" olarak değerlendirildi (3,15,57).

### **3.3.3.2. Membran Filtre Yöntemi ile Koliform Bakteri Aranması**

Çalışmamızda Eskişehir ili Devlet Su İşleri III. Bölge Müdürlüğü Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan Gelman marka filtrasyon aleti kullanıldı.

Süzme işlemine başlamadan önce süzgeç yastıkları yerleştirilmiş petri kutuları steril edildi. Her birine 2-2.5 ml Membrane Lauryl Sulphate Broth döküldü. Diğer taraftan filtrasyon aleti hazırlandı. Filtre hunileri 30 dakika kaynatılarak sterilize edildi. Filtrasyon aleti vakum kaynağına bağlandı. Steril membran filtre, steril bir pens ile gözenekli disk üzerine yerleştirildi (Resim 8). Steril filtre hunisi membran filtre üzerine konuldu. Her su örneği iki ayrı membran filtreden aynı volümde süzüldü. Süzme için seçilen suyun volümü su kaynağına göre değişti. Dağıtım

şebekesinin çeşitli yerlerinden alınan sular 100 ml, tulumba suları ise bulanıklık dereceleri göz ile değerlendirilerek 10-50 ml volümde süzüldü. 10 ml olan örnekler huni içine boşaltıldıktan sonra 20 ml tamponlanmış sulandırım sıvısı ilave edildi, vakum sistemi açılarak süzme işlemi başlatıldı. Suyun süzülmesinden sonra huninin içine steril sulandırım sıvısı dökülerek huni çeperlerinin yıkanması sağlandı ve bu da süzüldü. Süzme işlemi biter bitmez vakum sistemi kapatıldı. Membran filtre steril bir pens ile alınarak besiyeri dökülmüş süzgeç yastığı üzerine arada hava kabarcığı kalmaksızın ve membran filtrenin bakteri taşıyan yüzü yukarı gelecek şekilde yerleştirildi (Resim 9). Her su örneği için süzölmüş olan 2 membran filtreden biri 37°C, diğeri 44.5°C de, %100 nem ortamında 24 saat süre ile inkübe edildi. 24 saatin sonunda membran filtre üzerinde, 37°C de üreyenler total koliform, 44.5°C de üreyenler fekal koliform olarak tahmin edildi ve sayılarak 100 ml volümdeki bakteri sayısı hesaplandı (2, 4, 40, 52, 56). (Resim 10)

$$100 \text{ ml'deki total (fekal) koliform sayısı} = \frac{\text{Sayılan total (fekal) koliform sayısı}}{\text{Süzülen örneğin volümü}} \times 100$$

Membran filtre üzerinde üreyen, total ve fekal koliform olduğu tahmin edilen koloniler doğrulama deneyine alındı. Tipik ve atipik koloniler aynı anda Lauryl Tryptose Broth ve Brilliant Green Bile Broth içeren fermentasyon tüplerine pasaj yapılarak 37°C de 24-48 saat, 44.5°C de 24 saat inkübe edilerek, gaz varlığı yönünden incelendi. Gaz pozitif olan tüplerden total ve fekal koliformlar doğrulandı. Pozitif tüplerden EMB agara ekim yapılarak bakterilerin saf kültürleri elde edildi. Bakteri tanımlanması için Tüp Sulandırım Yönteminde anlatılan biyokimyasal ayırıcı tanı testleri uygulandı (6, 9, 23, 29, 33, 42).

### 3.3.3.3. Total Germ Sayısının Hesaplanması

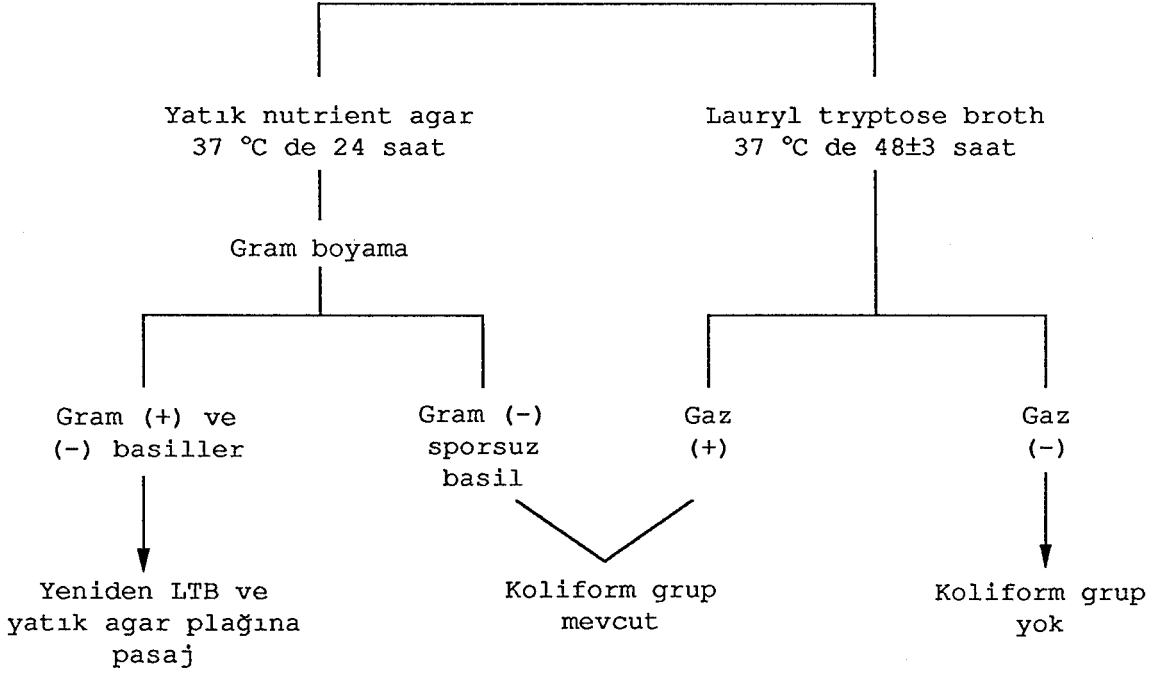
Bu amaçla Plate Count Agar kullanıldı. Besiyeri sterilize edildikten sonra, kullanılacağı zaman tekrar eritildi. Her su örneği için 2 adet steril petri kutusu hazırlandı ve önce 1'er ml su örneği ekildi, sonra 45°C ye soğutulmuş besiyerinden 10'ar ml dökülerek dairesel hareketlerle su ile besiyerinin iyice karışması sağlandı. Ekim yapılmış petri kutularından biri 22°C de 3 gün, diğeri 37°C de 1 gün süre ile inkübe edildi. Üreyen tüm koloniler sayılarak mililitredeki total germ sayısı hesaplandı (1,40,59).

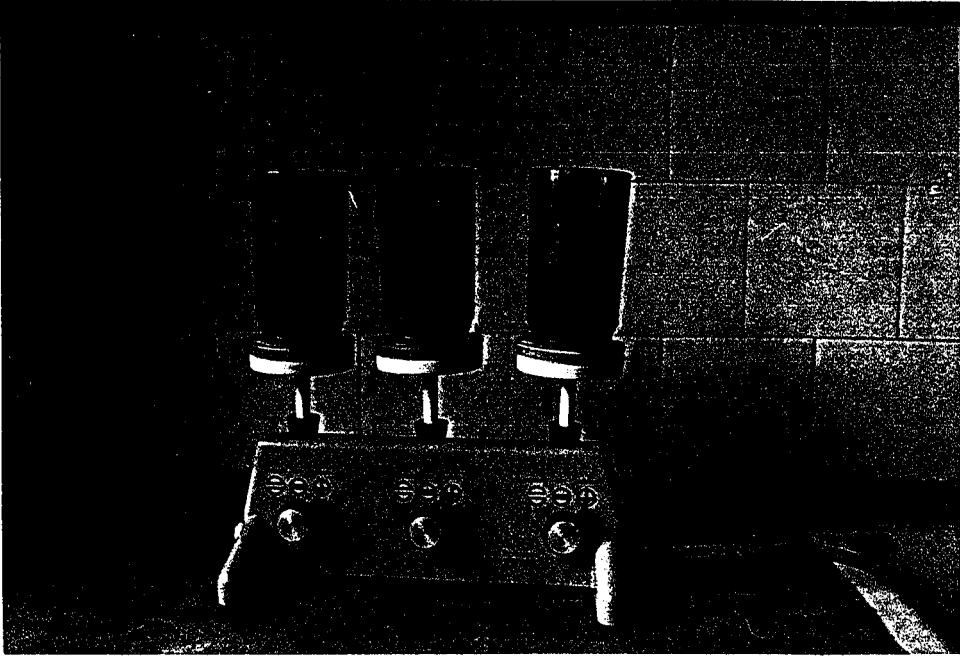


## TAMAMLAMA DENEYİ

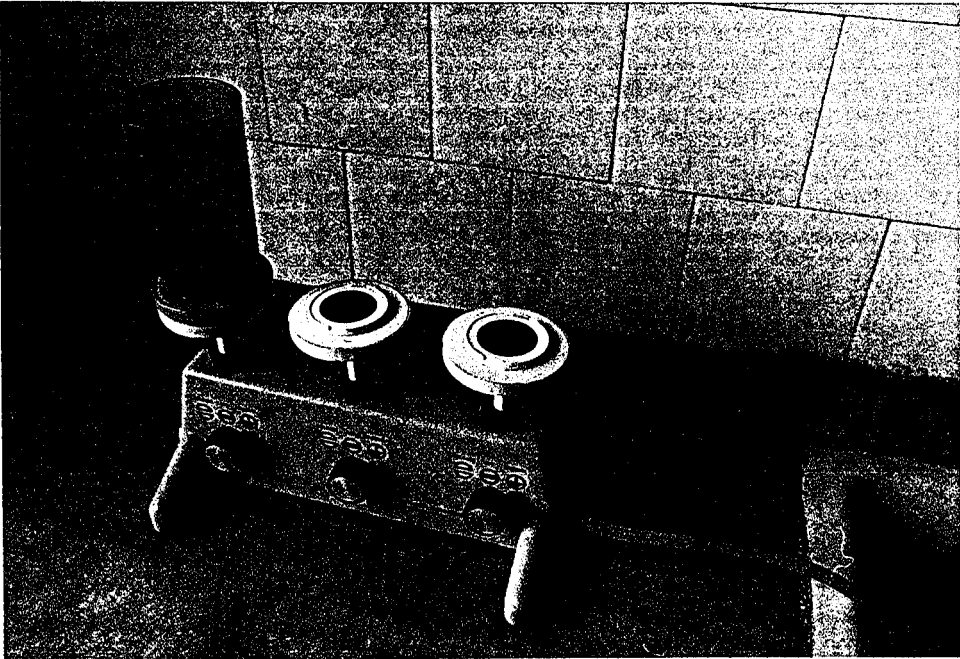
35 - 37 °C de 48 saat, 44 -44.5 °C de 24 saat  
sonunda Gaz (+) tüpler

↓  
EMB - Endo agar pasajı  
35 - 37 °C de saat





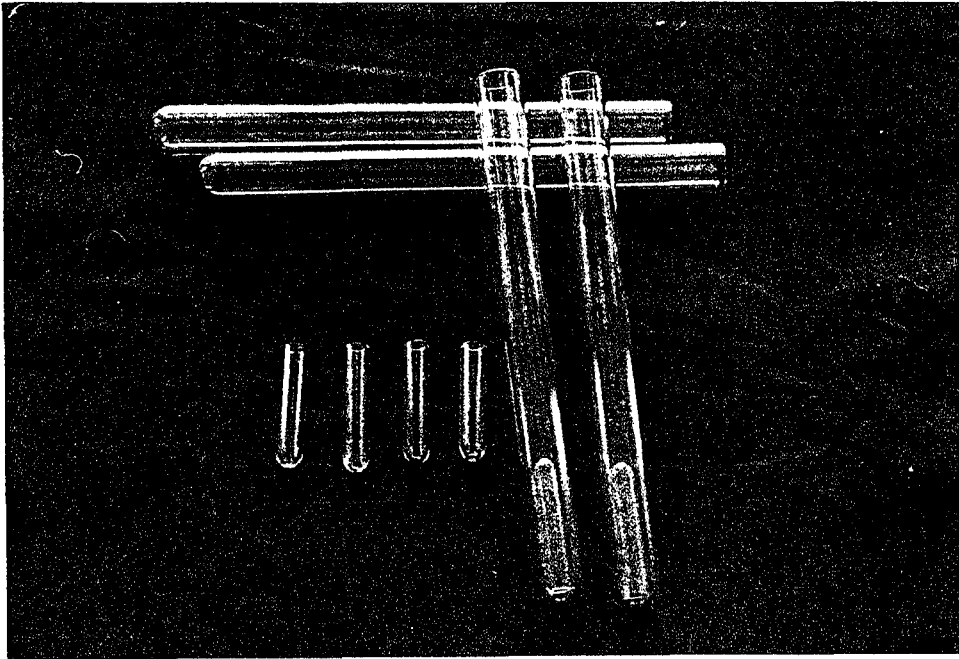
Resim 1: Membran Filtrasyon Aleti



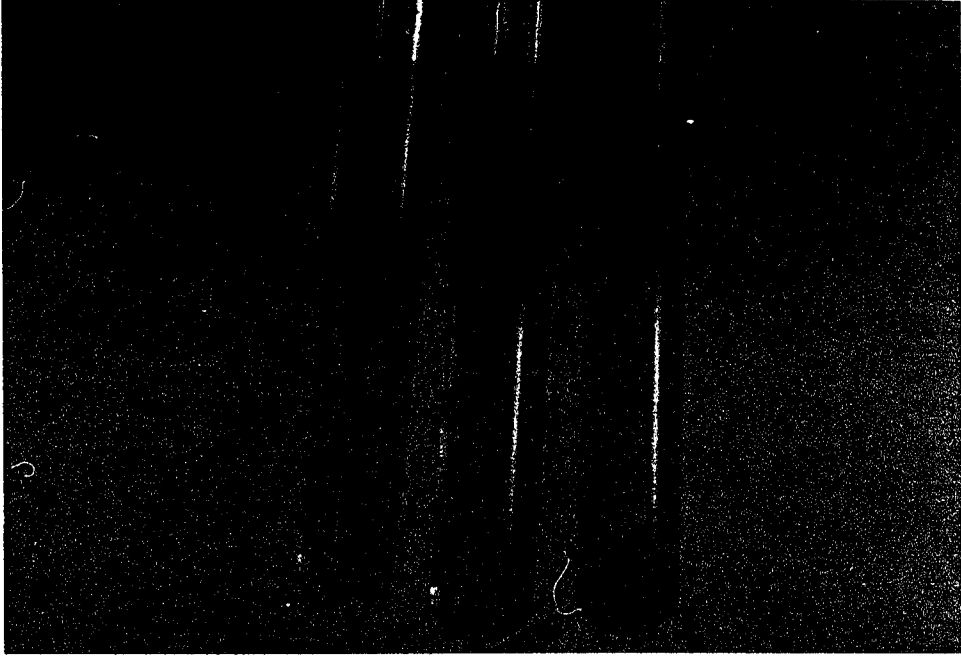
Resim 2: Membran Filtrasyon Aletinde Süzgeç Hunisi ve Huninin Üzerine Yerleştirildiği Gözenekli Diskler



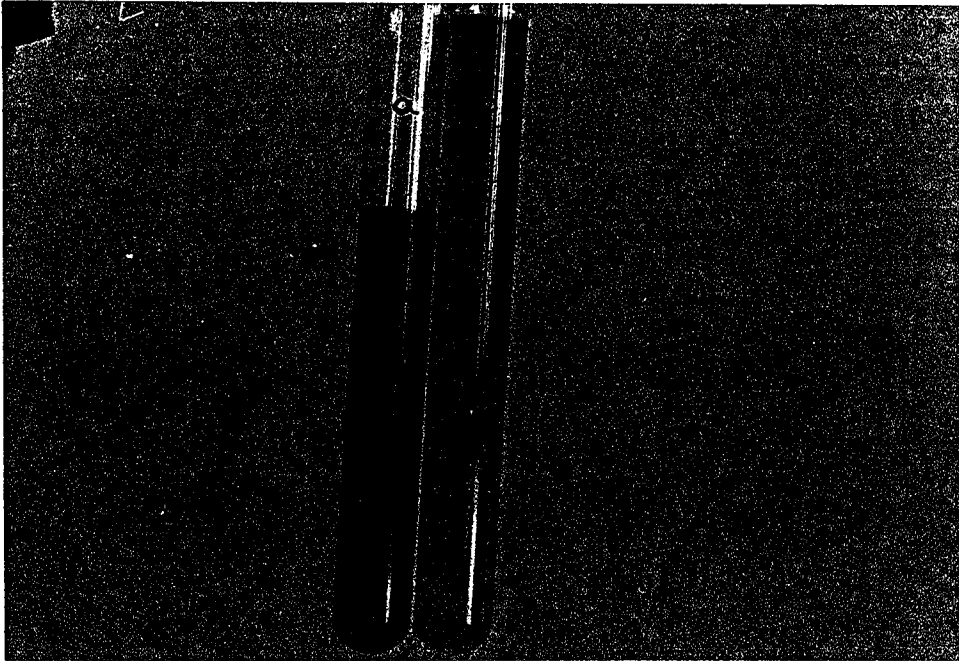
Resim 3: Membran Filtre Yönteminde Kullanılan Petri Kutusu,  
Süzgeç Yastığı ve Membran Filtre



Resim 4: Tüp Sulandırım Yönteminde Kullanılan Durham Tüplü  
Fermentasyon Tüpleri

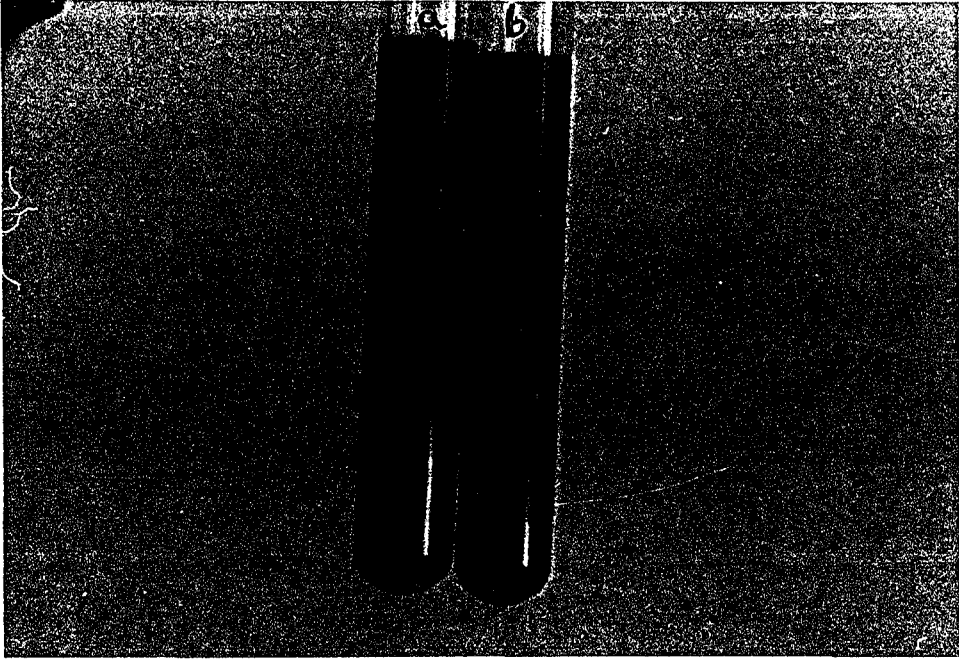


Resim 5: Tahmin Deneyinde Kullanılan Besiyerleri  
a- Tek Yoğunluklu Lauryl Tryptose Broth  
b- Çift Yoğunluklu " " "  
c- Üreme Sonucu Durham Tüpü İçinde Gaz Oluşumu

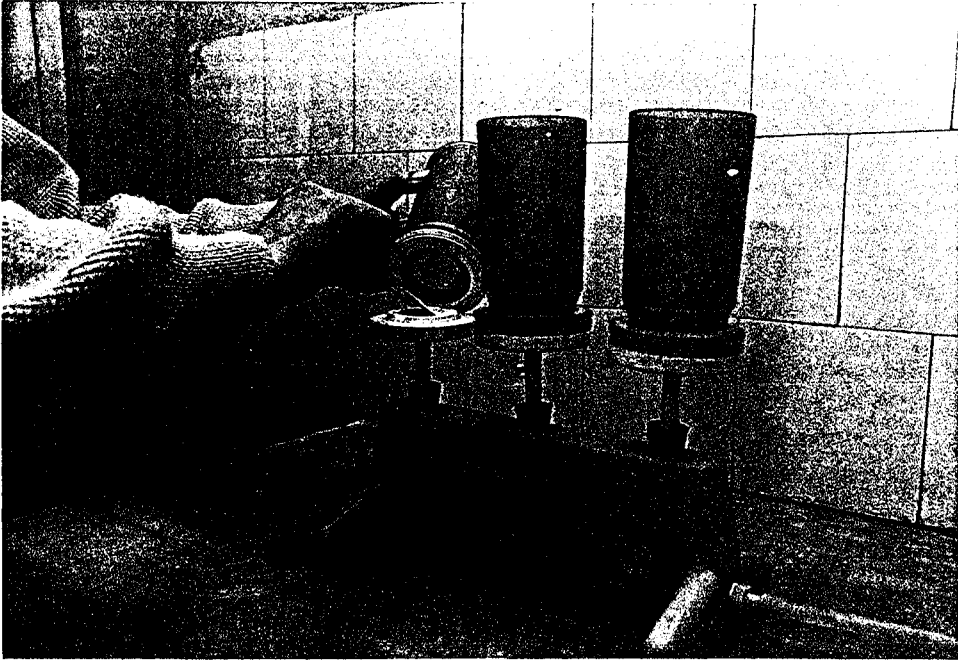


Resim 6: a- Fenol Red İçeren Lauryl Tryptose Broth (FRLTB)  
b- Ekim Yapılmış FRLTB'da Asit ve Gaz Oluşumu





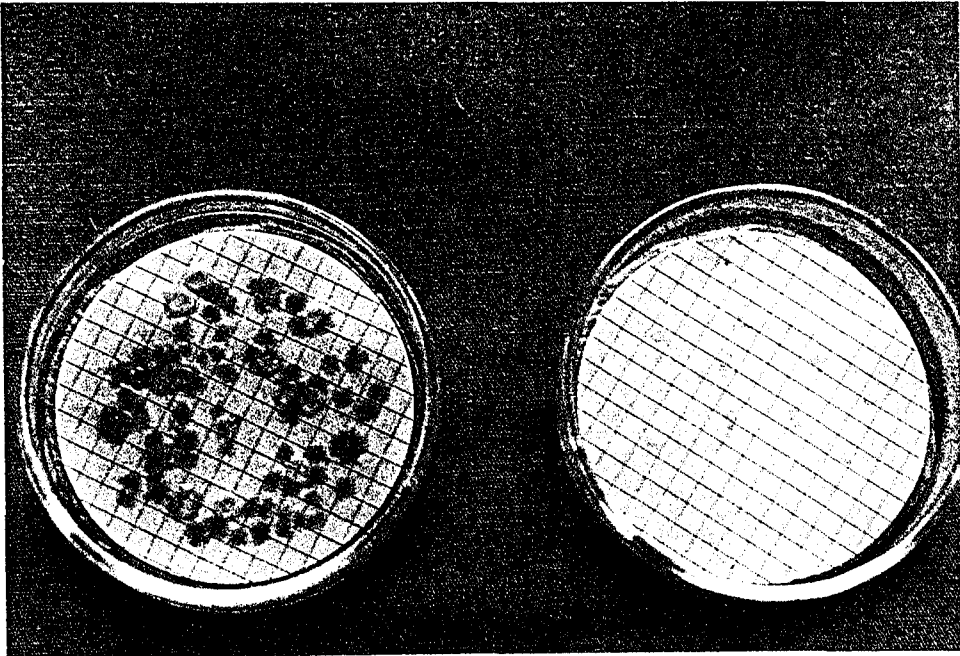
Resim 7: a- Doğrulama Deneyinde Kullanılan Brilliant Green  
Bile Broth  
b- Üreme Sonucu Gaz Oluşumu



Resim 8: Membran Filtrenin Gözenekli Disk Üzerine  
Yerleştirilmesi



Resim 9: Membran Filtrenin Besiyeri Dökülmüş Petri Kutusuna Yerleştirilmesi



Resim 10: Membran Filtre Üzerinde Üreyen Koliform ve Koliform olmayan bakteriler

#### 4. BULGULAR

Aralık 1991 ile Mart 1992 tarihleri arasında yaptığımız çalışmada Eskişehir'in değişik bölgelerinden 93 tulumba, 4 Arıtma Tesisi, 3 Artezyen ve 50 Şehir şebeke suyu olmak üzere toplam 150 su örneği alındı.

Tüm su örneklerine koliform bakteri aramada kullanılan Tüp Sulandırım Yöntemi ve Membran Filtre Yöntemi uygulandı. Ayrıca 1 ml su örneğindeki canlı bakteri sayısını hesaplamak için Total Germ Sayısı'na bakıldı. Su örneklerinin alındığı mahallelerin bölgelere göre dağılımı şu şekilde düzenlendi:

Birinci bölge olarak belirlediğimiz Zincirlikuyu, Şirintepe, Yeşiltepe mahallelerinden 9 şebeke, 23 tulumba suyu olmak üzere toplam 32 örnek, ikinci bölge olarak belirlediğimiz Sütlüce, Esentepe, Fevzi Çakmak, Şarhöyük mahallelerinden 13 şebeke, 34 tulumba suyu olmak üzere toplam 47 örnek, üçüncü bölge olarak belirlediğimiz Çamlıca, Sazova mahallelerinden 9 şebeke, 18 tulumba olmak üzere toplam 27 su örneği alındı. Dördüncü bölge olarak belirlediğimiz Büyükdere, Gültepe mahallelerinden 6 şebeke, 12 tulumba suyu olmak üzere toplam 18 örnek, beşinci bölge olarak belirlediğimiz Gökmeşdan, Yenidoğan, Erenköy, 71 Evler mahallelerinden 13 şebeke, 6 tulumba suyu olmak üzere toplam 19 örnek alındı. 4 su örneği Arıtma Tesisi'nin çeşitli kademelerinden, 3 artezyen su örneği Devlet Su İşleri deposu, İller Bankası deposu ve Tıp Fakültesi Hastanesi deposuna bağlı çeşmelerden alındı. Örneklerin alındığı yer ve sayılar Tablo 1'de, bölgeler ve mahalleler Ek-2'deki Eskişehir haritası üzerinde işaretlenmiş olarak gösterilmektedir.

Tablo 1: Su örneklerinin alındığı bölgelere göre dağılımı

	Şebeke	Tulumba
1. Bölge:		
Zincirlikuyu	3	13
Şirintepe	3	4
Yeşiltepe	3	6
2. Bölge:		
Sütlüce	3	6
Esentepe	3	7
Fevzi Çakmak	4	16
Şarhöyük	3	5
3. Bölge:		
Çamlıca	5	10
Sazova	4	8
4. Bölge:		
Büyükdere	3	7
Gültepe	3	5
5. Bölge:		
Gökmeydan	4	-
Yenidoğan	3	-
Erenköy	3	-
71 Evler	3	6
Arıtma Tesisi	4	
Devlet Su İşleri	1	
İller Bankası	1	
Tıp Fak. Hastanesi	1	

Bulunan sonuçlar suların kaynağına göre sınıflandırma yapılarak aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 2 : Tulumba suyu örneklerinin bakteriyolojik analiz sonuçları

	Örneğin alındığı yer	Tüp Sulandırım Y. 100 ml suda		Membran Filtre Y. 100 ml suda		Total Germ Sayımı 1 ml suda		İzole edilen mikroorganizma
		37°C	44.5°C	37°C	44.5°C	37 °C	22 °C	
		TK* Sa.	FK** Sa.	TK Sa.	FK Sa.			
1	Zincirlikuyu	7	-	-	-	12	100	Klebsiella
2	Zincirlikuyu	-	-	4	2	2	55	E. coli
3	Zincirlikuyu	-	-	-	-	-	12	
4	Zincirlikuyu	5	5	-	-	-	34	E. coli
5	Zincirlikuyu	-	-	-	-	-	17	
6	Zincirlikuyu	110	-	74	-	21	350	Klebsiella
7	Zincirlikuyu	-	-	-	-	-	26	
8	Zincirlikuyu	540	540	120	120	24	> 500	E. coli
9	Zincirlikuyu	8	8	-	-	1	270	E. coli
10	Zincirlikuyu	70	-	62	-	25	250	Klebsiella
11	Zincirlikuyu	-	-	-	-	12	> 500	
12	Zincirlikuyu	-	-	-	-	4	260	
13	Zincirlikuyu	5	5	4	2	3	380	E. coli
14	Şirintepe	4	4	-	-	8	> 500	E. coli
15	Şirintepe	5	-	-	-	27	450	Enterobacter
16	Şirintepe	-	-	-	-	7	> 500	
17	Şirintepe	4	4	-	-	1	48	E. coli
18	Yeşiltepe	-	-	8	-	-	264	Klebsiella
19	Yeşiltepe	-	-	-	-	4	150	
20	Yeşiltepe	-	-	-	-	-	21	
21	Yeşiltepe	-	-	-	-	3	310	
22	Yeşiltepe	79	79	52	48	43	250	E. coli
23	Yeşiltepe	8	-	-	-	3	150	E. coli
24	Sütlüce	5	5	2	-	11	125	E. coli
25	Sütlüce	13	-	2	-	3	78	Klebsiella
26	Sütlüce	-	-	-	-	21	> 500	
27	Sütlüce	33	-	26	-	10	120	Enterobacter
28	Sütlüce	14	14	14	12	8	140	E. coli
29	Sütlüce	-	-	-	-	12	> 500	
30	Esentepe	-	-	-	-	-	300	
31	Esentepe	-	-	-	-	2	170	

\*TK Sa.: Total Koliform Sayısı

\*\*FK Sa.: Fekal Koliform Sayısı

	Örneğin alındığı yer	Tüp Sulandırım Y. 100 ml suda		Membran Filtre Y. 100 ml suda		Total Germ Sayımı 1 ml suda		İzole edilen mikroorganizma
		37°C	44.5°C	37°C	44.5°C	37 °C	22 °C	
		TK* Sa.	FK** Sa.	TK Sa.	FK Sa.			
32	Esentepe	14	9	8	6	8	135	E. coli
33	Esentepe	26	-	14	-	7	33	E. coli
34	Esentepe	-	-	-	-	3	170	
35	Esentepe	540	540	120	100	13	450	E. coli
36	Esentepe	350	350	140	80	28	400	E. coli
37	Fevzi Çakmak	70	14	16	12	15	250	E. coli
38	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	3	200	
39	Fevzi Çakmak	14	11	10	2	10	190	E. coli
40	Fevzi Çakmak	79	79	48	40	15	270	* E. c. + K.
41	Fevzi Çakmak	2	2	6	4	5	90	Klebsiella
42	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	5	> 500	
43	Fevzi Çakmak	23	23	16	12	25	280	E. coli
44	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	2	120	
45	Fevzi Çakmak	29	25	30	26	10	95	E. coli
46	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	5	48	
47	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	4	36	
48	Fevzi Çakmak	14	14	12	4	12	250	Enterobacter
49	Fevzi Çakmak	2	-	2	-	4	79	E. coli
50	Fevzi Çakmak	2	2	14	8	9	52	E. coli
51	Fevzi Çakmak	11	11	8	2	21	125	E. coli
52	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	11	> 500	
53	Şarhöyük	-	-	2	2	3	150	E. coli
54	Şarhöyük	-	-	-	-	-	210	
55	Şarhöyük	-	-	-	-	5	75	
56	Şarhöyük	5	2	4	2	3	128	E. coli
57	Şarhöyük	5	-	4	-	-	17	E. coli
58	Çamlıca	-	-	4	6	-	33	E. coli
59	Çamlıca	-	-	-	-	-	120	
60	Çamlıca	-	-	-	-	8	55	
61	Çamlıca	-	-	-	-	2	300	
62	Çamlıca	350	350	300	250	28	> 500	** E.c. + Ent.

\*E. c. + K. : E. coli + Klebsiella

\*\*E. c. + Ent.: E. coli + Enterobacter

	Örneğin alındığı yer	Tüp Sulandırım Y. 100 ml suda		Membran Filtre Y. 100 ml suda		Total Germ Sayımı 1 ml suda		İzole edilen mikroorganizma
		37 °C TK* Sa.	44.5 °C FK** Sa.	37 °C TK Sa.	44.5 °C FK Sa.	37 °C	22 °C	
63	Çamlıca	-	-	-	-	8	270	
64	Çamlıca	> 1800	> 1800	Sayılamıyacak kadar çok		120	> 500	E. coli
65	Çamlıca	-	-	-	-	15	240	
66	Çamlıca	540	540	200	200	63	400	E. coli
67	Çamlıca	-	-	-	-	21	135	
68	Sazova	-	-	-	-	-	> 500	
69	Sazova	540	540	150	120	74	> 500	E. c. + K.
70	Sazova	11	11	-	-	3	175	E. coli
71	Sazova	5	-	8	-	2	55	Klebsiella
72	Sazova	-	-	-	-	4	68	
73	Sazova	4	4	-	-	-	150	E. coli
74	Sazova	7	-	2	-	5	220	Enterobacter
75	Sazova	220	170	150	120	80	> 500	E. c. + K.
76	Büyükdere	14	7	12	4	5	88	E. c. + K.
77	Büyükdere	-	-	-	-	3	110	
78	Büyükdere	22	14	18	10	4	200	E. coli
79	Büyükdere	17	-	10	-	8	350	E. coli
80	Büyükdere	-	-	-	-	11	200	
81	Büyükdere	9	9	12	10	3	150	E. coli
82	Büyükdere	-	-	-	-	-	30	
83	Gültepe	33	-	26	-	1	120	E. coli
84	Gültepe	-	-	-	-	3	200	
85	Gültepe	17	11	8	8	7	180	E. coli
86	Gültepe	-	-	-	-	-	21	
87	Gültepe	-	-	-	-	3	240	
88	71 Evler	8	8	6	4	-	170	E. coli
89	71 Evler	17	17	12	10	13	140	E. coli
90	71 Evler	27	27	24	18	-	165	E. coli
91	71 Evler	4	4	2	2	-	80	E. coli
92	71 Evler	7	-	4	-	-	40	Klebsiella
93	71 Evler	-	-	-	-	-	250	

Tablo 3 : Arıtma Suyu Örneklerinin Bakteriyolojik Analiz Sonuçları

Örneğin alındığı yer	Tüp Sulandırım Y. 100 ml suda		Membran Filtre Y. 100 ml suda		Total Germ Sayımı 1 ml suda		İzole edilen mikroorganizma
	37 °C TK* Sa.	44.5 °C FK** Sa.	37 °C TK Sa.	44.5 °C FK Sa.	37 °C	22 °C	
1 Ham Su	920	920	400	350	270	> 500	E. coli Klebsiella Enterobacter
2 Durulmuş Su	220	220	120	120	45	470	E. coli
3 Filtrelenmiş Su	-	-	-	-	-	54	
4 Arıtılmış Su	-	-	-	-	-	1	

Tablo 4 : Şebeke Sularının Bakteriyolojik Analiz Sonuçları

Örneğin alındığı yer	Tüp Sulandırım Y.		Membran Filtre Y.		Total Germ Sayısı/ml.	
	37°C TK	44.5°C FK	37°C TK	44.5°C FK	37 °C	22 °C
1 Zincirlikuyu	-	-	-	-	-	3
2 Zincirlikuyu	-	-	-	-	-	8
3 Zincirlikuyu	-	-	-	-	-	-
4 Şirintepe	-	-	-	-	1	16
5 Şirintepe	-	-	-	-	-	4
6 Şirintepe	-	-	-	-	-	21
7 Yeşiltepe	-	-	-	-	3	65
8 Yeşiltepe	-	-	-	-	-	-
9 Yeşiltepe	-	-	-	-	-	21
10 Sütlüce	-	-	-	-	-	83
11 Sütlüce	-	-	-	-	-	16
12 Sütlüce	-	-	-	-	-	5
13 Esentepe	-	-	-	-	1	7
14 Esentepe	-	-	-	-	-	13
15 Esentepe	-	-	-	-	-	11
16 Fevzi Çakmak	-	-	-	-	-	11



	Örneğin alındığı yer	Tüp Sulandırım Y.		Membran Filtre Y.		Total Germ Sayısı/ml.	
		37°C TK	44.5°C FK	37°C TK	44.5°C FK	37 °C	22 °C
17	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	-	16
18	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	-	-
19	Fevzi Çakmak	-	-	-	-	-	8
20	Şarhöyük	-	-	-	-	-	12
21	Şarhöyük	-	-	-	-	3	21
22	Şarhöyük	-	-	-	-	-	2
23	Çamlıca	-	-	-	-	-	18
24	Çamlıca	-	-	-	-	-	14
25	Çamlıca	-	-	-	-	1	31
26	Çamlıca	-	-	-	-	-	-
27	Çamlıca	-	-	-	-	-	6
28	Sazova	-	-	-	-	-	34
29	Sazova	-	-	-	-	-	-
30	Sazova	-	-	-	-	-	-
31	Sazova	-	-	-	-	-	12
32	Büyükdere	-	-	-	-	1	17
33	Büyükdere	-	-	-	-	-	3
34	Büyükdere	-	-	-	-	-	5
35	Gültepe	-	-	-	-	-	5
36	Gültepe	-	-	-	-	-	-
37	Gültepe	-	-	-	-	-	19
38	Gökmeydan	-	-	-	-	-	38
39	Gökmeydan	-	-	-	-	3	94
40	Gökmeydan	-	-	-	-	2	19
41	Gökmeydan	-	-	-	-	-	-
42	Yenidoğan	-	-	-	-	-	-
43	Yenidoğan	-	-	-	-	-	41
44	Yenidoğan	-	-	-	-	4	53
45	Erenköy	-	-	-	-	-	38
46	Erenköy	-	-	-	-	4	16
47	Erenköy	-	-	-	-	-	9
48	71 Evler	-	-	-	-	6	103
49	71 Evler	-	-	-	-	12	87
50	71 Evler	-	-	-	-	3	41

Artezyen sularına örnek olarak aldığımız Devlet Su İşleri, İller Bankası ve Tıp Fakültesi Hastanesi çeşmelerine ait sulardan yalnızca İller Bankasına ait olan suda 37°C de Tüp Sulandırım Yöntemi ile 4 koloni, Membran Filtre Yöntemi ile 2 koloni üreme oldu. Üreyen kolonilerin tanımlanması sonucu E. coli oldukları saptandı. 44°C de her iki yöntemde de üreme olmadı. Total germ sayıları 1 ml. suda DSİ çeşmesinde 37°C de 0, 22°C de 24 koloni, İller Bankası çeşmesinde 37°C de 3 koloni, 22°C de 121 koloni, Tıp Fakültesi Hastanesi çeşmesinde 37°C de 2 koloni, 22°C de 64 koloni olarak bulundu.

**Tablo 5: İncelenen Su örneklerinin dağılımı ve kontaminasyon durumları.**

Su örneğinin kaynağı	Örnek Sayısı	Kontamine Örnek Sayısı
Şebeke Suları	50	-
Tulumba Suları	93	56
Artezyen Suları	3	1
Aritma tesisine ait sular.	4	2

Çeşitli bölgelerden alınan 50 adet şebeke suyunun hiçbirinde Koliform bakteri üremedi. Total germ sayısı içilebilir sınırlar içinde bulundu. Toplam 93 tulumba suyunun 56'sında (%60) koliform bakteri üredi, 37'sinde (%40) üreme olmadı. Arıtma Tesis kademelerinde aldığımız 4 su örneğinin ilk iki kademesinde üreme olurken, son iki kademesinde üreme olmadı. 3 adet artezyen suyunun 1'inde üreme olup, 2'sinde üreme kaydedilmedi. Tulumba, arıtma ve artezyen su örnekleri olmak üzere toplam 100 su örneğinin 59'unda (%59) üreme olup, 41'inde (%41) üreme olmadı.

Çalışılan yöntemlere göre koliform bakteri üreme sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 6: 100 Su örneğinde çalışılan yöntemlere göre elde edilen sonuçlar.

	+	-
Tüp Sulandırım Yöntemi	55	45
Membran Filtre Yöntemi	50	50

$$p > 0,05 \quad x^2 = 0,32$$

Buna göre Tüp Sulandırım Yöntemi ile 100 su örneğinin 55'inde koliform bakteri saptanırken, Membran Filtre Yöntemi ile 50 örnekte koliform bakteri saptandı.

Tablo 7:

		Tüp Sulandırma Yöntemi	
		+	-
Membran Filtre Yöntemi	+	46	4
	-	9	41

- Her iki yöntemle "pozitif" bulunan örnek sayısı 46
- Tüp Sulandırım Yöntemi ile "pozitif" olup, Membran Filtre Yöntemi ile "negatif" bulunan örnek sayısı 9,
- Tüp Sulandırım Yöntemi ile "Negatif" olup, Membran Filtre Yöntemi ile "pozitif" olan örnek sayısı 4 olarak saptandı.

Üreme olan toplam 59 örneğin 41'inde E.coli, 12'sinde koliform bakteri, 6'sında E.coli + Koliform üredi. Koliform

bakterilerin tanımlanması sonucu bu suşların Klebsiella ve Enterobacter oldukları saptandı.

47 E. coli, 13 Klebsiella, 6 Enterobacter ve 2 Pseudomonas olmak üzere, üreme olan 59 su örneğinden 68 farklı suş izole edildi.

Membran filtre üzerinde sarı ve pembe renkte iki farklı koloni oluşumu izlendi. Bu kolonilerden sarı renklilerin koliformlara ait, pembe renklilerin ise koliform dışı bakteriler tarafından oluşturulduğu anlaşıldı. Pembe kolonilerin kanlı agar, EMB agara pasajları yapıldı. Gram boya incelemesi ve TSİ agar, Sitratlı besiyeri, üreli besiyeri, MIO besiyeri'ne ekimleri yapıldı. İnceleme sonucu bu kolonilerin Alcaligenes ve Acinetobacter oldukları saptandı. Bu iki bakteri su ve toprağın flora üyesi olarak kabul edildiğinden ileriki sayımlarda pembe koloniler dikkate alınmadı. (Resim 10).

Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemlerinin aynı anda "pozitif" sonuç verdiği 46 örnekte 100 ml.'de bulunan bakteri sayıları değerlendirildi. 46 örneğin 36'sında Tüp Sulandırım Yöntemi ile daha fazla sayıda koliform üremesi gözlemlendi. 5 örnekte Membran Filtre Yöntemi daha fazla sayıda koliform bakteri üretti. 5 örnekte ise sayılar her iki yöntemle aynı bulundu.

İncelenen toplam 150 su örneğinin 136'sında total germ sayısı 500'den az, 14 örnekte 500'den fazla bulundu. Germ sayısı 500'ün üzerinde bulunan 14 su örneğinin 7'sinde koliform bakteri üremesi saptanırken, 7 örnekte koliform üremedi.

Membran filtre üzerinde 37°C de üreme olan örnek sayısı 50, 44,5°C de üreme olan örnek sayısı 35 olarak bulundu. Bu 35 örneğin farklı ısı derecelerinde, 100 ml.'de üreyen bakteri sayısı hesaplandı. 35 örneğin 28'inde 37°C de üreyen bakteri sayısı, 44,5°C de üreyenlerden fazla, 7 örnekte ise eşit bulundu.

Çalışmamızda 20 su örneğini Fenol Red içeren Lauryl Tryptose Boroth ve Fenol Red içermeyen Lauryl Tryptose Broth besiyerine aynı anda ekerek tahmin deneyini uyguladık. 20 örneğin 8'inde üreme asit ve gaz varlığı ile gözlemlendi. Sonuçlar her iki besiyerinde de eşit bulundu.

İncelediğimiz su örnekleri hem koliform bakteri hemde total germ sayıları birlikte değerlendirildiğinde şebeke sularının tümünün mikrobiyolojik açıdan içilebilir ve kullanılabilir özellikte olduğu, 93 adet tulumba suyunun 63'ünün (%67) kullanılamaz ve içilemez özellikte olduğu saptandı.

Üreme olan toplam 59 su örneğinin 47'sinde E. coli saptanmış olması kirlenmenin dışkı kaynaklı olduğunu gösterdi.

## 5. TARTIŞMA

Canlıların yaşamı ve doğadaki birçok olayın devamı için gerekli olan su, çeşitli mikroorganizmaları taşıması nedeniyle zaman zaman toplum sağlığını tehdit edebilmektedir.

Ülkemizde hızlı nüfus artışı, endüstrileşme ve köyden kente göç gibi etkenler sağlıksız yerleşim bölgelerinin oluşmasına yol açmaktadır. Bunun sonucu olarak kanalizasyon ve su şebekeleri yetersiz kalmakta, toplum ve birey sağlığı için büyük önem taşıyan su, gerektiğince sağlanamamaktadır. Su dağıtım şebekelerinin ulaşamadığı yerlerde ya da şebeke sularının çeşitli nedenlerle zaman zaman kesilmesi sonucu, su gereksinimi bireysel kuyu ve artezyenlerden sağlanmaktadır. Bu kuyuların foseptik çukurlara yakın olması ve bu tür suların dezenfeksiyon işlemleri uygulanmaksızın kullanımı, ya da su dağıtım şebekesinde alt yapı yetersizliği nedeni ile olabilecek bozukluklar sonucu, su ile bulaşan hastalıkların sık görülmesi olağandır.

Geçmiş yıllarda halk sağlığını tehdit eden barsak enfeksiyonlarının fazla sayıda olması, ilgilileri Eskişehir kullanma sularının gözden geçirilmesi ve düzenlenmesi yoluna itmiştir. Yakın bir geçmişte Eskişehir'in su gereksinimi, sondaj kuyularından elde edilmekte olan suların şebeke sistemine verilmesi ile sağlanmaktaydı. Bu sondaj kuyularının şehir yerleşim merkezi içerisinde kalması, Eskişehir ilinde kanalizasyon sisteminin henüz yapılma aşamasında olması ve şehir merkezinde her eve ait foseptik kuyularının sık ve düzensiz olarak açılması, su kesintilerine bağlı oluşan negatif basınç nedeniyle şebeke suyuna lağım sızıntıları olmasına yol açmaktaydı. Ayrıca bu suların dezenfeksiyonu düzenli olarak yapılmamaktaydı. Bu koşullar altında 1985 yılında Eskişehir şebekesine ait

suların incelendiği bir çalışmada %6.2 oranında koliform bakteri saptanmıştır (32). Bu da o zamana dek olan su ile bulaşan hastalıkların sıklığını açıklamaktadır. Bizim çalışmamız Eskişehir şebeke suyuna, Arıtma Tesisine ait suyun bağlanmasından sonra yapıldı. 50 şebeke suyundan Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemleri ile hiçbir koliform bakteri üretilmedi. Ayrıca total germ sayısı her bir su örneğinde 500'ün altında bulundu. Bu sonuçlar Eskişehir şebeke sularının, Gıda Maddeleri ile ilgili Tüzüğü'nün 425.maddesi uyarınca mikrobiyolojik açıdan kullanılabilir ve içilebilir özellikte olduğunu göstermektedir (36).

Çalışmamıza başlamadan kısa bir süre önce hizmete giren Porsuk Arıtma Tesisi'nin çeşitli kademelerinden su örnekleri aldık. Bu kademelerden birincisi olan, herhangi bir işlem uygulanmamış ham su ve ikinci kademe olan durulmuş su örneklerinde hem Tüp Sulandırım hem de Membran Filtre Yönteminde koliform bakteri üremesi saptandı. Üçüncü kademe olan filtrelenmiş su ile dördüncü kademe olan arıtılmış-çıkış suyunda her iki yöntemde de üreme olmadı ve total germ sayıları 500'ün altında bulundu. Son iki kademe klorlama uygulanmış su örnekleriydi.

Arıtma Tesisleri'nin devreye girmesine karşın, hala şehir merkezinde çok sayıda kişi tarafından kullanılan artezyen kaynaklı sular bulunmaktadır. Bu tür artezyen sularına örnek olarak çalışmamızda, Devlet Su İşleri, İller Bankası ve Tıp Fakültesi Hastanesi'nde bulunan su depolarına ait çeşmelerden su örnekleri aldık. Örneklerden yalnızca İller Bankası çeşmesinde Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemi ile koliform üremesi saptandı. Üremenin *Escherichia coli* olduğunun tanımlanması ile fekal kirlenme varlığı belirlendi. Diğer iki kuruluşa ait sularda koliform üremesi olmadı.

Bunun yanısıra, artan nüfus şehrin kenar kesimlerinde yerleşmenin fazlalaşmasına neden olurken, alt yapının bu

nüfusa paralel olarak gelişmemesi bu bölgelerde yaşayan insanları başka su kaynakları kullanmaya yöneltmiştir. Bu nedenle Eskişehir'in kenar bölgelerinde yaygın olarak bulunan ve foseptik çukurlara çok yakın olan tulumba sularını da incelemeyi uygun bulduk. Toplam 93 tulumba suyu örneğinin 56'sında (%60) koliform bakteri üredi. Üreme olanlarının 44'ünde (%78) E. coli saptanmış olması, kirlenmenin dışkı kaynaklı olduğunu göstermektedir.

Çalışmamıza benzer şekilde araştırma yapan Coşkun ve arkadaşları (13) İzmir ili Metropol alanda yaptıkları çalışmada, şebeke harici alternatif su kaynaklarında %80.2 oranında total koliform, %47.2 oranında fekal koliform saptamışlardır. Yuluğ ve arkadaşları (59) Ankara'nın gecekondu bölgelerinde yaptıkları çalışmada alternatif su kaynaklarında %78 oranında koliform bakteri üretmişlerdir. Özdemir ve arkadaşları (41) İstanbul'un çeşitli içme ve kullanma sularında yaptıkları çalışmada 147 su örneğinin 40'ünün bakteriyolojik olarak içme ve kullanmaya uygun olduğunu, 107'sinde ise koliform bakteri ürediğini belirtmişlerdir. Yotakis (58), gene İstanbul'un çeşitli içme ve kullanma sularında yaptığı çalışmada 154 su örneğinden 46'sının koliformlarla kontamine olduğunu göstermiştir.

Bakteriyel barsak patojenlerinden Salmonella, Shigella, Vibrio cholerae kontamine su ve gıdalarla epidemilere yol açar (35). Bu patojenler epidemiler sırasında bile suya zaman zaman karışmaktadır. Su, bu mikroorganizmanın canlılıklarını uzun süre korumada uygun bir ortam değildir. Salgına neden olduğundan şüphe edilen suyun, patojen etkenler yönünden incelenmesi her zaman olumlu sonuç vermeyebilir. Bu nedenle sularda bu tür patojen mikroorganizmaları aramak yerine suların kirliliği hakkında bilgi verebilecek indikatör mikroorganizmaların kullanılması tercih edilir. Total ve fekal koliform bakteriler, Streptococcus faecalis, Clostridium perfringens sulara dışkı



karıştığıının göstergesi olan mikroorganizmalardır. Ancak en yaygın olarak kullanılan ve temel indikatör, koliform bakterilerdir (1,4,55,56,60).

Koliform bakteriler bugün hala içme suyu kalitesinin belirlenmesinde yararlı, ancak eksik bir gösterge olarak kabul edilmektedir (24,37,38,50). Koliform indikatör konusu kusurlarına karşın, güvenli içilecek su elde etmek için kullanışlı bir yöntemdir. Ayrıca kirli sularda uygulanan dezenfeksiyon işlemlerinin izlenmesi bakımından da değerlidir (38).

Sularda koliform bakteri saptamada kullanılan ve bugün hala geçerliliğini koruyan iki standart yöntem, Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemleridir (1,4,55,56). Çalışmamızda bu iki yöntem kullanılarak total ve fekal koliform bakteriler aranmış ve bu iki yöntemin sonuçları karşılaştırılmıştır.

Araştırmamıza benzer çalışmalarını olan, Tobin ve arkadaşları (50) 6 grup su örneğinde Tüp Sulandırım ve tek adım Membran Filtre Yöntemini uygulamışlar, bir grup suda koliform bakteri saptamada Membran Filtre Yöntemi ile yüksek sonuç alırken, 5 grup su örneğinde Membran Filtre Yöntemi ile Tüp Sulandırım Yöntemi arasında istatistiksel açıdan fark bulamamışlardır. Biz, bir ya da iki yöntemle koliform bakteri ürettiğimiz 59 su örneğinde Tüp Sulandırım Yöntemi ile 55 ve Membran Filtre Yöntemi ile 50 örnekte koliform bakteri üremesi saptadık. Sonuçlar  $X^2$  testi ile değerlendirildiğinde, Tobin ve arkadaşlarının (50) çalışmasına uyumlu olarak, aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadığı gözlenmiştir. Başka bir çalışmada Bissonnette ve arkadaşları (6), bu iki yöntemi karşılaştırmışlar ve Tüp Sulandırım Yönteminin Membran Filtre Yönteminden daha üstün olduğunu göstermişlerdir, Membran Filtre Yönteminin koliform bakteri grubunu üretmede daha az başarılı olduğunu savunmuşlardır. Farklı su

tiplerinde Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemini çalışan Dutka ve Tobin (17), doğrudan laçım karışan sularda Tüp Sulandırım Yönteminin, dere, göl gibi yüzey sularında ise Membran Filtre Yönteminin koliform bakteri üretmede daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise içilebilir sular ve işlem görmemiş ham suların analizinde Tüp Sulandırım Yöntemi ve tek adım Membran Filtre Yöntemi karşılaştırılmış, iki yöntemin sonuçlarının istatistiksel açıdan farklı olmadığı, ancak her iki yöntemle de değerinin altında sonuçlar alındığı belirtilmiştir (21).

Membran Filtre Yöntemi ile elde edilen sayılar (100 ml'deki bakteri sayısı) genel olarak Tüp Sulandırım Yöntemi sonunda En Muhtemel Sayı Tablosunda bulunan sayılardan düşüktür (4). Bizim çalışmamızda da her iki yöntem arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamakla birlikte 100 ml de üreyen bakteri sayısı yönünden Tüp Sulandırım Yöntemi daha üstün bulundu.

Ayrıca Membran Filtre Yönteminin 37°C de total koliform üretme yeteneğinin, 44.5°C de fekal koliform üretmeden daha fazla olduğu ve yüksek ısıda inkübasyonun, fekal koliform üretimini önemli derecede sınırladığı belirtilmektedir (6,45). Biz, 100 ml de üreyen bakteri sayısı yönünden en düşük değerleri Membran Filtre Yönteminde 44.5°C deki inkübasyon ile elde ettik, sonuçlarımız yukarıdaki bilgilere uyum göstermektedirler. Bazı çalışmalarda, fekal koliform üretmede kullanılan tek adım Membran Filtre Yöntemi ile alınan sonuçlarda hata olduğu, buna kullanılan membran filtre, besiyeri ve inkübasyon ısısının yol açabileceği belirtilmektedir (7,28).

Araştırmacılar, Tüp Sulandırım Yöntemi ile Membran Filtre Yönteminin birbirinden farklı sonuçlar vermesinin sularda bulunan "stres faktörleri" olarak adlandırılan bazı özelliklerden kaynaklandığını belirtmektedirler. Stres faktörleri; klor ve benzeri dezenfektanlar, suyun ısısı, pH,

endüstriyel kirlilik ve toksik ürünler, total germ sayısının yüksekliği olarak sıralanabilir. Bu faktörlerin etkisi altında kalan koliformlar hasar görmüş, subletal formda bakterilerdir (7-9,48). Bir çalışmada sularda bulunan koliformların % 65'den fazlasının hasar görmüş koliformlar olduğu gösterilmiştir (38). Stres faktörleri her iki yöntemle de sularda koliform bakteri üreme oranını azaltmakla birlikte, Membran Filtre Yönteminde bu azalma daha belirgindir.

Klorlanmış sularda her iki yöntemle yapılan bir çalışmada ne Tüp Sulandırım Yöntemi ne de tek adım Membran Filtre Yönteminin doğru sonuç vermediği ve daha güvenilir yöntemlere gerek olduğu belirtilmiştir (8). Klorlanmış lağım sularının incelendiği bir başka çalışmada Tüp Sulandırım Yönteminin Membran Filtre Yönteminden daha fazla sayıda pozitif sonuç verdiği gözlenmiş olup, daha güvenilir Membran Filtre Yöntemine gereksinim duyulduğu savunulmaktadır (48). Lin (34), klorlanmış lağım akıntıları ile yaptığı bir çalışmada tek adım Membran Filtre Yönteminin Tüp Sulandırım Yönteminden çok daha düşük düzeyde koliform bakteri ürettiğini, iki adım Membran Filtre Yönteminin ise Tüp Sulandırım Yöntemi ile benzer sonuçlar verdiğini belirtmektedir. Çalışmamızda, klorlu şebeke sularında etken üretilmediğinden kullandığımız yöntemler arasında farklılık aramamız mümkün olmamıştır.

Klor dışında, dezenfeksiyon işlemleri olarak ozon ve ultraviyole uygulanmış sulardan, koliform bakteri aramak için aynı iki yöntemle yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda, iki yöntem arasında anlamlı fark bulunamamıştır (43).

Diğer bir stres faktörü, koliform dışı bakterilerin oluşturduğu germ sayısıdır. Bu grup bakteriler hem Tüp Sulandırım, hem de Membran Filtre Yönteminde koliform bakterilerin üremesi üzerine olumsuz yönde etki etmektedir (19). Bu kapsamda yapılan çalışmalardan birinde, ml de 500'den fazla germ olduğunda, her iki yöntemde de, koliform

bakteri ile kontamine su örneklerinin yüzdesinde azalma saptamışlardır. Bir diğesinde ise ml de 1000 germ olduğunda koliform bakteri üremesinin engellendiği belirtilmiştir (19,21). Ayrıca bazı özel bakteriler ile bu konuda çalışmalar yapan Burlingame ve arkadaşları (9) Pseudomonas aeruginosa ve Aeromonas'ın ml de 500'den az olduğunda koliformların üremesini anlamlı derecede azalttığını, Bacillus ve Flavobacterium suşlarının ise ml de 1000'in üzerinde olsa bile koliform bakteri üremesini etkilemediğini göstermişlerdir. Su dağıtım şebekesinde koliform dışı bakterilerin koliformlar üzerine antagonistik etkileri, şebeke içinde koliformların çok düşük besin konsantrasyonunda yaşamaları, rezidüel klor ve şişe içinde laboratuvara ulaşırken ısı değişimi gibi faktörler koliformların ölmelerine neden olabilirler. Su örneğinde çok miktarda germ bulunmasının koliformların bir zamanlar var olduğuna bir işaret olabileceği belirtilmektedir (9). Çalışmamızda toplam 150 su örneğinin 14'ünde (% 9) total germ sayısı 500'ün üzerinde bulunmuştur. Bu 14 örneğin 7'sinde (1/2) koliform bakteri üremiş olup, 7'sinde (1/2) her iki yöntemde de koliform bakteri ürememiştir. Total germ sayısı 500'ün üzerinde olan ve koliform bakteri üreyen 7 örneğin 7'si Tüp Sulandırım Yöntemi ile aynı şekilde 7 örneğin 6'sı Membran Filtre Yöntemi ile pozitif bulunmuştur.

Tüp Sulandırım Yöntemi ile koliform bakteri sayımı 70 yılı aşkın bir süredir dünyanın her yanında içme suyunun bakteriyolojik kalitesini ölçmede kullanılmaktadır. Ancak bu yöntem koliformların beklenen sayının altında saptanmasına yol açmaktadır. Bir çalışmada standart Tüp Sulandırım Yöntemi ile bunun modifiye edilmiş şekli birlikte uygulanarak karşılaştırılmış ve standart Tüp Sulandırım yönteminin tahmin, doğrulama ve tamamlama olmak üzere üç basamağında da yanlış negatif sonuçların alınabileceği gösterilmiştir. Bunun da standart Tüp Sulandırım Yöntemi ile koliform bakteri bulunan bir suda "koliform yoktur" şeklinde yanlış sonuç vermesine ve halk sağlığını tehlikeye sokmasına

neden olacağı belirtilmektedir (21).

Benzer şekilde standart tek adım membran Filtre Yönteminin koliform bakterileri üretmede yetersizliği, bu yöntemin modifiye şekillerinin doğmasına yol açmıştır. Selektif olmayan bir besiyeri kullanılarak ve düşük ısıda (35°C) ön zenginleştirme ile yapılan iki adım Membran Filtre Yönteminin koliform bakterileri üretmede daha üstün olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (6, 34). Çalışmamızda tek adım Membran Filtre Yöntemini kullandığımız için iki adım Membran Filtre Yöntemi ile karşılaştırma yapamadık.

Membran Filtre Yönteminde kullanılan süzgeç yastıklarının suya ait toksik maddeleri tutabileceği ve bunun koliform bakteri üremesini olumsuz yönde etkileyebileceği öne sürülmektedir. Bu nedenle sıvı besiyeri yerine, agar ilave edilmiş şekli kullanılabilir. Bu amaçla yapılmış bir çalışmada hem sıvı besiyeri emdirilmiş süzgeç yastığı ve hem de aynı besiyerinin agar ilave edilmiş şekli birlikte kullanılarak Membran Filtre Yöntemi uygulanmış ve agar üzerine yerleştirilen membran filtrede koliform bakterilerin daha fazla ürediği gözlenmiştir (34). Biz çalışmamızda Membran Lauryl Sulphate Broth emdirilmiş süzgeç yastıkları kullandık.

Suların bulanık ve tortulu olması da membran filtre üzerinde koliform bakteri üremesini engellemektedir (1,55). Çalışmamızda süzme işlemi sonrası membran filtre üzerinde tortu oluşturan 4 su örneğinde Tüp Sulandırım Yöntemi ile koliform bakteri üremesi saptarken, Membran Filtre Yöntemi ile üreme olmadığını izledik.

Tüp Sulandırım Yönteminin tahmin basamağında koliform bakteri üremesinin göstergesi Durham tüpü içinde gaz oluşumudur. Ancak besiyerine Fenol Red ilavesi ile asit oluşumu da gözlenebilir. Fakat indikatör ilavesinin önemli bir üstünlüğü olmadığı belirtilmektedir (1). Evans ve arkadaşları (21), Fenol Red eklenmiş ve Fenol Red taşımayan

Lauryl Tryptose Broth kullanarak uyguladıkları tahmin deneyinde her iki besiyeri ile de aynı sonuçları elde etmişlerdir. Biz de çalışmamızda 20 su örneğine uyguladığımız bu işlem sonucunda koliform bakteri ürettiğimiz 8 örnekte her iki besiyeri ile aynı sonuçları elde ettik. Böylece koliform bakterilerin üremesi üzerine Fenol Red'in herhangi bir etkisi olmadığı gözlemlendi.

Çalışmamızda Tüp Sulandırım Yöntemi ile pozitif olup, Membran Filtre Yönteminde üreme olmayan 9 su örneği saptadık. Tüp Sulandırım Yöntemi, Membran Filtre Yönteminden üstün olarak, özellikle zedelenmiş hücrelerin kendilerini onarıp tekrar üreyebilecekleri bir ortam sağlamaktadır. Bu ortam Tüp Sulandırım Yönteminin tahmin deneyi basamağında kullanılan ve selektif olmayan bir besiyeridir. Bu, özellikle fekal koliformların üremesinde önemlidir. Çünkü Membran Filtre Yönteminde uygulanan, 44.5°C gibi yüksek ısı ve selektif bir besiyeri zedelenmiş hücrelerin kendilerini onarması ve üremesi için uygun bir ortam değildir (7,48).

Tüp Sulandırım Yönteminde tahmin basamağı kullanmaksızın, suyun doğrudan doğrulama deneyi aşamasında kullanılan Brilliant Green Safralı Laktozlu Buyyon'a ekilmesi koliformların çoğunun üremesine engel olur. Fakat bu besiyerinin doğrulama deneyinin basamağında kullanımı, koliform bakteri üremesi üzerine olumlu etki göstermektedir (1).

Çalışmamızda 4 su örneğinde Membran Filtre Yöntemi ile koliform bakteri ürettiğimiz halde, Tüp Sulandırım Yöntemi ile üreme olmadı. Tüp Sulandırım yönteminde su örneği değişik volümlerde, ayrı ayrı ekilmektedir. Bunun nedeni bakterilerin her volümde, suyun her yanında eşit oranda bulunmamasıdır. Bir mililitresinde 1 koliform içerdiği bilinen bir su örneğinden 100 ayrı tüpe 1'er ml ekilirse normal olarak tüplerden 37 tanesinde hiçbir koliform düşmeyeceği gösterilmiştir (1). Bizim çalışmamızda da

Membran Filtre Yönteminde üreme olup, Tüp Sulandırım Yönteminde üreme olmamasının nedeni, ekim yaptığımız kısımlara bakterilerin isabet etmemesi ile açıklanabilir.

Pratikte Membran Filtre Yöntemi ile Tüp Sulandırım Yöntemi karşılaştırılabilir sonuçlar verir. Ancak her iki yöntemin de üstünlük ve eksiklikleri vardır.

Membran Filtre Yönteminde, sonuçlar kısa sürede alınır, koliform sayısını 18-24 saatte belirlemek mümkündür. Böylece kirli suyun hızla düzeltilmesine olanak sağlar. Tüp Sulandırım Yönteminde ise koliform sayısı 48-96 saatte saptanmaktadır.

Membran Filtre Yöntemi, doğrudan sayılabilen sonuç verirken, Tüp Sulandırım Yönteminde sonuç, "En Muhtemel Sayı" tablosundan elde edilmektedir.

Membran Filtre Yöntemi sınırlı malzeme gerektirir. Ayrıca laboratuvarında kullanımı kolaydır ve hatta saha uygulamalarında taşınabilir portatif malzeme ile kullanılabilir. Ancak Tüp Sulandırım Yöntemine göre pahalıdır.

Membran Filtre Yöntemi bulanık suların incelenmesi için uygun değildir. Bulanıklık, suyun yeterli volümde süzülmesini engellediği gibi, membran üzerinde biriken maddeler, bakterilerin üremesini de engeller. Tüp Sulandırım Yöntemi ise her çeşit suya uygulanabilir.

Suda bulunan koliform dışı bakteriler membran filtre üzerinde üreyebilir ve koliform bakterilerin üremesi ile karışabilir. Ayrıca koliformların üremesini azaltır ya da inhibe edebilir. Bunun en iyi örneği Aeromonas'dır. Aeromonas'lar laktozu fermente eden, Gram negatif, basil şeklinde mikroorganizmalardır. Suda dominant oldukları zaman yanlış pozitif sonuç verirler. Oksidaz testi böyle yanlış pozitif sonuçların hızla uzaklaştırılmasına yardımcı olur (22,50,55).

Aerop ve anaerop Gram pozitif sporlu bakteriler Tüp Sulandırım Yönteminde gaz oluşturarak üreyebilir ve yanlış

pozitif reaksiyona neden olabilirler. Bu tür mikroorganizmalar membran filtre üzerinde üremezler.

Su toksik madde içerebilir, bu da membran filtre tarafından absorbe edilir ve koliform bakteri üremesini olumsuz olarak etkiler.

Tüp Sulandırım Yöntemi ile elde edilen sayılar genel olarak, Membran Filtre Yöntemi ile elde edilen sayılardan fazladır.

Membran Filtre Yöntemi ile alınan sonuçlar Tüp Sulandırım Yöntemi ile her zaman aynı değildir. Deneye alınacak su örneğinde Membran Filtre Yönteminin uygunluğunu saptamak için her iki yöntemin birlikte yapılması öngörülmektedir (55).

İçilebilir suların bakteriyolojik kalitesini tayin etmede kullanılan "indikatör bakteri" konusu tartışmalıdır. Bugün, total koliformlardan çok fekal koliformların, özellikle fekal kirlenmenin spesifik indikatörü olan *Escherichia coli*'nin tek indikatör olması gerektiği ileri sürülmektedir (19, 24, 33). Caplenas ve arkadaşları (10), fekal materyal ile kirlenmemiş sularda yüksek ısıda (44.5°C) üreyebilen *Klebsiella* suşlarını çok miktarda izole etmişlerdir.

Spesifik indikatör olarak *E. coli*'nin aranması gerekliliği, içilebilir suların bakteriyolojik kalitesi hakkında karar verebilmek için yeni yöntemlerin geliştirilmesine yol açmıştır. Bu yöntemlerden 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronid (MUG) testi ve Autoanalysis Colilert (AC) tekniği spesifik olarak *E. coli* saptamaktadır ve kullanımda olan standart yöntemlerden daha üstün olduğu belirtilmektedir (18, 19, 24, 37).

Ayrıca kalitatif bir yöntem olan Presence-Absence (PA) tekniğinin her iki standart yöntemden daha iyi sonuç verdiği ve güvenilir bir tarama testi olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir (4, 29, 42).



## 6. SONUÇLAR

Eskişehir İl'inde arıtma tesisine bağlı şebeke suları ile alternatif su kaynaklarının bakteriyolojik analizleri, koliform bakteri aramada kullanılan Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemleri ile yapıldı. Şu sonuçlar elde edildi.

1- Arıtma tesisinde giriş, çıkış ve bunların ara kademeleri incelendiğinde giriş suyunun mikrobiyolojik açıdan kirli olmasına karşın, şebeke sistemine verilen dezenfeksiyon işlemleri tamamlanmış çıkış suyunun içilebilir ve kullanılabilir özellikte olduğu saptandı.

2- Arıtmaya bağlı şebeke suları şehrin çeşitli bölgelerinde bulunan çeşmelerden alınarak incelendi ve %100 olarak temiz bulundu.

3- Alternatif su kaynaklarından tulumba suları incelendiğinde %60 oranında koliform bakteri üremesi saptandı. Total germ sayısı da dikkate alındığında tulumba sularının %67 oranında kirli olduğu saptandı. Bu kontaminasyonun nedeni olarak Eskişehir kanalizasyon sisteminin henüz tamamlanmamış ve bu tür kaynak sularının evlere ait foseptik çukurlarına çok yakın olması ile açıklandı.

4- İncelediğimiz sularda koliform bakteri arama yönteminden Tüp Sulandırım ve Membran Filtre Yöntemleri kullanılarak karşılaştırma yapıldı ve aralarında istatistiksel açıdan fark bulunmadı.

5- Membran Filtre Yöntemi ile 100 ml su örneğinde elde edilen koliform sayıları genel olarak Tüp Sulandırım Yöntemi ile bulunanlardan düşük çıktı.

6- 100 ml. su örneğinde en az sayıda üreme Membran Filtre Yönteminin 44,5°C de fekal koliformları üretme çalışmasında saptandı.

7- Üreme olan örneklerin %79'unda E.coli üremesi saptandığından, bu sulara dışkı karıştığına karar verildi.

8- Tüp Sulandırım Yönteminin tahmin basamağında besiyerine fenol red ilavesinin koliform bakteri üremesi üzerine etkisi olmadığı gözlemlendi.

Ek: 1

## EN MUHTEMEL SAYI TABLOLARI

Pozitif reaksiyon veren tüp sayısı							
10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS (100 ML)	10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS (100 ML)
0	0	0	< 2	0	4	0	8
		1	2			1	9
		2	4			2	11
		3	5			3	13
		4	7			4	15
		5	9			5	17
0	1	0	2	0	5	0	9
		1	4			1	11
		2	6			2	13
		3	7			3	15
		4	9			4	17
		5	11			5	19
0	2	0	4	1	0	0	2
		1	6			1	4
		2	7			2	6
		3	9			3	8
		4	11			4	10
		5	13			5	12
0	3	0	6	1	1	0	4
		1	7			1	6
		2	9			2	8
		3	11			3	10
		4	13			4	12
		5	15			5	14

Pozitif reaksiyon veren tüp sayısı							
10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS (100 ML)	10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS (100 ML)
1	2	0	6	2	1	0	7
		1	8			1	9
		2	10			2	12
		3	12			3	14
		4	15			4	17
		5	17			5	19
1	3	0	8	2	2	0	9
		1	10			1	12
		2	13			2	14
		3	15			3	17
		4	17			4	19
		5	19			5	22
1	4	0	11	2	3	0	12
		1	13			1	14
		2	15			2	17
		3	17			3	20
		4	19			4	22
		5	22			5	25
1	5	0	13	2	4	0	15
		1	15			1	17
		2	17			2	20
		3	19			3	23
		4	22			4	25
		5	24			5	28
2	0	0	5	2	5	0	17
		1	7			1	20
		2	9			2	23
		3	12			3	26
		4	14			4	29
		5	16			5	32

10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS (100 ML)	10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS (100 ML)
3	0	0	8	3	5	0	25
		1	11			1	29
		2	13			2	32
		3	16			3	37
		4	20			4	41
		5	23			5	45
3	1	0	11	4	0	0	13
		1	14			1	17
		2	17			2	21
		3	20			3	25
		4	23			4	30
		5	27			5	36
3	2	0	14	4	1	0	17
		1	17			1	21
		2	20			2	26
		3	24			3	31
		4	27			4	36
		5	31			5	42
3	3	0	17	4	2	0	22
		1	21			1	26
		2	24			2	32
		3	28			3	38
		4	31			4	44
		5	35			5	50
3	4	0	21	4	3	0	27
		1	24			1	33
		2	28			2	39
		3	32			3	45
		4	36			4	52
		5	40			5	59

10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS (100 ML)	10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS (100 ML)
4	4	0	34	5	2	0	49
		1	40			1	70
		2	47			2	94
		3	54			3	120
		4	62			4	150
		5	69			5	180
4	5	0	41	5	3	0	79
		1	48			1	110
		2	56			2	140
		3	64			3	180
		4	72			4	210
		5	81			5	250
5	0	0	23	5	4	0	130
		1	31			1	170
		2	43			2	220
		3	58			3	280
		4	76			4	350
		5	95			5	430
5	1	0	33	5	5	0	240
		1	46			1	350
		2	63			2	540
		3	84			3	920
		4	110			4	1600
		5	130			5	> 1800



**KAYNAKLAR**

1. Akman, M.: Su, Süt ve Türevlerinin Rutin Bakteriyolojik Muayaneleri, Refik Saydan M. H. Ens. Yayını, Ege Matbaası, Ankara, 1961.
2. Akman, M.: Zar Süzgeç (= Membran Filtre) Yöntemi İle Sularda E. coli Sayımı. Mikr. Bült., 9(3): 257-65, 1975.
3. Alkış, N.: Gıda Mikrobiyolojisi. Yeni İnci Mat. San., Ankara, 1982.
4. American Public Health Association. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Bilgehan Basımevi, İzmir, 1986.
6. Bissonnette, G.K., et al.: Evaluation of Recovery Methods to Detect Coliforms in Water. Appl. Environ. Microbiol., 33(3): 590-595, 1977.
7. Bissonnette, G.K., et al.: Influence of Environmental Stress on Enumeration of Indicator Bacteria from Natural Waters. Appl. Microbiol. 29: 186-194, 1975.
8. Braswell, J.R., Hoadley, A.W.: Recovery of Escherichia coli from Chlorinated Secondary Sewage. Appl. Microbiol., 28: 328-329, 1974.



9. Burlingame, G.A., et al.: Bacterial Interference with Coliform Colony Sheen Production on Membrane Filters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47(1): 56-60, 1984.
10. Caplenas, N.R., Kanarek, M.S.: Thermotolerant Non-Fecal Source *Klebsiella pneumoniae*: Validity of the Fecal Coliform Test in Recreational Waters. *Am. J. Public Health*, 74: 1273-1275, 1984.
11. Carillo, M., et al.: Survival and Enumeration of the Fecal Indicators *Bifidobacterium Adolescentis* and *Escherichia coli* in a Tropical Rain Forest Watershed *Appl. Environ. Microbiol.*, 50:468-476, 1985.
12. Chattopadhyaya, D., et al.: Modified Scheme for Identification of Coliform Organisms in Drinking Water. *Indian J. Med. Res.*, 83: 152-4, 1986.
13. Coşkun, Ş., Sevinç, Ç., Keskin, M., et al.: İzmir İli Metropol Alan'da Şebeke Harici Alternatif Su Kaynaklarının Bakteriyolojik Kirlilik Yüklerinin Araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 4 (4): 551-556. 1990.
14. Coşkun, Ş., Sevinç, Ç., Yanıkyürek, S., et al.: Sularda *Salmonella*, *Shigella* ve *Vibrio cholerae* İzolasyonu ve Bu İzolasyonda Yaygın Olarak Kullanılan Besiyerleri. *İnfeksiyon Dergisi*, 4(4): 545-550, 1990.
15. Çetin, E.T.: Genel ve Pratik Mikrobiyoloji. Sermet Matbaası, İstanbul, 1973.

16. Difco Manual: Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology. Difco Laboratories, Detroit. Michigan. USA, 1984.
17. Dutka, B.J., Tobin, S.E.: Study on the Efficiency of Four Procedures for Enumerating Coliforms in Water. *Can. J. Microbiol.*, 22(5): 630-5, 1976.
18. Edberg, S.C. et al.: National Field Evaluation of a Defined Substrate Method for the Simultaneous Enumeration of Total Coliforms and *E. coli* from Drinking Water: Comparison With the Standard Multiple Tube Fermentation Method. *App. Environ. Microbiol.*, 54(6): 1595-601, 1988.
19. Edberg, S.C., Alen, M.J., et al.: Enumeration of Total Coliforms and *E. coli* from Source Water by the Defined Substrate Technology. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(2): 366-369, 1990.
20. Eroğlu, V.: Su Tasfiyesi, İstanbul Teknik Üniv. Kütüphanesi, Sayı: 1338, İTÜ İnş. Fak. Matbaası, 1987.
21. Evans, T.M., et al.: Failure of the Most Probable Number Technique to Detect Coliforms in Drinking Water and Raw Water Supplies. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41(1):130-8, 1981.
22. Finegold, S.M., Baron, E. J.: *Diagnostic Microbiology*, 7th Ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1984.
23. Franzblau, S.G.: Effect of Noncoliforms on Coliform Detection in Potable Groundwater Improved Recovery With an Anaerobic Membrane Filter Technique. *Appl. Environ. Microbiol.* 48(1): 142-8, 1984.

24. Freier, T.A., Hartman, P.A.: Improved Membrane Filtration Media for Enumeration of Total Coliforms and *E. coli* from Sewage and Surface Waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53 (6): 1246-50, 1987.
25. Halef, S.: Suyun Bakteriyoloji Bakımından İncelenmesinde Kullanılabilecek Yeni Besiyerlerinin Geliştirilmesi Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul, 1975.
26. Hansen, W., Yourassowsky, E.: Detection of  $\beta$  Glucuronidase in Lactose-Fermenting Members of the Family Enterobacteriaceae and its Presence in Bacterial Urine Cultures. *J. Clin. Microbiol.*, 20(6): 1177-79, 1984.
27. Howard, B.J., Klaas, J., Weissfeld, A.S., Rubin, S.J., Tilton, R.C.: *Clinical and Pathogenic Microbiology*, The C.V. Mosby Company, St Louis, 1987.
28. Hufham, J.B.: Evaluating the Membrane Fecal Coliform Test by Using *Escherichia coli* as the Indicator Organisms. *Appl. Microbiol.*, 27: 771-776, 1974.
29. Jackobs, N.J., et al.: Comparison of Membrane Filter Multiple Fermentation Tube, and Presence-absence Techniques for Detecting Total Coliforms in Small Community Water Systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51(5): 1007-12, 1986.
30. Jawetz, E., et al.: *Medical Microbiology*, 18th Ed. Middle East Edition, Lebanon, 1989.
31. Joklik, W.K., Willett, H.P., Amos, D.B.: *Zinsser Microbiology*, 18th Ed. Appleton-Century-Crofts. Norwalk, Connecticut, 1984.

32. Karakoç, İ., Serter, A., Hatipoğlu, N.: Eskişehir İçme ve Kullanma Sularının Bakteriyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Nitelikleri ve Kontaminasyon Kaynakları. Doğa, TU Tıp ve Ecz. D. 12,1,1988.
33. Lewis, C.M., Mak, J.L.: Comparison of Membrane Filtration and Autoanalysis Colilert Presence-Absence Techniques for Analysis of Total Coliforms and Escherichia coli in Drinking Water Samples. Appl. Environ. Microbiol., 55(12): 3091-3094, 1989.
34. Lin, S.D.: Membrane Filter Method for Recovery of Fecal Coliforms in Chlorinated Sewage Effluents. Appl. Environ. Microbiol., 32(4): 547-52, 1976.
35. Mandell, G.L., Douglas, R.G., Bennett, J.E.: Principles and Practice of Infectious Diseases. Newyork, Churchill Livingstone, 1990.
36. 13 Mart 1984 tarihli Resmi Gazete. Sayı: 18340.
37. Mates, A., Shaffer, M.: Membrane Filtration of E. coli from Coliforms in the Examination of Water. J. Appl. Bacteriol., 67: 343-346, 1989.
38. McFeters, G.A., et al.: Injured Coliforms in Drinking Water. Appl. Environ. Microbiol., 51(1): 1-5, 1986.
39. Öner, H.: İçme Suyunda Viruslar, Devlet Su İşleri Bülteni, 360:20-27, 1991.
40. Öner, H.: Suların Mikrobiyolojik Analizleri. T.C. Bayındırlık ve İskan Bakanlığı, DSİ Gn. Md., Ankara, 1990.

41. Özdemir, N., Johonsson, C.B.: İstanbul Sularının Mikrobiyolojik Yönden İncelenmesi. Türk Mikr. Cem. Dergisi, 15(2): 64-74, 1985.
42. Pipes, W.O., et al.: Comparison of Clark's presence-absence test and the membrane filter method for coliform detection in potable water samples. Appl. Environ. Microbiol., 52(3): 439-443, 1986.
43. Qualls R.G., et al.: Comparison of Methods of Enumerating Coliforms After UV Disinfection. Appl. Environ. Microbiol., 48(4): 699-701, 1984.
44. Resnick, I.G., Levin, M.A.: Assessment of Bifidobacteria as Indicators of Human Fecal Pollution. Appl. Environ. Microbiol., 42:433, 1981.
45. Rose, R.E., et al.: Improved Membrane Filter Method for Fecal Coliform Analysis. Appl. Environ. Microbiol. 29: 532-36, 1975.
46. Samastı, M., Ulusoy, M., Akıncı, T., Akdemir, R.: Terkos Gölü ve Dereleriyle Büyükçekmece Gölünün Halk Sağlığı Açısından Değerlendirilmesi. Türk Mikr. Cem. Dergisi, 19(2-3): 199-205, 1989.
47. Sentiago-Mercado, J., et al.: Comparison of Four Membrane Filter Methods for Fecal Coliform Enumeration in Tropical Waters. Appl. Environ. Microbiol., 53(12):2922-8,1987.
48. Stuart, D.G., et al.: Membrane Filter Technique for the Quantification of Stressed Fecal Coliforms in the Aquatic Environment. Appl. Environ. Microbiol., 34(1): 42-6, 1977.

49. The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and Other Laboratory Services, Oxoid Limited, 1982.
50. Tobin, R.S., et al.: Comparison of Nine Brands of Membrane Filter and the Most Probable Number Methods for Total Coliform Enumeration in Sewage Contaminated Drinking Water. Appl. Environ. Microbiol., 40(2):186-91, 1980.
51. Trepeta, R.W., Edberg, S.C.: Methyl-umbelliferyl- $\beta$ -D-Glucuronide-Based Medium for Rapid Isolation and Identification of Escherichia coli. J. Clin. Microbiol., 19(2): 172-174, 1984.
52. Uçkun, T.: Sivas İli İçme Sularının Bakteriyolojik Kontrolları. Mik. Bült. 14:(127-138), 1980.
53. Unat, E.K., Ulusoy, M., Öztürk, M.: İstanbul Boğazı ve Haliç sularının 1986 Mayısındaki Koliform Bakteriler Bakımından Durumu. Türk Mik.Cem, Dergisi, 16(2-3):45-49, 1986.
54. Unat, E.K.: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Dergah Tıp Yayınları, İstanbul, 1982.
55. WHO.: Guidelines for Drinking Water Quality, Vol.2, Health Criteria and Other Supporting Information. Geneva, 1984.
56. WHO.: Guidelines for Drinking Water Quality, Vol.3, Drinking Water Quality Control in Small Community Supplies. Geneva, 1985.

57. Yıldız, H.A.: İstanbul'un Bir Kısım İçme ve Kullanma Sularının Bakteriyoloji Yönünden Araştırılması, Basılmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 1991.
58. Yotakis, L.: İstanbul İçme Sularının Bakteriyolojik İncelenmesi. Türk Mik. Cem. Dergisi, 11(1-2): 39-49, 1981.
59. Yuluğ, N., Tuğ, A.: Ankara'nın Gecekondu Bölgelerinde Kuyu Sularının Mikrobiyolojik İncelenmesi, Mikr. Bülteni, 22(2):164-171, 1988.
60. Yumuturuğ, S., Sungur T.: Su Hijyeni. Hijyen Koruyucu Hekimlik, Ankara Ün. Tıp Fak. Sayı: 393, Ankara, 1980, 89-150.