

Aktarlarda Satılan Bazı Drogların Mikrobiyolojik Kontaminasyonunun İncelenmesi

A. Üsame TAMER (*)
M. Koray SAKAR (**)

Özet : Bu çalışmada, aktarlarda satılan 12 bitkisel drog örneğinin mikrobiyolojik analizleri yapılmış, hemen hepsinin önemli ölçüde bakteri ve fungus ile kontamine olduğu saptanmıştır. Gram örnekteki toplam aerobik bakteri sayısı $3,6 \times 10^4$ - $3,1 \times 10^6$ arasında, maya ve küf sayısı ise 4×10^2 - $2,1 \times 10^6$ arasında değişmektedir. F.I.P. (2) ve E.P. (3) limitlerinin oldukça üzerinde olan bu değerler bitkisel drogların hijyenik koşullara uymadığını ve sağtım amacıyla kullanılan bu drogların birer hastalık kaynağı haline dönüşmüş olduğunu göstermektedir.

EXAMINATION OF MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF SOME DRUGS SOLD BY HERBALIST

Summary : In this research, the microbiologic analyses of the 12 plant drug samples sold by herablists have been made, and it has been found out that almost all of them have been contaminated by bacteria and fungi to some degree. The total number of living aerobic bacteria per gram in a sample differs between $3,6 \times 10^4$ - $3,1 \times 10^6$ and the numbers of yeast and mold differ between 4×10^2 - $2,1 \times 10^6$. These values which are highly above the limits of F.I.P. (2) and E.P. (3) show that these drugs don't obey hygienic conditions; and that, although they are used for treatment, they have become sources of diseases.

Key Words : Drugs, Hygienic Controls.

(*) Anadolu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
Eskişehir.

(**) Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Ankara.

Teslim Tarihi : 21/1/1988

Yayına Kabul Tarihi : 28/6/1988

GİRİŞ

Bitkisel droglar eski çağlardan beri çeşitli hastalıkların sağıtımında kullanılmagelmiş ve günümüzde de halâ kullanılmaktadırlar (1). Genelde açıkta, nadiren paketlenmiş olarak aktarlarda satılan bu droglarda steril olma zorunluluğu yoktur. Fakat F.I.P. (2) ve E.P. (3) raporlarında oral preparatların gramında veya mililitresinde 10^4 den çok aerob bakteri, 10^2 den çok maya ve küf bulunmaması gereği belirtilmektedir. Yine aynı raporlarda *E. coli*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a gram örnekte hiç rastlanmaması istenmektedir.

Bitkisel droglar hijyenik koşullarda üretilip tüketiciye ulaştırılmadığı için mikrobiyal yükleri artmakta, dolayısıyla bazı hastalıkların kaynağı haline dönüşebilmektedirler. Nitekim 1966'da İn-

giltere'de *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarının artmasının bu nedenle olduğu bildirilmektedir (4).

Bu çalışmada, Eskişehir aktarlarında satılan ve yaygın bir kullanım alanına sahip bazı bitkisel drogların mikrobiyal yükünün araştırılıp F.I.P. ve E.P. raporlarına uygunluk derecelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Aktarlardan satın alınan 12 çeşit bitkisel drog mikrobiyal flora (Toplam Aerobik Canlı Bakteri Maya ve Küf, Koliformlar, Anaerobik Mezofil sporlu Bakteri) belirlenmesi amacıyla deney materyali olarak kullanılmıştır. Bu bitkisel drogları ve elde edildiği bitkilerin tayin için (1,5-7) kaynaklardan yararlanılmıştır. Bu droglar ve bazı özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

Folia Sennae	— Sinameki yaprağı (<i>Cassia angustifolia</i> Vahl.) Açıkta satılıyor.
Flos Althaeae cannabinae	— Hatmi çiçeği (<i>Althaea cannabina</i> L.) Açıkta satılıyor.
Herba Centaurii	— Kantoron çiçeği (<i>Centaurium minus</i> MOENCH) Açıkta demetler halinde satılıyor.
Flos Anthemis chia	— Beyaz papatya (<i>Anthemis chia</i> L.) Açıkta papatya adı altında satılıyor.
Fructus Anisi	— Anason (<i>Pimpinella anisum</i> L.) Elli gramlık poşetler halinde satılıyor.
Folium Salviae trilobae	— Adaçağı yaprağı (<i>Salvia triloba</i> L.) Açıkta satılıyor.
Flos Tiliae	— İhlamur çiçeği (<i>Tilia argenta</i> Desf. Açıkta satılıyor.

Herba Chamaedrys	— Kısa mahmut otu (<i>Teucrium chamaedrys</i> L.) Otuz gramlık poşetler halinde satılıyor.
Folium Rosmarini	— Biberiye, kuşdili (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) Elli gramlık poşetler halinde satılıyor.
Herba Visci albi	— Ökse otu (<i>Viscum album</i> L.) Yüz gramlık poşetler halinde satılıyor.
Herba Rutae montanae	— Sedef otu (<i>Ruta montana</i> Clus L.) Açıkta demetler halinde satılıyor.
Folium Lauri	— Defne yaprağı (<i>Laurus nobilis</i> L.) Açıkta satılıyor.

Laboratuara getirilen parçalanmış droglardan beşer gr.lık kısımlar tartılıp aseptik koşullarda elli ml. Lactoce Broth içeren ikiyüzelli ml. lik steril erlenmayerlere katılmış, yarım saat çalkalandıktan sonra süzüntü mikrobiyolojik analizlerde kullanılmıştır. Desimal dilüsyonlar (10^{-2} - 10^{-5}) steril distile suyla hazırlanmıştır.

Toplam aerobik canlı bakteri, maya ve küf sayımında seyreltme plaka yöntemi; Anaerobik mezofil sporlu bakteri belirlenmesinde MPN (Most Probable Number) testi yöntemi; Kaliformların belirlenmesinde ise her iki yöntem birlikte uygulanmıştır.

Toplam aerobik canlı bakteri sayımında PCA (Plate Count Agar, Oxoid); Maya ve küflerin sayımında % 0,01 antibiyotik ilaveli (Ampicillin + Gentamicin, gr/gr) SDA (Sabouraud Dextrose Agar); Anaerobik mezofil sporlu bakteri belirlenmesinde TM (Thioglycollate

Medium USP, Oxoid); Koliformların belirlenmesinde ise MPN testi uygulamasında % 0,025 fenol kırmızısı ilaveli Lactose Broth, seyreltme plaka uygulamasında EA (Endo Agar, Difco) kullanılmıştır.

Besiyeri ve yöntemlerin seçimi ve uygulanmasında 8-10 no'lu kaynaklardan yararlanılmıştır.

MPN testlerinde üçlü tüp sistemi uygulanmıştır. Kullanılan besiyerindeki değişikliklerle belirlendikten sonra McCrady tablolarından yararlanılarak sonuçlar değerlendirilmiştir (8).

Sporlu mezofilik anaerobların belirlenmesinde besiyeri tipleri inokulasyondan önce 10 dak. kaynar su banyosunda tutularak içinde kalan oksijen uzaklaştırılmıştır. Örnekler besiyerine kaynar su banyosunda pastörize edildikten sonra inokule edilmişlerdir.

Maya ve küflerin sayımında besiyerleri 25°C de bir hafta inkübe edilmiştir. Kolonilerden ayrıca di-

rekt mikroskopik incelemeler de yapılmıştır. Diğer besiyerleri ise 35°C de üç gün inkübe edilmişlerdir.

Seyreltme plaka yönteminin uygulandığı sayımlarda son üç dilüsyon bulguları dikkate alınmış ve ortalamaları kaydedilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çoğunluğu çay olarak oral yolla kullanılan oniki bitkisel drog örneğinin mikrobiyolojik analiz bulguları TABLO I'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi örneklerimizde toplam aerobik canlı bakteri sayısı gramda $3,6 \times 10^4$ ila $3,1 \times 10^6$ arasında değişmektedir.

Gram örnekte maksimum 10^4 olan F.I.P. ve E.P. limitlerinin aşıldığı bu değerler örneklerimizin oldukça kontamine olduğunu göstermektedir.

Örnekler tek tek ele alındığında en yüksek toplam aerobik canlı bakteri sayısına sahip drog Flos Anthemis chia; en düşük değere sahip yani diğerlerine göre daha az kontamine olan drog Folium Lauri'dir.

Maya ve küf sayıları dikkate alındığında yine Folium Lauri en az kontamine drog ($4,0 \times 10^2$) olarak göze çarpar. En yüksek fungal popülasyona sahip olan drog Herba Chamaedrys ($2,1 \times 10^6$) dir. SDA petrilerinde oluşan kolonilerin makroskopis ve mikroskopik incelen-

meleri sonucu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* ve *Candida* cinslerine ait oldukları saptanmıştır. Bu cinslere ait birçok türün mikotoksik oldukları bilinmektedir (11, 12). Diğer taraftan F.I.P. ve E.P. nin fungal yük açısından önerdiği limit 10^2 /gr. dir (2, 3). Örneklerimizde ise en düşük değer bu limitin dört katıdır.

Koliform sayıları gözönünde tutulduğunda sadece Herba Visci albi'nin koliform içermediği, buna karşın Folium Rosmarini'nin en yoğun koliform popülasyonuna sahip olduğu ($1,1 \times 10^5$) ortaya çıkmaktadır. Koliformlar fekal bulaşmanın, dolayısıyla birçok patojen mikroorganizmanın indikatörüdürler. Steril olma zorunluluğu olmayan bitkisel droglarda hiçbir Enterobacteria veya E. coli'ye rastlanmaması gereği belirtilmekteyse de 5×10^2 /gr. koliform varlığının hastanın sağlığını tehlikeye koymadan tolere edilebileceği de ifade edilmektedir (2, 3, 13). Örneklerimizin çoğunda ise bu değerler bile aşılmaktadır.

Herba Visci albi ve Herba Ruta montanae hariç diğer bütün drog örneklerimizin anaerobik mezofil sporlu bakteriler ile de kontamine oldukları ortaya konmuştur. Özellikle çeşitli tehlikeli zehirlenmelere yolaçması sebebiyle bu bakteri grubunu varlığı halk sağlığı açısından durumun önemini ortaya koyar.

TABLO : I

Bazı Bitkisel Drog Örneğlerinin Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

Drog adı	Bir gram örnekteki mikroorganizma cins ve sayıları				
	Total Aerobik Canlı Bakteri	Maya ve Küf	Koliformlar		Anaerobik Sporlu Mezofil Bakteri
			Endo A.	MPN	
Folia Sennae	2,4x10 ⁵	1,1x10 ⁵	2,1x10 ⁴	1,1x10 ⁴	1,6x10 ⁴
Flos Althaeae	1,5x10 ⁶	1,2x10 ⁵	2,4x10 ⁴	3,0x10 ⁴	2,0x10 ⁴
cannabinae					
Herba Centaurii	4,0x10 ⁵	4,6x10 ⁵	7,0x10 ³	4,6x10 ³	4,6x10 ⁵
Flos Anthemis chia	3,1x10 ⁶	2,1x10 ⁴	1,0x10 ⁴	—	5,4x10 ⁵
Fructus Anisi	2,1x10 ⁵	1,8x10 ⁴	1,2x10 ⁴	3,0x10 ⁴	3,5x10 ⁵
Herba Chamaedryis	2,6x10 ⁶	2,1x10 ⁶	3,5x10 ⁴	3,0x10 ⁴	2,8x10 ⁵
Folium Rosmarini	2,4x10 ⁶	2,4x10 ⁵	1,1x10 ⁵	1,1x10 ⁵	2,3x10 ⁵
Folium Salviae	2,4x10 ⁵	1,0x10 ⁵	3,8x10 ⁵	—	1,3x10 ⁵
trilobae					
Flos Tiliae	4,6x10 ⁵	4,8x10 ⁴	8,4x10 ⁴	4,3x10 ⁴	1,1x10 ⁵
Herba Visci albi	7,5x10 ⁵	5,0x10 ²	—	—	—
Herba Rutae	1,2x10 ⁵	3,1x10 ⁴	1,0x10 ⁴	1,5x10 ⁴	—
montanae					
Folium Lauri	3,6x10 ⁴	4,0x10 ²	1,0x10 ⁴	—	5,6x10 ⁵

SONUÇ

Hijyenik koşullarda toplanmayan veya üretilmeyen ve antimikrobiyal herhangi bir işleme tabi tutulmayan bitkisel droglar insanlar için önemli birer hastalık kaynağı oluşturabilmektedirler. Drogların mikrobiyal yükü etilen oksit muamelesi ile azaltılabilmektedir. Fakat bu gaz, drog etken maddelerinin yapısını değiştirebilmekte ve kalan artık etilen oksit veya toksik ürünleri onun bu amaçla kullanımını tartışmalı kılmaktadır (13).

Bu yüzden doğadan temin edilen drogların hijyenik koşullarda toplanması, drog kültüründe inspektisit ve pestisitlerin mümkün mertebe uzak tutulması, drogların hijyenik koşullarda paketlenmesi ve depolaması gerekir. Diğer taraftan kimyasal kalitelerinin de sürekli kontrol edilmesi halk sağlığı açısından önemlidir.

Ülkemizde kullanılan bitkisel drogların mikrobiyal kalitelerinin gözler önüne serilmesini amaçlayan bu çalışma ile hemen hepsinin de uluslararası kalite sınırlarının dışında bulunuşu şifa değil birer hastalık kaynağı olduklarını ortaya koyar.

KAYNAKLAR

1. Baytop, T. **Türkiye'de bitkiler ile tedavi** İstanbul Üniv. Yayınları, No. 3255, Sanal Matbaacılık, İstanbul, 1984.
2. Fédération Internationale Phar-

maceutique (F.I.P.), Comité des Laboratoires de Services Officiels de Contrôle des Médicaments et de la Section des Pharmaciens de l'Industrie. «Pureté microbiologique des formes pharmaceutiques non obligatoirement stériles l'er Rapport» **J. Mond. Pharm.** 15 : 88-96, 1972.

3. Böhme, H., Hartke, K. **Europaisches Arzneibuch Band I und Band II Kommentar** Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mBH Stuttgart Govi. Verlag GmbH Frankfurt. 1983.
4. Lutowski, J. Kedzia, B. «Patogene Mikroorganismen in Nichtsterilen Arzneimitteln» **Pharmazie in unserer Zeit.** 15 : 18-22, 1986.
5. Melchior, M., Kastner, M. **Ge-würze** Paul Parey Verlag Berlin und Hamburg, 1974.
6. Tanker, N., Toker, G. «Türkiye'de Yetişen Tilia L. Türklerrinin Morfolojik ve Anatomik Karşılaştırılması» **Gazi Üniv. Ecz. Fak. Der.** 1 (2) 69, 1984.
7. Davis, P.H. **Flora of Turkey** Edinburg Press Vol II, 1967,, Vol V, 1975., Vol VI, 1978., Vol VII 1982.
8. Collins, C.H., Patricia, M.L. **Microbiological Methods** 4'th Ed. Butterworth and Co Ltd London, 1976.
9. Wistreich, G.A., Lechtman, M.D. **Laboratory Exercises in Microbiology** 4'th Ed. New York. Mc Millan Publishing Co Inc. 1980.

10. Burnett, G.W., Pelczar, M.J., Conn, H.J. «Preparation of Media» Society of American Bacteriologist (ed), **Manual of Microbiological Methods**, New York, Mc Craw Hill Co. 37-71, 1957.
11. Wright, D.E. «Toxine produced by fungi» **Annual Review of Microbiology**. 22 : 269-282, 1968.
12. Wogan, G.N. «Mycotoxins» **Annual Review of Pharmacology**. 15 : 437-451, 1975.
13. Hartling, C. «Untersuchungen über den mikrobiellen Zustand von Laxantien auf pflanzlicher Basis» **Pharmazeutische Zeitung**. 128 : 1006-1008, 1983.