



Bu proje Avrupa Birliği ve Türkiye Cumhuriyeti tarafından ortaklaşa finanse edilmiştir.

“YÜZME SUYUNUN İZLENMESİNDE UYUM”
Avrupa Birliği Eşleştirme Projesi
TR10 / IB / EN / 02

SİYANOBAKTERİLERİN YÜZME SULARINDA ÇOĞALMASI
REHBER KİTABI (2006/7/EC)



Bu Fransa, İtalya ve Türkiye arasında bir eşleştirme işbirliğidir.



2015

İÇİNDEKİLER

Önsöz	VII
Foreword	IX

I. KISIM

I. BÖLÜM

GİRİŞ	1
-------------	---

II. BÖLÜM

SİYANOBAKTERİLERİN EKOLOJİSİ VE DAĞILIMI.....	3
2.1. Siyanobakterilerin Temel Ekolojisi	3
2.2. Sucul Ortamda Siyanobakteri Patlamaları.....	4
2.3. Toksik Siyanobakteriler	5
2.4. İtalya ve Türkiye’de Siyanobakterilerin Dağılımı	6

III. BÖLÜM

SİYANOTOKSİNLERİN TOKSİKOLOJİK PROFİLLERİ.....	11
3.1. Giriş	11
3.2. Lokal Etkiler	12
3.3. İnsanlardaki Lokal Etkiler.....	13
3.4. Sistemik Etkiler	13
3.5. Siyanotoksinlerin Kimyasal ve Toksikolojik Profili	15

IV. BÖLÜM

REFERANS DEĞERLER VE DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ REHBERLERİ.....	23
4.1. Giriş	23
4.2. Siyanotoksinlere İlişkin Risk Değerlendirmesi ve Dünya Sağlık Örgütü Rehberleri	26

V. BÖLÜM

YÜZME SULARINDA SİYANOBAKTERİ PATLAMALARINI DEĞERLENDİRMEK VE YÖNETMEK İÇİN ULUSLARARASI YAKLAŞIMLAR	31
5.1. Giriş	31
5.2. Avusturalya	31
5.3. Danimarka	32
5.4. Finlandiya	32
5.5. Hollanda	32
5.6. Yeni Zelanda.....	34

5.7. İspanya	36
5.8. Amerika Birleşik Devletleri	36
5.9. Son Değerlendirmeler	36
VI. BÖLÜM	
YÜZME SULARINDA SİYANOBAKTERİYEL PATLAMALARI YÖNETMEK İÇİN İTALYAN REHBERLERİ	39
6.1. Giriş	39
VII. BÖLÜM	
MİKROSKOPİ.....	41
7.1. Yüzeyden Numune Alımı:	42
7.2. Su Kolonundan Numune Alımı:.....	42
7.3. Köpük Numunesi Alımı	42
7.4. Alınacak Numune Hacmi	43
7.5. Numunenin Sabitlenmesi.....	43
7.6. Numunenin Hazırlanması 1: Çökeltme	43
7.7. Numunenin Hazırlanması 2: Filtreleme – Tek Hücreli Pikosiyanobakteri.....	44
7.8. Sayım Prosedürü	44
7.9. Morfolojik Analizler ve Sayım için Referanslar (Kitaplar ve Web Siteleri).....	45
VIII. BÖLÜM	
İMMÜNOLOJİK TESTLER	47
8.1. Giriş	47
8.2. CTX Saptaması için Biyolojik Metotlar	47
8.3. Biyokimyasal Metot: Fosfataz İnhibisyon testi (PPI)	48
IX. BÖLÜM	
SİYANOTOKSİN TANIMLANMASI İÇİN ANALİTİK KİMYA METOTLARI	53
9.1. Giriş	53
9.2. Sonuçlar	55
X. BÖLÜM	
SİYANOBAKTERİLER İÇİN MOLEKÜLER BİYOLOJİ METOTLARI	57
XI. BÖLÜM	
YÜZME SULARINDA SİYANOBAKTERİ ÇOĞALMASINA YÖNELİK FRANSIZ REHBERİ	61
11.1. Uyarılar	61
11.2. Özet	61

II. KISIM

I. BÖLÜM

OSTREOPSIS OVATA PATLAMALARININ YÖNETİMİ HAKKINDA İTALYAN KILAVUZ İLKELERİ	73
1.1. Giriş	73
1.2. İtalyan Kılavuz İlkeleri	74
1.3. Kaynakça.....	77

II. BÖLÜM

ALGAL TOKSİNLERİN TOKSİKOLOJİK PROFİLLERİ: PALİTOKSİNLER MERCEK ALTINDA	79
2.1. Giriş	79
2.2. İnsan Maruziyeti	80

III. BÖLÜM

(EPİDEMİYOLOJİK VE ÇEVRESEL) İZLEME İLE OSTREOPSIS'İN SAĞLIK ETKİLERİNİN FRANSA'DA AKDENİZ KIYI ŞERİDİNDE 2007 İLE 2010 YILLARI ARASINDAKİ BİLANÇOSU	87
3.1. Özet	87
3.2. Bağlam	88
3.3. İzlemenin Amacı	89
3.4. Metot	89
3.5. Sağlık Etkilerinin Önlemesi Modelleri.....	91
3.6. Sonuçlar	91
3.7. Tartışma.....	93
3.8. Referanslar	95

Yüzme Suyunun İzlenmesinde Uyum, Avrupa Birliği Eşleştirme Projesi

TR/10/IB/EN/02

Bu bir Fransa, İtalya ve Türkiye işbirliğidir.

Projenin kısa tanıtımı

Eşleştirme

Katılım öncesi Kurumsal Yapılanmaya destek sağlamanın temel aracı olan Eşleştirme, aday ülkelerin Topluluk Müktesebatının Üye Ülkelerle aynı standartlarda yürütmeleri için gerekli olan yapılar, insan kaynakları ve yönetim becerileri ile kendi modern ve verimli idarelerini ve organizasyonlarını geliştirmede yardımcı olmayı amaçlamaktadır. Topluluk Müktesebatı, bütün Üye Ülkelerin uyması zorunlu olan ortak hak ve zorunluluklar yapısıdır.

Eşleştirme, Faydalanıcı Ülkelerdeki İdari makamlar ve yarı kamu kuruluşları için Üye Devletlerdeki ortaklarıyla birlikte çalışmanın çerçevesini sağlamaktadır. Topluluk Müktesebatının belirli bir kısmının aktarılması, yürütülmesi ve uygulanmasını hedefleyen bir projeyi ortaklaşa geliştirir ve yürütürler.

Yüzme Suyu Direktifi 2006/7/EC

76/160/EEC Direktifini yürürlükten kaldıran ve yüzme suyu kalitesinin yönetimi hakkındaki yeni AB Direktifi olan 2006/7/EC 15 Şubat 2006 tarihinde yayımlanmıştır. AB direktifinin uygulanması için Üye Ülkelere 31 Aralık 2014 tarihine kadar süre tanınmıştır. 24 Mart 2008 tarihi itibarıyla de Üye Ülkeler Direktifin uyumuna yönelik kanunları, yönetmelikleri ve idari hükümleri yürürlüğe koymuşlardır.

2006/7/EC Direktifinin amacı, yüzme suyu kalitesinin yönetimi için altı ana prensibe dayanan genel bir strateji oluşturmaktır:

1. Intestinal enterococci ve Escherichiacoli izleme sonuçlarını esas alan, yüzücülere yönelik mikrobiyolojik risklere ve sezonadaya yüzme suyu izlemesi,
2. Yüzücüleri korumak ve bilgilendirmek üzere, birden fazla yıl esas alınarak yüzme suyu kalitesinin belirlenmesi,
3. Kirliliğin niteliklerinin, halk sağlığına tehdit oluşturan unsurların ve uygulanacak yönetim önlemlerinin belirlenmesi için yüzme suyu profillerinin oluşturulması,
4. Yüzücülerin sağlığı için risk oluşturabilecek beklenmeyen durumlar meydana geldiğinde, özellikle Siyanobakteri kirliliği durumunda, istisnai önlemlerin alınması,
5. Bir nehir havzası birden çok ülke toprağı üzerinde uzayıp gidiyor ise, sınırı aşan sular için bilgi alışverişinde bulunmak ve ortak hareket etmek,
6. Halkın bilgilendirilmesini ve su kalitesi yönetimine katılımını sağlamak, halka doğru tavsiyelerde bulunmak için yüzme suyu kalitesi hakkında yeterli bilgi vermek.

Proje

Projenin temel amacı yeni yüzme suyu Direktifi (2006/7/EC) nin uyumlaştırılarak ulusal mevzuata aktarılması ve bu yeni direktif doğrultusunda Türkiye Halk Sağlığı Kurumunun yüzme suyu izleme sisteminin güçlendirilmesidir.

Proje geniş anlamda halk sağlığı risklerinin azaltılmasına katkıda bulunmayı, yüzme suyu konusunda kurum ve kuruluşlar arasında veri paylaşımını, işbirliğini ve koordinasyonu sağlamayı amaçlamaktadır.

Proje 6 hedef üzerine kurulmuştur.

Hedef 1: Yeni yüzme suyu direktifi 2006/7/EC nin uyumlaştırılması.

Hedef 2: Yüzme suyunun sınıflandırılması ve kalite değerlendirmesine yönelik 76/160/EEC direktifinden 2006/7/EC Direktifine geçişin aşamalı olarak pilot uygulamalarla başlatılması, daha sonra bu uygulamaların ülke genelinde tüm yüzme alanlarına yaygınlaştırılması.

Hedef 3: Yüzme suyu profilleri ilk olarak pilot illerin seçili alanlarında başlatılması, daha sonra aşamalı olarak tüm yüzme alanlarına yaygınlaştırılması.

Hedef 4: Yüzme suyu kalite veri setleri oluşturulması.

Hedef 5: Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu yüzme suyu kalitesini izleme sisteminin geliştirilmesi.

Hedef 6: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Halk Sağlığı Laboratuvarlarının teknik kapasitesinin yeni yüzme suyu direktifi doğrultusunda analizleri gerçekleştirmesine yönelik olarak güçlendirilmesi.

Bu rehber kitap ile ilgili kısa bilgi

Bu rehber kitap 5. Hedef kapsamında Türkiye Halk Sağlığı Kurumuna ve Yüzme Suyu izlemesinin yapıldığı 34 İlin Halk Sağlığı Müdürlüklerine yeni yüzme suyu direktifi 2006/7/EC doğrultusunda yüzme sularında siyanobakteri çoğalması hakkında teknik destek sağlamak amacıyla hazırlanmıştır.

Bu dokümanın hazırlanmasında ve redaksiyonunda yer alan Fransız ve İtalyan uzmanlar aşağıdaki gibidir:

İtalya Ulusal Sağlık Enstitüsünden Enzo FUNARI, Emanuela TESTAI, Maura MANGANELLI. Fransa Sağlık Bakanlığı, AlpesCôtés d'Azur Bölge Müdürlüğünden Dr. Alexis ARMENGAUD, Uluslararası Su Ofisinden Pierre CHANTREL (FR Proje Lideri), André BOSCHET (Yerleşik Eşleştirme Danışmanı).

Bu dokümanın hazırlanmasında ve redaksiyonunda yer alan Türk uzmanlar aşağıdaki gibidir:

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Çevre Sağlığı Daire Daire Başkanlığından Uzm. Biolog Zinnet OĞUZ (Hedef 5 anahtar uzmanı), Dr. Müh. Dilek DİKMEN (RTAc)

FOREWORD

Alignment in bathing water monitoring, European Union Twinning Project

TR/10/IB/EN/02

This is a twinning partnership between France, Italy and Turkey.

The Project in a Nutshell

Twinning

Twinning, the principal instrument for pre-accession assistance for Institution Building, aims to help candidate countries in their development of modern and efficient administrations and organisations, with the structures, human resources and management skills needed to implement the Acquis Communautaire to the same standards as Member States (MS). The Acquis Communautaire is the body of common rights and obligations which bind all the Member States.

Twinning provides the framework for administrations and semi-public organisations in the beneficiary countries (BC) to work with their counterparts in Member States. They jointly develop and implement a project that targets the transposition, enforcement and implementation of a specific part of the Acquis Communautaire.

The Bathing Water Directive 2006/7/EC

The second and the new European Directive 2006/7/EC concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC was published on 15 February 2006. A period until 31 December 2014 was given to the Member States for the implementation of it. However the Member States have brought into force the laws, regulations and administrative provisions in order to comply with this Directive by 24 March 2008.

The objective of the 2006/7/EC Directive is to introduce a global strategy for the management of bathing water quality, which lies on six main principles:

1. Monitoring of bathing water, adapted to season and to the microbiological risk for the bathers, based on the results of the monitoring of intestinal Enterococci and Escherichia coli,
2. Determining bathing water quality, on a pluri-annual basis, to protect and inform bathers,
3. Establishing bathing water profiles, to determine the nature of the pollution, the threat to public health and the management measures to put into place,
4. Adopting exceptional measures when unexpected situations occur, representing a risk to bather's health, especially in the case of pollution by cyanobacteria,
5. Exchanging information and taking joint action for transboundary waters, if a river basin extends over several territories,
6. Enabling the public to obtain information and to participate in water quality management and ensuring that adequate information on bathing water quality is disseminated in order to give proper advice to the population.

The Project

The main purpose of the project is to transpose the new bathing water Directive 2006/7/EC into the Turkish National legislation and strengthening the bathing water quality monitoring system of Ministry of Health, Public Health Institution of Turkey within the framework of the new Directive.

In the broader sense the project aims to contribute to the reduction of public health risks and to ensure coordination, cooperation and data sharing between institutions and organisations in bathing waters.

The project was established on the 6 main target.

Result 1: The alignment of the new bathing water Directive 2006/7/EC will be done.

Result 2: Transition from 76/160/EEC to 2006/7/EC Directive regarding the classification and quality assessment of bathing water will be gradually ensured starting with the pilot applications and then disseminating to the whole bathing areas.

Result 3: The bathing water profiles will be gradually established starting first in the selected areas of the pilot Provinces and then disseminating to the whole bathing areas.

Result 4: Sets of bathing water quality data will be compiled.

Result 5: The bathing water quality monitoring system of the Ministry of Health, Public Health Institution of Turkey will be improved

Result 6: The technical capacity of the Public Health Institution of Turkey, Public Health laboratories to perform analysis according to the new bathing water directive will be improved.

This Guidance Booklet in Short

This Guidance Booklet was prepared within the scope of Result 5 to provide technical support both to the Public Health Institution of Turkey and to the Public Health Directorates in 34 Provinces where bathing water quality monitoring activities are carried out, on cyanobacteria proliferation for bathing waters in line with the new bathing water Directive 2006/7/EC.

The following French and Italian experts have participated to the preparation and redaction of this document:

Enzo FUNARI, Emanuela TESTAI, Maura MANGANELLI from Italian National Institute of Health, Dr. Alexis ARMENGAUD from French Ministry of Health-Regional Directorate of Alpes Côtés d'Azur, Pierre CHANTREL (FR Project Leader), André BOSCHET (RTA) from International Office for Water

The following Turkish experts have participated to the preparation and redaction of this document: Spt. Biologist Zinnet OĞUZ (Result 3 key expert), Dr. Eng. Dilek DİKMEN (RTAc) from Public Health Institution of Turkey, Environmental Health Department.

BİRİNCİ KISIM

YÜZME SULARINDA SİYANOBAKTERİLERİN ÇOĞALMASI NEDENİYLE MEYDANA GELEN RİSKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE YÖNETİMİ

GİRİŞ

Siyanobakteriler, (CB) prokaryotların oldukça fazla çeşitlilik gösteren bir grubu olup (nucleus yani çekirdeğe sahip olmayan tek hücreli organizmalardır), en uç habitatlar da dahil olmak üzere neredeyse bütün habitatlarda, birçok sulu ve karasal ortamda kolonileşebilme ve hayatta kalabilmektedirler. Boyutları 2 - 4mm arasında değişmekte olup, farklı türler arasında geniş bir heterojenlik göstermektedir.

Sağlık açısından öneme sahiptirler çünkü birçok tür ister serbest yaşayanlar olsun ister diğer organizmaların simbiyontları olsun, insan ve diğer hayvanlar için toksik olan birçok molekül üretebilirler.

Genellikle tatlı su ortamlarına dağılmışlardır ve buralarda görülmektedirler ancak deniz sularına ilişkin eldeki kimi bilgiler de denizlerde de sağlık sorunlarına yol açabileceklerini gösterir.

İnsanlara siyanotoksinlere oral yolla, temasla ve solunum yoluyla ayrıca parenteral yolla maruz kalabilirler. Oral yolla maruz kalma en önemli maruz kalma biçimi olup, kontamine olmuş suyun veya gıdaların (biyobirikim yoluyla kontamine olmuş olan gıdaların) ve kontamine gıda takviyelerinin tüketilmesi; rekreasyonel faaliyetler sırasında kontamine olmuş suyun kazara yutulması yoluyla gerçekleşir. Temas ve solunum yoluyla maruz kalma ise rekreasyonel spor sırasında, örneğin patlamaların olduğu bir gölde kano sporu ya da su kayağı yapılması sırasında, veya yine patlamaların olduğu sularda profesyonel faaliyetler sırasında ya da duş esnasında gerçekleşir. Parenteral yol ise en tehlikeli olmakla birlikte aynı zamanda en nadir görülen yoldur. Yalnızca uygun olmayan bir şekilde artılmış bir su ile yapılan hemodiyaliz nedeniyle meydana gelen bir hasta ölümü vakasına Brazilya'da karşılaşılmıştır (Azevedo S, Carmichael W, Jochimsen E, Rinehart K, Lau S, et al. (2002) Caruaru-Brazilya'da renal diyaliz artımı sırasında mikrosistinler ile insan zehirlenmesi. Toksikoloji 181:441-446).

Aşağıdakiler yoluyla bunların yayılmasına ilişkin giderek artmakta olan bir risk bulunmaktadır (GEO-HAB, 2001. Zararlı Alg Patlamalarına ilişkin Global Ekoloji ve Okyanus bilim. SCOR ve IOC):

- Akıntılar, seller ve diğer doğal mekanizmalar yoluyla yüksek yayılım oranı,
- Ötrofikasyon (birçok su havzasında artan nütrient konsantrasyonu)
- Uzun vadeli iklim değişikliği (ısınma, suyun katmanlaşması, nütrient konsantrasyonu, vsr.)
- Suyla ilgili faaliyetlerin artması ve daha iyi bilimsel ve teknik bilgilere bağlı olarak artan bilinç.

EFSA'ya göre (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi), biyo-toksinler (akuatik organizmalar yoluyla üretilen toksinler) henüz ortaya çıkan, yeni ve azımsanan bir riski göstermekte olup, bu sebepten dolayı bu konuda daha fazla araştırma faaliyetinin yapılması gerekmektedir. EFSA'nın ilgilendiği nokta özellikle diğer kontaminantların da bulunduğu alanlardaki sinerjistik (diğerinin etkisini arttıran) etkilerin olabilme ihtimaline ilişkindir. (EFSA Dergisi 2012;10 (10):S1015. EFSA'nın gıda ve yemlerde ortaya çıkmakta olan riskleri belirlemeye ilişkin yaklaşımı: envanter yapma ve ileriye dönük bakış.)

SIYANOBAKTERİLERİN EKOLOJİSİ VE DAĞILIMI

Maura Manganelli

2.1. Siyanobakterilerin Temel Ekolojisi

Aşağıdaki paragraflarda siyanobakterilerin temel ekolojik özellikleri tanımlanacaktır; ardından bazı temsili türlerin daha detaylı tanımları verilecektir.

Siyanobakteriler ototrof prokaryotlardır, öyle ki nükleüsü (çekirdeği) bulunmayan tek hücreli organizmalar olup, algler ve bitkiler gibi oksijenik fototroflardır (karbon sabitlemesinin son aşaması olarak oksijen üretirler).

Bunlar verimli birincil üreticilerdir çünkü klorofil a ve özel yapılar ile kendilerini aşırı ışığa karşı koruyan pigmentler (fikosiyenin ve fikoeritrin) içerirler ve farklı dalga boyundaki geniş spektrumdan ışık toplamalarına imkan verir. Düşük CO₂ konsantrasyonunda etkin fotosentez yapabilirler bu ise su ortamında ve yüksek pH (ref.)da sınırlayıcı bir etkidir. Kendilerini UV etkilerinden koruyan başka pigmentler (karotenoidler) içerirler ve bu ise açık ortamlarda kolonileşebildikleri anlamına gelir.

Birçok tür geniş aralıkta optimum ısıya sahiptir, ve bazıları ise bütün nitrojen döngüsüne dikkate değer ölçüde katkı sağlayan atmosferik nitrojeni sabitleyebilir. Sabitleyici türlerin çoğu, bunu fotosentezin meydana geldiği heterokist adlı özel hücrelerde yapmaktadır (nitrojenaz enzimi N₂'yi oksijene duyarlı amonyaka çevirir) ancak *Thricodesmium* gibi türler bulunmaktadır. Bunlar gece boyunca heterokist olmaksızın N 'i sabitler (Carpenter, E.J., Capone, D.G. ve Reuter, J.G. [Eds] 1992 *Denizlerde Yaşayan Pelajik Siyanobakteriler: Trichodesmium ve diğer Diazotrophs*. NATO ASI Series C, Matematiksel ve Fizikle ilgili Bilimler, Cilt. 362. Kluwer Akademik Yayınları, Dordrecht). N genellikle sulu ortamlardaki sınırlayıcı etken olduğu için, bu olasılık kendilerin önemli bir rekabetçi avantaj sunmaktadır. Bazı türler, *Mikrosistinler* gibi inorganik nütrientlere yüksek bir eğilime sahiptir, bu onların P ve N gibi nütrientleri, nutrient bakımından sınırlı ortamlardan da uzaklaştırmalarına imkan vermektedir (O'Neil JM, Davis TW, Burford MA, Gobler CJ. Zararlı siyanobakteri patlamalarının artışı: Ötrofikasyon ve iklim değişikliğinin potansiyel rolü. Zararlı Algler 2012;14(0):313-34. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 2012;14(0):313-34)

Siyanobakteriler morfolojik olarak son derece değişiktir ve tek hücre ya da koloni formunda, tek veya koloni filamentleri (ipliksileri) olabilirler. Tüm siyanobakteriler aseksüel olarak ürerler, ancak kimi filamentli formlarda hormogonia adlı filamentin üreme bölümü açıktır ve filamentten bir kez ayrıldıklarında yeni ayrı bir filament oluştururlar. Birçok planktonik türde batmazlık mekanizması mevcut olup, bu mekanizma onların gün içerisinde su kolonunda birçok kez yer değiştirerek ışık ve/veya nütrientler bakımından doğru konumda olmalarını sağlar. Batmazlık ışığın azaldığı zamanlarda artan gaz kesecikleri yoluyla düzenlenir, fotosentez oranı düşüktür ve solunum daha önemlidir, ve kesecikler fotosentat birikimi sonucunda azalır. Bazı heterosist N₂-sabitleyen siyanobakteriler, sabit C ile sembiyont sağlayan yosunlar ve diatom, pteriodofitler, gimnospermler, angiospermler gibi çok çeşitli konakçılarla sembiyotik ilişki içerisinde olan kemo-heterotroflardır ve sabit N₂ alırlar. (Rai AN, Söderbäck E, Bergman B (2000) Tansley Review No. 116 – Siyanobakteri-bitkisi sembiyozları. Yeni Fitol 147: 449-481).

Bazı türler için biçim ve boyutları, geniş koloniler veya geniş ve renkli filamentler predasyona karşı bir savunmadır. Sonuç olarak, kimi türler toksin üretirler, bu toksinlerin ekolojik rolü henüz netleştirilmemiş olmakla birlikte bu durum, toksin üretmeyen türlere göre kendilerine rekabetçi bir avantaj vermektedir.

Tüm bu fizikolojik özellikler siyanobakterileri, Antarktika'nın eriyen akarsularından, Yellowstone Park'ın ılık kaplıcalarına, hipersalin (deniz tuzundan daha fazla tuzlu) gel-gitli kumsallarına kadar her habitatta kolonileşebilir hale getirirken, (Whitton ve Potts, 2002) bu durum siyanobakterilerin ekolojik başarılarına yalnızca bir örnektir.

2.2. Sucul Ortamlarda Siyanobakteri Patlamaları

Siyanobakteriler geniş patlamalar oluşturabilir bunlar özellikle yüzeydedir ancak kimi türleri bulanık göllerde etkin ışık tutma sistemleri ile nutriklin/termoklinde de patlamalar yapabilir. Bulanıklık parçacıkların asılı kalması nedeniyle olabilir ancak nedeni kendileri tarafından üretilen gölge yoluyla patlamalarını sonlandıran ve böylelikle siyanobakterinin de patlamasına imkan veren diğer planktonik türlerin mevcudiyeti nedeniyle olabilir. Siyanobakterilerin nisbeten yavaş büyüme oranına sahiptir ve yavaş devir daim süresine sahip su havzalarında veya düşük akış oranıyla çok iyi bir şekilde büyürler. *Nodularia spumigena* ve *Aphanizomenon flos-aquage* gibi Diazotrofik (N₂ sabitleyen) türler için N:F oranı alglerin ihtiyaç duyduklarından düşüktür bu durum da siyanobakterilerin patlama yapması için gerekli koşullardan biri olarak görülür (Stal, L.J., P. Albertano, B. Bergman, K.v. Bröckel, J.R. Gallon, P.K. Hayes, K. Sivonen ve A.E. Walsby. 2003. "Temeller: Baltik Denizde Siyanobakteriler. Baltik Denizde siyanobakterilerin sudaki patlamalarının yapısı ve dinamiğinin araştırılması." Kıta Sahaneliği Araştırması 23:1695-714). Siyanobakteriler yalnızca ötrofik habitatlarda değil ancak oligotrofik ortamlarda da çeşitli stratejiler sayesinde patlamalarda bulunabilirler. Diazotrofik organizma fosfor (P) patlama oluşumu için anahtar nütrient olarak görülmektedir ancak organizmaların çökeltilerden P almasına imkan veren su havzası yatağında çökelmiş olan akinetlerin (özel interfazdaki hücre) oluşumu sayesinde düşük çözülmüş P ile ortamlarda diğer organizmaların üstesinden gelebilirler. Aksi takdirde, *Anabaena* ve *C. raciborskii* de P'nin organik biçimini kullanabilir (O'Neill ve diğerleri 2012). Oligotrofik çevrelerde, yüksek benzerlikteki nütrient sistemleri ve/veya bunların ektoenzimatik faaliyetleri dışında, siyanobakteriler diğer organizmaların ektoenzimatik aktiviteleri yoluyla mineralize olmuş nütrientleri kullanabilirler. Farklı coğrafi bölgelerdeki ve enlemlerdeki birçok göl bu sebepten dolayı göllerin rengi değişecek yoğunluktaki geniş siyanobakteri patlamalarına maruz olurlar.

Siyanobakteri hücrelerinin büyümesi yani patlamaları kontrol eden etkenler arasında, hem aşağıdan yukarıya hem de yukarıdan aşağıda kontrolü göz önünde bulundurmalıyız, örneğin, siyanobakteri kaynakları (ototrofik oldukları için nütrientler) ve predatörleri tarafından uygulanan kontrol gibi..

Ötrofikasyon (atık sulardan, tarımsal alanlardan gelen akıntılardan, atmosferik tortulardan ve diğer antropojenik aktivitelerden dolayı su havzalarındaki nütrientlerde etkileyici artış) aşağıdaki sebeplerden dolayı, nütrientlerin kontrolü tarafından siyanobakterilerin salınımına yol açmıştır (Pearl, 2008, Siyanobakteriyel Zararlı Alg Patlamaları: Bilimsel Durumu ve Araştırma İhtiyaçları. Heisler ve diğerleri 2008, Zararlı Algler. O'Neill ve diğerleri 2012, Zararlı Algler):

- Daha fazla uygun nütrient havzanın taşıma kapasitesini ve bu nedenle de büyüyecek hücrelerin sayısını artırır;
- Nütrient girdileri genellikle dengesiz bir orandadır (Redfield'den farklı olarak C:N:P=100=16=1 alge özüdür) ve bu ise fitoplankton topluluğunun oluşum türlerini değiştirir.
- Organığe karşı inorganik veya nitrate karşı amonyak gibi nütrientlerin kimyasal biçimindeki değişiklikler de türlerin oranını değiştirebilir.

Predasyon yoluyla kontrole ilişkin olarak, mikrozooplanktonların (dinoflagellatlar, tintinidler, 200-200um arasındaki değişen organizmalar), göllerdeki fito nüfusu kontrol etmede kopepodlardan daha önemli olduğu ortaya konmuştur, ancak bunların siyanobakterileri kontrol edemediği görülmektedir çünkü (Tumer, 2008, Zararlı Alglerin Ekolojisi)

- Yüksek nütrient konsantrasyonu siyanobakterilerin eşik yoğunluğun üzerinde büyümesine neden olmaktadır.
- Bazı siyanobakteri türleri halen soğukken ve mikrozooplankton henüz çok aktif değilken patlama yapabilir.
- Alg üzerinde selektif predasyon siyanobakteri büyümesine imkan verir.

Son olarak, iklim değişiklikleri gibi etkenler siyanobakteri dağılımının artmasında son derece önemlidirler (Hallegraeff, 2010, J Phycol; Funari ve diğerleri 2012, Ann Ist Sup Sanità).

Ötrofik koşulda artan ısı siyanobakteri çoğalmasını doğrudan arttırır. Gerçekte Mikrosistinler, Anabaena ve Oscillatoria gibi bazı siyanobakteriler diatomlara kıyasla yüksek ısıda daha yüksek büyüme oranına sahiptir (110-112) ve nutrient konsantrasyonu eğer sınırlayıcı değilse, bir türün diğer bir siyanobakteriye veya diğer bir fitoplanktona karşı başarısını belirlemede ana etken ısı olabilir (113-115).

Isının doğrudan ve dolaylı etkileri arasındaki karmaşık etkileşimler genellikle topluluk yapısından, ve baskın türler arasındaki değişikliklerden ileri gelmektedir. Termal sabitliğin ve katmanlaşmanın derinlemesine artmasıyla, ötrofik göllerde Mikrosistin, Anabaena, Aphanizomenon gibi yüzen siyanobakterilerin çoğalması meydana gelecek ve yüzey patlamalarının gelişim şansı da artacaktır (124). Mevcut veriler, ısınmanın olduğu bir iklimden dolayı uzatılmış bir termal katmanlaşmanın, genellikle daha soğuk sulara adapte olan *P.rubescens* (127) gibi türleri de destekleyeceğini göstermektedir. Baltık Denizinde yıllardan beri siyanobakteriyel biyo-küttelede gözlemlenmiş olan dikkate değer artış, temelde *Aphanizomenon flos-aquae*, *Nodularia spumigena* ve *Anabaena sp.*den oluşmuş olup, artan ısı, hidrolojideki değişimler ve nütrient girdileri (126) ile ilişkilidir. Bu sebeple, su organizmalarına, bunları tüketen insanlar da dahil olmak üzere, genel olarak yüksek bir maruziyet öngörülebilmektedir. Tatlı su akıntılarındaki değişiklikler haliçler üzerinde en büyük potansiyel etkiye sahip olurken, fiziksel karışma özelliklerinde değişikliklere neden olacaktır (100). Tatlı su akıntılarının haliçlere akması suyun tutulma süresinin, nütrient sevkياتının, dikey katmanlaşmasının, tuzluluk ve fitoplanktonların büyüme oranlarının kontrolünü etkiler (101). Artan akıntılardan artan tatlı su girdisi haliç ortamının tuzluluğunu azaltarak seyreltebilir ve iç akarsulardan tuza toleranslı siyanobakterilerin inokulasını taşıyarak toksin siyanobakterilerin geniş patlamalarını aşırı miktarda teşvik eder. Aşırı yağışların ve sellerin de göllerdeki nütrient mevcudiyetini arttırabileceğini ve buna karşılık siyanobakteri çoğalmasına neden olacağını belirtmek önemlidir. Şiddetli yağışların çevredeki çeltik tarlalarından bir balık yetiştiriciliği göletine fosfor akittiği Bangladeş'te, artan nütrient konsantrasyonu (9.5mg L-1) yüksek ısılarla çakışmakta olup (31°C) bu durum Mikrosistin *aeruginosa* ve *Aphanizomenon flos-aquae* patlamasının (105) olması nedenidir. Toprak akıntıları ve atık su arıtım tesisinden gelen fosfor, demir ve karbon bakımından zengin deşarjlar ise, kıyasal Queensland'de örtü oluşturan nitrojen sabitleyen *Lyngbya maiscula*'nın yayılmasından sorumlu olabilir (106-107).

Danimarka'da topraklardan göllere ve kıyasal alanlarda biriken fosforun gelecek 100 yıl içerisinde artan yağmurlar nedeniyle %3 ila 16 oranında artması beklenmekte olup, göl topluluğu içerisinde diatom ve krisofitlere (108) karşı siyanobakteri ve dinoflagellatlara doğru bir kayış gözlemlenmiştir. (VEDI FUNARI ET AL. ANNALI PER LA BIBLIO).

Artan atmosferik CO₂ farklı siyanobakteri türleri üzerindeki olumsuz etkilere rağmen, siyanobakteriyel çoğalmayı sudaki pH'ı değiştirerek doğrudan etkileyebilir. Yoğun siyanobakteri patlamalarının olduğu sistemlerdeki okyanus yüzeyi ve tatlı suların beklenen asitleşmesi (Caldeira and Wickett, 2003; Orr ve diğerleri, 2005), patlama aktivitesinde bir artışı teşvik etmekte olup bu durum CO₂ tüketimini arttırmaktadır.

İklim değişiklikleri ile siyanobakteri çoğalması arasındaki karmaşık ilişkiler Paerl ve Huisman'nın şeklinde iyi bir şekilde tasvir edilmiştir 2009.

2.3. Toksik siyanobakteriler

Birçok siyanobakteri, genellikle hepatotoksinler, nörotoksinler, paralitk kabuklu deniz hayvanı toksinleri, sitotoksinler, tahriş ediciler ve gastrointestinal hedef organlar üzerinde gruplanmış olan siyanotoksinler (CTX) üretirler ve aynı türden toksinler, Ekteki 2 tabloda rapor edildiği üzere bir türden fazla tür tarafından da üretilebilir...(Mattei e Stefanelli, 2008). Birçok yeni molekölün, ikincil metabolitlerin, *Aeruginosines*, *Microginins*, *Anabaenopeptins* ve birçok diğerleri gibi insanlarda genellikle bilinmeyen

etkilerinin halen keşfedilmekte olduğunun dikkate alınması önemlidir (Viaggiu ve diğerleri 2011). Bu sebepten dolayı bunların üremesini düzenleyen etkenlerin neler olduğunun bilinmesi ve anlaşılması son derece zordur. Şu anda, bazı türler için kimi fiziksel ve genetik faktörler belirlenmiştir. Çevresel faktörlerin arasında, ısı ve ışık, *Aphanizomenon flos-aquae* içerisinde slindrospermopsin üretimini etkiler gibi görünmektedir (Preussel ve diğerleri 2009). Ancak, diğer durumlarda ışık yoğunluğu ile nütrient konsantrasyonunun toksin üretimi üzerinde hücrelerin büyüme oranını arttırarak ve böylelikle toksin üreme oranını arttırarak toksin üretimi üzerinde dolaylı bir pozitif etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Wiedner ve diğerleri 2003; Oh ve diğerleri 2000).

Toksin üretiminin genetik boyutu da, hem yoğunluğa bağlı görülen toksik geninin ifadesi ve düzenlenmesi bakımından (Kurmayer ve diğerleri 2004; Wood ve diğerleri 2010; Fewer ve diğerleri 2010), hem de aynı popülasyon içerisinde aynı türlerden tüm bireylerin genellikle toksin üretimi için gerekli gene sahip olmadıklarından kaynaklanan (Briand ve diğerleri 2008; Okello ve diğerleri 2010; Orr ve diğerleri, 2010) toksik genotip bakımından son derece önemlidir.

Toksinlerin ekolojik rolünün bilinmesi, bizlere iyi yönetim stratejilerine dair bir iç bakış sunabilir ancak ne yazık ki şu anda çok azı bilinmektedir.

Slindrospermopsin haricinde genellikle hücre içi oldukları varsayılan siyanotoksinler, predatorlere karşı bir savunma olarak üretilmişlerdir. Ancak birçok yazar mikrosistinlerin selektif baskı olarak otlamaya karşı koruyucu rolünü dışarıda bırakmıştır (Rohrlack et al. 1999; Rantala et al. 2004). İno kimyasalların rolü gösterilmiş olup, eriyen hücreler tarafından salınan mikrosistinlerin güçlü baskı koşullarında popülasyonun geri kalanını uyardığı belirtilmiştir (Schatz ve diğerleri, 2007). Son dönemde, oksidatif baskı koşulları altında mikrosistinlerin birçok protein grubuna bağlandığı, hücreleri daha dirençli ve UV ile oksidatif baskı altında büyüyebilir kıldığı gösterilmiştir (Zilliges ve diğerleri, 2011).

2.4. İtalya ve Türkiye’de Siyanobakterilerin Dağılımı

İtalya’da neredeyse tüm bölgeler birçok farklı siyanobakteri türünün mevcudiyeti ve patlamalarından etkilenmiş olup, genellikle her zaman mikrosistinlerin mevcudiyetiyle bağlantılı toksiklik üzerine olan veriler yalnızca Trentino Alto Adige, Marche, Sardinya, Latium ve Toskana’da yalnızca az sayıda vakada mevcuttur. Alplerin alt bölgelerindeki derin göllerden, volkanik göllere, yapay barajlara kadar farklı göl biçimlerinde siyanobakterilerin aşırı ekolojik çok yönlülüğü bir kez daha kendini göstermektedir.

Türkiye’de ise İznik, Sapanca, Kovada Gölleri ve Küçükçekmece Gölü’nden toksin türlerin toksisitesine ilişkin verileri sunan az sayıda doküman bulunmakta olup, en yaygın türler *Planktotriks rubescens* ve *Mikrosistin aeruginosadır*. Aynı zamanda Türkiye’de mikrosistinler en önemli siyanotoksinlerdir.

Temsili türlerin bazı ekolojik yönleri

Planktotriks rubescens

Filamentli, nadiren küçük düzensiz ve kolay parçalar halindeki demetçiklerde, çok veya az düz ya da az oranda dalgalı serbest yaşayan türlerdir. Hücrelerin uzunluğu 4 mm’a kadardır ve genişlikleri 3.5-10 mm’dir. Kromatik adaptasyon olmadan +/- sabit fikobilin oranları vardır. Hücreler karotenoid mikrosantofil ve oxillaxanthin içerirler (<http://www.cyanodb.cz/Planktothrix>). Kışın düşük ısılarda (100C) yüzey patlamaları yapabilir ve genellikle yazın hipolimnium’da yüksek yoğunluklarda bulunur (Manganelli ve diğerleri 2010) çünkü yüksek ışık yoğunluğuna dayanamaz. Temelde mikrosistinler üretir, genellikle en fazla verimli değişkenleri MC-RR ve bunların demetile edilmiş biçimleridir. Aynı anda birden fazla yerde bulunurlar ve oligotrofik suların içinde olduğu gibi ötrofik sularda gelişebilirler (Chorus ve Bartram, 1999; Manganelli ve diğerleri 2010; Jaquet ve diğerleri 2005).

Bir Fransız gölünde 1984’ten 2001’e kadar zaman dizileri serilerine dayalı ilginç bir çalışma, bu yıllar içerisinde trofik yükün azalmasının (F ve N) daha düşük klorofil a yük düzeyine ve N/F oranında de-

ğişime neden olduğunu göstermiştir. Nütrikline kadar daha derin bir ötrofik katman (düşük nütrient konsantrasyonu ve daha az fitoplankton) ile global ısınma nedeniyle suyun uzayan katmanlaşmasının bir arada olması, yazın termoklinde yoğun patlamalarla ve sonbaharda su kolonu boyunca kayda değer hücre konsantrasyonu ile gölde baskın türler olan *P.rubescens*'in artışını sağlamıştır (Jacquet ve diğerleri, Harmful Algae 4 (2005) 651–672). Merkez İtalya'da küçük bir oligotrofik gölde, siyanobakteri patlamasının bitmesinin hemen ardından en yüksek seviyeye ulaşan *P.rubescens* ve heterotrofik bakterilerin dönemsel dinamiğinde bir benzerlik bulunmuştur. Ancak en önemlisi, siyanobakteri patlamalarının olması için uygun hale getiren organik nitrojeni mineralize eden bakterilerin ektoenzimatik aminopeptidazları ile inorganik nitrojen konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (Manganelli ve diğerleri, 2010). Aynı çalışmada, yazarlar popülasyonun genetik bileşimine ve mikrosistin konsantrasyonuna bakmışlar ve en yüksek toksin konsantrasyonunun en yüksek *P.rubescens* hücrelerine denk gelmediğini bulmuşlar, ancak bu konsantrasyon kısmen toksin/toksik olmayan hücre oranı ile açıklanmaktadır. Ayrıca, toksin hücrelerin en yüksek konsantrasyonu -20m'de ve derinliktedir.

Sonuç olarak ekolojik özelliklerine göre, *P.rubescens* yüzme açısından daha az önemlidir (çok az istisna ile, genellikle sonbahar/kış döneminde yüzeyde patlamalar). Ancak alg yoğunluğunun tek başına gerçek riski değerlendirmede, toksik/toksik olmayan genotip oranının değişkenliğinden dolayı iyi bir işaret olmadığına hatırlanması önemlidir. Ayrıca, oligotrofi bu türler için bir limit olmayıp diğer bakterilerin geri dönüşüm aktivitesi sayesinde saptanabilir inorganik nütrientlerin yokluğunda patlama yapabilir. Son olarak ancak bir o kadar da önemli olarak, içme suyu toplama alanlarında ve toksik hücre oranının daha yüksek olduğunu içme suyu barajlarında patlamalar yapabilmesi son derece önemlidir.

Microcystis aeruginosa

Genellikle toksik yuvarlak hücre kolonileri üretir.

Tipik olarak ılıman bölgelerde, tatlı su havzalarında bulunur ancak düşük tuzluluğa da tahammül edebilir (>150C, optimum 250C, genellikle yaz sonu, diğer fitoplanktonların patlama mevsiminin sonunda). Yağmurlarla taşınan topraklar veya dipteki suyun yüzey suyu ile karışması yoluyla artan nütrient konsantrasyonu nedeniyle patlama oluşumunu tetikleyebilir. Patlamalar genellikle hızlı ve geniş bir yüzeydedir.

Işık, hidrodinamizm ve nütrient mevcudiyetine tepki olarak ayarlanan batmazlık mekanizması vardır. Batmazlığı koloni boyutu ile ilgilidir: küçük koloniler (çapı <20mm) nadiren taşınırlar, bununla birlikte daha büyük koloniler (çapı 1600mm'a kadar olanlar) yılda bir defadan fazla, 10m'ye kadar kendilerini ışık/nütrient bakımından optimum konuma koyarak taşınabilirler.

Mikrosistinler üretirler (geniş bir toksisite aralığı ile 80'den fazla değişkeni bilinmektedir) ve büyüme oranlarının ve toksin üretim oranının yansıtıldığı aynı habitatta da yüksek bir genetik değişkenlik gösterirler (Wilson ve diğerleri, 2005). Mikrosistinlerin üretimi büyüme oranı ile (Orr ve Jones, 1998; Oh ve diğerleri, 2000), büyüme oranlarını sınırlayan faktörler ile (Oh ve diğerleri, 2000) ve toksik suş baskın olmasını teşvik eden yüksek inorganik N ve F konsantrasyonları ile sırayla nütrientlerin tip ve konsantrasyonu tarafından etkilenmiş olan, toksik suşların mevcudiyeti ile (Hotto ve diğerleri, 2008; Okello ve diğerleri, 2010) pozitif korelasyon içerisindedir (Davis ve diğerler, 2010).

Ayrıca hücre konsantrasyonu, birçok saat içerisinde bile mikrosistin üretimine dahil olan *mycE* geninin ifadesini ayarlamaktadır (Wood ve diğerleri, 2011). Toksin üretiminde artışa neden olan tuzluluğun artmasına yönelik belirli bir tolerans gösterir (Tonk ve diğerleri, 2007; Mazur-Marzec ve diğerleri, 2005).

Bazı çalışmalar koloni boyutu ile kolonilerin toksikliği arasında bir bağlantı olduğunu göstermekte olup, geniş koloniler daha yüksek toksik hücre yüzdesine sahiptirler (Kurmayer ve diğerleri 2003). Kehr ve diğerleri (2006) mikrosistin üretimini vahşi türden *M.aeruginosa* içerisinde ve koloni oluşumuna dahil olan lektinin üretimi için bir mutant içerisinde kıyaslamışlar ve mutantın her zaman önemli ölçüde daha az toksik olduğu bulgusuna ulaşmışlardır.

Bu sonuç, mikrosistin üretimi ile koloni boyutu arasındaki ilişki hipotezini desteklemektedir.

Diğer bir ilginç çalışma ise, hücrelerin yüksek yoğunluk durumunda toksik geninin (mcyE) ifadesini yukarıdan aşağı düzenlediğini göstermiştir (Wood ve diğerleri, 2010. Environm Microbiol Rep). Toksinin hücre dışı parçasında bir artış olduğu için, yazarlar hücrelerarası iletişim için mikrosistinlerin sinyal verme bileşenleri olarak hareket edebileceklerini önermektedirler. Farklı mikrosistin türlerinin üretimi N ve C hücre konsantrasyonlarına ve hücre dışı oranı yansıtan, oranlarına bağlı olabilir (Van de Waal ve diğerleri, 2009 Ekoloji Belgeleri). Hücre başına düşük nitrojen mevcudiyeti, hücrede düşük N:C oranları ve nitrojen bakımından zengin mikrosistin-RR'nin düşük miktarı anlamına gelirken, aşırı nütrient sağlanması halinde, hücrede daha yüksek bir N:C oranı ve daha yüksek bir mikrosistin-RR içeriği olabilir.

Mikrosistinler belirli bir tuzluluk toleransı göstermekte olup, aslında bu tolerans büyüme oranında ve hücre başına toksiklikte önemli bir değişim olmaksızın tuzluluğun 10 g L⁻¹' kadar ulaşmasını gösterir (Tonk ve diğerleri, 2007). Ayrıca *M.aeruginosa* 17 g L⁻¹'ye kadar ani tuzluluklara maruziyette bir hafta boyunca toksinlere dayanabilir ve toksin üretebilir. Ancak hücre parçalanması yaklaşık %30 a kadar hücre dışı bir artışa neden olur (Tonk ve diğerleri, 2007).

Mikrosistinlerin tuzluluğa direnci hücreleri halicin kıyı alanlarına doğru taşıyabildiği yoğun yağışlar sırasında önemlidir. San Francisco koyunun kuzey bölgesi *Mikrosistin aeruginosa*'nın koloni biçimindeki geniş bir patlamasına ilk kez 1999 yılında maruz kalmıştır. 2003 yılında, aynı alandaki su yollarının 180 km'lik bir alanı başka bir patlama ile kaplanmış. Düşük tuzluluk, kökeni çökeltilerdeki hücrelere ve akarsu kollarından gelen tohumlanmış hücreler ile yüksek akarsu akışına dayandırılan, yüksek siyanobakteri yoğunluğunu doğuran (Lehman ve diğerleri, 2005; 2010) yüksek ısılar ile ilişkilendirilmiştir. Mikrosistinler akarsu yatağı boyunca, en yüksek konsantrasyonda tatlı sular ile tuzlu sular arasındaki geçiş alanında ve zooplankton ile midye numunelerinde ilkinde 0.7-3.5mg g-dw⁻¹ ve ikincisinde 0.02mg g-dw⁻¹ olarak bulunmuşlardır.

2005'te, St. Lucie Nehri Ağzında Florida'nın doğu kıyısındaki en geniş tuzlu su sistemlerinden birinde, yoğun bir yağış dönemi *M.aeruginosa* hücrelerinin erozyonla nehir ağzına dökülmesine neden olmuş, Temmuz ayında aniden bölge yoğun bir patlama ile kaplanmış ve mikrosistinlerin sudaki oranı 3.5 mg L⁻¹ olmuştur (Ross ve diğerleri, 2006). Son dönemde, Monterey Koyundaki Ulusal Deniz Sığınağındaki (National Marine Sanctuary) 21 su samurunun ölümü mikrosistinlerin 3 akarsu kolundan Okyanusa tropik transferi ile ilişkilendirilmiştir (Miller ve diğerleri, 2010). Yazarlar memelilerin ölümünün gıda ağzındaki büyüme yoluyla hepatotoksin birikimi nedeniyle meydana geldiğine dair ikna edici kanıtlar bulmuşlardır.

Bu örnekler hem geçiş-kıyı alanlarının ekolojisi hem de insan sağlığına olası etkilerinden dolayı sorunun konuyla ilgisini göstermektedir. Gerçek şu ki, yenilebilir su organizmaları, denizlerde yaşayan olası alg toksinleri içeriği açısından izlenmekte olup, siyanotoksinler bakımından izlenmemektedir.

Nodularia spumigena

Bu filamentli nitrojen sabitleyen filamentli bir koloni oluşturan formu olup (diazotropik), genellikle yaz sonuna doğru, nitrojenin bitmiş olduğu koşullarda patlamalarda bulunur ve türbülanslı koşullara hassasiyet gösterir.

Baltık Denzinde *Nodularia spumigena*, ortamın solar UV-B düzeylerine aynı zamanda nütrient sınırlayan koşullarına toleranslıdır (Mohlin ve Wulff, 2009) ve daha hassas organizmalara üstün gelebilir.

Nitrojen gerektiren, kendisini UV'den koruyan maddeler üretir. Bu ise N-sabitlemeyen türlere göre başka bir başarı etkenidir (Mohlin ve Wulff, 2009).

Mikrosistinle aynı olan Nodularin – hepatotoksin ürettiği Baltık Denzinde *Aphanizomenon* (burada

Aphanizomenon toksin değildir) ile temel türlerdir.

Patlamala yapmaları için gerekli koşullar düşük N:F oranı, uygun N ve F konsantrasyonları ile su kolonunu stabilize edip, gaz kesecikleri sayesinde organizmaların batmadan yüzmelerine imkan veren yüksek ısı olarak görünmektedir (Stal ve diğerleri, 2003).

Çevresel değişkenler patlamalar sırasında iki türün konsantrasyonunu ve dolayısıyla toksikliğini belirler (Lehtimaki ve diğerleri, 1997).

Toksik siyanobakterilerin patlamaları *Nodularia spumigena* birçok patojen mikroorganizma için ideal bir büyüme ortamıdır, bu patojen mikroorganizmalara öldürücü steryotipler olan *V.cholerae* O1 ve O139, ile *V.vulnificus* dahildir (Eiler ve diğerleri,2007). Baltık Denzinde yürütülmüş olan deneyler artan sıcaklığın tek başına *Vibria cholerae*, *V.vulnificus* ve *V.paraemolythicus* büyüme oranını etkilemediğini, buna karşın artan sıcaklık ve eklenmiş siyanobakteriyel organik maddelerin yoğunluklarını 10 kat arttırdığını göstermiştir (Eiler ve diğerleri, 2007). Bu durum, Baltık Denizi alanında yaşayıp maruz kalan veya bu bölgeden gelen ürünleri tüketen nüfusa yönelik potansiyel riski arttırmaktadır.

Aphanizomenon flos-aquae

Kollara ayrılmamış lineer filamentler geliştirir, bunlar ot saplarını andıran yığınlar eklenir ve kolaylıkla görülebilirler; diazotropiktir ve filamentin ortasında heterokistler (nitrojen sabitlemek için) ve akinetler (kışın hayatta kalmak için) üretirler. Görülebilir yüzey patlamaları oluşturur ve *Mikrosistinlerinkine* benzer bir batmazlık mekanizması vardır.

15-28°C arasındaki geniş bir ısı aralığında patlamalar gösterir ancak diğer türlerle rekabet içerisinde yüksek ısıya ihtiyaç duyar. Patlamaları genellikle bahar ve/veya yaz sonu patlamaları olup, diğer türler tarafından besinlerin azalmasından sonra meydana gelir ve düşük nütrient konsantrasyonu bu patlamaları destekler görünmektedir (Yamamoto e Nakahara, 2006).

Baltık Denizindeki diğer bölgelerde, anatoksin a, saksiyoksin ve slindropermopsin üretir (Preussel ve diğerleri, 2006). Mikrosistinlerin çoğu hücre içi iken, bu durumda toksinlerin yüksek bir yüzdesi hücre dışıdır ve bu diğer su organizmaları için bir sorun olabilir. Öyle görülüyor ki, toksin üretiminin kontrol edilmesinde ve hücre dışına aktif toksin salınımının kontrol edilmesinde çevresel faktörler genotiplerden daha önemlidir (Preussel ve diğerleri, 2009). Pratikte, spesifik bir popülasyonun toksik olduğu bilindiğinde, toksik/toksik olmayan genotip oranındansa, ışık ve ısı gibi çevresel faktörlerin kontrol edilmesi daha uygundur. Aslında, hem ışık hem de ısı toksin üretimi üzerinde etkiye sahiptir ancak bunların etkileşimi yalnızca bir faktörün etkisine kıyasla olumsuz sonuçlar verebilir. Işık/ısının kombinasyonu ise, stres koşullarına benzer olarak toksin üretimini ve hücre dışı salınımı artırır (Preussel ve diğerleri, 2009).

Cylindropermopsis raciborskii

1-5mm genişliğinde tek filamentler üretir. Heterokistler, karakteristik biçimleriyle filamentlerin sonundadır. Tropik ve ılıman alanlara geniş oranda yayılmıştır ve buralarda kışın akinetler biçiminde yaşamda kalır. Filamentleri neredeyse şeffaf olduğu için, kolaylıkla görülemeyen patlamalar üretir, bu nedenle yüksek konsantrasyonun saptanması için izlenmesi gerekir.

Tropik kökenli türler olarak bilinir, kökeni orta Afrika ve Avusturalya gölleridir; 90'ların ortasından itibaren Macaristan (Borics ve diğerleri, 2000), Avusturya (Dokulil ve Mayer, 1996), Fransa (Briand ve diğerleri, 2002), Almanya (Fastner ve diğerleri, 2003), Polonya (Kokocinski ve diğerleri, 2009), Portekiz (Saker ve diğerleri, 2003), İtalya (Manti ve diğerleri, 2005) Mısır (Mohammed, 2007), Uruguay (Vidal ve Kruk, 2008) gibi birçok ılıman alanda rapor edilmiştir. İklim değişikliği dağılımını ve karmaşık filojenisini anlatmada dikkate alınan etkenlerden biridir (Briand ve diğerleri, 2004; Haande ve diğerleri, 2008). *C. raciborskii*, suyun veya çökeltilerin ısısı 22-23°C'ye ulaştığında filizlenen (germinasyon) aki-

netleri üreten ılıman alanlardaki soğuk aylarda hayatta kalır (Padisák, 1997). Bahar sıcaklığındaki artış sezon öncesinde filizlenmeyi ve büyümeyi tetikleyebilir, diğer yaz fitoplankton popülasyonu üzerinde kıyasıya bir avantaj verir (Istvánovics et al., 2002). Laboratuvarlardaki deneysel çalışmalar, düşük yoğunluğu tercih ettiğini göstermiştir (Briand ve diğerleri, 2004 diğerleri arasında), ancak Almandaki iki siğ polimiktik göl üzerinde yapılan uzun vadeli bir çalışma erken ısınmanın, maksimum ışık penetrasyonu (nüfuzu) sırasında, akinetlerin erken filizlenmesine imkan verdiğini göstermiştir. Yüksek ışık yoğunluğu, *C. raciborskii* büyümesini tetikler ve en yüksek büyüme oranına ulaşır (Wiedner et al., 2007).

Slindrospermopsis toksinliği kıtalara göre değişir: Avusturalya ve Asya soyları slindrospermopsin (CYN) üretir (Saker ve diğerleri, 1999; Li ve diğerleri, 2001), Brazilya suşu ise saksiyoksin üretir (STX) (Lagos ve diğerleri, 1999). Avrupa suşu muhtemelen hepatotoksiktir ancak şu ana kadar herhangi bir molekül belirlenmemiştir (Fastner ve diğerleri, 2003; Saker ve diğerleri, 2003). Slindrospermopsin, hızlı ve büyük büyümelerde dahi genellikle hücre dışıdır ve muhtemelen aktif bir salınım süreci yoluyla dışarıya verilmektedir. Bunun anlamı toksin konsantrasyonu ölçümünün yalnızca bir hücre parçasında değil tüm numune üzerinde yapılması gerektiğidir. Çevrede parçalanma zamanı çok uzun olabilir.

İtalya'nın merkezindeki Trasimeno gölünde, 1-10 milyon hücre L-1'kadar *Slindrospermopsis* popülasyonu vardır. Her ne kadar bunun tam olarak değerlendirilmesi için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulsa da, bunlar toksin üretmiyor olarak görülmektedir (Manti ve diğerleri 2005; Mugnai ve diğerleri 2008).

SIYANOTOKSİNLERİN TOKSİKOLOJİK PROFİLLERİ

Emanuela Testai

Istituto Superiore di Sanità- Çevre ve Birincil Önlem Departmanı – Roma (İtalya)

(emanuela.testai@iss.it)

3.1. Giriş

Gerek rekreasyonel amaçla gerekse de içme suyu tedariki amacıyla kullanılan su kütlelerinde toksin siyanobakteri patlamalarının mevcudiyeti insan nüfusu için ciddi sağlık riskleri içerebilir. Tarım ve diğer antropojenik (insan kökenli) faaliyetlerden gelen aşırı nütrient yükünden ötürü, barajlar, göller ve akarsulardaki siyanobakteriler (siyanobakteriye has bir mavimsi fikobilin olan yan fikosyanin pigmentinin yüksek düzeyde salınımından dolayı mavi-yeşil algler olarak bilinmektedir) büyümelerin için uygun koşulları bulmaktadırlar.

Ekosistemin bozulmasına ve patlamalar ile ilişkili istenmeyen görünüm ve kokuya ek olarak, çok daha ciddi konular birçok siyanobakteriyel tür tarafından ikincil toksin metaboliti olarak üretimle ilişkilidir. Siyanotoksinler genellikle kimyasal yapıları tarafından tanımlanmakta olup, bu tanım 3 gruba ayrılmaktadır: mikrosistinler (MC), slindropermopsin (CYN) ve nodularinler (NOD) gibi siklik peptitler, nörotoksik paralitik deniz kabuklusu zehiri (PSP) ve anatoksinler gibi alkaloidler ve lipopolisakkarid (LPS).

Şu ana kadar tanımlanmış olan siyanotoksinlerin, doğal olarak bulunanların yalnızca bir kısım yüzdesini temsil etmesi kuvvetle muhtemeldir. Her bir siyanotoksin bir türden fazla türle üremektedir; öte yandan aynı tür farklı toksinleri sentezleyebilir.

Rekreasyonel ve profesyonel faaliyetler sırasında kontamine olmuş tatlı su organizmalarının ve gıda takviyelerinin tüketimi ile hemodiyaliz yoluyla, içme ve sulama amaçlı suları kullanan nüfus siyanotoksinlere maruz kalabilir (Funari and Testai, 2008). Yüzme ve rekreasyonel faaliyetlerle ilgili olarak, oral yol (örneğin yüzme sırasında suyun kazara yutulması), dermal ve teneffüs yolu (örneğin cankurtaranlar veya balıkçılar gibi yüzücüler ve profesyoneller) konuyla ilgili olabilir.

Rekreasyonel aktiviteler sırasında siyanotoksinlere maruz kalma sonucu yapılan risk değerlendirmesine ilişkin olarak, şunlar değerlendirilmelidir i) patlamaların mevsimselliği kronik maruziyeti olasılık dışı bırakır, ii) soğuk mevsimler sırasında patlamalarda bulunan türler özellikle yüzme aktivitelerinden kaynaklı maruziyeti sınırlar ve iii) spor/rekreasyonel aktivitelerin sıklıkla yapıldığı alanlardaki dirençli/sürekli patlamalar subakut/subkronik sağlık risklerine nede olabilir.

Her halükarda, hem fiziko-kimyasal özellikler ve hem de siyanotoksinlerin toksikolojik profillerinin yanı sıra hem bölgesel (topik) hem de sistemik etkilerin oluşmasına neden olan maruziyet senaryoları, yolları ve düzeyleri ile belirlenecektir.

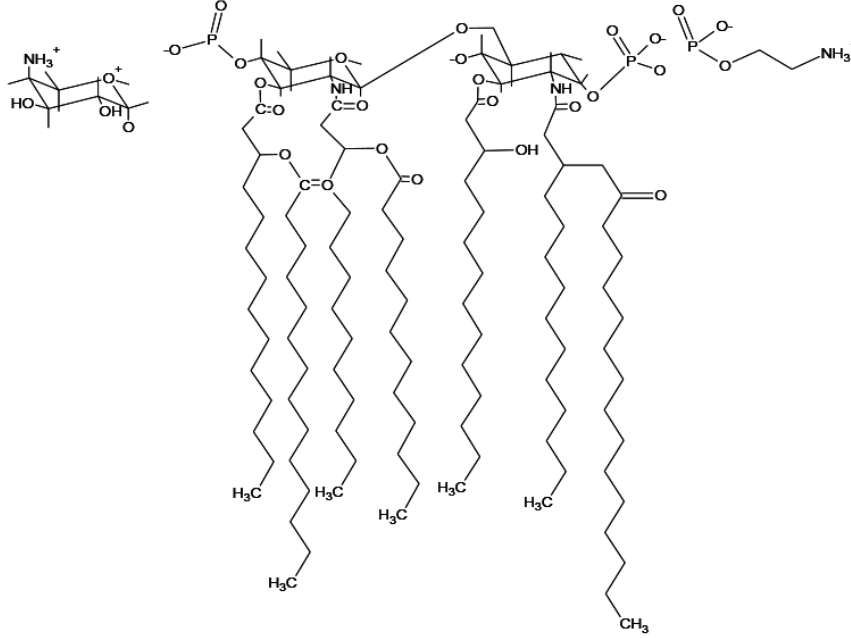
Lipopolisakkarid endotoksin (LPS) ve Aplisyatoksinler/lingbyatoksinler temelde topik etkilerden (göz ve deri tahrişi, mukoza ve duyarlılaşma gibi tahriş sonucu gastrointestinal semptomlardan) sorumludurlar, ancak ikincisi şimdiki kadar temelde tropik ve subtropik alanlarda saptanmıştır, ve bu nedenle Türkiye'yi sınırlı şekilde ilgilendirmektedir. Diğer siyanotoksinler temelde sistemik etkilerden sorumludur.

- **hepatotoksinler** (100 mikrosistin değişkeninden, 6 noduların değişkeninden fazlası)
- **sitotoksinler** (slindropermopsin)
- **nörotoksinler** (anatoksin-a, homotoksin-a, anatoksin a-(s), yaklaşık 20 saksiyoksin değişkeni, BMAA).

3.2. Lokal Etkiler

LPS Endotoksin

LPS endoksin molekülleri Gram negatif bakterilerin yanı sıra birçok siyanobakterinin hücre membranının dış bileşenleridir. 3 bölgeden oluşur: bir iç lipid matriksi, iç alt birimi bağlayan merkezi bir liposakkarid alanı ile spesifik bir dış polisakkarid (Jann e Jann, 1984).



Şekil 1.LPS Endotoksininin kimyasal yapısı

Siyanobakteriyel LPS endotoksinleri, düşük miktarlarda fosfatların mevcudiyeti de dahil olmak üzere, 3 bileşendeki diğer bakterilerinkine özgü olanlardan az oranda farklıdır (Mayer ve Weckesser, 1984; Kaya, 1996). Dış alt birimdeki farklar Lipid A tarafından bakteri içerisindeki serolojik spesifikliğin temeli olup, değişkendir.

LPS endotoksinleri maruziyeti deri veya göz tahrişi, gastrointestinal sorunlar veya alerjik reaksiyonlar gibi doğrudan irtibattan kaynaklanan lokal etkiler ile ilgilidir. Ancak bu türden etkiler deneysel olarak hiçbir zaman tekrardan üretilmemiştir ve bunların eylem mekanizması şu an için bilinmemektedir, ancak bunların eylemlerinin hipotezi, olay basamaklarını başlatan membran reseptörlerine bağlanması ile başlayan Gram-negatif bakteriler tarafından yol açılan etkilerin anaolojisinden yola çıkılarak oluşturulmaktadır (sitokinlerin salınımı/iltihap mediyatörleri, makrofaj aktivasyonu, nötrofiller ve platelet birikimi, vasküler hasarlar). Gram negatif bakterilerde Lipid A toksinlikten sorumludur: değişkenliği toksinlik düzeyini belirler (azdan yükseğe). Siyanobakteriler içerisinde Lipid A yapısı halen bilinmediği için, endüklenen toksisitenin LPS düzeyi hakkında ne bir sonuca varmak mümkün değildir. Tahriş/deri hassasiyeti testinin LPS endotoksin sonuçlarına destek olarak belirtildiği üzere siyanobakteriyel özütler, diğer siyanotoksinlerin üretiminden bağımsız olarak değişken düzeylerde hassasiyeti tetikler (Torokne ve diğerleri, 2001). Siyanobakteriyel patlamalar sırasında olası LPS lokal toksisiteye ek olarak, diğer birçok organik bileşen (aldehitler, terpenoidler ve ketonlar) suda çözünür, bunların bir kısmı ise tahriş edici ve hassasiyet yaratıcı özelliklere sahiptir.

Siyanobakteriyel hücre duvarı/membran kalıntılarının kolaylıkla aerosole karışabildiği dikkate alındığında, rekreasyonel aktiviteler sırasında bunların solunması, hem LPS endotoksinlerin mevcudiyetinden hem de solunum yolu tahrişi yaratan mekanik eylemden dolayı “grip-türü semptomlar” olarak bilinen semptomlara da yol açabilir (bu semptomlar öksürük, üşüme, boğaz iltihabı ve ateş olarak kendini gösterir). Bu yalnızca bir hipotezdir: aslında LPS'nin inhalasyon toksisitesine ilişkin herhangi net bir sonuç çıkarılamaz.

Aplisiatossina & Lyngbiatossina

Hawai bölgesinde kontakt dermatitiden (*yüzücülerde kaşıntıdan*) sorumlu oldukları değerlendirilmiştir. Pasifik Okyanusu ve Madagaskar'da deniz kaplumbağaları *Chelonia midas*'ın kontamine olmuş etinin tüketimi sonucu zehirlenme vakaları rapor edilmiştir. 1993-1998 yılları arasında, 29'u ölümlle sonuçlanmak üzere 414 kişi zehirlenmiştir bunlar: gastrit, ağız ülseri, ağız mukozasının yanması ve papüllerin ortaya çıktığı dil, tükürük salgılama, baş ağrısı, halsizlik ve ateştir. Etki şekli, lenf damarlarının genişlemesi, kılcal damarların tıkanıklığı ve ince bağırsağın kanaması ile mukoza üzerindeki lokal etkiye bağlıdır.

Diğer siyanotoksinler tarafından neden olunan lokal etkiler dikkate alınarak, mikrosistin (MC) üreten *Mikrosistis* ve *Anabaena*'ın patlama özütlerinin suda asılı kalanları hafif ölçüde deri ve göz tahriş etme potansiyeline sahiptir ve deri hassasiyeti bakımından pozitif sonuçlar vermiştir. Bununla birlikte, i) MC içeriği ile korelasyon olmadığı ii) saf MC'nin tahriş potansiyeli olmadığı ve çok zayıf bir deri hassasiyeti yaratıcısı olduğu ve iii) saf kültürlerden alınan özütler negatif sonuçlar verdiği için, MC'nin dışındaki biyo-aktif bileşenler etkilerden sorumludur ve bu sebeple MC'nin lokal etkileri konuyla ilgili değildir.

CYN için de benzer sonuçlar çıkarılabilir: aslında hem CYN üreten tür olan *C. raciborskii* ve hem de *Aphanizomenon*'un toksin olmayan türünden elde edilen lipofilize özütün deri hassasiyetindeki pozitif sonuçları, CYN dışındaki biyo-aktif bileşenlerin etkiden sorumlu olduklarını gösterir.

3.3. İnsanlardaki Lokal Etkiler

Yüzme faaliyetlerini takiben deri tahrişi, rinit, konjonktivit, astım ve ürtiker semptomları, tahriş işaret eden güçlü göstergeler dahil olmak üzere akut etkiler ve alerjik reaksiyonlar, ciddi baş ağrısı, zatürre, ateş, adale ağrısı, baş dönmesi ve ağızda vezikül oluşumu gibi diğer daha fazla sistemli etkiler ile nadiren bağdaştırılmıştır.

Askerlerin gölde uzun bir yüzme ve kano ile gezme faaliyetini yapması sonucu solunum yoluyla maruziyetin rapor edildiği bir vakada 20 askerden 10'u güçlü *Mikrosistis* patlamalarından etkilenmiş, solunumla ilgili semptomlardan şikayetçi olmuşlardır ve 2 askerde zatürre görülmüştür.

3.4. Sistemik Etkiler

Bunlar toksinlerin emilimine ve hedef organlara 3 temel yol ile ulaşarak dağılması ile bağlantılıdır. Bu yollar şunlardır: dermal (cilt) yol, oral yol, solunum yolu.

- Aerosolün solunumundan sonra emilim.
- Siyanotoksinlerin cilt yoluyla emilimi hidrofilik MC değişkenleri ile sınırlıdır ve moleküllerin engellenmesi nedeniyle; CYN için sınırlı olması muhtemeldir; küçük nörotoksiler olan hidrofobik MC değişkenleri için bilinmemekle birlikte muhtemeldir.
- İstemsiz yutma sonucu oral emilim (örneğin çocuklar bakımından yüzerken ya da kıyıda oynarken), aktif taşıyıcıların eylemi bakımından cilt yoluyla olandan genellikle daha yüksek olarak değerlendirilmektedir.

Brazilya'daki hemodiyaliz vakasının dışında, insanlarda bir ölüm vakası rapor edilmiştir. Amerika Birleşik Devletlerinde ergenlik dönemindeki oğlan çocuğunun ölümü adli tıp hekimi tarafından daha sonradan kazara golf alanındaki göletten anatoksin-a yutulmasına bağlanmıştır. Bu durumda, her ne kadar özellikle maruziyet ve ölüm arasındaki uzun süreye ilişkin (yaklaşık 48 saat) kimi belirsizlik olsa ve bunlar deneklerde gözlemlenen çok daha kısa süre ile tutarsız olsa da, kurulan bağlantı çocuğun kanında ve dışkısında (ölümden sonra numunelerinde) toksin saptanması ile desteklenmiştir.

Kontamine olmuş içme sularının tüketiminden sonra akut zehirlenme vakaları rapor edilmiştir (etkin artırımların yapılmadığı zamanlarda), ancak bunlardan çok azı yüzme veya rekreasyonel faaliyetlerden sonradır.

Çiftlik hayvanlarının, vahşi ve evcil hayvanların siyanotoksinler tarafından zehirlenmesi geçen yıldan beri rapor edilmektedir: bağlantı hayvanlarda toksikolojik/nörolojik işaretlerin hızlı başlaması ve göletlerde ve içme suyu için kullanılan barajlarda patlamaların veya siyanotoksinlerin mevcudiyeti sayesinde kurulmaktadır. Ancak köpeklerde anatoksin-a ve homoanatoksin-a zehirlenmesi teşhisi İskoçya, Fransa, İrlanda, Yeni Zelanda ve Amerika Birleşik Devletlerinde etkilenmiş sularda yüzülmesi ve bu sulardan içilmesi sonucu rapor edilmiştir. Vakaların çoğunda köpeklerin zehirlenmesi, *Phormidium sp.* Ve *Oscillatoria sp.* gibi bentik taksonlar tarafından nehlerde üreyen nörotoksik siyanotoksin ile ilişkilendirilmiştir. Bentik türler biyofilm oluşturarak çok hızlı şekilde çökellerler, nehrin çökeltilerini, taşları ve kıyı şeridindeki makrofitleri kaplarlar, yüzeye yapışkan bir kütle olarak bağlanırlar bunlara yüzme sırasında köpeklerin tüyelerine bağlanmaları da dahildir. Aslında köpeklerin maruziyeti içme suları ile sınırlı olmayıp, yalama faaliyetleri yoluyla önemli ölçüde artabilir.

Solunum

MC'nin burun içi uygulamasının toksisiteye ilişkin dozları, intraperitoneal enjeksiyon ile kıyaslanabilir olup, üst solunum yolunda membran hasarı üretir. Erkek BALB/c fareler 7 gün boyunca yalnızca burundan 260-265 mg MC/m³ 'e solunum yoluyla maruz kalmışlardır. Düşük, orta ve yüksek doz grupları sırasıyla 0.5, 1 ve 2 saat maruz bırakılmışlardır. Kontrol hayvanları aerosoldeki taşıyıcılara maruz bırakılmışlardır. Orta ve yüksek doz gruplarının burun boşluğunda muameleye bağlı mikroskopik lezyonlar gözlemlenmiştir: minimal ila orta şiddette çok odaklı dejenerasyon ve solunum epitelyumunda kangren ile değişken nötrofilik iltihap ve minimal ila belirgin dejenerasyon, kangren(nekroz) ve koku epitelyumunda atrofi. Burun lezyonları için hiçbir olumsuz etkinin görülmediği düzey (NOEL) 3mg/kg vücut ağırlığı, veya 20ng/cm² burun epitelidir.

Az miktarda çalışma aerosolde siyanotoksinlerin mevcudiyetini araştırmıştır. Cheng ve diğerleri (2007) ve Backer ve diğerleri (2008) aerosole karışan MC düzeylerini saptamak için (suda ≤ 4 µg/L) yüksek hacimli numune alıcıları ve özel hava numunesi alıcılarını kullanmıştır. Sonuçlar aşağıdakileri göstermektedir:

Siyanotoksinlerin serpintilerdeki varlığını inceleyen birkaç çalışma bulunmaktadır. Cheng ve diğerleri (2007) ve Backer ve diğerleri (2008) serpintileşen MC'yi (≤ 4 µg/L suda) tespit etmek için yüksek hacimli numune alıcılar (HVS) ve özel hava numunesi alıcılarını (PAS) kullanmışlardır. İnceleme neticesinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir

- Çalışmaya katılanlar tarafından 89-134 dakika boyunca giyilen özel hava numunesi alıcıları için T MC düzeyi ≤80 pg m³ olarak ölçülmüştür.
- Yüksek hacimli numune alıcıları (1.5 m³/dk.) Amerika Birleşik Devletleri, Ohio'daki küçük göllerde bota yerleştirilmiş olup, MC konsantrasyonlarını 8 saatte ≤ 37 pg/m³ olarak ölçmüşlerdir (analitik metot için l.o.d.).

Backer ve diğerleri (2008) çalışmaya katılanların 104'ünde kan sıvısındaki (plazmadaki) MC konsantrasyonunun ELISA metodunu kullanarak, saptama sınırı (l.o.d.) nın (0.147mg/L) altında olduğunu rapor etmiştir. Veri toplaması sırasında kayıtlı bireyler tarafından gidilen göldeki MC konsantrasyonları: <2-5 µg/L'dir.

Backer ve diğerleri (2010) aynı zamanda MC-üreten siyanobakterilerin patlamalarının sürmekte olduğu Kalifornia barajında rekreasyonel faaliyetler planlayan 81 çocuk ve yetişkin arasında MC'ye karşı rekreasyonel maruziyeti de ölçmüş olup, aşağıdaki sonuçları elde etmişlerdir:

- Sudaki MC konsantrasyonlar: <10 µg/L to >500 µg/L.
- Özel hava numunelerinde MC (<0.1 ng/m³ [saptama sınırı ,l.o.d.]–2.89 ng/m³)
- Burun temizleme bezlerindeki (swab) MC (<0.1 ng [l.o.d.]–5 ng).
- Tüm plazma numunelerinin suda çözünebilir parçalarındaki MC: saptama sınırı, l.o.d.'nin altında (1.0 µg/L).

Wood ve Dietrich çalışmasında (2011) Yeni Zelanda'daki göllerdeki aerosolde nodularin ve MC düzeyleri yüksek ve düşük hacimli hava numune alıcıları 4, 12 ve 24 saatlik dönemler boyunca kullanılarak değerlendirilmiş, *Nodularia spumigena* ve *Mikrosistis sp.* patlamaları deneyimlenmiştir.

Yüksek hacimli numune alıcısı kullanılarak 16.2 pg/m³'ye kadar nodularin ve 1.8 pg/m³'lik MC havada saptanmıştır.

İnsanın ortalama hava alımını, havada ölçülen en yüksek nodularin veya MC konsantrasyonları kullanılarak yapılan hesaplamalara dayanarak, ve farelerde intraperitoneal uygulamaya kıyasla solunum yolu toksisitesini göz önünde bulundurarak, aerosole karışan nodularin ve MC insanlarda akut veya kronik bir risk oluşturmadığı görülmektedir.

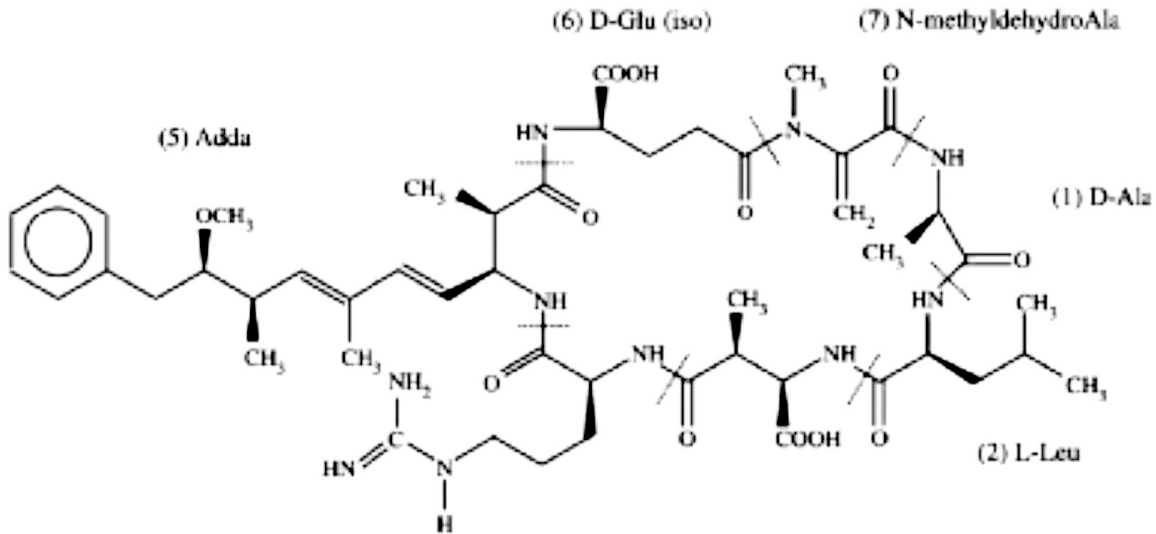
Sonuç olarak, özellikle birincil oral maruziyete karşı siyanotoksinlerin solunumunun ikincil maruziyet kaynağı olabileceği göl kenarlarındaki nüfus ve rekreasyonel kullanıcılar için risk değerlendirmesi geliştirilirken, aerosole karışan toksinlerin göz önünde bulundurulması gerektiği söylenebilir.

3.5. Siyanotoksinlerin Kimyasal ve Toksikolojik Profili

Mikrosistin ve Nodularinler

MC ve NOD'un her ikisi de 7 (MC) veya 5 (NOD) amino asitten oluşan siklik peptitlerdir. Her iki hepatotoksinin de ortak özellikleri siyanobakterilere özgün olan amino asit Adda'dır. 2 (MC) veya 1 (NOD) amino asidi değiştirerek yapısal değişiklikler ve küçük yan gruplarda birçok değişiklik meydana gelir: bu farklılıklar 100'den fazla MC değişkeninin ve yaklaşık 6 NOD değişkeninin olmasına sebebiyet verir. Mikrosistinler multi-enzim kompleksi tarafından ribozomol olmayarak üretilir. Aynı türler içerisinde yalnızca bazı suşlar MC biyo-sentezi için gene sahiptir: gen kümeleri *Mikrosistin*, *Anabaena* ve *Planktotriks* siyanobakteri türleriyle uzaktan bağlantılı olarak belirlenmiş ve sıralanmıştır. MC biyo-sentez (*mcy*) genleri laboratuvarında ve saha çalışmalarında toksijenik siyanobakterileri saptamak için kullanılmıştır: siyanobakteri patlamalarının toksisitesi örneğin toksik genotiplere karşı toksik olmayan genotiplerin göreceli oranı gibi suşlarının kompozisyonu ile belirlendiği için bu uygulama son derece yerindedir.

Şekilde, MC-LR konjenerinin kimyasal yapısı lösin (L) ve arginin (R) mevcudiyetinin 2 inci ve 4 üncü pozisyonlarda olduğu L-aminoasitler olarak gösterilmektedir. MC-LR farklı değişkenler arasında en etkili hepatotoksinler arasında olduğu düşünülmekte olup, diğerlerine kıyasla en çok çalışılmıştır.



Şekil 2. Mikrosistin-LR'nin (MC-LR) kimyasal yapısı

MC nim etki mekanizması belirli protein serin/treonin fosfataz (PP1 ve PP2A)ın inhibisyonu ile bağlantılı olup, sinyal transdüksiyonu (sinyal iletimi) içersinde yer alan olan hücre proteinlerin fosforilasyonunu değiştirmektedir. Yüksek düzeylerdeki maruziyette (akut intoksikasyonu temsil eden) MC-LR, sinusoidal kılcal damarların hasara uğramasından dolayı sonucu intrahepatik hemorajik alanlar ile santrilobüler toksisiteye neden olan olaylar dizini meydana getirir (hücre iskeleti değişiklikleri, lipid peroksidasyonu, oksidatif stres, apoptoz).

Düşük dozlarda (uzun süre maruziyet özgü) fosfataz inhibisyonu hücresel çoğalmayı ve hepatik hipertrofiyi tetikler (Gehring, 2004).

Ciddiyet düzeyi MC absopsiyonu (emilimi), detoksikasyonu ve ekskresyonu (atılımı) arasındaki denge tarafından belirlenen maruziyet düzeylerine ve süresine bağlıdır. MC-LR yüksek oranda su emicidir (hidrofilik) ve hücre membranlarına pasif taşıma yoluyla giremez. Organik anyon (OATP) ve safra asidi sistemlerini kullanılarak aktif olarak taşınır (Fisher ve diğerleri, 2005, 2010).

MC hem su organizmalarında (Pflugmacher ve diğerleri, 1998) hem dememelilerde (Kondo ve diğerleri, 1992, 1996) ve insanlarda (Buratti ve diğerleri, 2011, 2013) indirgenmiş glutatyon ile konjuge olur (birleştirilir): konjugatlar, ana bileşiğe ilişkin olarak yalnızca minimal bir kalıntı inhibitörü aktivitesi sürdürür ve temelde ürün içersinde atılırlar (Dittmann ve Wiegand, 2006).

MC-LR akut toksisitesi farelere intraperitoneal (i.p.) uygulama sonrası LD₅₀=50-150 µg/kg vücut ağırlığı ile sonuçlanmaktadır; toksin oral yolla verildiği zaman ise MC-LR daha az toksiktir LD₅₀=5000 µg/kg bw) (Fawell ve diğerleri, 1994; Fawell ve diğerleri, 1999a). Oral yolla gösterilen düşük akut toksisite (30-100 kat) toksikokinetik farklardan dolayıdır: gastrointestinal mukoza yoluyla emilim için kullanılan aktif taşıma sistemi, intraperitoneal enjeksiyon yoluyla baypas edilmiştir ve MC-LR heprokistlerin içselleştirilmesi için doğrudan mevcuttur. Bu nedenle intraperitoneal uygulama insan maruziyetinin gerçek koşullarını tam olarak temsil etmemekte olup, temelde muhtemelen kontamine olmuş olan içme suyu ve gıdaların tüketimi ile bağlantılandırılmış olup risk değerlendirmesi sürecinde sadece sınırlı bir değere sahiptir.

Diğer MC'ler (MC-LA, -YR e -YM) MC-LR'ninkine benzer LD₅₀ göstermektedir; başka türler arasındaki akut toksisite farklılıkları geniş aralıktaki değerlere yayılmıştır (50'den 1200 µg/kg'ye kadar) ve farklı yer değişimlerinin (substituentlerin) mevcudiyetinden dolayıdır. Bir örnek olarak, 2 inci ve 4üncü pozisyonlarda polar amino asitler içeren MC-RR nin LD₅₀ değeri MC-LR'den 10 kat daha yüksektir (Kotak, ve diğerleri, 1993; Wolf ve Frank, 2002). Son dönemde, nörotoksik etkiler MC-LR, MC-LW ve MC-LF için değerlendirilmiş olup, MC-LF en toksik olanıdır (Feurstein ve diğerleri 2010; Feurstein ve diğerleri 2011).

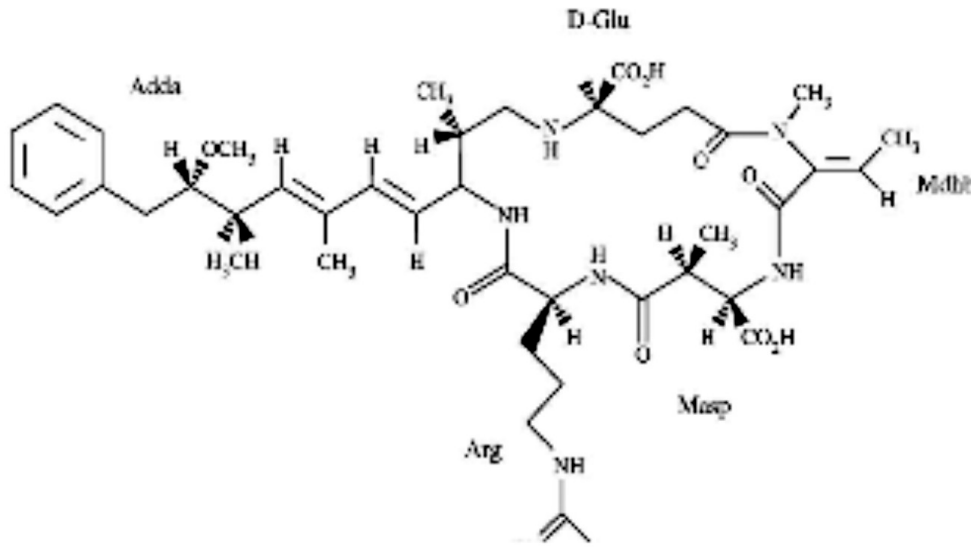
PP1/PP2A üzerinde tek MC konjenerlerinin *in vitro* inhibitör kapasitesi IC50 değerleri ile nanomolar aralıkta kıyaslanabilir (Hoeger ve diğerleri, 2007; Monks ve diğerleri, 2007; Fischer ve diğerleri, 2010). Bu durum türler arasındaki farklı toksisiteyi açıklamada bireysel kinetik profillerin öneminin altını çizer: düşük sitotoksik etkilerle bağlantılı olarak, insan hepatositlerinde hepatik organik anyon taşıyıcılarının aktivitesi MC-LR'ye kıyasla daha düşük bir MC-RR alımı göstermekte olup, (Fischer ve diğerleri, 2010) GSH konjugasyonu ile detoksikasyonun konjener-spesifik toksisiteyi açıklamada ek bir önemli adım olabilir (Buratti ve diğerleri, 2013).

Tekrarlanan toksisiteye ilişkin eldeki çalışmalar arasında, konuyla en çok ilgili olanı farklı MC-LR dozlarında 90 gün boyunca oral uygulama (gavaj) ile fareler üzerinde yapılmıştır (en duyarlı kemirgen türleri). Çalışma Hiç bir (advers)Etkinin Gözlenmediği Düzeyin (NOEL) belirlenmesine imkân vermiştir =40 µg/kg vücut ağırlığı/gün (Fawell ve diğerleri, 1994). Gözlenen En Düşük Etki Düzeyinde (LOEL) belirlenen etkiler ise (En Düşük Etki Gözlenme Düzeyi=200 µg/kg vücut ağırlığı/gün) uygulamanın yapıldığı sayılı sayıdaki hayvanda az iken, test edilen en yüksek dozda (1mg/kg vücut ağırlığı/gün) tüm hayvanlar, bilinen MC-LR faaliyeti ile tutarlı hepatik lezyonlar göstermiştir.

Farelere diyet yoluyla MC-LR içeren özütler subkronik olarak uygulandığında, yine toksikokinetik farklılıklardan dolayı, tedavi rejimi insan maruziyetine daha benzer olup hiçbir olumsuz etkinin görülmediği düzey daha yüksektir (333 µg/kg vücut ağırlığı/gün) (Schaeffer ve diğerleri, 1999). Bu sebeple, Herhangi bir etki izlenmeyen düzey=40 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak kullanılması ihtiyatlı bir yaklaşıma denk gelir.

MC'ler zehirli maddeler reproduksiyonu yapmazlar (Chernoff ve diğerleri, 2002) ve genotoksik aktiveden sorumlu olarak, DNA ile doğrudan etkileşimin dışında tutulabilirler. MC-LR'nin tümöre neden olan faaliyeti uzun zaman önce tanımlanmıştır (Falconer, 1991; Nishiwaki-Matsushima ve diğerleri, 1992) ve aflotoksin B1 ve dietilnitrozamin gibi bilinen kanser yapıcı bileşenler ile siyanotoksinin yönetimi yoluyla teyit edilmiştir (Wanght ve Zhuth, 1996; Sekijima ve diğerleri, 1999).

Öte yandan, MC-LR 28 hafta boyunca farelere gavaj yoluyla siyanotoksin verildiğinde, herhangi bir tümöre sebebiyet verdiği görülmemiştir (80 µg/kg) (Ito ve diğerleri, 1997). Buna dayalı olarak IARC MC-LR'yi insan için 2B sınıfı olası kanserojen olarak sınıflandırmıştır.



Şekil 3. Nodülün kimyasal yapısı

NOD'ler MC'ler ile yalnızca aynı kimyasal yapıyı değil, aynı zamanda fosfat inhibisyon potansiyelini de paylaşmaktadır (Yoshizawa ve diğer, 1990). NOD'ler de herhangi bir başlatma kabiliyetine sahip olmayan tümör destekleyicileridirler (Ohta ve diğerleri, 1994; Song ve diğerleri, 1999; Sueko ve diğerleri, 1997).

Farelerdeki ip (intraperitoneal) LD₅₀ MC-LR için hesaplanmış olanla benzerdir (50-70 µg/kg vücut ağırlığı), ancak risk değerlendirmesi için ilgili hiçbir tekrarlanan toksisite üzerine veri bulunmamaktadır. Ancak, en azından en kötü durumun MC-LR ile kıyaslanabildiğini ve bu nedenle NOD'u MC-LR eşdeğerleri olarak düşünerek, MC-LR için gözlenebilir etki oluşturmayan düzey değerinin benimsenmesini dikkate almak mantıklıdır.

Silendropermopsin (Cylindropermopsin)

Silendropermopsin (CYN) molekülü, hidroksimetil urasil ile birleşik trisiklik guanidinden oluşmaktadır. *Cylindropermopsis spp.*'nin CYN üretme kapasitesi amidinotransferaz, poliketid sentaz ve peptid sentetaz gibi bazı genlerin mevcudiyetiyle ilişkilendirilmektedir (Schembri ve diğerleri, 2001; Shalev-Alon ve diğerleri, 2002). Diğer organlar toksine maruziyeti takiben hasar görebilseler de, CYN hem hepatotoksik hem de nefrotoksik etkiler ürettiği için sitotoksin olarak kabul edilir (Falconer ve diğerleri, 1999; Ohtani ve diğerleri, 1992; Seawright ve diğerleri, 1999; Terao ve diğerleri 1994).

Silendrospermopsinin, protein sentezi inhibisyonuna bağlı, geç ve derece derece artan bir akut toksisitesi vardır (Terao ve diğerleri, 1994). Bununla birlikte, şu ana kadar belirlenmemiş olan metabolitleri (sitokrom P450 ve glutatyon transferaz aktivitesi yüzünden olması muhtemeldir) farelerdeki primer hepatositlerinde (Humpage ve diğerleri 2005) ve HepaRG hücrelerinde CYN tarafından tetiklenen in vitro DNA hasarı ile desteklenen DNA ile etkileşimleri içeren farklı bir mekanizma ile hareket edebilir (Froscia ve diğerleri 2001; 2003).

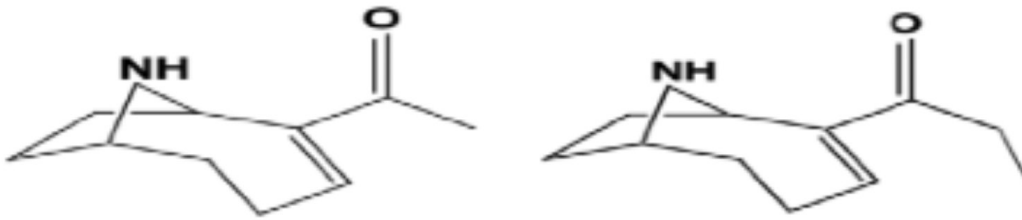
CYN'nin neden olduğu ölüm, uygulamadan 24-120 saat sonra meydana gelir. Gözlem 24 saat ile sınırlı ise farelerde ip enjeksiyonu sonrası LD₅₀ 2.1mg/kg'dir (Ohtani ve diğerleri, 1992) ancak gözlem süresi 120-144saate uzatılmışsa 10 kat daha azdır (LD₅₀=0.2mg/kg). Aynı şekilde, CYN ile oral yolla farelere müdahalede bulunulduğunda toksikokinetik farklılıklardan dolayı akut toksisite daha düşüktür (2-6 gün sonra LD₅₀ oral=4.4-6.9 mg/kg). CYN büyük ölçüde hidrofiliktir: intestinal emilimi aktif taşıma sistemlerine ihtiyaç duyanın yanı sıra, hepatositlere girişi safra asidi taşıma sistemini kullanır (Chong ve diğerleri, 2002). Ancak molekülün boyutunun küçük olmasından ötürü biyolojik membranlar yoluyla sınırlı pasif dağılım göz ardı edilemez. En temel çıkarılma yolu ise üriner boşalımdır.

Hepatik hasar santrilobüler alanlarda bulunmakta olup, heptosit vakuolizasyon ve çekirdekler ile siyoplazmanın pigmentasyonunda artış ile kendini göstermektedir, öte yandan kangren (nekrozis) ve proksimal tümülde artan lümen ile glomerüldeki değişiklikler, böbreklere ait toksisitenin (renal toksisite) temel özellikleridir (Falconer ve diğerleri, 1999).

Mevcut tekrarlanan toksisite çalışmaları arasında risk değerlendirmesi bakımından 2si konuyla ilgili gözükmektedir: 1) Bir fareye İçme suyunda çözünmüş *C. raciborskii*'den elde edilen CYN içeren özütler ile artan dozlarda 10 hafta süreyle uygulanmıştır 2) Bir fareye Safılaştırılmış CYN ile gavaj yoluyla 11 hafta süreyle uygulama yapılmıştır (Humpage ve Falconer, 2003). Her iki uygulama da karaciğer ve böbrek ağırlığında doza bağlı artış, hepatik ve böbreğe ait toksisitenin işaretleri olarak kullanılan plazma enzimlerinde değişim ve sürekli olarak yüksek dozlarda histopatolojik değişimlerle sonuçlanmıştır. Böbreğe ait etkiler düşük dozlarda meydana gelmiştir: Hiçbir olumsuz etkinin gözlenmediği düzey= günde 30 µg/kg vücut ağırlığı olarak acil şekilde test edilen yüksek dozda gözlemlenen böbrek ağırlığında artışa dayalı olarak belirlenmiştir (örn. günde 60 µg/kg vücut ağırlığı).

Nörotoksinler

Nörotoksinler; *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Aphanizomenon* ve *Anabaena* türlerinin suşları tarafından üretilir. Bunların hepsi, her durumda çizgili kaslar ile solunum kaslarının bloke edilmesiyle ortaya çıkan solunum yetmezliği sebebiyle ölüme neden olan farklı mekanizmalar ile nöromüsküler sistem üzerine etki ederler.



Şekil 4. Silendrospermopsin'in kimyasal yapısı

Anatoksin-a bisiklik alkaloiddir; **homoanatoksin-a** ile tek farkı ikincisinde ek bir metil grubun mevcut olmasıdır: İki benzer molekülün de toksikolojik özellikleri neredeyse aynıdır. Anatoksin-a yutulma sonrası *hızla emilir* ve beyin de dahil olmak üzere büyük ölçüde farklı dokulara; çabuk bir şekilde ayrışır ve bu sebeple, düşük biyo-birikim potansiyeli beklenebilir. Anatoksin-a merkezi ve periferal sinir sistemi ile nöromüsküler eklemlerdeki asetilkolin için nikotinik alıcılara (reseptörlere) bağlanarak hareket eden

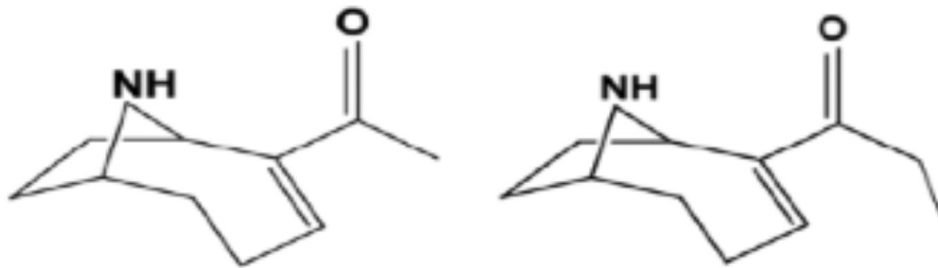
etkili bir pre ve postsinaptik depolarize edici ajandır. (Carmichael, 1998). Toksinin son derece yüksek akut toksisitesi vardır: klinik işaretler nefeste daralmayı, titremeleri, havaleleri (konvülsiyon) içerir. Ölüm ise kas felci ve solunum yetmezliği nedeniyle kısa sürede meydana gelir. Damar içi enjeksiyon (i.v) yüksek toksisite ile sonuçlanır (damar içi LD₅₀ < 60 µg/kg vücut ağırlığı) (Fawell ve diğerleri, 1999); farelerde saf toksinin intraperitoneal LD₅₀ 'si 250-375 µg/kg vücut ağırlığı olup, (Fitzgeorge ve diğerleri, 1994; Rogers ve diğerleri, 2005)ölüm 2-6 dakikada meydana gelirken oral uygulama sonrasında LD₅₀ >5000 µg/kg vücut ağırlığıdır (Fitzgeorge ve diğerleri 1994). Homoanatoksin-a'nın akut toksisitesi birbiriyle örtüşen semptomları ile (i.p. LD₅₀=330 mg/kg) ve 5-10 dk. İçerisinde ölüm ile analog toksinleri ile benzerdir (Namikoshi ve diğerleri, 2003).

ATX'e bağlı ilave etkiler; sitotoksik etkileri, kaspaz aktivasyonunu ve hücre kültürlerinde apoptozu içerir (Rao ve diğerleri, 2002). Enzimatik faaliyetlere bağlı grubun değişimi ile oksidatif strese neden olma (örn. süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon-S-transferazları ve indirgeyici enzim), reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve artan lipid peroksidasyonu su (Mitrovic, ve diğerleri, 2004) ve karasal bitkilerde 5 µg/l dozlarında gözlemlenmiştir (Pflugmacher ve diğerleri, 2006).

HTX'in akut toksisitesi ATX'inki ile benzer olup (farelerde i.p. LD₅₀=330 mg/kg vücut ağırlığı), aynı semptomlar görülmekte ve ölüm 5-10 dk. içerisinde gerçekleşmektedir (Namikoshi ve diğerleri, 2003). Gavaj ile oral olarak verildiğinde, HTX 10 kat daha az toksiktir (Lilleheil ve diğerleri, 1997).

ATX'ten kaynaklı tekrarlanan toksisiteye ilişkin olarak 2 çalışma mevcuttur: gavaj ile fareye 28 günlük muamele (0, 98, 490 ve 2460 µg saf günlük ATX/kg vücut ağırlığı; Fawell ve diğerleri, 1999) ve sıçanlara içme suyu yoluyla 54 günlük muamele (günlük 0, 51 ve 510 µg ATX/kg vücut ağırlığı; Astrachan ve diğerleri, 1980). Test edilen en yüksek dozlarda dahil net bir etki (klinik işaretler, vücut ve organ ağırlıkları, hematoloji ve klinik kimya, tüm kan ve beyin kolinesteraz faaliyeti, doku bilimsel inceleme) gözlemlenmemiştir, bu nedenle kesin bir hiçbir olumsuz etkinin gözlenmediği düzey çıkarılamamıştır. Ancak, fareler üzerinde yapılan çalışmada, yüksek ve orta doz grubunda 2 ölümle rapor edilmiştir (Fawell ve diğerleri, 1999). Yazarlar her iki ölüm için de nedeni belirleyememişler ve gözlemlenen ölümlerinin muameleye bağlı meydana gelip gelmediğini tam olarak göz ardı edememişlerdir. Bu nedenle, son derece ihtiyatlı bir yaklaşım benimseyerek, hiçbir olumsuz etkinin gözlenmediği düzey, doz düzeylerinin en düşüğü olan günde 98 µg saf ATX/kg vücut ağırlığı olarak alınmıştır.

Subletal tek dozun uygulanmasından sonra, fare hızlı bir şekilde iyileşmiş olmakla birlikte (Fawell ve diğerleri, 1999) lokomotor faaliyette azalma gibi kimi davranışsal etkiler tanımlanmıştır (Jarema ve diğerleri, 2008) ve bunun sonucu olarak, kronik maruziyeti takiben hafif algısal/nörodavranışsal etkiler şu an için göz ardı edilemez.



Şekil 5. Anatoksin-a, homoanatoksin'anın kimyasal yapısı

Anatoksin-a gebe kemirgenlere uygun gebelik günlerinde uygulandığında (nörolojik gelişim için duyarlılık vitrini) rahim içi maruziyetten sonra ceninsel bir anomali ya da nörodavranışsal geç etkiler ortaya konmamıştır: bazı etkiler ise (fetüste azalan vücut ağırlığı, azalan motor aktivite) yalnızca anneye ilişkin toksisitenin varlığında gözlemlenmiştir (Fawell ve diğerleri 1999b; Roger ve diğerleri, 2005; MacPhail ve diğerleri, 2005). 7 gün boyunca ATX ile (50, 100, ve 150 µg/kg/gün) i.p. (intraperitoneal) olarak

müdahale edilmiş erkek farelerde, toksin, seminiferöz tüplerinde dejenerasyon, Sertoli hücrelerinde vakuolizasyon, üreme hücrelerinin kaybı ve bunun sonucunda azalmış sperm sayısı gibi diğer etkilerin yanında doza bağlı olarak histopatolojik testiküler hasara yol açmıştır (Yavasoglu ve diğerleri 2008). Dolayısıyla i.p. uygulama insan maruziyetini temsil etmese dahi, ATX'in düşük dozlarda tekrar edebilmesi olasılığı, erkeklerde engellenemez kısırlığa neden olabilir.

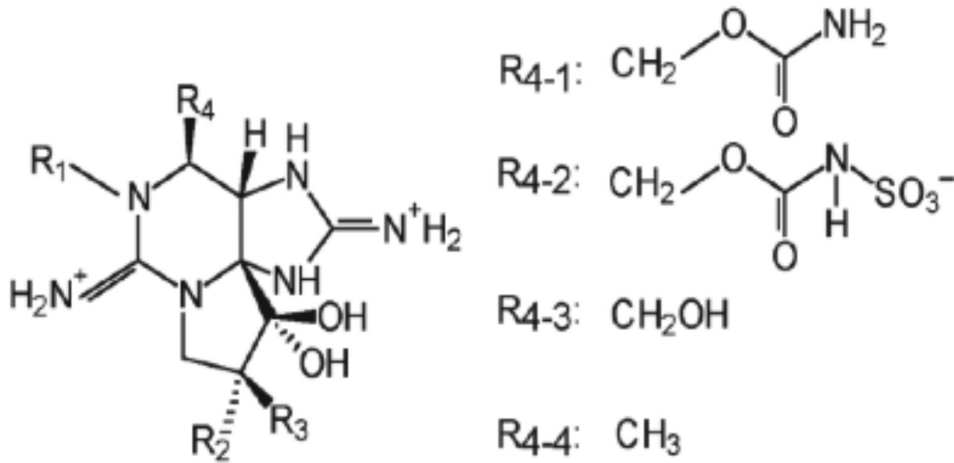
Anatoksin-a(s) N-hidroksiguanidin'in fosforik esteridir: yapısal olarak ilintili olduğu organofosforlu böcek ilaçlarına benzer olarak, nöro-müsküler bağlantılarda asetilkolinesteraz aktivitesini geri dönülemez bir şekilde inhibe eder (Carmichael ve Falconer, 1993): hidrolizini bloke ederek sinir taşıyıcılarını (nörotransmitter) toplar, sinirde aşırı uyarılmaya yol açar.

Anatoksin-a(s)'nin antikolinesteraz aktivitesi çevresel sinir sistemi ile sınırlıdır: gerçekte beyin AChE (asetilkolinesteraz) aktivitesi nörotoksin öldürücü dozlarda da etkilenmez (Cook ve diğerleri, 1988). İnsan AChE'sinin kırmızı kan hücrelerinde ilişkisi göreceli olarak yüksektir bu nedenle insanlardaki akut intoksikasyon riski, kimi suda yaşayan türlerde olduğundan daha yüksektir (Carmichael ve diğerleri, 1990). Memelilerde akut nörolojik etkiler kaslarda zayıflama, solunum yetmezliği (dispne) ve solunum durması nedeniyle meydana gelen ölüm öncesi konvülsiyonlardır. . Yapışkan mukoid aşırı tükürük salgılanması ATX-s'nin neden olduğu tipik bir semptomdur: burada "s" salivasyon yani tükürük salgılama anlamına gelir.

İntraperitoneal uygulama sonrası farelerde LD₅₀ 20-40 µg/kg vücut ağırlığıdır (hayatta kalma süresi 5-30 dk.) (Mahmood ve Carmichael, 1987; Matsunaga ve diğerleri 1989) ve oral uygulama sonrası daha düşüktür (Cook ve diğerleri, 1988). Subkronik ve/veya kronik toksisiteye ilişkin veriler mevcut değildir.

Saksitoksinler

PSP toksinler aynı molekülün 20 konjenerinden fazlasının familyası olup, tetrahidro-purin grubu ve 2 guanidin alt birimden oluşmaktadır: saksitoksin (STX) ve neosaksiyoksin karbamatlara benzer bir yapıya sahiptirler. Karbamat toksinler (STX, neoSTX ve GTX1-4), sülfamat toksinler (GTX 5-6, C1-4) ve dekarbamoil toksinler (dcSTX dcneoSTX, dcGTX1-4) R₄'yerine geçen substitüentlere bağlı olarak gruplanırlar.



Şekil 6. PSP toksinlerinin kimyasal yapısı

STXler kas ve solunum felcini takiben elektrik iletisini önlerler (çevresel sinirlerde ve iskelet ile kalp kaslarında) (Kao, 1993; Su ve diğerleri, 2004; Wang ve diğerleri, 2003).

Hızlı bir şekilde gastrointestinal kanalı tarafından emilirler, kan beyin bariyeri yoluyla dağılır ve temel

olarak ürün ile atılırlar. Bunların toksin etkilerine dayanıklı gibi görünen kabuklularda ve yumuşakçalarda biyo-birikim yapabilirler (Llewellyn ve diğerleri, 1997): bu özellik insan da dahil olmak üzere predatörler için yüksek düzey maruziyet imkanını belirler (Negri ve Jones, 1995). Değişkenlere bağlı olarak farelerde STX-toksitesisi önemli ölçüde değişkenlik gösterir. STX farede i.p. LD50 10 µg/kg ve oral olarak LD50 263 µg/kg vücut ağırlığı ile en fazla toksik değerdir. (Mons ve diğerleri, 1998), ve benzer değerler sıçanlarda da rapor edilmiştir (Llewellyn, 2006).

I.p. uygulaması sonrası akut toksisite verilerinin bulunduğu konjenerlerin bazıları için, göreceli akut toksisite STX'e ilişkin olarak, STX-toksitesisini birim olarak belirleyerek verilmişti. Karbamat toksinleri şimdiye kadar familyada en fazla toksin olanlardır, bununla birlikte C-toksinleri ve *Lyngbya wollei* tarafından üretilen türler (Onodera ve diğerleri, 1997a) çok daha düşük toksisite ile kendini göstermektedir (<STX'in %15'i).

Memelilerde, tipik nörolojik semptomlar sinirlilik, atlama, kas koordinasyon bozukluğu, konvülsiyonlar ve birkaç dakikada ölüme götüren felç olarak tanımlanmıştır.

Saksitoksinler hızlı bir şekilde gastrointestinal kanal tarafından emilirler ve GTX 2 ile 3'ün özellikle hücreler arası taşıma yoluyla bağırsak duvarına nüfuz ettiği gösterilmiştir (Torres ve diğerleri, 2007). Aynı zamanda kan beyin bariyeri yoluyla da yayılırlar ve esas itibarıyla ürün tarafından atılırlar.

N-sülfokarbamoil bileşikleri gözle görülür biçimde benzer karbamoil toksinlerinden daha az toksindir. Bununla birlikte, gastrik çevredeki gibi olan asidik koşullarda SO₃ grubu kaybolur, 40 kata kadar artan toksisite ile toksinler karbamoil analoguna dönüştürülür (Aune, 2001). Bu nedenle bu dönüştürmenin sağlık açısından sonuçları olabilir. Buna ek olarak, insan zehirlenmelerinde en iyi araştırılan vektörler olan kabuklu deniz hayvanları ve denizlerde yaşayan organismalar da, deniz tarağı *Placopecten magellanicus* ve midye *Protothaca staminea*'dan farklı homojenatların dokuları ile sülfatlı STX'lerin inkübe edilmesi ile gösterildiği üzere STX'leri metabolize edip değiştirebilir. Toksinler desülfate edilir ve böylelikle daha etkili STX'e dönüştürülür (Sullivan ve diğerleri 1983).

Şu anda ne tekrarlanantoksisite deneylerine ne de STX'in genotoksik potansiyeline ilişkin veriler bulunmamaktadır. Teratojenik aktivitenin bazı delilleri STX konsantrasyonlarının ≥ 10 µg/l büyümede gecikmeye neden olduğu balık ve amfibi larvalarında sunulmuştur; şekil bozukluğu ve ölüm 500 µg/l'de meydana gelir (IPCS 1984). Bununla birlikte, memelilerde herhangi bir veri yoktur.

REFERANS DEĞERLER VE DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ REHBERLERİ

Emanuela Testai and Enzo Funari

4.1. Giriş

Potansiyel olarak toksik kimyasallara maruziyete bağlı olası insan sağlığı risklerinin saptanması ve miktarlarının belirlenmesi ile bunların olması olasılıklarının değerlendirilmesi, risk değerlendirmesi prosedürünün hedefidir. Bu prosedür, sonuç olarak insan sağlığının korunması için gerekli olan risk azaltımını sağlamak için alınması gereken uygun yönetim önlemlerinin değerlendirilmesine imkan verir.

Risk değerlendirmesi için uygulanan uluslararası çapta benimsenmiş prosedür AB düzeyinde tanımlanmıştır: 93/67/EEC Komisyon Direktifi; 793/93 (EEC) Konsey Yönetmeliği; Risk Değerlendirmesi hakkında Teknik Rehber Dokümanı, 2003; 1488/94 Sayılı Komisyon Yönetmeliği, Kimyasalların Kayıt, Değerlendirme, İzin ve Kısıtlamaları Yönetmeliği (REACH) altında kimyasalların risk değerlendirmesi yapılmaktadır.

Aynı prosedür Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Çevre Koruma Ajansı (EPA), Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) gibi diğer Düzenleyici Organlar tarafından benimsenmiştir.

Risk değerlendirmesi süreci 4 aşamadan oluşmakta olup, bunların her biri birbiri ile bağlantılıdır ve tüm sürece eşit olarak katkı sağlamaktadır:

1. Tehlikenin belirlenmesi,
2. doz- cevap ilişkisi (veya tehlikenin nitelendirilmesi),
3. maruziyet değerlendirilmesi,
4. riskin nitelendirilmesi.

Tehlike ile risk arasındaki temel fark; tehlike kimyasalın kendisine özgü bir özellik iken, risk bu kimyasal maruz kalma neticesinde olumsuz etkinin meydana gelme olasılığıdır. Tehlikenin belirlenmesi, risk değerlendirmesinin niteliksel boyutunu temsil etmektedir ve şu soruya bir yanıt verir: kimyasal tarafından üretilen temel etkiler nelerdir? Bunun anlamı, hedef organların/dokuların ve organizma içerisindeki genel davranışın yanı sıra temel etkilerin belirlenmesidir. Bilgiler, tehlikeye dayalı bir sistem olan AB düzeyinde sınıflandırma ve etiketleme amaçları için kullanılır.

Miktarsal boyutlar doz-cevap ilişkisi ile ele alınır, bu ilişki hangi konsantrasyonda etkilerin üretildiğini anlamaya imkan verir. Paracelsus zamanından beri Toksikologlar tarafından her hangi bir kimyasalın dozun yeterli ölçüde yüksek olması halinde ters etkiler ortaya koyabileceği bilinmektedir. Etki için eşik değeri hem tek bir maruziyet (akut ve genellikle yüksek dozlarda, tipik olarak kazalarda veya zehirlenme vakalarında) hem de düşük dozlarda tekrarlanan maruziyeti takiben elde edilebilir, genellikle tek olarak uzun süreler boyunca alınırsa toksik değildir (kümülatif etkiler). Bu çalışmalar, en düşük dozda ölçülen veya toksikolojik olarak konuyla ilgili olan kritik etkinin belirlenmesine imkan vermektedir. Bu son derece önemli bir aşama olup, kritik etkinin olmasını önlediğinden, otomatik olarak tüm diğer olası etkilere de yönelik koruma sunar.

Bu bilgi parçaları tekrarlanan toksisite çalışmaları yapılarak toplanmıştır: sub-akut, sub-kronik ve kronik olan bu çalışmaların süresi test hayvanlarının yaşam süresinin 10, 25 ve %50'sinden fazlasına denk gelmektedir. Maruziyetin süresi ve sıklığı, kimyasalların toksikokinetiği ile ilintili olan ve kimyasalların organizma içerisindeki süreçleri olan iç dozun belirlenmesi için önemli faktörlerdir. Molekülün

fiziko-kimyasal özelliklerine bağlı olarak, emilimi, dağılımı, metabolizması ve vücut içerisindeki boşaltımı son derece farklı olabilir. Örnek olarak: yüksek derecede polar kimyasallar son derece zayıf bir şekilde emilirler (aktif taşıma sistemleri yerinde olmadıkça) ve son derece etkin bir şekilde ürün ile vücuttan atılırlar, dolayısıyla bunların vücut içerisindeki kalıcılık süresi son derece sınırlıdır. Lipofilik bileşenler genellikle hücre membranında ve yağ dokularında (adipoz dokularında) yüksek ölçüde tutulurlar (ksenobiyotik metabolize etme enzimleri tarafından daha polar kimyasallara etkin bir şekilde dönüşmedikçe), ve bu da biyolojik birikime neden olur.

Biyolojik birikim; uygulama sıklığı oranının bertaraf etme oranından yüksek olduğu zaman meydana gelir; bunun sonucu olarak ksenobiyotik konsantrasyonunun toksisite eşiğinden yüksek hale gelmesi mümkün olur. Uygulama oranı, organizma içerisindeki zarar giderme süreçlerinden fazla olduğunda kümülatif toksisiteye sahip olmak mümkündür; bu aynı zamanda herhangi bir kimyasalın biyolojik birikimi olmaksızın, iyileşme süresi bertaraf etme süresinden genellikle fazla olduğunda da meydana gelebilir.

Doz-cevap ilişkisini belirlemede eğrinin eğimini tanımlanamak oldukça önemlidir, aslında, bu eğri dik olduğunda dozdaki küçük değişiklikler cevapta önemli değişikliklere denk gelir.

DNA üzerinde doğrudan etki etmeyen bu kimyasallar için, altına düşüldüğünde spesifik bir etkinin gözlenmediği doz olan bir eşik dozun varlığı varsayılır. Kritik etkiye ilişkin eşik doz hiçbir olumsuz etkinin görülmediği düzeyin belirlenmesinin temelini oluşturur, bu düzey hiçbir etkinin gözlenmediği en yüksek düzey olup, Elde edilmiş etkinin olmadığı düzey (DNEL)/ Kabul edilebilir günlük alım (ADI)/ Tolere edilebilir günlük alım (TDI) kaynaklarıyla ilgilidir. Çıkarılabilen diğer bir parametre ise en az istenmeyen etkinin gözlemlendiği düzey (LOEL) olup, etkilerin ortaya çıktığı en düşük düzeyi temsil etmektedir. Bu iki değer mutlak değildir ve çalışma tasarımına (test edilen dozlar arasındaki aralığa), test edilen hayvan türlerine ve uygulanan deney koşullarına sıkı sıkıya bağlıdır. Çalışmaya bağlı olmayan bir referans değer de istatistiki alt sınırdır (benchmark doz). Bu alt sınır kritik etkinin %5 ila 10'una neden olan dozdur.

Etki şu durumlarda kritik olarak değerlendirilir: i) en düşük dozda mevcut olan etki ise ii) toksikolojik bakış açısıyla en ilgili etkiler ise (örn. karaciğer hasarının en erken işareti olan saç kaybı). Kritik etki tanımının anlamı şudur: kritik etkinin önlenmesi ile her türlü diğer etkiler önlenmiş olup, maruz nüfus korunmuştur. Maruziyet değerlendirmesi farklı nüfusun fiilen maruz olduğu kimyasal düzeylerin belirlenmesine imkan verir. Maruziyetin değerlendirilmesi için en sık kullanılan yol, farklı matrisler veya çevresel alanlarda (içme suyu/hava/çalışma alanı/tüketici ürünleri) mevcut kimyasal konsantrasyonlar hakkında bilgi veren harici dozun belirlenmesidir. Olası fiili dahili dozun dış değerini bulmak için tercih edilen maruziyet yolunun (yollarının) (örn. ağız yolu, solunum yolu, deri içi yolu) ve maruziyet modelinin (çalışma saatleri, çevresel olarak, beslenme) anlaşılması yerindedir. Alternatif olarak, uygun maruziyet biyo-markerları ve numune alma süresini kullanarak (bu noktada kimyasalın toksikokinetiğinin bilinmesi son derece önemlidir), biyo-izleme programları yoluyla dahili dozun doğrudan ölçülmesi mümkündür. Dahili dozun ölçümü, kimyasalın farkı organ/doku (dokular) veya hedef alanda hangi düzeyde mevcut olduğunu belirler.

4. aşamada, riskin nitelendirilmesi şu soruya cevap verir: maruz nüfusta etki olması olasılığı ve bunun derecesi nedir? Bu hedefe ulaşmak için doz cevap ilişkisi verileri, nüfus içerisindeki toksin etkinin gözlemlenmesi olasılığının tahmin edilmesi için maruziyet düzeyi bilgileri ile kıyaslanır. Bu kıyaslamada hem değişkenlik faktörlerinin hem de belirsizliklerin göz önünde bulundurulması gereklidir. Nüfus arasındaki değişkenlik farklı maruziyetlerden (süre, doz, yol) kaynaklanabileceği gibi, yaş, pato/fizyolojik durum, genetik ve/veya edinilmiş faktörlerden dolayı olan farklı hassasiyetlerden de kaynaklanabilir. Her iki durumda da daha yüksek maruziyet düzeylerine sahip olan grupların hangisi olduğunun ve/veya aynı kimyasal düzeylerine maruz olsa dahi daha duyarlı olan grupların var olup olmadığının anlaşılması gereklidir. Gerçekte, daha hassas gruplar (sebebi ne olursa olsun) korunduğunda, tüm nüfus korunur.

Belirsizlik faktörleri genellikle, deney hayvanları üzerinde elde edilmiş verilerin insanlara yorumlanması için kullanılan deneysel sonuçlardan (mevcut çalışmaların kalitesi; ilgili hayvan türleri, çalışma süresi) ekstrapole edilmiştir (uyarlanmıştır).

Referans değerlerin türetilmesinde, güvenlik faktörleri (SF) veya belirsizlik faktörleri (UF) olarak da bilinen değerlendirme faktörlerinin (AF) tanımlanması, genellikle değişkenlik ve belirsizlik hususlarını işaret eder. Önceden belirlenmiş değerler önerilir, ancak ne zaman deneysel/epidemiolojik verilerin mevcut olsa bunların kullanılması gereklidir. Aslında, “uzman değerlendirmesine” göre geçirgenlik kriteri gereği, her bir vaka üzerinden, mümkün olan her durumda, bilimsel dayanağa göre değerlendirme faktörü çıkarılmalıdır.

Özetlemek için, risk değerlendirmesi için başlangıç noktası NOEL olarak bilinen, hiçbir ters etkinin gözlenmediği düzey olarak bilinen toksisite eşiğidir. İyi kalitede epidemiolojik çalışmaların olması halinde, doğrudan insanlar üzerinde NOEL değerinin belirlenmesi mümkündür. Ancak, epidemiolojik çalışmalar genellikle birçok kafa karıştırıcı faktörden etkilenmekte ve etkiler ile maruziyet arasında net bir ilişki oluşturulması her zaman mümkün olmamaktadır. Hiçbir ters etkinin gözlenmediği düzey (NOEL) belirlendikten sonra, değerlendirme faktörü (AF) uygulanarak, kabul edilebilir/tolere edilebilir günlük alım değerinin çıkarılması mümkündür, böylelikle aşağıdakiler açıklanabilir:

- Türler arası değişkenlik (deney hayvanları üzerinden insanlara ilişkin verilerin tahminini yaparken, insanlar daha hassas olarak varsayılacak şekilde dikkate alınır). İnsanlara ilişkin verilerin mevcut olup olmaması gerekli değildir. Önceden belirlenmiş faktör genellikle=10’dur.
- Tür içi değişkenlik (insanlar hem genetik hem de edinilmiş özelliklerden ötürü yüksek ölçüde değişkenlik gösterirler). Önceden belirlenmiş değer genellikle=10.
- Veri kalitesi ve uygunluğu. Önceden belirlenmiş faktör değişkendir.
- Başlatılmış etkilerin şiddeti. Önceden belirlenmiş faktör değişkendir.

Kabul edilebilir (ADI)veya tolere edilebilir günlük alım (TDI), ilgili dozun altında ters etkilerin bütün bir yaşam süresi boyunca maddeye maruz kalan insanlarda ortaya çıkması mümkün olmadığı günlük dozdur (başka bir deyişle, insan sağlığı açısından kayda değer bir riskin olmamasıdır).

Tolere edilebilir/kabul edilebilir günlük alım (TDI/ADI) =

$$\frac{\text{hiçbir olumsuz etkinin görülmediği düzey, NO(A)EL}}{\text{Değerlendirme faktörü, AF}}$$

Uygun güvenlik payı yoluyla insan sağlığının korunması için ölçülü bir yaklaşımın benimsenmesi genel olarak kabul edilmektedir.

Kabul edilebilir günlük alım değerine dayalı olarak, Dünya Sağlık Örgütü içme suyu kirleticileri için, insan sağlığı bakımından her hangi bir endişeye neden olmayan, içme sularında bulunabilen en yüksek konsantrasyonu temsil eden Rehber Değerleri (GV) çıkarmıştır. İlk basamak Ayırma Faktörünün yani, içme suyuna (veya diğer herhangi bir maruziyet yoluna/aracına) ayrılacak toplam maruziyet %sinin belirlenmesidir. Ayırma faktörü mevcut izleme verileri ve/veya ortalama tüketimin tahminine dayanılarak öngörülebilir. Dünya Sağlık Örgütü Rehber Değeri (GV) genellikle ortalama 60 kg vücut ağırlığındaki ve günde 2 L. içme suyu tüketen bir yetişkini referans olarak alır.

Rehber Değer (GV) = Tolere edilebilir günlük alım, TDI x vücut ağırlığı x Paylaştırma Faktörü

$$\text{Günlük alım / maruziyet (C)}$$

4.2. Siyanotoksinlere İlişkin Risk Değerlendirmesi ve Dünya Sağlık Örgütü Rehberleri

İçme sularının kaynağı olarak kullanılan yüzey suyu kütlesinde siyanotoksin patlamaları olduğunda, içme suyunda siyanotoksin mevcut olabilir. Yeterli arıtmalar hücre sayısını önemli ölçüde azaltabilir (>%99) ve çözülmüş siyanotoksinleri kaldırabilir (Dietrich ve Hoeger, 2005). Siyanobakteriyel patlamaların olduğu yüzey sularının tüketiminden dolayı ara sıra akut zehirlenme vakaları rapor edilmiş (Byth, 1980; Zilberg 1996; El Saadi ve Cameron, 1993 Falconer, 1989); Florida'da içme sularında 100 µg/L'ye kadar siyanotoksin konsantrasyonları ölçülmüştür (Bums, 2004).

Ancak, içme sularında akut riske neden olan böylesi yüksek bir konsantrasyon olması olasılığı sınırlıdır. Şimdiye kadar gelişmiş ülkelerde, düşük dozlarda siyanotoksinlere uzun vadeli maruziyet insan sağlığı bakımından en sık karşılaşılan risktir.

İnsanlara ilişkin bilgiler az ve kesin değildir. Düşük düzeylerde MC-LR içeren içme sularının uzun süre kullanımına bağlı kronik riski değerlendirmek için, mevcut toksikolojik çalışmalardan NOEL değerini belirlemek ve yukarıda tanımlanmış yaklaşımı izleyerek TDI değerini çıkarmak gereklidir.

MC-LR için, sub-kronik NOEL = 40 µg/kg vücut ağırlığı/ gün

UF=1000 ile bölünür, UF=1000 ise 10'un 3 katsayısı alınarak elde edilir böylelikle şunlar dikkate alınır: 1) türler arası değişkenlik; 2) tür içi değişkenlik; 3) kronik toksisite verilerinin eksikliği (NOEL değeri, bir farenin yaşam süresinin yaklaşık 1/6'sına denk gelen 13 haftalık toksisite çalışmasından çıkarılmıştır). TDI değeri = 0.04 µg/kg vücut ağırlığı/gündür: bunun anlamı 60 kg vücut ağırlığına sahip bir yetişkin tüm hayatı boyunca herhangi bir toksikolojik etki yaşamaksızın günlük 2.4 µg'a oral olarak maruz kalabilir.

Buna dayalı olarak, Dünya Sağlık Örgütü içme sularında toplam MC konsantrasyonu için *Rehber Değeri* = 1µg/l elde etmiştir.

Rehber değer (RD) elde edilmesi için, bir *Ayırma Faktörü* (All.F) (Ayırma Faktörü=0.8, bu, içme suyu yoluyla toplam MC alımının %80'nini temsil ettiği düşünülmektedir) ve günlük 2L içme suyu tüketimi benimsenmiştir:

$$RD = \frac{TDI \times \text{vücut ağırlığı} \times AF}{\text{Günlük tüketim (C)}} = \frac{0.04 \mu\text{g/kg} \times 60\text{kg} \times 0.8}{2\text{L}} = 1 \mu\text{g/L}$$

Diğer MC değişkenlerine ilişkin veriler bilinmediği için, Rehber Değer, MC-LR eş değerleri olarak ifade edilen toplam MC konsantrasyonları için geçerli olarak değerlendirilir. Ancak, kronik toksisiteye göre, MC konjenerleri arasında akut toksisite sıralamasına dayalı tahminin gösterilmesi gerekmektedir.

İzleme verilerinin, içme suyunda bir veya daha fazla siyanotoksin düzeyinin Dünya Sağlık Örgütü Rehber Değerinin altında olduğu belirtisini vermesi halinde, nüfus bakımından bir risk yoktur ve herhangi bir önlem alınmaz; belirli bir zaman dilimi için değerlerin, Rehber Değere eş veya hafifçe bu değer üstünde olması halinde, değerleri sub-kronik toksisite referans değeri ile kıyaslamak akıllıca olacaktır. Aslında, durumun bir süre daha devam etmesi halinde, aşım derecesine ve tolere edilebilir günlük alımdaki belirsizlik düzeyine ya da Rehber Değer çıkarımına göre durum belirli bir risk temsil edebilir ve kontaminasyon nedeni/kaynağı mümkün olduğunca çabuk kaldırılmalıdır. Durumun olaylara dayalı/düzensiz olması halinde: bir riski göstermesi gerekli değildir; bir uzmandan fiili riski değerlendirmesi istenmelidir ve gerekli olması halinde maruziyet kaynağı üzerine faaliyette bulunulmalıdır. Değerler Dünya Sağlık Örgütü Rehber Değerinin oldukça üstünde olduğunda ve nüfus için belirli bir risk öngörüldüğünde, su rezervi durum düzeline kadar kullanılmamalıdır.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından başka bir Rehber Değer tanımlanmamıştır. Aslına bakılırsa, Dünya Sağlık Örgütü en yüksek test edilmiş dozlarda (120-510 µg/kg vücut ağırlığı/gün) etkiler gözlemlenmediği için NOEL değerinin belirlenmediği dikkate alarak, tekrarlanan anatoksin-a toksisitesi için veri tabanının TDI değerini çıkarmak için uygun olmadığını düşünmektedir (Astrachan ve diğerleri, 1980; Fawell ve diğerleri, 1999).

Bununla birlikte, en yüksek değerin NOEL değeri olarak ele alınması halinde (son derece ölçülü olmakla birlikte) geçici TDI = 0.51 µg/kg vücut ağırlığı/gün, UF = 1000 (MC-LR'yle benzerdir) ve Rehber Değer ≅ 12 µg/L uygulanarak çıkarılır (Duy ve diğerleri, 2000). Bu noktalara dayalı olarak, içme suyunda toplam anatoksin konsantrasyonu için Rehber Değer = µg/L'nin, potansiyel olarak maruz kalan nüfusun sağlığını korumak için uygun bir güvenlik sınırı sağlayacağı önerilmiştir (3 önerm sırasına göre) (Fawell ve diğerleri, 1999).

Aslında içme suyunda toplam anatoksin içeriği için Yeni Zelanda limiti 6 µg/l olarak belirlemiştir ve Avusturalya 3µg/l for anatoksin-a limitini benimsemiştir.

CYN için en uygun çıkış noktası sub-kronik NOEL = 30µg/kg vücut ağırlığı/gündür. NOEL, Değerlendirme Faktörü =1000 için bölerek (cinsler arası ve cinsler içi değişkenlik için 100 ve kronik veri eksikliği için 10) tolere edilebilir günlük alım değeri 0.03µg/kg vücut ağırlığı/gün elde edilir (60 kg ağırlıktaki bir kişi için günlük 1.8µg'dır). Ancak siyanotoksinin genotoksik ve/veya kanserojen özellikleri netleştirildiğinde, bu geçici tolere edilebilir günlük alımın güncellenmesi gereklidir. %90'lık bir değerlendirme faktörü (kontamine olmuş gıdalar da dahil, CYN maruziyetinin diğer olası kaynakları hakkında bilgi eksikliğinden dolayı) ve günlük 2L içme suyu tüketimi dikkate alındığında, 0.81µg/L'lik bir Rehber Değer (1µg/L'ye yuvarlanmıştır) elde edilebilir.

Sub-kronik risk kısa dönemli tekrarlanan maruziyetin (aynı zamanda dönemsel olarak orataya çıkan maruziyetin) temsilcisidir. Mevsime bağlı olarak muhtemelen kontamine olmuş gıdaları tüketen nüfus için kullanılabilir ve bazı dönemlerde patlamalar gösteren siyanotoksinler için uygulanır. Yukarıda anlatılmış olan aynı prosedür kullanılarak elde edilir ve kronik riskler için uygulanır.

Sub-kronik-farede NOEL=40µg(kg vücut ağırlığı x gün)⁻¹

Değerlendirme Faktörü (AF)= 10 (türler arası değişkenlik) x 10 (tür içi değişkenlik). Bu durumda ek bir değerlendirme faktörünün kullanılmasına gerek yoktur.

Sub-kronik toksisite için referans değer= NOEL/100=0.4 µg(kg vücut ağırlığı x gün)⁻¹, 60 kg vücut ağırlığındaki bir yetişkin için 24 µg/güne denk gelir.

Potansiyel akut riskin değerlendirilmesi, etkilerin gözlemlenmediği en yüksek doz olan, hiçbir etkinin gözlenmediği akut düzeyin belirlenmesine imkan veren, akut toksisite çalışmalarına dayalı elde edilen veriler dikkate alınarak yapılabilir. Ne yazık ki, bu yalnızca MC-LR için mümkündür: kimi intraperitoneal akut çalışmalar hedef organ olan fare karaciğerinde etki yapmayan doz aralığının (25 ila 50 µg/kg vücut ağırlığı) elde edilmesine imkan vermiştir (Fromme ve diğerleri, 2000). Test edilen en düşük düzeyde (500 µg/kg p.c.) hepatik toksisitenin net işaretleri mevcut olduğu için, oral çalışmalardan akut bir NOEL değeri elde edilmesi mümkün değildir. İntreperitoneal verilerinin insanın fiili maruziyet koşulları tam olarak temsil etmediği belirtildiği için, bunların oral maruziyete göre tahmin edilmesi için düzeltme faktörünün uygulanması gereklidir. 30-100 kat farkın 2 maruziyet yolu arasındaki farkın kanıtı olduğu dikkate alındığında, faktör=10'ın uygulanması daha tutucu bir yaklaşımı göstermektedir. Buna ek olarak, kronik riske ilişkin olarak, türler arası ve tür içi değişkenliğe bağlı UF, akut bir etki olmayan doz=2.5 µg/kg vücut ağırlığının elde edilmesi için kabul edilmelidir. 60 kg vücut ağırlığındaki bir yetişkin için, bu aşağıdakinin alınımına denk gelir:

$$\text{Akut risk dozu} = \frac{\text{hiçbir olumsuz etkinin gözlemlenmediği düzey} \times \text{vücut ağırlığı} \times \text{düzeltme faktörü}}{\text{AF}}$$
$$= \frac{25 \mu\text{g/kg} \times 60\text{kg} \times 10}{100} \cong 150 \mu\text{g/person}$$

Toplam MC'ye bu maruziyet düzeyinde, değerlendirmenin en toksik değişkenler arasında olan MC-LR verilerine dayalı olduğu da dikkate alındığında her hangi bir etki beklenmez.

Yüzme suları için Dünya Sağlık Örgütü rehberleri

Dünya Sağlık Örgütü bu maruziyete bağlı olası insan sağlığı çıkarımlarını incelemiş ve tahriş olma ile daha ciddi etkilerin önlenmesi için rehber kitapçıklar sunmuştur (Dünya Sağlık Örgütü, 2003).

Yüzme suları için Dünya Sağlık Örgütü Rehberleri Avusturalya'da yürütülmüş olan epidemiyolojik çalışmalara dayalı olarak 5000 ile 20.000 arasında hücre/ml rapor etmiş olup, (Pilotto ve diğerleri, 1997) sudaki MC-LR konsantrasyonu ile ilişki içerisinde olmamakla birlikte, toplam maruz kalmış birey sayısına karşın sınırlı sayıdaki bireyde hafif deri tahrişi gözlemlenmiştir. Bu durumda, Dünya Sağlık Örgütüne göre risk göz ardı edilebilecek düzeyde olduğundan, herhangi bir eylemde bulunulması için gereklilik yoktur.

Bununla birlikte, Pilotto çalışmasının bazı limitleri vardır:

- MC-LR'ye özeldir.
- Özellikle hücre yoğunluğuna dayalıdır ancak bununla birlikte hücrelerin yokluğunun illa risk olmadığı anlamına gelmeyeceği de bilinmektedir.
- Maruz ve maruz olmayan bireyler arasındaki semptomlar bakımından farklılıklar son derece sınırlıdır ve ancak 7 gün sonra gözlemlenebilir (gecikmeli alerji). Genellikle böylesi reaksiyon türleri maruziyetten 4-24 saat sonra meydana gelir.
- Cohort (çalışmanın yapıldığı Topluluk) son derece sınırlıdır (<100 birey).

Ters etkilerin düşük olasılığı. Yukarıda bahsedilen Pilotto ve diğerleri, tarafından yapılmış çalışmaya dayanarak, tahriş edici etkilerden koruyucu rehber değer **20.000 hücre/ml**'dir.

20,000 hücre/ml yoğunluğuna kadar, MC-üreten siyanobakterilerin baskın olması halinde, 2–4µg/L MC'nin ortaya çıkması muhtemeldir ve özel toksin siyanobakteriler halinde ise bu rakam 10µg/L'ye kadardır. Bu düzeylerde Dünya Sağlık Örgütü'nün uzun dönemli maruziyete ve günlük 2L alınmasına referans veren içme suyu kalitesi için tanımlamış olduğu rehber değere yakındır. Günlük yüzme seansları kişi başına 200ml'lik bir istemsiz/kazara su yutulmasına denk gelebileceği dikkate alındığında, buna eşit olan 0.2–1µg MC/günlük alımı, içme suları kalitesi rehber değerinin altındadır. Bu nedenle, MC'lerin yalnızca sınırlı bir süre için (örn. yüzme sezonu) oral olarak alındığı da dikkate alındığında, bu durumlar düşük bir riske sahip olarak değerlendirilebilir. 20,000 hücre/ml'den yüksek yoğunluklarda tahriş edici etkilerin olması olasılığı artar; bu nedenle ters etkilere yönelik orta düzeyli olasılığa denk gelen ikinci bir rehber değer olarak 100,000 hücre/ml belirlenmiştir. *Microcystis spp.*'nin baskın olduğu 100,000 hücre/ml mevcudiyetinde (0.2 pg/hücre) 20µg/L MC'ye erişilebilir (Dünya Sağlık Örgütü, 2003). Yüzme faaliyeti başına 100 ml su yutulması, MC alımının tolere edilebilir günlük almaya yakın olmasına denk gelebilir (2.4µg/yetişkin kişi ve 0.4µg/10kg vücut ağırlığındaki çocuk) ancak bu oran akut riskten düşük olacaktır (150 ve 25µg sırasıyla yetişkin ve çocuk için).

Planktothrix agardhii'nin baskın olması halinde, 2 kat yüksek konsantrasyonlara bile erişilebilir (Dünya Sağlık Örgütü, 2003).

Bununla birlikte, 100,000 hücre/ml'ye yakın yoğunluklarda, köpük oluşumu hızlı bir şekilde çok yüksek siyanotoksin düzeylerine neden olabilir (diğer birimlerde litre başına miligramın 10'u). Bu koşullarda, küçük bir su hacminin bile yutulması MC miligram parçalarının alımına denk gelecek, bu ise özellikle çocuklar olmak üzere yüzücüler için tehlikeli olabilecektir.

Bu nedenlerle, köpük olayları sırasında izleme faaliyetlerinin yoğunlaştırılması ve tehlikeli maruziyetlerin engellenmesi için yönetim önlemlerinin desteklenmesi gereklidir.

İnsan sağlığını özellikle MC'ye karşı tehlikeli maruziyetlerden korumak için tanımlanmış olan bu rehberler, risk değerlendirmesi ve rekreasyonel suların yönetimi için önemli bir aracı temsil etmektedir.

Bununla birlikte, bunların belirli sınırları vardır. 20,000 hücre/ml rehber değeri, yukarıda bahsedildiği gibi bazı önemli eksiklikleri gösteren tek bir epidemiyolojik çalışmaya dayalıdır (Pilotto ve diğerleri, 1997) ve MC-LR'nin toksikolojik profillerine göre yapılmış olup bu nedenle diğer siyanotoksinleri dışlamaktadır.

Son olarak, Dünya Sağlık Örgütü rehberleri hücre yoğunlukları olarak ifade edilmiştir, oysaki kimi durumlarda (örn. MC'ler bakımından yaşanan patlamalar) suda yüksek düzeyde çözünmüş siyanotoksin ortaya çıkar. Bu durumlarda, toksinlerin ve/veya insan sağlığı bakımından bir riskin yokluk göstergesi olarak hücre yoğunluğu yanlış yönlendirici olabilir.

Pilotto çalışmasının yanında, siyanobakterilere rekreasyonel maruziyet hakkında 5 ek epidemiyolojik çalışma da mevcuttur: 3 analitik enlemesine araştırmalar (Philipp, 1992; Philipp ve Bates, 1992; Philipp diğerleri, 1992), Avusturalya'dan küçük bir vaka kontrol çalışması (El Saadi ve diğerleri, 1995) ve ileriye dönük bir cohort çalışması (Stewart ve diğerleri, 2006c). Sistemli olmayan, epidemiyolojik ve toksikolojik verilere dayanarak, siyanobakteriler nedeniyle meydana gelen yüzücüler üzerinde ciddi etkilerin olması riskinin yalnızca siyanobakteri patlamaları veya köpük biçimleri olduğunda meydana geldiği görülmektedir.

YÜZME SULARINDA SİYANOBAKTERİ PATLAMALARINI DEĞERLENDİRMEK VE YÖNETMEK İÇİN ULUSLARARASI YAKLAŞIMLAR

Enzo Funari

5.1. Giriş

Bu doküman Dr. Ingrid Chorus, Federal Çevre Ajansı, Almanya (Umweltbundesamt) Wörlitzer Platz 1 06844 Dessau-Roßlau Germany, Telefon: +49-340-2103-0, Fax: +49-340-2103 2285 , E-mail: info@umweltbundesamt.de) tarafından derlenmiş ve düzenlenmiş olan “Farklı ülkelerdeki siyanotoksin riskinin değerlendirilmesi, risk yönetimi ve düzenlemelerine yönelik mevcut yaklaşımlar” kitapçığından toplanmış olan veri ve bilgilerin bir sentezidir. Daha detaylı bilgiler ve bu dokümanda bahsi geçen tüm referanslar online olarak mevcut olan ve <http://www.uba.de/uba-info-medien-e/4390.html> adresinden indirebilecek kitapçıkta bulunabilir.

Kitapçık Eylül 2010’da, İstanbul’da, VIII. Uluslararası Toksik Siyanobakteriler Konferansında (ICTC) başlatılmış olan girişimin bir sonucudur. Bir oturumda bilim insanları ve düzenleyiciler, kendi ülkelerinde uygulanan veya tartışılan toksik siyanobakterilerden kaynaklı tehlikelerin kontrolüne yönelik yaklaşımları rapor etmişlerdir. Kitapçık tüm katılımcılara mail atılmış olan konferans sonrası yanıtları derlemektedir. Bir araya getirilmiş olan katkılar, yetkili hükümet pozisyonlarını değil, çoğunluğu bilim insanları olan yazarların bakış açılarını temsil etmektedir.

Bu dokümanın amacı, Türkiye’de ulusal bir politika oluşturulması için ilham kaynağı olabilecek olan, kimi ülkelerdeki siyanobakteri patlamalarının izlenmesi ve yönetimine ilişkin yaklaşımların bir sentezini sunmaktır. Bu doküman, ayrı dokümanlarda sunulmuş olan Fransız ve İtalyan rehberlerini içermemektedir.

5.2. Avustralya

Su kütleleri her yıl siyanobakteriyel büyümeye karşı hassasiyetleri bakımından geçmişteki bilgilere ve fiziko-kimyasal koşullarına dayalı olarak değerlendirilirler. Çok zayıf, zayıf, uygun, iyi ve çok iyi kategorilerinde sınıflandırılırlar. Zayıf, uygun ve iyi kategorileri için aşağıdaki 3 alarm düzeyinin belirlenmesi için yoğun kısa dönem değerlendirme talep edilmiştir:

- “Yeşil Düzey” İzleme modu olarak adlandırılır.
- “Amber/Sarı Düzeyi” Alarm modudur.
- “Kırmızı Düzey” Eylem modudur.

Eylem modu içerisinde 2 düzey daha bulunmaktadır:

Düzey 1 rehberi : ≥ 10 toplam mikrosistin veya $\geq 50\ 000$ hücre/mL toksik *M. aeruginosa* veya toplam biyo-hacimde bilinen bir toksin üreticisinin baskın olması halinde tüm siyanobakterilerin bileşik toplamı için $\geq 4\ \text{mm}^3\ \text{L}^{-1}$ ’lik biyo-hacim.

Düzey 2 rehberi: bilinen toksinlerin mevcut olmadığı veya siyanobakteriyel köpüklerin sürekli olarak mevcut olduğu tüm siyanobakteriyel materyalin toplam biyo-hacmi için $\geq 10\ \text{mm}^3\ \text{L}^{-1}$.

5.3. Danimarka

Potansiyel olarak toksik olan siyanobakteriyel patlamalar, yerel olarak da neredeyse her yıl, özellikle yaz sonu durgun hava dönemlerinde meydana gelir. Belediyeler yüzme suyu kalitesi izlemesinden sorumludurlar ancak görsel değerlendirme dışında siyanobakteriyel patlamaların herhangi şekilde kaydı için resmi şartlar yoktur. Yüzme sularında (potansiyel) toksin alglerin tolere edilebilir miktarı için resmi rehberler yoktur, ancak bir alg patlamasının toksik olmasından şüphelenilmesi halinde, yerel yetkililer halkın sudan uzak durması için su kenarına bir uyarı işaret koyarlar. Uyarılar yerel gazetelere ve yerel websitelerine de koyulabilir. Kuzey Sealand'da yüzme suyu kalitesine yönelik bir tahmin –su öngörüsü- websitesinde mevcuttur. Buna ek olarak Danimarkalı Doğa Ajansı, yüzme suyunun genel durumu hakkında halkı bilgilendiren ve toksik alg patlamalarının ortaya çıkabileceği yüzme sularının yaklaşık hesaplamalarını içeren bir websitesine sahiptir (<http://www.naturstyrelsen.dk/Vandet/Badevand/>). Hesaplama oldukça düşük teknolojiye sahiptir – yalnızca suda diz derinliği referans verilmiştir. Ayağınızı göremiyorsanız, suda yüzmemeniz gerekmektedir. Websitesi aynı zamanda halkın kendisini veya çocuklarını ya da hayvanlarını su yüzeyindeki köpükler ile bu köpükler alg toksinleri içerebilecekleri için temasa sokmaması yönünde halkı uyarmaktadır.

5.4. Finlandiya

1985'ten beri siyanobakteriler izlenmektedir. İzleme büyük ölçüde alandaki görsel denetimlere dayanmaktadır. İzleme planı bilimsel araştırma ve risk değerlendirmesine dayalıdır ve maliyet nispeten düşüktür. Rekreatif suların izlenmesinde temel hedef, siyanobakteriler tarafından neden olunan riske karşı su kullanıcılarının acilen uyarılması olmalıdır. Bu hedefe yalnızca hızlı ve nispeten basit araçlarla ulaşılabilir. Hızlı uyarı, görsel denetimin yüzme suyunda yüksek veya çok yüksek sayıda siyanobakterinin mevcut olduğunu göstermesi halinde, belediye sağlık yetkililerinin halk plajlarına uyarı işaretleri koyması zorunluluğuyla gerçekleştirilmektedir. Bu yükümlülük ulusal mevzuatta öngörülmektedir. Avrupa Komisyonu'nun yüzme suyu sınıflandırması hakkındaki halkın bilgilendirilmesine yönelik semboller ve her türlü yüzme yasağı ya da yüzmenin yapılmaması yönündeki uyarı, siyanobakteri ve bunların toksinlerinin sağlık üzerine olumsuz etkileri hakkında ek bilgilerin ilaveten kullanılmaktadır.

Bu yaklaşımın mantığı, araştırma sonuçlarına göre siyanobakteriyel kütle oluşumunun yarıdan fazlasının toksik olduğu olgusuna dayanmaktadır. Böylelikle siyanobakterinin tek barşına varlığı potansiyel bir sağlık tehlikesinin güçlü göstergesidir. Yüzme suyu numunelerinden spesifik toksinlerin analizi, hızlı değerlendirme ve eylem ihtiyacını karşılamak için çok fazla zaman tüketicidir. Örneğin mikrosistinler su numunelerinden analiz edilmiş olsalarda, siyanobakteriler birçok farklı toksin ve hatta henüz belirlenmemiş potansiyel toksik bileşikler ürettiği için suda diğer tehlikeli bileşikler bulunabilir. Bu nedenle, Finlandiya'da spesifik toksinlerin analizi yalnızca özel koşullarda tavsiye edilmektedir.

5.5. Hollanda

Hollanda'da halk rekreasyon amaçlı göllerdeki (örn. yüzme, rüzgar sörfü, su kayağı, dalış) sağlık riskleri hakkında iyi bilgilendirilmektedir. Spesifik su kütlelerinin su kalitesine yönelik bilgilerin elde edilebileceği özel hatlar ve yüzmenin güvenli olup olmadığını gösteren haritaların bulunduğu özel websiteleri (örn. <http://www.waterland.net/zwemwater>) bulunmaktadır. Uyarıların çoğu ve göllerin neredeyse kapatmalarının tümü toksik siyanobakteri patlamaları ile ilgilidir.

Yeni 2011 protokolü geçmişteki verilere veya su kütlesi koşullarına dayanılarak yüzme suyu profillerinin siyanobakteri çoğalmasını işaret ettiği yerler için rehberler sunmaktadır. Protokol saha üzerinde denetim ve uzman bilgisi bakımından göreceli olarak esneklik bırakmaktadır. 2 alarm düzeyi arasında farklılık ortaya koymaktadır. Alarm düzeyi 1'in altında daha fazla eylemde bulunulmasına gerek yoktur. Bu düzeyde, sağlığa ilişkin olumsuz etkilerin olması riski küçük olarak varsayılır veya yüzme suyu yerinin küçük bir alanı ile sınırlıdır. Düzey 1, toksik mavi-yeşil alg patlamalarının gözlemlendiğini ve bunların deri tahrişi veya bağırsak problemleri oluşturabileceğine dair halkın genel olarak uyarıldığı düzeydir. Sürekli lokal köpüklerin olması halinde ise yalnızca köpüklü alana yönelik bir uyarı verilebilir.

Bu uyarı kısa sürede verilip kısa sürede kaldırılabilir. İzleme sıklığı iki haftada birden haftada bir olmak üzere arttırılır. Böylelikle iki haftada birlik (düzey 1'in altında alarm) veya haftalık (alarm düzeyi 1 ve 2) saha gezileri ve numune alım programı yoluyla veriler elde edilir. Siyanobakteri numunelerinin alımı için rehberler mevcuttur (van der Oost, 2009). Numuneler yüzey köpüklerinin mevcut olup olmamasına ve bunların belirlenmiş yüzme alanı (alanları) içerisinde veya dışarısında bulunmalarına göre birçok konumdan alınmalıdır. Köpüklerin dış kısmından alınan numuneler, numune alım çalışmalarına her zaman dahil edilmelidir.

Alarm düzeyi 1 ve 2 arasındaki ayırım (i) su kolonu üzerinde asılı olan siyanobakteriyel biyo-kütle konsantrasyonu ve (ii) yüzey köpüklerinin varlığı/yokluğu ile yoğunlukları üzerinden yapılmaktadır.

Alarm düzeyi 1'e, siyanobakteri biyo-hacmi 2.5 – 15 mm³ /L veya 12.5 – 75 µg/ L siyanobakteriyel klorofil-a aralığında olduğunda ulaşılır (bkz. Kutu 2 – Miktar). Biyo-kütlenin 15 mm³ /L biyo-hacim veya 75 µg/ L klorofil-a'yı aşması halinde, uyarı alarm düzeyi 2'ye arttırılır. mikrosistin üreten cinsler siyanobakteriyel toplulukta baskın olması halinde (> %80) tercihe bağlı bir mikrosistin ölçümü takip edilebilir ve mikrosistin düzeylerinin 20 µg /L 'nin altında olması halinde, mikrosistin üreten cinslerin mikrosistin dışında toksinler de üretebileceği dikkate alınarak alarm 2 düzeyi, düzey 1'e indirilebilir.

Köpükler 3 kategoriye ayrılırlar. I kategorisindeki köpüklerin varlığı alarm düzeyi 1'e yol açmaz. Bu köpükler daha belirgin olduklarında ve kategori II'de sınıflandırıldıklarında, alarm düzeyi 1 verilir: örn. halkın genel olarak uyarılması. Denetlenen yüzme suları için bu uyarı günlük olarak tekrardan değerlendirilebilir. Denetlemenin olmaması halinde (alanların çoğunda bu durum söz konusudur), uyarı bir sonraki haftalık alan ziyaretine kadar kalır. Köpük katmanının kategori III'e ulaşması halinde, bu durum alarm düzeyi 2'ye ulaşır: yüzmenin yapılmaması yönünde olumsuz bir tavsiye verilir.

Siyanobakteriyel köpükler yüzen siyanobakteri topluluğunun su kütlesi durağanken örn. karışık değilken göl yüzeyinde birikmesi ile oluşur. Özellikle *Microcystis spp.* gibi son derece batmaz siyanobakteriler zayıf bir karışma ile kolaylıkla uzağa sürüklenecek ve yüzeye çıkacaklardır /Ibelings ve diğerleri, 1991).

Yalnızca hücre içi siyanobakteriyel toksinlerin köpük içerisinde çoğalarak konsantre olmasından dolayı yüzme sularındaki risklerin değerlendirilmesinde köpükler son derece önemlidir.

Hollanda'da yapılan araştırmalar mikrosistin konsantrasyonlarının köpüklerde 10,000 µg/ L'nin çok üzerinde olduğunu göstermektedir, bu nedenle tek bir ml gibi küçük hacimlerde çocuklar için olan akut tolere edilebilir alım düzeyi alışılabılır (bkz. tablo 2 Ibeling & Chorus, 2007).

Kategori I'de yüzeyde yüzen siyanobakteriyel hücreler vardır. Kategori II'de bu hücreler köpük katmanları oluşturur ancak henüz tam olarak birçok bitişik metre kareyi kaplamazlar. Kategori III'de köpük katmanı daha geniş bir yüzeyi kapsar ve köpükler dirençlidir; çözünmüş hücrelerden gelen mavi pigmentler ara ara görülebilir. Alandaki köpük yoğunluğunun değerlendirilmesi için resimleri de içeren spesifik açıklamalar geliştirilmiştir. Yüzen siyanobakterilerin yüzey köpüklerinin oluşumu ve bozulması son derece dinamiktir ve saatler içerisinde değişiklik göstermektedir. Rutin yollarla bunların izlenmesi imkansızdır. Ibelings ve diğerleri. (2003) modellenmiş olan siyanobakteri biyo-kütlesi, batmazlığı ve su kolonu durağanlığına dayanarak ve yerel/bölgesel hava tahminini kullanarak geniş bir gölün açık sularında köpük oluşumunun zamanlaması ve konumunu öngören bir modeli yayınlamışlardır. Bu model online biçime dönüştürülmüş olup, su yöneticileri için işlevseldir ve gelecekte de haftalık uyarı bültenleri şeklinde sunulacaktır. . Ancak yanlış negatifler ile yanlış pozitifler arasındaki doğru dengenin bulunmasının ise zor olmaktadır.

Yasal konuların dışında ve AB ile ulusal direktiflere uyararak, siyanobakteri protokolü birçok konuya ilişkin sağlam bir denge sunmalıdır:

- Sağlık riskleri. Siyanobakteriyel patlamaları destekleyen göllerdeki rekreasyonel faaliyetlere yönelik mevcut risk değerlendirmesi mikrosistin bilgisine dayalıdır. Ayrıca, Hollanda durumunda diğer siyanobakteriyel toksinlerin insanlar üzerindeki risklerinin varlığı ve potansiyeli hakkında sınırlı bilgi vardır. Ek güçlükler ise köpük oluşumunu ve toksin konsantrasyonundaki değişikliği içeren yüksek etkenlerdir.
- Su rekreasyonunun teşvik edilmesi. Bir uyarı olması halinde, yüzme yapılmaması önerilir ve hatta yüzme yasaklanır, bu rekreasyon alanının rekreasyonel ve ekonomik işleyişine ve özellikle de açık hava su rekreasyonunun sağlık kazanımlarına zarar verir.
- İzlemedeki belirsizlikler. Hücre sayımları ve bunlarla ilişkili biyo-hacimler, bu sayımların tekrardan üretilebilirlikleri ve temsil edilebilirlikleri zayıf, maliyetleri yüksek ve prosedürü vakit harcatıcı olsa da ortak uygulamalar olmaya devam etmektedir. Floresan problemleri ve DNA teknikleri gibi nispeten yeni teknikler vaat edici olmakla birlikte bunların da kendilerine has yetersizlikleri olabilir. Bu “yeni” teknikler yetkililerin yüzücülerle hızlı bir şekilde iletişime geçmelerine imkan veren bir erken uyarı olarak hizmet edebilirler ancak tercihen bunlar, siyanotoksinlerin (ve yalnızca mikrosistinlerin değil) fiili ölçümlerine dayalı uygun bir risk değerlendirmesi ile desteklenmelidir.
- Fizibilite, karmaşıklık ve maliyet. Siyanobakteri patlamaları tarafından ortaya konan risklerin uygun bir şekilde izlenmesi basit bir görev değildir. Örneğin, köpüklerin günlük olarak kontrol edilmesinin gerçekleştirilmesi her yerde elverişli değildir.
- İletişim. Güvenilirliği desteklemek için düzgün bir protokol ve elde edilen ölçümler ortalama yüzücüye açıklanabilir olmalıdır.

Siyanobakteri ve yüzme suları konusu dengeli bir yaklaşımı gerektirir. Yetkililer ve paydaşlar arasındaki genel görüş mevcut protokolün yeterli düzeyde iyi olmadığı ancak mevcut bilgi ve araçlarla bunun iyileştirilmesinin de son derece zor olduğunu göstermektedir. Bu aynı zamanda protokolün izleme ve karar vermede bir önceki protokole kıyasla neden daha geniş derecede bir serbestlik sağladığını da açıklamaktadır. Artan uzman bilgilerine veya daha iyi izleme tekniklerine cevaben protokolün yıllık olarak güncellenmesi ve uyarlanması beklenmektedir.

5.6. Yeni Zelanda

Rekreasyonel amaçla kullanılan sudaki siyanobakteriyel riski yönetme amaçlı Yeni Zelanda rehberleri şu linkte mevcuttur: <http://www.mfe.govt.nz/publications/water/guidelines-for-cyanobacteria/index.html>.

Rehberler göllerde (özellikle planktonsal siyanobakteriler) ve nehirlerde (özellikle bentik siyanobakteriler) siyanobakterilerden kaynaklı halk sağlığı riskinin belirlenmesi için izleme çerçevesini oluşturmaktadır. Kullanılan çok sıralı çerçeve, siyanobakteri patlaması veya bentik çoğalmanın başlaması ve ilerlemesine kademeli bir yanıt olarak düzenleyicilerin kullanabilecekleri izleme ve yönetim faaliyeti sırasını birleştirmektedir. Bunlar aynı zamanda beklenmeyen siyanobakteri olaylarına yanıt olarak da uygulanabilir.

Toksik bentik, yaygılar (mat, süprüntü) oluşturan siyanobakteriler Yeni Zelanda nehirleri boyunca yaygındır ve birçok yönetim sorunlarına yol açmaya devam etmektedirler. Yeni Zelanda rehberlerine bentik siyanobakteriler için bir eşiğin dahil edilmesi, uluslararası boyutta bentik siyanobakteriler için niceliksel rehberlerinin geliştirilmesi için ilk girişimdir. Bentik rehberler 3 aşamalı bir alarm düzeyi çerçevesi içerirler ve bu çerçeve alarm düzeyinin durumunun belirlenmesi için siyanobakteriyel çoğalma ile alt katmandan ayrılan görülebilir yaygıların oluşunu kullanır.

Rehberler aynı zamanda şunlara ilişkin bölümler içerir: yüksek riskli su kütlelerinin belirlenmesi, temsili numunelerin nasıl toplanacağı ve alan izlemelerin nasıl yapılacağı (bentik siyanobakteriler de dahildir), doğru numune depolaması, siyanotoksinler hakkında genel bilgiler ve siyanobakteriyel belirlemeyi sunan laboratuvarların listesi ile siyanotoksin analizi. Rehberler aynı zamanda siyanobakterilerden etkilenmiş su kütleleri için basın bildirisi metni örnekleri ile numune alım form örnekleri vermektedir.

Doğru numunelerin toplanması için minimal siyanobakteriyel uzmanlık ile numune alıcılarına yardımcı olmak için siyanobakteri patlamaları ile bentik yaygıların fotoğrafları sunulmaktadır.

Planktonik siyanobakteriler

Üç düzeyde izleme belirlenmiştir: gözetim (yeşil durum), alarm (amber/sarı durum) ve eylem (kırmızı durum). Düzeyleri belirleyen hücre konsantrasyonları veya biyo-hacimler, su kütlesinin temsili yerinden (yerlerinden) alınmış olan tavsiye edilen türün numunesine uygulanmaktadır. Rehberler numune alım alanlarını ve temsili numunelerin nasıl toplanacağına ilişkin bölümleri içermektedir. Son yıllarda Yeni Zelanda'nın kimi bölgelerinde piko-siyano-bakterilerin (< 2 µm; e.g., *Aphanothece* sp. ve *Aphanocapsa* sp.) raporlarında bir artış olmuştur ve sağlık uyarılarının yalnızca hücre sayımına dayandırılması bazı durumlarda gereksiz düzenlemelere neden olmuştur. Bu nedenle şu anda rehberler biyo-hacimlere dayanmaktadır. Rutin sayımda her bir tür için biyo-hacminin ölçülmesi ve hesaplanması vakit harcatıcı ve pratik olmayacağından, ortak sorunlu türlerin sabit biyo-hacimli standartlaştırılmış bir tür listesi rehberler içerisinde verilmiş ve bu listede olmayan türler için de biyo-hacimlerin nasıl ölçüleceğine ve hesaplanacağına ilişkin ek bilgiler sağlanmıştır.

Kırmızı durum ve ilgili faaliyetler

Durum 1: $\geq 12 \mu\text{g/L}$ toplam mikrosistinler; veyabiyo-hacimeşittir $\geq 1.8 \text{ mm}^3/\text{L}$ potansiyel olarak toksik siyanobakteri:

Alarm için izleme devam eder (amber/sarı durum).

Durum 2: $\geq 10 \text{ mm}^3/\text{L}$ tüm siyanobakteri materyalinin toplam biyohacmi; potansiyel olarak toksik taksonların mevcut olması halinde, siyanotoksinler için test numuneleri dikkate alınır.

Durum 3: siyanobakteriyel köpükler sürekli olarak mevcuttur: sağlığa karşı potansiyel riskler hakkında halk bilgilendirilir.

Bentik siyanobakteriler

Bentik siyanobakterilere ilişkin sağlık riskleri planktonik türlere bağlı olan risklere kıyasla daha az iyi düzeyde bilinmektedir. Yeni Zelanda kuantitatif (niceliksel) rehber geliştirmeyi hedeflemiş olup, bunların bir ön hazırlık araştırmasına dayalı olduğunu ve bilgi ile izleme araçları geliştikçe bunların daha uygun hale getirilmesine ihtiyaç duyulduğunu kabul etmiştir.

Kimi çevresel koşullar altında veya bentik yaygılar daha kalın hale geldiğinden (ve oksijen gazı kabarcıkları bunların içerisinde kısılmış hale geldiğinden), yaygılar alt katmandan ayrılır ve nehir kenarları boyunca toplanabilir. Bu olaylar sırasında insan ve hayvan sağlığına yönelik riskler, siyanobakteriyel yaygıların nehir kullanıcılarına erişebilirliğinden ötürü artmaktadır.

Su kullanıcılarına yönelik en yüksek risk, ayrılmış yaygıları içeren suyun yutulması ve/veya bu siyanobakteriyel yaygılarla doğrudan temas etmektir. Ayrılma olaylarının çokluğu ve/veya sayısı arttıkça, her iki türden temasa ilişkin risk de artmaktadır. Bu nedenle, rehberler siyanobakteriyel çokluk ve alt katmandan görülebilir şekilde ayrılan yaygıların meydana gelmesini alarm düzeyinin belirlenmesinde kullanırlar.

Bentik siyanobakteriyel yaygıların bulunma çokluğu, su ısı ve "taşma akışı" ı koşullarının eksikliği arasındaki ilişki bir çok nehirlerde incelenmiştir (Milne ve Watts 2007; Wood, ve diğerleri, 2007b; Heath ve diğerleri, 2011). Bazı durumlarda, taşma akışı olayında geçen sürenin uzunluğu, artan bentik siyanobakteriyel çoğalma riskinin birerken uyarısı olarak kullanılabilir. Ancak siyanobakterileri nehir yatağından kaydırmak için gereken akış hızı, nehir yatağı alt katmanının türü ve boyutuna gibi etkenlere bağlı olarak değişecektir. Örneğin, kumlu bir alt katmana sahip olan bir nehir, geniş taş alt katmanına sahip bir nehre kıyasla bentik siyanobakterileri kaldırmak için çok daha küçük bir akıntıya ihtiyaç duyacaktır. Buna ek olarak, taşma akışı olayını takiben siyanobakteri çoğalması için gereken zaman

miktarı da değişecektir. Dolayısıyla, “her duruma uyan bir kalıp” yoktur, bölgesel düzeyde perifiton kapsam kayıtlarını, akış verilerini ve siyanobakteri çoğalmasa riski için uyarı sistemleri geliştirmek için yerel bilgileri kullanabilirler.

5.7. İspanya

Mevzuat yüzme sezonu öncesinde, her yüzme alanı için, diğer parametrelerin yanısıra alanda büyük çapta siyanobakteri büyümelerinin oluşması eğilimini gösteren profillerin hazırlanmasını zorunlu kılmaktadır. Bu profillerin hazırlanması için Çevre Bakanlığı ard arda iki yıl için (2008 ve 2009) yüzme sezonu sırasında 3 kez resmi yüzme alanı numune alımı düzenlemiştir. Bu numune alımları fiziksel ve kimyasal parametrelerin yanı sıra biyolojik parametreleri de içermekte olup, klorofil a konsantrasyonu, siyanobakteri oranı, potansiyel olarak toksik taksonların mevcudiyeti ve MC, CYN ve ANA oluşumları ölçülmektedir.

Bu veriler Sağlık Bakanlığı websitesinde halka sunulmuştur: <http://nayade.msc.es/Splayas/ciudadano/ciudadanoZonaAction.do>.

Toplanmış olan tüm veriler ile ve karar planı uyarınca her bir alan 3 çoğalma olasılığı düzeyinden birine göre sınıflandırılır: yüksek, orta ve düşük. Sonuçlar alanların %20’sinin (212’den 43’ünün) yüksek siyanobakteriyel patlama olasılığına, %50’sinin orta olasılığa ve yaklaşık %30’unun (212’den 61’inin) düşük olasılığa sahip olduğunu göstermektedir.

Büyük çaplı siyanobakteriyel büyümenin olmasına yol açma eğilimli resmi yüzme alanları bir izleme stratejisine ve muhtemelen de bir risk değerlendirme prosedürüne ihtiyaç duymaktadır. Rekreatif sular bakımından ortaya çıkabilecek temel sorunlardan biri de belki siyanobakteri patlamaları üretme olasılığının orta olduğu %50 oranındaki alanlardır. Bu orta düzeydeki alanların haftalık veya iki haftada bir sıklıkla, taşınabilir florometre gibi düşük maliyetli araçlarla siyanobakteri ve siyanotoksinle bağlı sağlık risklerine erişkin olarak yüzme sezonu boyunca her bir alan için karar alınması bakımından siyanobakteri risklerine yönelik olarak izlenmesi gereklidir. Ancak, bölge sağlık yetkilileri halen izleme stratejilerini düzenlemekte ve şu an için bunun nasıl koordine edileceği bilinmemektedir.

İspanya’da Sağlık Bakanlığı resmi yüzme alanları hakkında halkın bilgilendirilmesi için bir web sitesi hazırlamıştır (<http://nayade.msc.es/Splayas/home.html>). Burada kaliteye ilişkin veriler sürekli olarak güncellenmekte ve değerlendirilmektedir. Bakanlık aynı zamanda halk ve Avrupa Birliği için yıllık raporlarda hazırlamaktadır.

5.8. Amerika Birleşik Devletleri

Birleşik Devletlerde Oklahoma tatlısu alglerine maruziyeti sınırlayan mevzuatı geçiren ilk eyalettir (LegiScan). Yeni kanun Oklahoma Turizm ve Rekreatif Departmanının halka açık bir websitesi oluşturmasını, Oklahoma Göl Koşullarının, Oklahoma Çevre Kalitesi Departmanı, Birleşik Devletler Kolordu Mühendisleri ve belediye yetkilileri tarafından toplanan verilerin sunulmasını gerektirir. Kanun aynı zamanda rekreatif suları yönetmekten sorumlu bir her türlü ajansın bilgilendirme amaçlı websitesinde insanları yönlendiren işaretleri yayınlanmasını gerektirir. Son olarak, kanun alg ve algal patlamalara yönelik olarak insanları uyarmak için sorumluluklara resmiyet kazandırır ve sağlığa ilişkin uyarı eşiklerini belirler, örn. turizm yetkilileri uyarılardan sorumludur ve göl kullanıcılarını ancak alg hücre sayımının 100,000 hücre/mL’yi (önceden kullanılan 20,000 hücre/mL’ye kıyasla) ve mikrosistin konsantrasyonlarının 20 µg/L’yi geçmesi halinde uyaracaktır (Carter 2012a). Bu düzeyler evrensel olarak kabul edilmemiştir (bkz. Carter 2012b) çünkü 100,000 hücre/mL hücre konsantrasyonu Dünya Sağlık Örgütü tarafından sağlık etkilerinin olması olasılığının yüksek olması ile ilişkilendirilir.

5.9. Son Değerlendirmeler

Avrupa Birliği Yüzme Suyu Direktifi “yüzme suyu profillerinin” oluşturulmasını gerektirir, bunlar kontaminasyon bakımından potansiyelin değerlendirilmesidir. Diğer kıtalardaki ülkeler dahi benzer yaklaşımları takip etmektedirler. Siyanobakteriyel patlamaların (başlıca besin yüklemesi) nedenlerinin de-

ğerlendirilmesi ve yönetilmesini hedefleyen çalışmalar diğer Avrupa mevzuatları ile bağlantılıdır (örn. Su Çerçeve Direktifi, Nitrat Direktifi).

Bazı ülkeler biyo-kütle parametrelerini durum değerlendirmesinin ve yanıtların tetikleyicileri için, tespit edilmemiş olan veya herhangi bir rehber değere sahip olmayan siyanotoksinler de dahil tüm siyanotoksinleri kapsama avantajı ile birlikte temel olarak kullanırlar. Sınır ise, mevcut siyanobakteri toksisitesinin düşük olduğu yerde, alan kullanımının kısıtlanması, sağlığın korunması için gerekenden daha fazla kısıtlayıcı olabilmesidir.

Birçok ülke rehber değerleri, mikrosistinlerin konsantrasyonu için limitlerin kılavuzluk ettiği siyanobakteriyel biyo-kütleyi yansıtan bir parametreye dayandırmıştır. Bu yüksek konsantrasyonlarda (özellikle köpüklerde) bulunma mikrosistinlerin sıklığı ile doğrulanmıştır. Bazı ülkeler de değerleri 12.5'den 100 µg/L'ye değişen aralıklarda mikrosistin düzeylerini doğrudan dahil ederler. Nörotoksinler daha akut olarak toksiktirler (hayvan ölümleriyle gösterilmiş olduğu gibi) ancak sorun onların akut oral toksisite için verilerin eksik olmasıdır. Aslında, köpük materyalleri içeren daha fazla su hacimlerinin kazara yutulması sonrası (örn. yelkenlilerin devrilmesi bağlamında) akut zehirlenme(intoksikasyon) riski bulunmaktadır.

Akarsu çökeltisi yüzeylerinde büyüyen, akıntılar ve sapmalar ile zamanla ayrılan siyanobakterilerin bentik yaygılarından zehirlenme potansiyeli ise ortaya çıkmış bir başka konudur. Bunlar hayvan ölümleriyle de gösterildiği gibi yüksek oranda toksik siyanobakteriler içerebilirler ve bunların insan sağlığına yönelik potansiyel tehlikelerine yönelik bilinç artmaktadır. İki ülke rekreasyon alanı kullanıcılarını korumak için bunları yaklaşımlarına dahil etmiştir (Yeni Zelanda'da uygulanmaktadır ve Küba'da müzakere edilmektedir).

YÜZME SULARINDA SİYANOBAKTERİYEL PATLAMALARI YÖNETMEK İÇİN İTALYAN REHBERLERİ

Enzo Funari

6.1. Giriş

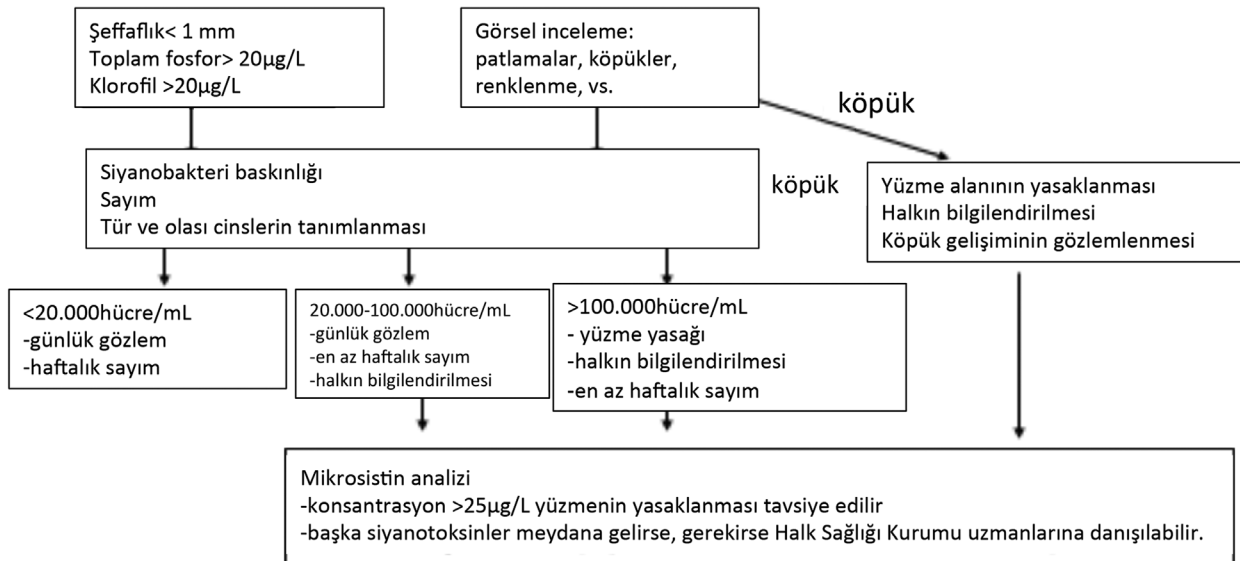
2006'da Avrupa Parlamentosu yüzme suyu kalitesi yönetimine ilişkin olan ve 76/160/EEC Direktifini yürürlükten kaldıran 2006/7/EC Yüzme Suyu Direktifini yayınlamıştır. Bu Direktif "yüzme suyu profili-nin siyanobakteriyel çoğalma potansiyelini göstermesi halinde, sağlık risklerinin zamanında belirlenmesinin sağlanması için uygun izlemenin yapılması gerektiğini" ve "Siyanobakteriyel çoğalma olduğu zaman ve sağlık riski belirlendiği ya da öngörüldüğü zaman, maruziyetin önlenmesi için, halkın bilgilendirilmesi de dahil olmak üzere uygun yönetim önlemlerinin acilen alınması gerektiğini" belirtir.

İtalya 2006/7/EC Yüzme Suları hakkındaki Avrupa Direktifini ulusal bir kararname ile kanunlarına aktarmıştır (Dlgs 116/08). Kararnamenin bir ek dokümanı bulunmaktadır, *Güvenli rekreasyonel sular için Dünya Sağlık Örgütü Rehberlerine dayalı olan siyanobakteriyel çoğalmaya bağlı risklerin yönetimi için Prosedürler ve Yüzme Suyu Profilleri: En İyi Uygulama ve Rehber*, 2006/7/EC Direktifi Düzenleyici Komitesi ("Yüzme Suyu Komitesi") tarafından hazırlanmış ve 2009'da yayınlanmıştır.

Doküman yüzme sularında siyanobakteriyel çoğalma tarafından temsil edilen temel konuları açıkladıktan sonra, siyanobakteriyel izlemeye yönelik olarak, 2003 Dünya Sağlık Örgütü rehberlerine dayalı aşağıdaki karar şemasını tanımlar.

Doküman aynı zamanda kayda değer bir siyanobakteriyel çoğalma potansiyeline sahip su kütlelerinin belirlenmesi için rehber niteliği taşımaktadır. Bu rekreasyonel faaliyetler için kullanılan su kütleleri için aşağıdakileri içeren bir inceleme yoluyla yapılabilir:

- geçmişteki verilerin değerlendirilmesi;
- su kütlelerinde patlamanın büyüme kapasitesinin tanımlanması için nütrientlerin analizi;
- siyanobakteri mevcudiyeti/patlama için görsel denetleme;
- geçirgenliğin değerlendirmesi (Secchi disk).



*Mikrosistiner dışındaki siyanotoksinlerin mevcut olması halinde her bir vaka için risk değerlendirmesi yapılmalıdır. Teknik danışmanlık için Ulusal Sağlık Kurumuna başvurulmalıdır.

Tüm bu faaliyetler yüzme sezonu sırasında temsili alanlarda gerçekleştirilmelidir. Bu değerlendirme ağacı ile farklı durumlar nitelendirilebilir:

1. Siyanobakterilerin olmadığı ve bunların çoğalmasını desteklemeyecek türden havzalar. Önerilen eylem: hiçbir şeyin değişmediğinin değerlendirilmesi için görsel bir incelemeye, geçirgenlik değerlendirmesine ve besinlerin analizine dayalı bir yıllık kontrol.
2. Siyanobakterilerin bulunmadığı ancak siyanobakterilerin olmasının olası olduğu havzalar (geçirgenlik 2m'den azdır toplam fosfor > 0.02 mg/l). Önerilen eylem görsel incelemeye, geçirgenlik değerlendirmesine ve fitoplankton analizlerine dayalı sezonsal bir kontroldür.
3. Siyanobakteri çoğalmasının olduğu havzalar. Önerilen eylem planlı bir izleme faaliyetidir.

Doküman numune alımı için dönemlerin ve zamanın nasıl seçileceğine; patlamaların nasıl yönetileceğine, yüzeyden ve su kolonundan numune alınımının nasıl yapılacağına; numunelerin nasıl taşınacağına ve depolanacağına ilişkin önerileri de vermektedir. Kullanılacak ekipmana ve numuneyi alan personelin korunmasına yönelik tavsiyeler de dokümanda verilmektedir.

İtalyan Ulusal Sağlık Kurumu tarafından yayınlanmış "Potansiyel olarak toksik siyanobakteriler: Ekolojik ve metodolojik konular ile risk değerlendirmesi" adlı rehberde, siyanobakterilerin ve siyanotoksinlerin saptanması ve miktarlarının belirlenmesi için kimyasal ve biyolojik metotlar hakkında daha detaylı bilgiler verilmektedir (Funari ve diğerleri, 2008). Bu rapor bu konuya ilişkin mevcut ekolojik, kimyasal, metodolojik, toksikolojik ve epidemiyolojik bilgileri özetlemekte ve fiili maruziyet senaryolarını belirlemede ve gerektiğinde mikrosistin dışındaki siyanotoksinler için ve akut ile subkronik maruziyetlerden korunmak için referans değerlerini sunmaktadır. (Funari ve Testai, 2008).

Referanslar

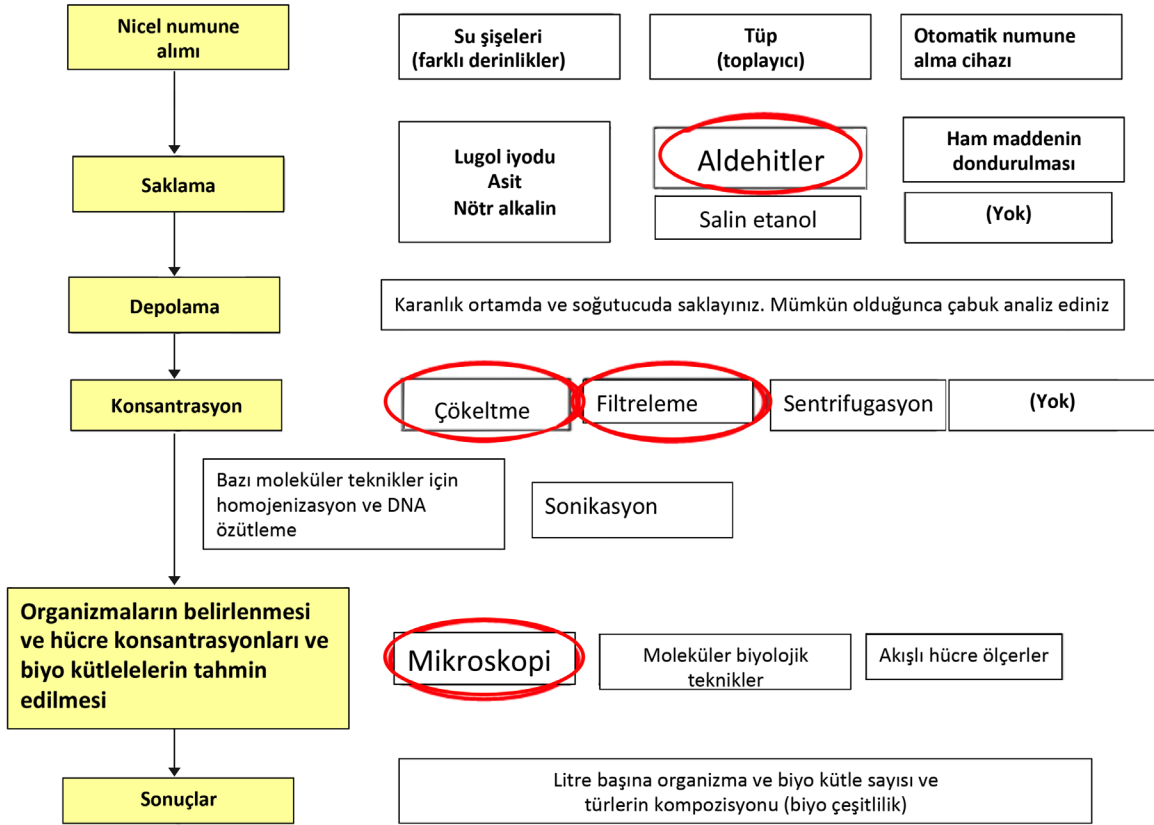
Avrupa Komisyonu. Yüzme Suyu Profilleri. En İyi Uygulamalar ve Rehber. Aralık 2009. Doküman pdf olarak şu linkte mevcuttur: http://ec.europa.eu/environment/water/water-bathing/index_en.html
Funari E, Scardala S, Testai E (Ed.). Potansiyel olarak toksik olan siyanobakteriler: ekolojik, metodolojik konular ve risk değerlendirmesi. Roma: Yüksek Sağlık Kurumu; 2008. (Rapporti ISTISAN 08/6).

Funari E. ve E. Testai (2008). Siyanotoksin maruziyetine bağlı insan sağlığı risk değerlendirmesi. Toksikoloji hakkında eleştirel yazı. 38 (2): 97-125

Rekreasyonel Su Ortamları hakkında Dünya Sağlık Örgütü Rehberleri Cilt 1. Kıyı suları ve tatlı sular. Cenevre: Dünya Sağlık Örgütü; 2003.

MİKROSKOPİ

Maura Manganeli



Bu şemada numune alma anından sonuçların analizine kadar olan birçok aşama özetlenmektedir. Bu bölüm mikroskopi hakkında olduğu için, bu tekniğe yönelik aşamalar (kırmızı ile çerçevelenmiş) aşağıdaki bölümde anlatılacaktır.

Siyanobakterilerin mikroskopik analizleri için numune en iyi formaldehit ile sabitlenir çünkü bu epifloresans mikroskopunda numuneyi görme olanağını sunar. Tanımlanacak olan iki konsantrasyon metodu Sedimentasyon (çökeltme) ve filtrelemedir. Mikroskopi ve niceliksel bir metot için santrifüfleme hücreleri böldüğü için uygun değildir.

Siyanobakteri popülasyonunu izlemek için numune alımında, siyanobakterilerin öfotik alanda bile dağılabileceklerini bilmek önemlidir (slyatta B ve E), ancak bunun yanı sıra farklı derinliklerde de birikebilirler:

A= yüzey, yoğun patlama halinde pislik/köpük olarak ortaya çıkabilir; C=ötrofik bölgede spesifik derinlik; D= metalimnik patlama.

7.1. Yüzeyden Numune Alımı:

- İlk ~5-10cm derinlikten numune alımı
- Doğrudan numune alma şişesi ile şişenin ağzı kapalıyken şişeyi daldırarak ve şişeyi doğru derinlikte açarak numune alımı. Şişe tamamen doldurulur ve daha sonra dışarıya çıkarılır.
- Laboratuarda numune hazırlanmadan önce numunenin homojenizasyonunu kolaylaştırmak için Şişeden küçük bir hacim (~ 20%) dökülür.
- Şişe hızlı bir şekilde kapatılır ve ağzı iyice sıkılır.
- Çalışanların her zaman bireysel koruyucu **ekipmanlar; eldivenler, maskeler, botlar giymesi gerekmektedir: Numune alımının botla yapılması halinde, kişiler doğru davranış hakkında bilgilendirilmeli ve eğitilmelilerdir.**

7.2. Su Kolonundan Numune Alımı:

Su havzalarından iki farklı tipte numune alınabilir. En basiti seçilmiş bir konum, derinlik ve zamanda belirli bir su hacminin alınmasıdır.

Buna karşın, kompozit (birleşik) veya entegre olmuş numuneler ise su kütlesinin farklı bölümlerinden alınan birçok alt numuneden oluşur. Bunlar su kütlesinin temsili numuneleri olmayı hedefler (Chorus & Bartran, 1999).

Kompozit – entegre numune

Doğru derinlikte kapatılmış olan boru şeklindeki bir cihaz ile alınabilir. Aynı zamanda belirli bir derinlikte (yaklaşım 10 cm) ve numunelerin birlikte karıştırılması ile birçok farklı numunelerin çok yakın mesafelerde (her bir numune arasında 1 m derinlik gibi) toplanması ile alınabilir.

Bu bir su kütlesindeki organizma popülasyonunu değerlendirmek için kullanışlıdır. Özellikle, değerlendirilecek değişkenler eşit olmayan bir şekilde dağıldığında önemlidir ancak bu aynı zamanda, belirli derinliklerdeki konsantrasyonların eksik değerlendirilebileceği anlamına da gelir (aynı hücre sayısı için daha yüksek su hacmi).

Aralıklı derinlikler

Aralıklı derinliklerdeki numuneler genellikle, spesifik bir derinlikte kapatılabilen Niskin şişesi (dikey) veya Van Dorn şişesi (yatay) gibi özel şişeler kullanılarak alınır. Bunlar, spesifik alanlardaki durumların analizi için uygundur (örn. maksimum siyanobakteri yoğunluğu veya yüzme sahilinde siyanotoksinler) ancak ilk olarak su kolonunun koşullarının taranmasına ihtiyacınız vardır (termoklin veya maksimum klorofil a'ya bakılır).

Niteliksel

fito topluluğunun kompozisyonunu görmek için ilk tarama olarak, aynı zamanda farklı mevsimlerde patlayabilen toksik siyanobakterilerin mevcudiyetine ilişkin verileri elde etmek için sürekli bir şekilde su kolonu boyunca numune alımı için fitoplankton ağı kullanılabilir (20 µm). Ağ bottan yayılır ve güver-teye çekilirken numuneyi şişe içerisinde ağın dibinde konsantre eder.

7.3. Köpük Numunesi Alımı

Numune alım hedefine göre, yüzme suyundaki riskin bilinmesi veya patlamalar hakkında ekolojik bilgilere sahip olmak için 2 farklı prosedür vardır.

Yüzme suyu riski

Rekreasyonel ve yüzme faaliyetleri sırasında suyun gerçek koşullarını oluşturmak için uygundur dolayısıyla yüzey köpüğü numune alımından önce altta yatan su ile karıştırılmalıdır; ardından yüzey numunesi alım prosedürü takip edilir.

Ekolojik amaçlar

Yüzey ile köpük bozulmadan/karıştırılmadan geniş bir şişe kullanılarak belirli bir köpük hacmi ve altta yatan su alınması için belirli bir düzeyde numune alınır. Yoğunluğun maksimum olduğu yerde (köpüğün kalın olduğu yerde) veya orta yoğunlukta alınabilir, alanda birçok numune örneğinin toplanması ve bunların karıştırılması iyidir.

7.4. Numune Alınacak Hacim

Yapılacak ölçüm sayısına göre (nütrientler, hücre yoğunluğu, siyanotoksin analizleri, vsr. gibi belirlenecek parametre sayısına bağlı olarak) farklı hacimlerin toplanması gereklidir. Aynı su hacminden tüm parametrelerin ölçülmesine çalışılması için, **aynı zamanda** ve kesin olarak **aynı numune alım noktasından** numune alım prosedürünün tekrar edilmesi önemlidir.

Orijinal protokole kıyasla her türlü değişiklik hakkında numune alım formuna bilgilerin yazılması son derece faydalıdır.

7.5. Numunenin Sabitlenmesi

Numune toplandıktan itibaren formaldehit ile sabitlenmelidir (son konsantrasyon %2-4 v/v), ve 4°C karanlıkta, hızlı bir şekilde laboratuara geri getirilmelidir. Lugol çözeltisi siyanobakterinin karakteristik renklerini maskeler, bazı türlerin tanınması için numuneyi daha zor hale getirir.

Bazı durumlarda numune eğer 2 saat içerisinde laboratuara geri gönderilebiliyorsa, numunenin laboratuara geri gönderildiği zaman sabitlenmesi mümkündür.

Numune eğer hızlı bir şekilde analiz edilmeyecekse, 4°C karanlıkta depolanabilir. Mikroskop sayımı için, numunenin uzun bir süre boyunca depolanmış olarak tutulmaması daha iyidir.

7.6. Numunenin Hazırlanması 1: Sedimentasyon / Çökeltme

Numuneler öncelikle fitoplanktonların nitel/nicel analizi için geliştirilmiş olan Utermöhl metodu (1958) ile analiz edilebilirler. Metot son derece detaylı analizlere imkan verir ve yüksek kalite mercekle ile çözünürlük çok iyi olabilir. Dezavantajı ise bu metodun çok fazla zaman alıcı olmasıdır. Numuneye parlak, karanlık alanda ve phazcontrast bakmak için çökeltme hazneleri ters mikroskop ile kullanılır. Hazneler bir alt plaka, değiştirilebilir kaygan örtü ile ve tepesinde numuneyi içeren dikey bir silindirden oluşur. Silindir 2, 10, 25, 50ml gibi farklı hacimlerden olabilir ve hacim sayılacak olan birimin yoğunluğuna göre seçilir (siyanobakteri, fitoplankton, zooplankton...). Hacimin büyümesi partiküllerin dibe çökme süresini uzatmaktadır; bu teknik , Lugol çözeltisi ile sabitlenmiş olan fitoplanktonlar için oluşturulduğundan genellikle kolonun santimetresi başına 3-4 saatin yeterli olduğu düşünülmektedir.. Formaldehit ile sabitlenmiş numuneler daha uzun zaman alır ve bazen 48 saate ihtiyaç olabilir. Çökeltme oda sıcaklığında ve doğrudan güneş ışığından uzakta yapılmalıdır.

Çökeltmeden sonra, küçük bir numune hacmi kullanılmışsa, tüm cihaz ters mikroskoba yerleştirilebilir, aksi taktide, çökeltme haznesinin silindiri tabandaki plakadan nazikçe kaydırılır ve bir kapak cam ile yer değiştirilir. Bu aşamada hava baloncuklarının içeri girtilmemesine, mikroskop üzerinde aktarım sırasında alt plaka üzerinde hücrelerin dağılımını değiştirmemeye dikkat edilmelidir. Alt plaka ters mikroskoba yerleştirilir. Numune parlak ışıkta, karanlık alanda, faz ve diferansiyel karışma zıtlığında farklı filtreler ile gözlemlenebilir.

7.7. Numune Hazırlanması 2: Filtreleme – Tek Hücreli Pikosiyanobakteriler

Farklı gözenek boyutlu, polikarbonat membran filtreler üzerinde 0.2 ile 5µm arasında sayılacak türlere göre filtreleme, hücreleri konsantre etme için faydalı bir metottur. Bu aynı zamanda nispeten daha az zaman alıcıdır çünkü ayrıntılı çökeltme zamanlarına dayanmaz. Tek hücreli siyanobakterilerin görselleştirilmesi ve sayımı için kesinlikle çok daha iyidir. Bu metot için şunlar gereklidir: klorofil a için filtre ile epifloresanlı dikey mikroskop ve 10x ila 40x büyültmeli mercek, vakum filtrasyon birimi, manüel veya elektrikli vakum pompası, slaytlar, örtme camı, mikroskopyağı. Numunenin boyanmasına gerek yoktur çünkü CB klorofil a için filtre ile epifloresanda görülebilir. Tek hücreli CBler için kullanılan 0.2µm'lık polikarbonat filtreler 5µm filamentli CBleri saymak için kullanılabilir. Numunenin konsantrasyonu için daha geniş bir su hacminin filtrelenmesi gerekirse, daha geniş bir gözenek boyutu faydalı olacaktır. Filtrasyon birimi, taban/destek filtresinin kauçuk bir tıkaç ile yerleştirildiği çoklu filtrasyon için vakum pompasına bağlanabilecek olan vakum şişesi veya çok gözlü borudan oluşur. Filtre tabana yerleştirilir ve filtre üzerine bir kelepçe ile "baca" sıkıştırılır. Numune bacaya dökülür; filtrasyon hücrelerin bozulmaması için son derece nazikçe yapılmalıdır. Pompa halen açıkken numune filtrelendikten sonra, baca uzaklaştırılır ve filtre nazik bir şekilde kurutulmak için filtre kâğıdı üzerine konur, ardından da slayt üzerindeki bir damla optik yağın(immersiyon yağı) (önceden alkolle temizlenmiş olan) üzerine yerleştirilir. Son olarak yağ ile ıslatılmış filtre üzerine kapatıcı slayt yerleştirilir. Slayt mikroskopta görülmeye hazırdır.

7.8. Sayım Prosedürü

Sayılacak olan birimler, düzenli bir biçime (geometrik biçimler ile kıyaslanabilecek olan bir biçime) veya sayılabilir hücre sayısına sahipse, hücreler, tek iplikçiler, tek hücreli koloniler olabilir.

Birimin **tek bir iplikçi veya tek hücreli bir koloni** olması halinde, iplikçi/koloni sayısının hesaplama-sından sonra, ortalama hücre sayısı x iplikçilerin veya kolonilerin sayısının (en az 30 iplikçi üzerinden belirlenir) belirlenmesi gerekmektedir.

Birimin çoklu **iplikçi veya büyük tek hücreli koloniler, veya düzensiz** şekilli olması halinde, numune-ye ön işlem uygulanması ve kolonilerin ayrılması gerekmektedir. Mevcut birçok metot bulunmaktadır, ancak bunların sayılacak türler üzerinden kalibre edilmesi gerekmektedir (seyreltme; sonikasyon (se-lenleme); triton-x %1 ile sonikasyon; 80 – 90°C'de 15dk. alkali hidrolizi).

Hücreli alanlar (hem çökeltme haznesinin tabanı hem de slayt üzerindeki filtre) birçok mikroskopik alan ile sayılarak enlemesine kesit ile ya da rastgele sayılabilir. Hatayı azaltmak için, sayılacak birimin minimum sayısı 300 -400'dür (iyi bir örnek alan başına 15-20 hücre arasındaki numunedir). Filtrelenmiş hacimi, sayılmış bölgenin alanını ve sayma haznesi/filtre alanını göz önünde bulunduran çevrim faktörü kullanılarak birim litre başına hücre sayısı hesaplanır.

$$Cells L^{-1} = N * \left(\frac{A_t}{A_c} \right) * \frac{1000}{V}$$

$$Cells mL^{-1} = N * \left(\frac{A_t}{A_c} \right) * \frac{1}{V}$$

V: sayma haznesinin hacmi (mL) veya filtrelenmiş numune

At: sayım haznesinin toplam alanı (mm²) veya filtrenin toplam alanı (numunenin üzerinde filtrelendiği alanı sınırlayan bacanın iç çapı)

Ac: sayma haznesinin sayılmış alanı (mm²) veya filtrenin sayılmış alanı (büyütmeye bağlı olan)

N: sayılmış spesifik türlerin birimlerinin sayısı

7.9. Morfolojik Analiz ve Sayım İçin Referanslar (Kitaplar ve Web Siteleri)

Sucul siyanobakteriler üzerine el kitabı. Toksikolojileri üzerine resimli rehber ve özet. Gertrud Cronberg ve Heléne Annadotter tarafından. 2006. UNESCO'nun ISSHA ve IOC'u Kopenhag. Sf 106. <http://www.issaha.org/Welcome-to-ISSHA/Web-shop/Manual-on-aquatic-cyanobacteria2>

Sudaki toksik siyanobakteriler: Bunların insan sağlığı üzerine etkilerine, izleme ve yönetimine ilişkin rehber. Ingrid Chorus ve Jamie Bartram tarafından düzenlenmiştir Dünya Sağlık Örgütü 1999. Tek bir bölüm olarak aşağıdaki web sitesinden indirilebilir: http://www.who.int/water_sanitation_health/resources/toxiccyanbact/en/

Komárek J. & Hauer T. (2010): CyanoDB.cz – Siyanobakteri türleri üzerine on-line veri tabanı. – Elektronik yayın, Güney Bohemya Üniversitesi & Botanik Enstitüsü AS CR, <http://www.cyanodb.cz> Taksonomi ve güncellenmiş terimlendirme için temel bir referans.

<http://galerie.sinicearasy.cz/galerie/cyanobacteria/> Fotoğraf galerisi.

<http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/index.html> Birçok resim ve link. Toksik siyanobakteri linkini kullanmayınız.

İMMÜNOASSAY (BAĞIŞIKLIK DENEYLERİ)

Maura Manganelli – Mara Stefanelli

8.1. Giriş

Farklı siyanotoksin sınıfları için (CTX) biyolojik-biyokimyasal veya immünolojik deneylere dayalı tarama metotlarından, birçok saptama araçlarına göre kromatografik ayırım ile birleştirilmiş daha sofistike metotlara kadar birçok saptama metodu mevcuttur. Bahsedilen metotlardan sonuncuları E.Testai tarafından özel bir bölümde anlatılacaktır.

Burada ilk olarak belirtilen metotların ilkesi ve CTX konsantrasyonunun değerlendirilmesinde son derece önemli bir aşama olarak numunelerin saklanmasına ilişkin kimi bilgiler daha detaylı olarak verilecektir.

Tüm toksin sınıfları oda sıcaklığında, ışıkta, değişikliğe ve/veya bozulmaya uğrayabilir:

- MC (Mikrosistinler), NOD (Nodularinler) ve CYL (Slendrospermopsinler) ışıkta özellikle hücre çöküntüleri olan numunelerde çürüyebilirler,
- Anatoksin-a ve omoanatoksin ışıkta hızlı bir şekilde çürürler (1 -2 saatte)
- Tatlı sularda saksitoksinler 90 güne kadar dayanabilirler ve bunların bakteriyel bozulmaya dirençli olduğu görülmektedir, ancak ortam sıcaklığında T toksinler farklı kimyasal formlarda değişime uğrayabilirler
- Soğuk hava sıcaklığı (4°C) genellikle siyanotoksinlerin bakteriyel bozulmasını yavaşlatır
- Saksitoksinler: numuneyi dondurmak, hücrelerin çözünmesi için kullanılan bir işlemdir, kimyasal değişiklikleri kolaylaştırır.

Bu nedenle genel olarak iyi depolama koşulu **karanlıkta, 4°C'dir.**

Diğer bir kritik aşama ise hem CTX'i emebilecek hem de bazı analizlerle karışabilecek maddeleri salabilecek olan kabın materyalidir.

Örneğin slindrospermopsin (CYL) polietilen tarafından kuvvetle emilirken, mikrosistinler (MC) PVC tarafından emilir. Ayrıca, kimi plastikler ışığı 238nm'de absorbe eden (emen) katkı maddeleri salabilir ve böylelikle UV detektörü ile karışabilir. CTX numuneleri için en iyi kap **koyu renkli cam şişelerdir.**

8.2. CTX Saptaması İçin Biyolojik Metotlar

Biyolojik (in vivo deneyler: FareBiyDeneyi, Dafniya) **Biyokimyasal** (MC için fosfataz inhibiston deneyi, anatoksin-a için asetilkolinesteraz inhibisyon deneyi, anatoksin-a reseptör tutucu deneyi) **İmmünoenzimatik** (Immuno emiciye bağlı enzim deneyi) metotlar kromatografik olanlardan daha hızlıdır ve çevresel numunelerin hızlı taranması için son derece faydalıdır.

Bunlar:

- *Niteliksel ve/veya yarı niceliksel*
- *Hassasiyet aralığı metotlara göre değişmektedir*
- *Hızlı cevap*
- *Analitik standartlar için ihtiyaç yoktur*
- *Farklı konjener ayırımı yoktur*

Biyolojik metotlar: in vivo (yaşayan organizmada) deneyler

Numuneyi hem omurgalı (örn. Fare BiyoDeneyi, MBA) hem de omurgasız (örn. Dafniya veya *Artemia salina*) laboratuvar hayvanları üzerinde test ederler ve herhangi bir bilinmeyen numunenin toksisitesi üzerine bilgi verirler; spesifik semptomların mevcudiyetinde en azından MBA ile toksin türünün belirlenmesi mümkündür.

MBA fareye intraperitoneal enjeksiyon yoluyla homojenleştirilmiş numune özütünün (örn. balık dokusu ya da su) uygulanmasından oluşur.

Gözlem süresi boyunca (60 dk. ila 24 saat arasında değişmektedir) ölüm vakası veya zehirlenmeye yönelik net bir işaret gözlemlenmemişse, numune negatif olarak değerlendirilir. Temel pozitif noktalar ise şunlardır:

- Tarama için son derece faydalıdır, çünkü tüm toksinlere karşı duyarlıdır
- Nispeten hızlı ve ucuzdur
- Uygulaması kolaydır

Ancak bazı olumsuz noktaları da bulunmaktadır:

- Düşük hassasiyet (örn. MC'ler için balık dokusunda LOD ~300mg MC/kg doku)
- Birçok hayvanın kullanılmasındaki etik sorunlar
- Yalnızca var/yok olarak cevap vermektedir
- Gözlem süresi kısa olduğundan gecikmiş etkiler görülemez (örn. CYL etkileri)
- Uygulama yolu (intraperitoneal) gerçek insan maruziyetini temsil etmemektedir.

Omurgasızlar hakkında metot aynı ilke üzerine dayanmaktadır; bu durumda deniz suyu için *Dafniya* veya *Artemia*, kendi kültür ortamında numunenin artan çözeltisine maruzdur ve aralık süresi genel olarak 18-24 saattir. Toksikite ise bireylerin %50'sinin Lethal konsantrasyonu (LC50) olarak ifade edilmektedir. MBA'dan çok daha kolaydır, nispeten ucuz ve uygulaması kolaydır, akut toksisite 24-48 saatte değerlendirilebilmektedir. Ayrıca MBA'ya kıyasla etik sorunlar ortaya koymaz. Ancak MBA için ifade edilenlerde olduğu gibi, düşük hassasiyet (örn. MCler için LC50=5-10mg/L) türü kimi negatif noktaları da vardır ve belirsizdir. Buna ek olarak, omurgasızların farklı bileşenlere memelilerden farklı olarak cevap vermesi mümkündür, böylelikle test sonuçlarının memelilere göre tahmin edilmesi ve gerçek riskin değerlendirilmesi oldukça zordur.

8.3. Biyokimyasal Metot: Fosfataz İnhibisyon Deneyi (Ppi)

Bu metot spesifik toksinlerin eylem mekanizması üzerine kuruludur. MC ve Nodularin (NOD) 2 protein fosfataz grubu (serin/teronin) PP1 ve PP2A'nın güçlü inhibitörüdürler. Enzimatik faaliyetin inhibisyon (önlenme) düzeyinin ölçülmesi ile bu toksinlerin mevcudiyetinin saptanması ve bunun ölçülmesi mümkündür. Aslında, inhibisyon düzeyi konsantrasyona bağlıdır. Test hassas, hızlı, kolay ve göreceli olarak ucuzdur. Her ne kadar PP2A, PP1'e kıyasla 50 kat daha hassas olsa da hem PP1 hem de PP2A için kullanılabilir (Honkanen ve diğerleri, 1994). Miktar belirleme 3 farklı özüt üzerinden gerçekleştirilebilir: p-nitrofenil-fosfat (kolorimetrik yani renk ölçümsel metot, hassasiyet düzeyi 0.24-2.5µg/L, Heresztyn & Nicholson, 2001); 4 metil-umbeliferil-fosfat (florimetrik metot, 0.1µg/L'ye kadar daha hassastır, Bouaicha ve diğerleri, 2002); 32P (radyometrik metot, florimetrik metot kadar hassastır, MacKintosh ve diğerleri, 1990; Xu ve diğerleri, 2000).

Bu metotların belirgin avantajları şunlardır:

- Yüksek hassasiyet (MUF-P ve 32P: LOD ≤ 0,1mg/L MCs)
- Numunelerin konsantre edilmesine gerek yoktur
- Nispeten ucuzdur
- Sonuç, numune içerisinde tüm MC değişkenlerinin toksisitelerinin özeti

Dezavantajları ise şunlardır:

- Yalnızca heptotoksinler içindir
- MC değişkenleri arasında ayırım yoktur
- Tüm laboratuvarlar radyoaktif bileşenleri kullanamazlar (diğer alt katmanlar)

Anatoksin-a için asetilkolinesteraz inhibisyon deneyi

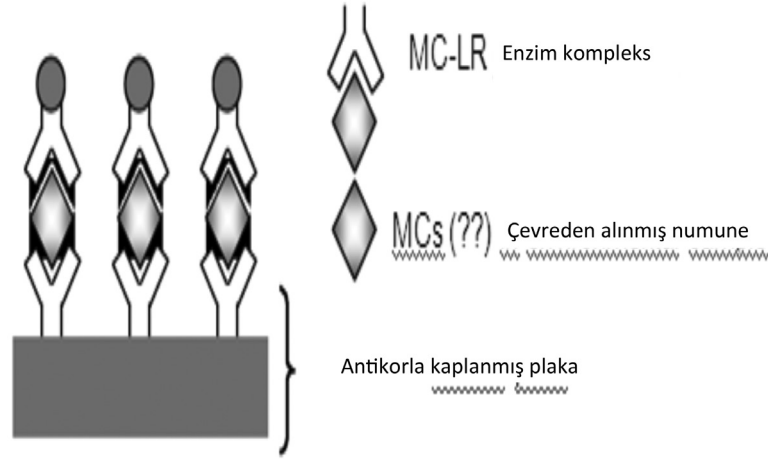
PPI için aynı prensip vardır ancak organofosforik bileşenler (pestisitler) doğada sıklıkla bulunmakla birlikte test ile kuvvetli bir şekilde karıştıkları için doğal numunelerde güçlü sınırlamalar vardır

İmmünoenzimatik metotlar: Enzime bağlı bağışıklık deneyi (ELISA)

Toksin ile çoklu çukurların bulunduğu plakalarda (kimi CTX'e karşı sentezlenmiş) monoklonal ve poliklonal antikorların reaksiyonlarına dayalıdır. 2 türden test bulunmaktadır 1) doğrudan rekabet testi ve 2) toksin ile antijen-enzim kompleksi arasındaki dolaylı rekabet testi.

Numunedeki toplam toksini ölçmek için (hücre içi (intra) ve hücre dışı (ekstrasellular), hücre en az 2 kez donma- çözülme ile parçalanır; daha sonra numune filtrelenir.

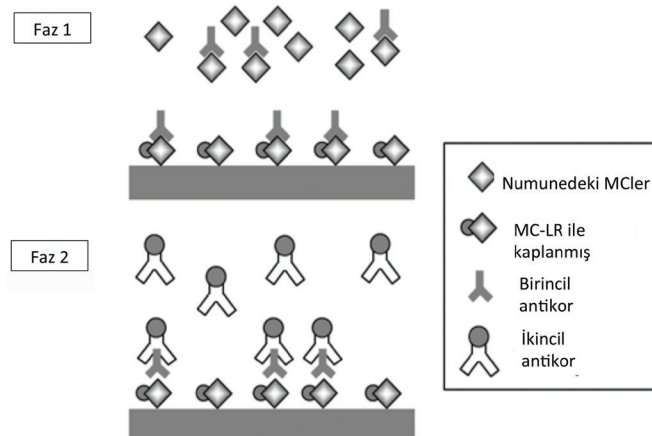
- Doğrudan rekabet testi



Doğrudan rekabet testinde, her bir çukurun dibi belirli bir miktardaki antikor ile kaplanır; numune ve toksin-enzim (peroksidaz) kompleksini içeren solüsyon, çukurlarda mevcut bulunan antikor ile reaksiyona girmek için rekabete girerler. Belirli bir süreden sonra, plaka yıkanır ve enzimin kromojenik substratı çukurlara eklenir: daha az CTX konsantrasyonuna sahip çukurlar daha fazla enzim-kompleksinin antikor ile reaksiyona girmesine imkan verirler bu nedenle, rengin yoğunluğu toksin konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

Miktar tayini, numune absorbansının, semilog ölçekte MC-LR konsantrasyonuna karşı % standardın absorbansı /negatif kontrol (%B₀) olarak hesaplanan bir standart eğri ile kıyaslanmasıyla yapılır (bkz. aşağı).

- Dolaylı rekabet testi



Testte, çukurların dibi MC-LR ile kaplanmıştır. İki farklı tepkime vardır:

1. Numunedeki toksin ve kaplanmış olan MC-LR, numune ile çukura konmuş olan primer antikor ile rekabete girer. Belirli bir süre sonra, çukurlar yıkanır.
2. İkincil antikor (bir enzime bağlı olan) kaplanmış olan kompleks primer antikor-MC-LR ile reaksiyona girer. Fazla olan reaktifler yıkanır ve doğrudan rekabet deneyinde olduğu gibi kromojenik bir substrat eklenir. Toksin konsantrasyonu çukurlarda oluşan renk ile ters orantılıdır.

Bu metot doğrudan olana kıyasla genellikle daha hassastır, ancak testin seçimi analiz amacına bağlıdır.

MC konsantrasyonu hesaplama örneği
Standart hesaplama

Standart Konsantrasyon	İki Tekrarlama Kuyusunun Absorbansı		Ortalama OD	Değişken Katsayısı
ppb (calibr)	OD (450 nm)	OD (450 nm)	Mean OD (450 nm)	%CV
0	1,23	1,21	1,22	1,39
0,16	0,97	0,96	0,96	0,22
0,6	0,62	0,64	0,63	2,24
2,5	0,24	0,21	0,23	8,68

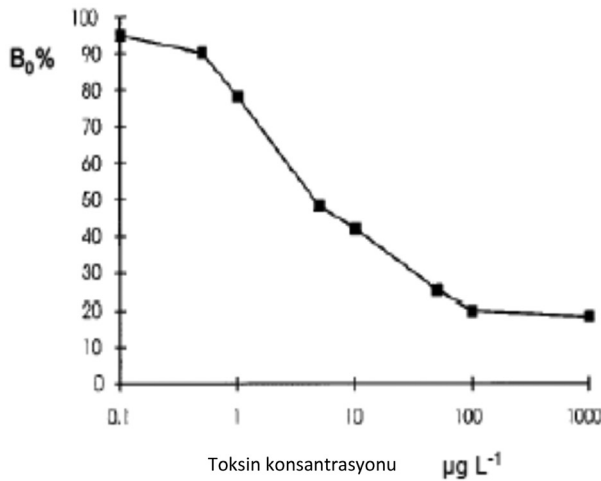
Standart
Negatif kontrol

% CV < 15%

MC-LR'siz solüsyon

ppb (calibr)	OD (450 nm)	%Bo *
0	1,22	100
0,16	0,96	79,06
0,6	0,63	51,64
2,5	0,23	18,69

* %Bo: % standart absorbans vs negatif kontrolün absorbans değeri



Absorbansı yalnızca eğrinin lineer bölümünde olan numunelerin dikkate alınması son derece önemlidir.

Numune konsantrasyonu

Standart denklem

$$y=21,98\ln(x)+39,341$$

$$\ln(x)=(39,341-y)/21,976$$

Numune	Absorbans			Y	
	OD (450 nm)	OD (450 nm)	Ortalama OD (450 nm)	%Bo	%Cv
1	1,139	1,166	1,15	94,47	1,66
2	0,473	0,400	0,44	35,78	11,83
MYC 1450/16	0,054	0,048	0,05	4,18	4,54
MYC 1450/6	0,048	0,051	0,05	4,06	8,32
PLANK 1460/10	0,053	0,051	0,05	4,26	4,292,72
PLANK 1460/3	0,048	0,054	0,05	4,18	

Numune konsantrasyonu	Hesaplama		X		
	Ln(x)	ug/1			
1	-2,51	0,081	<0,15	negatif	
2	0,16	1,176	OK		
MYC 1450/16	1,60	4,953	>2,5	Pozitif ancak	
MYC 1450/6	1,61	4,981	>2,5	çok yüksek;	
PLANK 1460/10	1,60	4,934	>2,5	seyreltilecek	
PLANK 1460/3	1,60	4,953	>2,5		

Mikrosistiner ve Noduların

Bu iki toksin sınıfı için birçok pozitif hususlar bulunmaktadır:

- Piyasada farklı kitler mevcuttur (su, hayvan dokuları, vs. olarak farklı matrisler için) (LOQ: 0.1-5 ug/L)
- Numunenin önceden konsantre edilmesine/ön işleme tabi tutulmasına gerek yoktur
- MC değişkenlerinin ayrılması yoktur, TOT MC/NOD saptaması
- İyi hassasiyet

Antikorlar yalnızca tek bir türe (MC-LR) karşı üretildikleri için, diğer türdeşlerin veya NOD'un cevabı farklı olabilir; aynı zamanda parental moleküller ve konjugatlar ile yüksek çapraz-reaksiyon olabilir.

- Çapraz-reaksiyonlar (türdeşler ve bozulma ürünleri, ADDA, konjugatları): **OLDUĞUNDAN FAZLA TAHMİN**
- Yeni poliklonal ve monoklonal antikorların üretilmesi için çalışmalar (rutin faaliyet için maliyetlidir)

Saksitoksinler

- Saksitoksin ve neosaksitoksinlerin kitleri piyasada mevcuttur (LOQ:0,02-0,4 ug/L)
- Numuneye ön konsantrasyon / ve ön işlem uygulanmasına ihtiyaç yoktur
- Su, midyeler, vsr. gibi çevresel numunelerin farklı matrisleri için aynı KIT
- İyi hassasiyet ancak sınırlı çapraz reaktivite: diğer epimerler ile az SXT çapraz reaktivite için spesifik: **AZ DEĞERLENDİRME**

Slindrospermopsin

- Piyasada az kit mevcuttur (LOQ: 0,05-2 ug/L)
- Farklı matrisler için aynı KIT: su, balık dokusu ve plazma
- Numuneye ön konsantrasyon / ön işlem uygulanmasına gerek yoktur
- Değişkenliği üzerine literatürde halen az bilgi vardır

ELISA metodu yarı-niteliksel metot olarak değerlendirilebilir. Oldukça hassas olduğu için ve numune-ye herhangi bir n konsantrasyon yapılmasına gerek olmadığı için numunenin ilk hızlı taraması için son derece iyi bir metottur. Son derece hızlı bir şekilde ve son derece az bir hacimde bir kerede yüksek sayıda numunenin taranması için de iyidir. Ancak, toksinlerin mevcudiyeti belirlendikten sonra, daha detaylı analizin yapılmasına ihtiyaç vardır.

SIYANOTOKSİN SAPTAMASI İÇİN ANALİTİK KİMYA METOTLARI

Emanuela Testai

İtalya Ulusal Sağlık Enstitüsü- Çevre ve Birincil Önleme Departmanı – Roma (İtalya)

(emanuela.testai@iss.it)

9.1. Giriş

Herhangi bir analit saptanmasının doğruluğu ve kesinliği yalnızca doğru bir yardımcı analiz değil bütün bir analitik sürecin tamamının sonucudur, bu nedenle suda veya diğer herhangi bir matris içerisinde siyanotoksinlerin analizi bakımından numune alıma, depolama, numunenin hazırlanması ve analizinin eşit düzeyde önemi vardır.

Başlangıç noktası, izleme faaliyetlerinin amacına ve kontrol edilecek parametrelerin sayısına sıkı sıkıya bağlı numune alım planının tanımlanmasıdır.

Ancak bununla birlikte farklı parametrelerin (hücre yoğunluğu, siyanotoksin konsantrasyonu, nutrientler, vsr.) ölçülmesi gerektiği zaman, numune alımı aynı zamanda, aynı yerde yapılmalıdır. Buna ek olarak, gerçek maruziyet senaryosunu temsil edebilecek numunelere sahip olmak gerekmektedir: örn. Pis köpük mevcudiyetinde yüzme/rekreasyonel faaliyete bağlı riskin değerlendirilmesi için, numune alımından önce, yüzücülerin ve/veya oynayan çocukların maruziyetinin benzerinin yapılması (simüle edilmesi) bakımından köpük ile su katmanının karıştırılması daha iyi olacaktır. Numune alım prosedürüne ilişkin detaylar, morfolojik analize ilişkin bölümde verilmiş olup, burada yalnızca bazı ilgili detaylar rapor edilecektir.

Numuneler bir kez toplandıktan sonra, karanlıkta 40C'de tercihen cam şişelerde depolanmalıdır. Çünkü:

- Siyanotoksinlerin çoğu özellikle bakteri veya hücre kalıntılarının mevcudiyetinde ışıpta bozulur.
- Düşük sıcaklıklar genellikle bozulma süreçlerini yavaşlatır (abiyotik ve/veya biyotik, örn. diğer bakterilerden ötürü).
- UV detektörü ile MC analizi için numune alımı yapılırken ve analizden önce numuneler depolanırken yüzeye tutunmasına (adsorpsiyon) bağlı toksinlerin kaybını ve UV bölgesindeki (238nm) emilim zirvesi ile bazı plastik katkılarla birlikte-elüsyonu önlemek için cam veya borosilikat şişelerin kullanılması tercih edilir.
- Slindropermopsin polietilene kuvvetli bir şekilde tutunur (adsorbe olur) bu nedenle, bu türden şişelerden numune alımı ve depolanması sırasında kaçınılmalıdır.

Siyanotoksinlerin kararlılığı genellikle pH'a bağlı olduğu için, pH ölçümü yararlı olabilir. Aşağıdaki liste detaylı olmamakla birlikte bazı örnekleri sunulmaktadır:

- Alkali pH'da anatoksin-a molekülü içerisindeki mono-metilfosfat grubu hidroksil grubu ile yer değiştirilir.
- Alkali pH'da (homo) anatoksin-a hızla bozulur.
- Slindropermopsin birkaç hafta boyunca 4 ila 10 arasındaki pH'da karanlıktaki suda sabittir(-kararlı haldedir).
- Mikrosistinlerin kararlılığı büyük ölçüde pH tarafından etkilenmez.

Numune hazırlanması spesifik toksinlerin belirli bir yerde yoğunluğunu dikkate almalıdır. Aslında siyanotoksinler hem toksinin yapısına hem de büyüme aşamasına bağlı olarak hem siyanobakteriyel hücreler içerisinde hem de çözünmüş suda yoğunlaşabilir (Chorus ve Bartram, 1999; van Apeldoorn ve diğerleri, 2007). Hücre içi ve çözünmüş siyanotoksin düzeyinin toplamı genellikle risk değerlendirmesinde dikkate alınacak en uygun maruziyet endeksidir; bununla birlikte, bazı durumlarda, parçacıklı ve çözünmüş biçimleri arasında ayırım yapmak gerekli olabilir. Örnek olarak, içme suyu amacıyla hücreleri kaldırmak için basit arıtmalar yapıldığında, çözünmüş siyanotoksin düzeyleri insan maruziyetini değerlendirmek için konuyla ilgilidir.

Hücre içi MC içeriği, muhtemelen aktif taşımadan dolayı kısmen salınan çevredeki sularda (van Apeldoorn ve diğerleri, 2007; Ibelings ve Chorus, 2007) çözünmüş olandan genellikle daha yüksektir (Rapala ve diğerleri, 1997). Bu karşın, CYN çoğunlukla hücre içinden ziyade yüksek düzeylerde çözünmüş formda bulunabilir (Rucker ve diğerleri, 2007); diğer siyanotoksinler için toplam düzeye kıyasla çözünmüş biçimin oranı hakkında sınırlı miktarda bilgi vardır ya da hiç yoktur.

Eskimenin getirdiği yıkım sonrası azalan patlamalar veya bunların algaesitlerle (bakır sülfat gibi) arıtımı, çözünmüş siyanotoksinlerin yüksek konsantrasyonları çevredeki sularda bulunabilir (van Apeldoorn ve diğerleri, 2007; Jones ve Orr, 1994). Ancak, bu yüksek düzeyler su kütleindeki kuvvetli seyreltimden, rüzgarın karıştırmasından, çökelti yüzeyine absorbe olmadan ve biyolojik bozulmadan dolayı genellikle uzun ömürlü değildir. (Funari ve Testai, 2008).

Birini toplam siyanotoksin düzeyini ölçmek üzere kullanmak için (fazla+ çözünmüş), diğerini de çıkarma yoluyla hücre için miktarı elde etmek üzere çözünmüş miktarın saptanması için bırakarak, numuneyi 2 alikvota bölmek önerilmektedir.

Toplam miktarın saptanması için siyanobakteriyel hücrelerin lizatını elde etmek gereklidir (örn. numuneyi sürekli olarak dondurarak ve çözerek veya sonikasyon uygulayarak); ardından hücre döküntülerinin (debris) uzaklaştırılması/ayrılması için numune filtrelenir / santrifüjlenir ve analiz için hazırlanır. Çözünmüş kısmın saptanması için lizis (erime) aşaması atlanmalıdır.

Numune hazırlama aşaması genellikle özütleme, konsantre etme ve saflaştırmadan oluşur, temel olarak SPE cihazları kullanılarak yürütülür.

Anatoksin-a için özütleme şunlar ile yapılır: asitlendirilmiş su, %50 MeOH, veya Tirode solüsyonu (K, Mg, Ca, Na tuzları ve destroz içeren pH 7.4 olan sulu solüsyon). pH=7'deki numune iyonik değişim kolonuna yüklenebilir ve ardından %0,2 trifloroasetik asit (TFA) içeren MeOH ile birbirinden ayrıştırılır veya alternatif olarak pH=10'daki numune C18 SPE kolonu ile yüklenir ve MeOH ile ayrıştırılır. Ardından numune HPLC-UV, HPLC-FLD kullanılarak LC.MS, MS/MS (bu durumda doğrudan enjeksiyon da yapılabilir) veya GC/MS (ancak türevlendirmeden sonra) ile analiz edilebilir.

Anatoksin-a için özütleme (1:1 v/v) 0.05N CH₃COOH: etanol karışım ile yapılır veya alternatif olarak numune kurutulabilir ve distile H₂O da tekrardan çözdürülür. Ardından analiz AChE inhibisyon testi ile yapılır, ancak standartın olmayışının miktar belirlemeyi zorlaştırdığı göz önünde bulundurulmalıdır ve organofosforlu pestisitlerin çevresel numuneleri içerisindeki muhtemel mevcudiyeti konuyla ilgili karışıklığa neden olan bir faktördür. LC/MS ve LC-MS/MS ile de analiz edilebilir.

CYN şunlar ile özütlenebilir: su veya metanol veya %5 asetik asit. Numune karbograf kolon üzerine yüklenir ve ardından MeOH veya %1 TFA içeren MeOH ile ayrıştırılır. CYN hidrofilitésinden dolayı, C18 kolonu kullanımı tavsiye edilmez. HPLC-UV, -DAD ile analiz edilebilir (ancak hassasiyeti zayıftır). Alternatif olarak numune doğrudan enjekte edilebilir ve LC-MS/MS ile de analiz edilebilir (LOQ 300 ng/L).

MC şunlarla özütlenir: su (artı sonikasyon), farklı oranlardaki su: asetik asit karışımı, saf metanol veya su: metanol karışımı. Hidrofobik MC (örn. LW veya LF) için en iyi çözücü (solvent) saf MeOH'dir ancak bu hidrofilikler için değildir (örn. RR veya LR). Tüm türleri özütlemek için en iyi uyuşma şudur: %75 MeOH. Asitleştirilmiş numune C18, kartograf ve immünoafinite kolonları ile değışkene bağlı farklı olarak yüklenebilir: C18 kullanımı hidrofobik değışkenler için tavsiye edilmez. Numune HPLC-UV, HPLC-DAD, LC-MS, MS/MS ile analiz edilebilir.

HPLC-UV, HPLC-DAD ile MC yi saptama imkanı Lambda maksimum=238 nm'de absorpsiyon pikine (emilim zirvesi) sahip olan tüm türlerde ADDA mevcudiyetinden dolayıdır. UV detektörü ile, HPLC-DAD'nin daha fazla ensek olduğu ve daha yüksek hassasiyete ulaşmaya imkan veren bu sabit Lambdayı kullanmak gereklidir. İlave absorpsiyon (emilim) kullanılabilir, örn. tritofan içeren MC için (örn. MC-LW) 222 nm'de veya tirozin içeren MC için platosu maksimum (230-240 nm).

ISO 20179:2005, ham sularda (biyokütle içeren) ve musluk suyu gibi arıtılmış sularda mikrosistinlerin belirlenmesi ve miktarlarının tayini için katı faz ekstraksiyon (SPE) metodu ve ultraviyole (UV) saptamalı yüksek performanslı sıvı kromatografisini (HPLC) kullanmaktadır. Tanımlanmış olan metot MC-RR, MC-YR ve MC-LR için onaylanmıştır. Bu aynı zamanda bu mikrosistinlerin birçok yapısal türlerinin saptanması için de uygulanmaktadır ancak piyasada mevcut standartların bulunmayışı ve birlikte elüsyondan dolayı net bir tanımlama yapılamamaktadır.

İzokratik bir metot belirli türlerin belirlenmesi için uygun olabilir; birden fazla türdeşin taranması gerekirse (çevresel numunelerde olduğu gibi) en iyi yol numuneyi bir gradyan ile ayırıştırma (organik faz hem hidrofilik hem de hidrofobik türleri kapsamak için %30-40'tan %70-80'e kadar olan değerler arasındadır). Farklı bir gradyan ayırmanın etkinliğini kuvvetle etkileyebilir, bu nedenle bilinmeyen çevresel numunelerin analizine başlanmadan önce metot dikkatle kurulmalıdır.

UV-DAD metotları ile yalnızca standartların mevcut olduğu türler saptanabilir ve miktarları belirlenebilir. Farklı türlerin açık olarak belirlenmesi LC-MS veya LC-MS/MS metotları ile yapılır (analitik standartların mevcudiyetinden bağımsız olarak). Ancak miktar belirleme yalnızca standart mevcut olduğunda mümkündür.

HPLC-DAD ve MS/MS kullanılarak MC-türdeşlerinin de saptanması mümkün olup, bu MC zehirsizleştirilmesinin (detoksikasyonunun) bir ürünüdür. Olasılık ise özellikle MC'nin balık veya hayvan dokularında saptanması gerekliliği ile ilgilidir. Aslında, ELİSA belirlemesi kullanılarak, önemsiz bir toksik Potansiyel gösteren bu ürünler, ebeveyn moleküle karşı gelişmiş antikorların çoğu ile çapraz reaksiyona girer ve bu da dokularda MC içeriğinin kayda değer ölçüde olduğundan fazla tahminine neden olur. Literatürde metotlar tanımlanmıştır; örneğin bkz. Manganelli ve diğerleri, 2010; Buratti ve diğerleri, 2011; Vichi ve diğerleri 2012, Buratti ve diğerleri, 2013.

9.2 Sonuçlar

Daha yüksek değerler genellikle HPLC ve LC-MS/MS'e kıyasla immünolojik deney (ELİSA) ile ölçülmektedir: bu fark ise, kimyasal metot ile saptanmamış ancak ELİSA kiti ile tanınan, farklı türdeşler arasında ayrılmayan yalnızca toplam MC içeriğinin yarı-miktarsal tahminini veren, MC-LR eşdeğerleri ile ifade edilen belirsiz türdeşlerin mevcudiyetine bağlıdır.

Yine de, izleme amacıyla, bilinmeyen veya beklenmeyen MC türdeşlerinin saptanması bakımından yanılmama avantajı vardır.

Tatlı su gölleri insan ve çiftlik hayvanlarının maruziyetinin olası kaynağı olduğu zaman, bütünsel bir yaklaşım göz önünde bulundurularak duruma uygun bir izleme planının oluşturulması bizim görüşümüzdür.

Rutin izleme faaliyetlerinde takibi son derece önemli olan siyanobakteriyel yoğunluk, insan sağlığının korunması için tam olarak güvenilir parametre olmayabilir. Aslında bakılırsa, toksin üreten suşlar ile tüm nüfus arasındaki oran zaman ve çevresel koşullara göre değişmektedir. Bu yüzden, potansiyel riskin değerlendirilmesi için, toksik genotip çokluğunun miktarsal tahmini, hücre sayımından daha bağlantılı olabilir. Ayrıca, bir izleme programında, hem “genel” siyanotoksin içeriğinin hem de farklı toksik potansiyel ile üretilen türdeşlerin profillerinin bir göstergesine sahip olmak için daha sofistike analitik saptama ile birlikte genel bir biyolojik metodu dahil etmek önemlidir.

SIYANOBAKTERİLER İÇİN MOLEKÜLER BİYOLOJİ METOTLARI

Emanuela Testai

İtalya Ulusal Sağlık Enstitüsü- Çevre ve Birincil Önleme Departmanı – Roma (İtalya)

(emanuela.testai@iss.it)

Siyanobakteriler/siyanotoksinlerin izlenmesi faaliyetine moleküler biyoloji metotlarının uygulanmasını anlatmadan önce aşağıdakilerin hatırlanması önemlidir:

- Aynı filum (dal) içerisinde yüksek derecede fenotipik polimorfizm vardır.
- Aynı tür içerisinde toksik ve toksik olmayan bireyler farklı göreceli oranlarda zaman içerisinde değişen şekilde eş zamanlı olarak mevcuttur.
- Toksik bireyler (siyanotoksin üretebilenler) toksik olmayanlara kıyasla (toksik olmayan patlamalarda bulunma olasılığıyla) morfolojik olarak farklı değildirlir.
- Siyanotoksinlerin üretimi, siyanobakteri popülasyonu içerisinde bireylerin genetik olarak bir araya gelmesine bağlıdır.
- Toksik ve toksik olmayan bireyler arasındaki oran zaman içerisinde değişen, dinamik bir süreçtir.

Bunlar akılda tutularak, siyanobakteri belirlemesi için geleneksel metot olan, mikroskopla inceleme yoluyla gerçekleştirilen morfolojik analizin bir çok kısıtlamalarının olduğunun anlaşılması daha kolaydır: i) hücre morfolojisinin fark edilmesinde yüksek ölçüde operatörün yeteneğine tabidir ve ii) toksik ve toksik olmayan hücreler arasında ayırım yapmaya muktedir değildir.

Moleküler biyoloji metotları, tek türlerin taksonomik belirlenmesinin yanı sıra belirlenmiş türlerin toksik potansiyellerinin tanımlanması ve miktarlarının tayininde koloni haline gelmenin ilk aşamalarında (patlamadan çok önce) siyanobakteri belirlemesine yönelik çevresel izleme programları kullanıldığında bu sınırlamaların üstesinden gelmeye yardımcı olabilir.

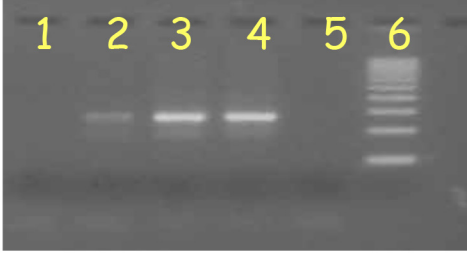
Moleküler biyoloji analizinde ilk aşama her zaman nükleik asitlerin (DNA veya RNA) ekstraksiyonudur. Siyanobakteri analizinde en çok bilinen moleküler yaklaşımlar hem niteliksel analizi (PCR, DGCE, RFLP) hem de niceliksel analizi (Gerçek Zamanlı qPCR) kapsar.

Alaşılmış kalitatif PCR metotlarını kullanarak, siyanobakterilerin moleküler karakterizasyonu, belirli di-agnostik “marker” dizinlerinin belirlenmesi suretiyle filum genus, tür, suş düzeylerinde taksonomik belirleme sağladığı gibi toksin üretimini kodlayan genlerin varlığını ortaya koyan toksik türlerin tanımlanmasına da (belirli moleküler probalar kullanılarak) olanak sağlayabilir. Probalar bir kez uygun olduğunda qPCR uygulanarak, siyanobakteriyel popülasyonun toksik potansiyelinin miktarının belirlenmesi de mümkün olacaktır.

Taksonomik analiz için referans genler genellikle filogenetik markerlardır (işaretleyicilerdir). Fikosiyanin (siyanobakterilerde mevcut bir pigment) kalıtı içerisindeki genler arası aralık yoluyla bir örnek sunulmaktadır. Bununla birlikte, marker seçerken dikkat edilmelidir: Aslında, kültürde, mutasyon seçili lokus üzerinde daha fazla uygun olmayan hale gelerek (özellikle igs.pc durumunda olduğu gibi, potansiyel olarak yüksek değişken bölgede ise) birikebilir. Bu nedenle, yüksek kararlılık ve uygunluk

ile kendini gösteren rRNA 16S geni içerisinde büyültmeyi seçmek akıllıca olacaktır. Ancak, rRNA 16S gen dizininin analizi yüksek ilişkili türleri ayırmaya yetecek kadar hassas olmayabilir. Bu nedenle, *nig*, *rpoC1*, *gyr* gibi diğer genler ek markerlar olarak seçilebilir.

Çevresel numune toplandıktan sonra, hücreler filtreler üzerinde toplanır, analizlerin hemen yapılması halinde uzun süreler için -20°C 'de depolanabilir.. Analiz yapılması gerektiğinde, hücre tekrardan askıya alınır, hücre peleti elde etmek için santrifüjlenir ve bunun üzerinden DNA özütlenir. DNA konsantrasyonunun ve saflığının ölçülmesinden sonra (numunenin daha fazla analiz için uygun olup olmadığı kontrol edilir) tür-spesifik marker büyütülmesi (örn. rDNA 16S bölgesi) PCR chazında gerçekleştirilir ve son olarak reaksiyonun ürünü şekilde gösterildiği gibi agaroz jel elektroforezi ile görselleştirilir.



Şerit 1: Planktothrix yokluğu

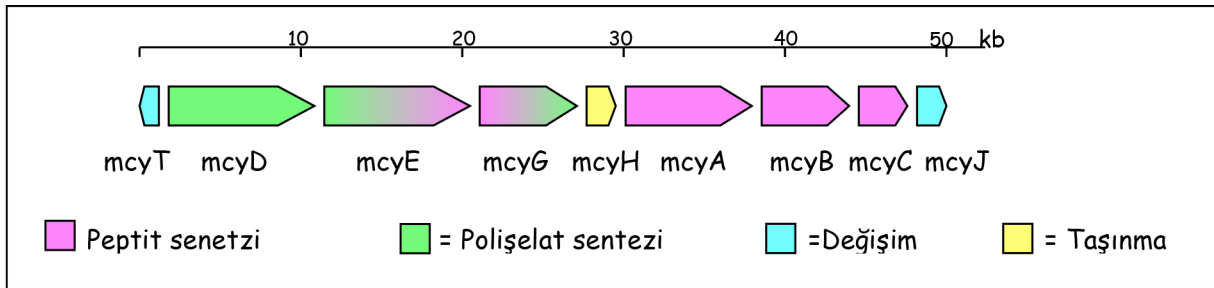
Şerit 2,3,4: Planktothrix mevcudiyeti

Şerit 5: boş

Bu sonuç, çevresel numunede siyanobakteri hücrelerinin son derece küçük miktarlarından başlayarak, seçili genin tek bir kopyasının DNA-polimeraz enzimi mevcudiyetinde katlanarak çoğaldığı (metodoloji buradan adını alır Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ve böylelikle n döngü sonrası bir kopyanın 2^n kopya olduğu örn. eğer 35 döngü uygulanıyorsa kopyaların son sayısı $2^{36} = 68$ milyar kopya olacağı PCR reaksiyonu ilkesinden ötürü mümkündür.

Mikrosistin üreten siyanobakteriler içerisinde toksik türlerin belirlenmesi, mikrosistin biyosentezi içerisinde yer alan multienzimatik bileşenler için kodlanma yapan (NRPS veya Ribosomal Peptid Sentetazı olmayan) küme halindeki belirli marker genlerin (*mcy*) mevcudiyetinin saptanması yoluyla yapılır.

Mikrosistin biyosentezi için *mcy* kümesi Mikrosistis, Nostoc, Anabaena, Nodularia gibi birçok tür için belirlenmiştir; bir örnek olarak Planktothrix türü *Mcy* kümesi 9 farklı geni içerir.



Mcy kümesi içerisinde geniş çıkarılmalar/ilave edilmeler mevcut olabilir, bunlar protein fonksiyonunu değiştirebilir; bu nedenle ve yanlış pozitif ile yanlış negatif sonuçların olmasını önlemek için, seçimde dikkat gösterilmelidir. *Planktothrix* cinslerinde *mcyB* ve *mcyE*'nin kullanılabilecek en iyi göstergeler olduğu gösterilmiştir.

aoaA, *aoaB* ve *aoaC* genleri içerisinde CYN üretiminde yer alan ve *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Anabaena bergii* ve *Aphanizomenon ovalisporum* türleri için toksisite göstergesi olarak kullanılabilen iki seri de tespit edilmiştir.

Toksik genotiplerin araştırılması ve miktarlarının belirlenmesi için miktarsal yaklaşım kullanılırsa, prosedürün ilk bölümü, DNA konsantrasyonunun saptanmasına kadar ve saflığın, niteliksel analiz için

yukarıda tarif edilmiş olana eşittir. Fark ise şudur; , özütlenmiş DNA Taq Nükleaz Deneyine girer, bu deneyde ısıyla yumuşayarak bağlanma aşamasında Taqman probu hedef dizine bağlanır ve Taq polimerazın ezonükleazik aktivitesi 5'→3 ile hidrolize olur. Her bir büyültme amplifikasyon (büyültme) döngüsünden sonra rapor edici sinyalin verilmesi hedeflenen DNA'nın saptanmasına / miktarının belirlenmesine imkan verir.

Spesifik primerlerin yanı sıra (örn. taksonomik tanımlama için rDNA 16S ve toksisite göstergesi olarak mcyB) bu durumda floresan probu da kullanılmaktadır: PCR reaksiyonu sırasında floresan salınımı (Ct) önceden mevcut olan hedef kopyaların sayısı ile sıkı sıkıya bağlıdır. Bu nedenle, bilinen konsantrasyonlar ile (hücre eş değeri olarak) seri DNA seyreltileri yoluyla elde edilen standart eğrilerle mevcut hedef genlerin kopyalarının miktarını belirlemek mümkündür.

Bu sebeple, rDNA 16S bölgesi içerisindeki selektif DNA amplifikasyonunun, popülasyon içerisindeki toplam *P. rubescens* bireylerini vermesi halinde, mcyB'nin selektif DNA amplifikasyonu yalnızca basit bir hesaplama ile toksik *P. rubescens* olanlarını verir.

N° mcyB kopyaları/n° 16S kopyaları = toksik hücre kesiti

Analiz edilmiş çevresel numuneler içerisinde toksik ile toksik olmayan hücreler arasındaki oranı temsil eder.

Bu izleme faaliyetleri sırasında faydalı olabilir çünkü merkez İtalya'daki bir gölde bulduğumuz üzere toksin üretimi zirvesinde bir değişim maksimum hücre yoğunluğu öncesinde ve/veya sonrasında olabilir (Manganelli ve diğerleri, 2010). Bu hücre yoğunluğu ile MC konsantrasyonları arasındaki değişim, kısmen toplam popülasyon içerisinde "toksik olanlar" farklı yüzdesi ile açıklanmaktadır.

Amplifikasyon reaksiyonunun ürünü elde edildikten sonra, hedef geni sıralamak mümkündür ve bu sıralama veritabanını aşağıdaki gibi kullanarak yapılır:

- BLAST (Temel Lokal Uyumlaştırma Aracı; <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) veya
- CLUSTALW (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>)

Bu program bir biri adı sıralanmıştır. Bu biyo-enformatik araçları organizmanın saptamasında ve filogenetik ilişkilerin hipotezinde son derece kullanışlıdır: aslında hedef DNA bir kez sıralandığında, sıralamayı veri tabanında olanlar ile kıyaslamak mümkündür ve "en iyi uyum" araştırılabilir. Bir örnek olarak BLAST, siyanobakterilerin tanımlanması için dizinler arasındaki benzer bölgelerin araştırılmasında ve farklı siyanobakteriler arasında ayırımın yapılması için primerlerin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılan optimize edilmiş bir algoritmadır.

Moleküler biyoloji metotlarının kullanımını özetleyecek olursak, bunların aşağıdaki avantajları vardır:

- Hızlı ve nispeten pahalı değildirler (temel olarak tüm ekipmanlara sahip olmanız gerekmektedir).
- Yüksek düzeyde hassas ve spesifiktirler.
- Morfolojik olarak çok benzer türler arasında ayırım yapabilme imkanını verirler.
- Aynı popülasyon içerisinde toksik ve toksik olmayan bireyler arasında ayırım yapma imkanını verirler.
- Laboratuarda siyanobakteri türlerini izole etmeden ve kültürlerini yapmadan çevresel numune kullanma imkanını verirler.
- Çevresel numuneleri depolama imkanı verirler (toplamadan sonra acil işlem uygulanması gerekliliği yoktur).
- Niteliksel (PCR) veya niceliksel (qPCR) ile genlerin ifade edilmesi testleri (RT-PCR) arasında tercih yapma imkanını verirler.
- Toksin üretiminden sorumlu suşların belirlenmesi imkanını verirler.

Aynı zamanda aşağıda listelenmiş olan kimi sınırlamaları da vardır:

- Dizin veri tabanı istenen primerlerin tasarlanmasında zorluklara neden olan bazı türler hakkında sınırlı bilgiye sahiptir.
- Türler içi diziler, seçilmiş primerlerin iyi korunan bölgeler içerisinde hazırlanmaması halinde nüfusun azımsanması riskine yol açabilmesine yönelik yüksek kararsızlığa sahiptir.
- Primerlerin iyi seçilmemesi halinde yanlış pozitif / negatif elde edilmesi olasılığı vardır.
- Toplam DNA tahmini ölü ile canlı hücreler arasında ayırım yapamaz.

Siyanobakteriler/siyanotoksinler üzerinde morfolojik, kimyasal, biyokimyasal veya immunoenzimatik test ile molkeküler biyoloji analizi kombinasyonu, şu ana kadar uygun maliyetli izleme faaliyetlerinin planlanmasında, bu faaliyetleri adım adım uygulayarak en iyi yolu temsil etmektedir.

YÜZME SULARINDA SİYANOBAKTERİ ÇOĞALMASINA YÖNELİK FRANSTZ REHBERİ

11.1. Önceden Uyarma

Fransa'da tatlı sular, dünya çapında tüm kıtalarda birçok diğer ülkede de olduğu gibi siyanobakteri patlamalarından ciddi şekilde etkilenmiştir. Bu konu Fransız yetkilileri tarafından 90'lı yılların ortalarında ele alınmış ve siyanobakteriler alanındaki tüm konular incelenmiştir. Halk sağlığının korunması için tatlı sulardaki yüzme alanlarında siyanobakteri patlamalarını yönetebilmek için Türk yetkililerine son derece faydalı bilgiler sunmaktadır.

11.2. Özet

- 1 – Siyanobakteri: coğrafi değerlendirme (Dünya, Fransa, Britanya)
- 2 – Siyanobakteri konuları (sağlık-özel odak noktaları , turizm, çevre,...)
- 3 – Yönetmelik için uluslar arası çerçeve
- 4 – Avrupa yönetmeliği
- 5 – Fransız yönetmeliği
- 6 – Fransa'da dahil edilen yapılar
- 7 – Maliyet değerlendirmesi
- 8 – Düzeltici önlemler
- 9 – Geriye kalan eksiklikler ve özel sorular

1. Siyanobakterilerin Coğrafi Değerlendirmesi

1.1. Dünyadaki Durum

Yalnızca bir rapor global olarak siyanobakteri patlamaları ve onların hayvanlar ile insan sağlığı üzerine olan etkileri hakkında uluslar arası ve tam bir görüşe sahip olmayı amaçlamaktadır. Bu rapor CYANONET programı çerçevesinde UNESCO tarafından 2005'te yürütülmüş olan "Siyanobakteri patlamaları için global ağ ve Toksin Riski Yönetimi – İlk Durum Değerlendirmesi ve Tavsiyeler" adlı rapordur. Bu rapordan elde edilmesi gereken temel bilgiler şunlardır:

- Siyanobakteri patlamaları tüm kıtalarda gözlemlenmiştir. Ancak ülkelerdeki (kıtalardaki) bilgilerde önemli değişkenlikler olduğu belirtilmelidir.
- Ortak türler gözlemlenmektedir ancak bazı yerel özellikler de mevcuttur.
- Siyanobakterilerden gelen toksinler de her yerde gözlemlenmektedir.
- Hayvanlar üzerinde birçok rapor edilmiş ters etki tüm kıtalarda gözlemlenmiştir.
- İnsanlar üzerinde rapor edilen etkiler birçok ülkede farklı patolojilerde vardır.
- Bazı kıtalarda neredeyse hiç inceleme veya çalışma yoktur.
- Özellikle bazı kıtalarda (Asya, Afrika) bazı ülkelerde neredeyse hiçbir yönetim faaliyeti yürütülmemektedir.

Her bir ülkedeki ekonomik durum ile mevcut veriler arasındaki güçlü ilişkinin altını çizmemiz gerekmektedir.

Ardından bazı ülkelerde, patlamaların büyük bir kısmının rapor edilmediğini ve bazı insan vakalarının da bilinmeyen bir şekilde kaldığını da varsaymaktayız.

CYANONET raporunda Türkiye’de özellikle mikrosistis ve planktotriks ile birlikte bazı siyanobakteri patlamaları rapor edilmiştir. Küçükçekmece gölü, Sapanca gölü ve Ömerli barajı etkilenmiş ve toksin konsantrasyonları 6 ila 24 µg/l mikrosistin arasında değişmektedir.

1.2. Fransa’daki Durum

2000 yılından bu yana birçok değerlendirmeler yapılmıştır ancak bir bölgeden diğerine yerel yetkililer tarafından yapılan farklı yönetimler bu değerlendirmeleri büyük ölçüde eksik bırakmıştır. Bu nedenle, iki ulusal sağlık güvenlik ajansı (AFFSA – gıda ve AFFSET – çevre) tarafından 2005’te yapılan son rapor son derece işletebilir. Veriler 3 yıla ilişkin (2002’den 2004’e) yerel sağlık yetkilileri tarafından sağlık kontrol sonuçlarından gelmektedir. Çıkarılan temel bilgiler aşağıdakilerdir:

- Siyano Fransa’nın Batısından daha fazla mevcut olarak görünmektedir.
- Ağustos ve Eylül aylarında daha yüksek hücre konsantrasyonları gözlemlenmektedir (bkz. grafik)
- Araştırma altındaki yüzme alanlarında ortalama hücre mevcudiyeti %86’dır.
- Ortalama hücre konsantrasyonları 3000 Hücre/ml (Mayıs)’den 15000 Hücre/ml (Eylül)’ye değişmektedir.
- Gözlemlenen maksimum konsantrasyonlar birçok milyona ulaşmaktadır (Eylül – 3 milyondan fazla hücre).
- Temel olarak ortaya çıkan türler şunlardır: (etkilenen alanların %si): Mikrosistis (%75), Planktotrix (%65), Aphanizomenon (%64), Anabaena (%54), Woronichinia (%32)

Birçok cinsin ve türün sıklıkla yüzme sularında aynı zamanda mevcut olduğuna dikkat edilmelidir. Buna ek olarak, siyanobakterilerin gözlemlendiği zamanlarda, vakaların çoğunda (%80) toksik cins baskındır. Ayrıca bu 3 yıllık araştırmalarda 27 cins ve 52 tür gözlemlenmiştir.

Aynı zamanda, hücre sayısına karşın klorofil A’daki konsantrasyonu grafiği çıkarılmıştır. Gerçek bir korelasyon olduğu belirtmeliyiz ancak bazı yanlış pozitif vakalara dikkat etmeliyiz. Gerçekte, birçok büyük klorofil A konsantrasyonu vakası siyanobakteri hücresi olmadan meydana gelmektedir. Ardından klorofil A ile Dünya Sağlık Örgütü tavsiyeleri (10 µg/l klorofil A = 20 000 C/l) tarafından hücre sayısı arasındaki eşdeğerlik önlem olarak kullanılmalıdır.

1.3. Britanya’daki durum

Araştırma Türkiye’deki Sağlık Müdürlüklerinin aynısı olan Bölge Sağlık Ajansı ARS adlı yerel sağlık yetkili kurumu tarafından yapılmıştır. Bu bölgeye ilişkin genel bilgiler şunlardır:

- Jeolojik ana kaya ve yoğun tarım yüzünden (nitrojen ve fosfor popülasyonu) hakim olan yüzey suları ile son derece zarar görebilir bir gölge
- 30 ila 40 tatlı su yüzme alanı su faaliyetlerini kapsamaktadır (temel olarak bölgenin merkezinde çünkü yarımada yaklaşık 510 deniz yüzme alanı vardır)
- Her yıl yaklaşık %50 yasaklanmış alan vardır (2004’ten 2012’ye) ancak bu çok fazla hava durumuna bağlıdır.
- Yerel yetkililer tarafından çok düzgün bir inceleme (2012 sezonu sırasında, hücre sayımı için 372 numune ve toksin analizi için 109 numune)
- İyileştirici ve önleyici faaliyetler için bir deney alanı (fikosiyenin probu, nörolojik patolojiler ile siyanotoksinler arasında bağlantı, siyanobakteri patlamaları için öngörülse bir model)
- Temel olarak ortaya çıkan türler: Planktotrix, Anabaena, Mikrosistis ve Aphanizomenon

2. Siyanobakteri Konuları

İlk etki halk sağlığına yönelik olduğu görülmektedir. Aslında siyanotoksinlerin dağınık yolla veya salgınlar yoluyla insan sağlığını etkileyebileceğini söylemek için yeterli bilgiye sahibiz. Aynı şekilde bu toksinler hayvanları, vahşi hayvanları ve bunların yanı sıra göletlerden su içen inek veya koyunlar gibi çiftlik hayvanlarını veya balık çiftliklerini de etkileyebilirler. Ayrıca, örneğin nehir veya barajların dibindeki makrofitlerde olduğu gibi ışık eksikliğinde siyanobakteri patalamalarının azalması nedeniyle bitkilerin büyümesi de azalabilir. Bazı yazarlar aynı zamanda siyanobakterilerden gelen moleküller nedeniyle bitkilerin büyümesinde engellenmeyi de gözlemlenmişlerdir. Böylelikle, bunların hepsi biyo-çeşitliliğin azalmasına neden olur.

İnsan faaliyetlerine ilişkin olarak, patlamalar birçok yüzme alanı ve su faaliyeti alanının yasaklanmasına neden olur. Bunun sonucu olarak etkilenmiş olan alanda turizmde azalma görülür.

İçme suyu için arıtım tesislerinde de çok ciddi sorunlar meydana gelir. Süreç toksinlerin uzaklaştırılması ve Avrupa yönetmeliği ile uyum sağlanması için spesifik araçları içermelidir.

Yukarıda bahsi geçen önceki 2 noktanın önemli ekonomik sonuçları vardır ve buna özellikle balık üretimi bakımından çiftlik hayvanlarında ölüm oranına ilişkin potansiyel sorunu da ekleyebiliriz.

Son olarak birçok idari düzeydeki sorumlulukların, siyanobakteri patlamalarına karşı tedbirsiz veya iyileştirici faaliyet eksikliği nedeniyle mahkemeye verilebileceğini de göz ardı etmemeliyiz.

2.1. Siyanobakterilerin Sağlık Üzerindeki Etkileri – Tehlikelerin Belirlenmesi

Tüm toksinler için özellikle uzun vadeli etkilere ilişkin olarak referans değerleri alanında önemli bir bilgi eksikliğinin kaldığını da söylemeliyiz.

2.2. Siyanobakterilerin Sağlık Üzerine Etkileri – Epidemiyoloji

Özet olarak sağlık üzerine etkileri aşağıdaki gibidir:

Karaciğer zehirlenmesi

- Bu insan ve hayvanlarda en sık rapor edilen akut etkidir.
- Tüm kıtalarda mevcuttur.
- Evcil veya vahşi türden birçok hayvan ölümü rapor edilmiştir (inekler, ördekler ve diğer vahşi kuşlar, balıklar, köpekler, vahşi domuzlar, gergedan, zürafa, kaplumbağa, tıbet öküzü...).
- İlgili siyanobakteriler temelde şunlardır: mikrosistis, nodularia, planktotrix, slidrospersin, oscillatoria,...
- İnsanlarda maruziyet içme ve yüzme suları yoluyla mümkündür.
- Diyaliz maruziyetinden sonra akut etkinin çok ciddi sonuçları vardır (ABD’de 23 vaka, Brezilya’da 1996’de 131 vaka ve 56 ölüm, Brezilya’da 1988’de 2000 vaka ve 88 ölüm).
- Uzun vadeli etkiler: mikrosistin ile kanser arasındaki ilişki (genel, mide, kolorektal) Çin’de kurulmuştur.

Nörolojik zehirlenme

- İnsanlarda ve hayvanlarda daha ziyade sıklıkla akut bir etki rapor edilmiştir (evcil hayvanlarda: inekler, buzağular, köpekler...)
- Nörolojik etkiler sıklıkla karaciğer zehirlenmesi ile ilgilidir.
- İlgili siyanobakteriler mikrosistis, phormidium, aphanizomenon, anabaena, oscillatoria’dır...
- Amyotrofik Lateral Skelorz (ALS) ile Parkinson ve Alzheimer arasında bir ilişki olmasından şüphelenilmektedir özellikle de ALS ve beta N metil amino L alanin molekülü (BMAA) cinslerinin %95’ini temsil etmektedir.
- Bu konuya ilişkin yerel bir çalışma Britanya’da sürdürülme aşamasındadır.

Dermal etkiler (deri ile ilgili etkiler)

Deniz sularından farklı olarak, tatlı sularda gerçekte hiçbir toksin saptanmamıştır. Ancak, Fransa'da siyanobakteri (anabaena, aphanizomenon, mikrosistis, slindrospermopsis) içeren tatlı sularda yüzme faaliyeti sırasında birçok tahriş ve deri döküntüsü vakası rapor edilmiştir. Lipopolipeptitlerin tahriş edici ajanlar olduğundan şüphelenilmektedir ve diğer moleküller de bu türden de etkilerden sorumlu olabilirler.

İnsanlardaki diğer etkileri

Yukarıda bahsedilen etkilerin yanı sıra, gastro-enterit ve diyare, halsizlik, baş ağrısı, istifra, döküntü ve konjunktivit gibi az çok kimi patolojiler de gözlemlenmiştir.

Halk sağlığına olan etkilerine ilişkin sonuç olarak, dünya çapında geniş sayıda gözlem ve son derece düşük dozlarda toksisite kanıtlarının, siyanotoksinleri önemli bir sağlık konusu olarak değerlendirmeye sebep verdiğini söyleyebiliriz.

3. Yönetmelik İçin Uluslararası Çerçeve

Çoğu zaman, ulusal yönetmelikler Dünya Sağlık Örgütü tavsiyelerine dayalı olup, bu tavsiyeler uluslararası düzeyde tanınmış ve üzerinde anlaşılmıştır. Siyanobakterilere ilişkin olarak son tavsiyeler Dünya Sağlık Örgütü'nün 2003 yılı tavsiyeleridir. Altı çizilmesi gereken temel bilgiler şunlardır:

- Su faaliyetleri sırasında, siyanobakteri içeren suyun yutulması temel risktir. Bunun anlamı dermal risklerin önem sırasında ikinci düzeyde olduğudur.
- Önemli miktarda bilgi eksikliği göz önünde bulundurulduğunda, günlük kabul edilebilir günlük alım (ADI): toplam mikrosistin için 0.04 µg/kg/gündür.
- Olumsuz sağlık etkisinin düşük oranı ise: < 20 000 hücre/l veya 10 µg/l klorofil a'dır.
- Orta şiddetli ters sağlık etkisi ise: < 100 000 hücre/l veya 50 µg/l klorofil a
- Yüksek şiddetli olumsuz sağlık etkisi ise: köpük
- Yasaklı düzey ise toplam mikrosistinden 25 µg/l'dir. Bu değer ise içme suları için 1µg/l toplam mikrosistin sınırından türetilmiştir.
- Aynı zamanda Dünya Sağlık Örgütü yukarıdaki eşik değerlerdeki hücre sayısına ilişkin olarak yönetim tercihleri panelini önermiştir.

Dünya Sağlık Örgütü çalışmasının yönetim önlemleri üzerine odaklandığını ve bunlarından 2003'teki bilgi eksiklikleri nedeniyle tedbirsiz tavsiyelere yol açtığını belirtmeliyiz.

4. Avrupa Yönetmeliği

4.1. 2006/7/EC Direktifinin amaçları

Bir hatırlatma olarak mevcut 2006/7/EC Yüzme Suyu Direktifinin amaçlarını listelemek faydalı olacaktır.

- Yüksek düzeyde halk sağlığı korumasının sağlanması: madde 1 ve 3
- İnsan faaliyetlerine karşı doğal kaynakların korunması: madde 2
- En son bilimsel delillerin kullanılması: madde 4
- Halkın katılımına olanak sağlanması: madde 4
- Özellikle yeni teknoloji ile halka daha fazla bilgi verilmesi: madde 9
- Yönetim önlemlerini iyileştirmek için yüzme suyu profillerinin kullanılması: madde 10
- Bu direktif özellikle halk sağlığının korunması için oluşturulmuştur.

4.2. 2006/7/EC Direktifinin İçerikleri

Siyanobakterilere ilişkin maddeler aşağıdakilerdir:

- Madde 2-5: siyanobakteri halk sağlığını etkileyebilecek bir kirliliktir.
- Madde 8-1: profilin bir siyanobakteri riskini işaret etmesi halinde, uygun bir araştırma yapılmalıdır.
- Madde 8-2: siyanobakteri patlamaları ve buna bağlı sağlık riskinin olması halinde, halkın bilgilendirilmesi de dahil olmak üzere insan maruziyetinin önlenmesi için uygun önlemler alınmalıdır.
- Ek III (profiller) 1-c : siyanobakterilerin potansiyel çoğalmasının değerlendirilmesi gereklidir.

Dolayısıyla, araştırma ve risk yönetimi için Direktifte bu konuya ilişkin, hiç bir belirli metot mevcut değildir.

Bu direktifteki temel çelişkinin de altı çizilmelidir. Gerçekte, yüzme suyu mikrobiyolojik değerlendirme bakımından iyi kalitede olarak sınıflandırılabilir ancak aynı zamanda siyanobakteri patlamaları nedeniyle yasaklanabilir. Aslına bakılırsa, Belediyelere ve dahası halka bunu anlatmak son derece güçtür. Sınıflandırmanın amacı yüzme suyunun sağlıklı olup olmadığını bilmek ve siyanobakterileri izlemektir. Siyanobakteri patlamaları tarafından etkilenen ve yasaklanan yüzme alanları kötü kalitede olarak sınıflandırılmalıdır. Ardından siyanobakteriler bir sınıflandırma parametresi olarak dahil edilmelidir.

5. Fransız yönetmeliği

Dünya Sağlık Örgütü tavsiyelerinin yayınlanmasından hemen sonra, Fransız Halk Sağlığı Konseyi yüzme sularında siyanobakteri yönetimi için bir tavsiye de bulunmuştur (6 Mayıs 2003). Konsey şunların altını çizmiştir:

- Siyanobakterilerin ekolojisi hakkında bilgi edinilmesi ihtiyacı.
- Analiz metotlarının iyileştirilmesi ihtiyacı.
- Tatlı sularda yüzme sırasında insan maruziyeti hakkında daha fazla bilgi edinilmesi ihtiyacı.
- Siyano maruziyetine bağlı patolojilerin ortaya çıkmasının izlenmesi ihtiyacı.
- Tatlı sulardaki tüm yüzme alanlarının izlenmesi için standart bir protokol ihtiyacı.
- Siyano patlamaları halinde algisit (fiziksel veya kimyasal alg öldürücü) kullanımının yasaklanması ihtiyacı (tedbirselsel bir faaliyet olarak, yalnızca izinle).
- Halkın bilgilendirilmesi ihtiyacı.

Ardından konsey aşağıda belirtildiği üzere risk yönetimi için bir karar prosedürü önermiştir (Haziran 2003'te yürürlüğe girmiştir):

- Tüm alanların izlenmesi (yüzme ve su faaliyeti alanlarının)
- Hassas alanlar için izlemenin kuvvetlendirilmesi: görsel incelemeye (köpük, renk, patlama...) ve fiziksel, kimyasal analizlere (pH, geğerirgenlik, klorofil a,...) dayalıdır. Hassas alanlar ötrofikasyon potansiyellerinden ötürü bilinen, daha önce siyanobakterilerin gözlemlendiği ve önemli sayıda kişinin olduğunun bilindiği yerlerdir.
- Bir değeriklik olması halinde: hücre sayısının sayılması
- Hücre sayısının 20 000/ml'nin altında olması halinde: günlük inceleme ve haftalık sayım
- Hücre sayısının 20 000 ila 100 000/ml arasında olması halinde: ek olarak halkın bilgilendirilmesi
- Hücre sayısının 100 000/ml'nin üstünde olması halinde: toksin analizi (en az ayda 2 kez)
 - Ardından eğer MCLR < 25 µg/l ise: yüzme alanı sınırlandırılır (kritik alanlar)
 - Eğer MCLR ise > 25 µg/l: yüzme ve tüm faaliyetler yasaklanır
- Köpük olması halinde: yüzme **ve tüm faaliyetler yasaklanır.**

Fiiilen, Fransız prosedürü Haziran 2006 tarihinde 2 ulusal sağlık ajansı olan AFSSA ve AFSSET'in yeni yayınına dayalıdır. Bu ikincisi çok daha kapsamlıdır, risk değerlendirmesi üzerine odaklıdır ve ekoloji, toksikoloji (Dünya Sağlık Örgütü, INSPQ ve özellikle NHMRC), analiz, çevre, maruziyet, risk değerlendirmesi, risk yönetimi, vs. hakkındaki eldeki tüm uluslararası verileri dikkate almaktadır. Bu belge şu an için alınabilecek en iyi rapor olabilir. Referansları internette kolaylıkla bulunabilir.

Bu, daha önceki prosedürün geliştirilmesi için yeni tavsiyelerin verilmesine yol açmaktadır:

- sub-kronik maruziyet seçimi: toplam mikrosistin için maksimum limit: 13 µg/l. Bu günde bir kez yüzme ile yılda 4 aylık yüzme süresi varsayılarak elde edilmiştir.
- 20 000 hücre/ml'den: mevcut toksik genler olması halinde toksin analizi
- Hayvan ölümleri halinde yüzmenin yasaklanması
- 100 000 hücre/ml ve köpükten: yüzmenin yasaklanması
- 13µg/l toplam mikrosistinden: yüzme ve su faaliyetleri yasaklanmaktadır.
- Tüm yasaklama vakalarında halkın bilgilendirilmesi. Bilgiler, siyanotoksin maruziyetinin olumsuz etkileri hakkındaki bilgilerden, inceleme sonuçları ve toksin içeren su ile temas halindeki tavsiyelerde oluşmalıdır.

Aynı zamanda, Fransa'da izleme sonuçları hücre sayısının 100 000/L üzerinde olması halinde, 13 µg/l MCLR'nin aşılması olasılığının %1 ila 7 aralığında olduğunu göstermektedir.

Ardından Fransa'da yeni bir karar ağacı uygulamaya konmuş olup, bu karar ağacı ekteki sunumun 31. slaytında sunulmuştur. Fransız yönetmeliği yüzme suyuna ilişkin Halk Sağlığı Kanunu'nun birçok maddesinden oluşmaktadır. Bu 2006/7/EC Direktifini aktarmaktadır ve ek olarak Fransız idari şartlarını özellikle de yetkilendirme prosedürlerini içermektedir (bkz. aktörler, roller ve sorumluluklar hakkındaki slayt). Yönetim önlemlerinin netleştirilmesi için, siyanobakterileri içeren yüzme sularına ilişkin yıllık bir Genelge her yıl Bölge Sağlık Yetkililerine gönderilmektedir (Örn. 9 Mayıs 2012 veya 18 Haziran 2013 tarihli genelge). Sonuncu dokümanda kimi göstergeler mevcuttur. Temelde 2006 AFSSA/AFSSET tavsiyelerine referans vermektedir.

Mevcut yönetmelikte siyanobakterilere ilişkin diğer ilgili noktalar aşağıdakilerdir:

- Yüzme alanlarının yıllık envanteri: yüzme alanının kaldırılması gerekçelendirilmelidir. Örneğin siyanoların mevcudiyeti (ve profil içerisinde sunulması).
- Potansiyel siyanobakteri patlamaları profilde ele alınmalıdır.
- Halkın bilgilendirilmesi:
 - Yüzme alanı yetkilisi yoluyla: diğer sonuçlar, siyano sonuçları mümkün olduğunca çabuk asılmalıdır, profil sentezi, yasaklama uyarısı asılmalıdır. Bunların hepsi yüzme alanı yakınında, net bir metin ve işaretler ile mümkün olduğunda ek diller ile asılmalıdır.
 - Bölge Sağlık Yetkilileri (ARS) tarafından: tüm analitik sonuçlar, sınıflandırma ve profil internette yayınlanmalıdır.

En azından yerel düzeyde, analitik sıklık daha yüksek olabilir, analitik paket az çok önemli olabilir. Örneğin, kimi ilçelerde analiz edilecek toksinler: mikrosistin LR, RR, YR, saxitoksin, anatoksin, slindrospermospsin, nodularin dahil 11 toksin türüne kadar. Su sporları dernekleri, balıkçılık birlikleri vsr. ye ek bilgiler sunulabilir.

6. Fransa'da Dahil Edilen Yapılar

Bu yapılar ekteki sunumun 35. slaytında özet niteliğinde sunulmuştur. Aynı zamanda kimi durumlarda örneğin salgınlar durumunda tıp doktorlarının ve medyanın bilgi dağıtımı için dahil olduğunu da belirtebiliriz.

Bu tarafların rol ve görevleri aşağıda listelenmiştir:

Sağlık Bakanlığı:

- Direktiflerin aktarılması
- Ulusal yönetmelik ve genelgelerin yazılması
- Ulusal ajanslardan çalışma ve tavsiyeler talep edilmesi
- Bölge Sağlık Ajanslarına materyal araçlarının sunulması (veri bankası, internet, pano modelleri...)
- Yerel sorunlarla ilgili olarak Bölge Sağlık Ajanslarına yanıtlar verilmesi
- İnternet, basın açıklamaları yoluyla halka bilgi verilmesi
- Avrupa Komisyonuna ulusal raporların yollanması

Ulusal Ajanslar (ANSES):

- alışmalar yapılması (analitik metotlar, risk değerlendirmesi, yerel alışmalar)
- Tavsiyeler verilmesi

Bölge Sağlık Ajansı (ARS):

- Ulusal yönetmeliğin uygulanması
- Ajans tavsiyelerinin dikkate alınması
- şunların gerçekleştirilmesi : yıllık envanterlerin, numune alım programının, incelemelerin, yıllık sınıflandırmanın, sonuçların yorumlanmasının, sonuçların aktarımının, yerel sentezlerin, yüzme alanı yetkililerine tavsiyelerin verilmesinin, Sivil Toplum Kuruluşlarına bilgi verilmesinin ve halka bilgi verilmesinin kontrol edilmesi, Belediye başkanının gereğini yapması konusunda zorlanması,...
- Sağlık Bakanlığına yıllık bilgilerin aktarılması
- Uygunluklar da dahil olmak üzere, yetkililerle birlikte tüm özel yerel durumların yönetilmesi
- Gerektiğinde yerel çalışmaların yapılması
- Yeni araçların geliştirilmesi (rneğin Britanya'da: fikosiyanın probu, ALS ile BMAA arasındaki bağlantı)

Yüzme Alanı Yetkilileri (neredeysi her zaman Belediye Başkanı):

- Ulusal yönetmeliğe uyulması
- Profil yazılması
- şunların yerine getirilmesi: yüzme alanlarının yıllık envanteri, siyanobakteriler için en azından görsel inceleme, her hangi bir sorun olması halinde derhal Bölge Sağlık Ajansı'nın haberdar edilmesi, durumun iyileştirilmesi için önlemlerin alınması,
- Analitik sonuçların, tavsiyelerin ve yasaklama kararnemelerinin afişe edilmesi,
- Bölge Sağlık Ajansı ile birlikte uygunluklar da dahil olmak üzere tüm özel yerel durumların yönetimi,
- Gerektiğinde yerel çalışmaların yerine getirilmesi,
- İncelemelerin ndenmesi (numune alımı ve analizlerin)
- Yüzme alanı sorumlusunun özel bir kurum/kuruluş (nadiren) olması halinde, belediye başkanı yetkiyi verir.

Laboratuvarlar:

- Analizleri ve kimi zamanda numune alımını acil durum halinde hafta sonu dahil gerçekleştirirler
- Sonuçların aktarımını yürütürler (elektronik olarak)
- Bölge Sağlık Ajansı'nı ve Yetkilileri kötü sonuç olması halinde acilen bilgilendirirler.

7. Maliyet değerlendirmesi

Siyanobakteri patlamalarının oluşması nedeniyle meydana gelen toplam maliyet oldukça yükly olabilir. Örnek olarak, 2012 sezonuna ait Britanya'da yıllık izlemeden ve yürütölmüş yönetim önlemlerinden kimi veriler sunulmuştur. Bu veriler 34 yüzme alanını, hücre sayımı için 372 numune alımını ve toksin analizi için 109 numuneyi kapsamaktadır.

- Hücre sayımı cins ve türleri içermektedir: numune başına yaklaşık 105 €'dur.
- Toksin analizi: numune başına 140 ila 220 €'dur (metoda göre değişmektedir: Elisa, HPLC/UV veya MS ve toksin sayısı). Kimi laboratuvarlarda 11 toksine kadar analiz yapılmaktadır.
- Diğer parametreler: klorofil a, geçirgenlik, pH
- Numune alımı: 35 €

2012 için bunların hepsi toplamda 81 165 €'dur.

Buna ek olarak, 34 alan için görsel incelemeyi (1/2/saat/gün) ve uzun vadeli önlemleri de göz önünde bulundurmalıyız (tahmin yoktur ancak çok yüksek maliyetlidir).

8. Düzeltici önlemler

8.1. İyileştirici önlemler

Siyanobakteri patlamalarının azaltılması kısa veya orta vadeli önlemler ile gerçekleştirilebilir. Temel amaç aşağıda listelenmiş ve açıklanmıştır:

- **tortuların kaldırılması:** yukarı akıntı yönünde önlem olmadan etkili değildir. Son derece yüksek maliyet oluşturmaktadır.
- **oksijenleme:** siyanobakteri gelişiminin azaltılması için katmanlaşmanın önlenmesi ancak dipten P çözünebilir. Gerçek bir etkinlik gözlemlenmemiştir.
- **hidrolojik akış değiştirme:** yakına bir baraj inşa edilebilir ancak bu barajın inkübatör görevi oynaması halinde durum daha kötü olabilir. Her birince suyun bekleme süresinin azaltılması için birçok baraj kazılabilir. Başarılması için çok ağır işlerin yapılmasına ihtiyaç vardır ve maliyet son derece önemlidir. Fıskırtma sistemi de çalışabilir.
- **bakır sülfat:** Hücre ölümlünden dolayı toksin salınımını arttırmaktadır (Fransa'da izin verilmemektedir, yalnızca bir sonraki patlamayı azaltmak için tedbirsiz önlem olarak yetkililerin izniyle yapılmaktadır). Bu biyota yıkımına ve çevre kirlenmesine neden olmakla birlikte siyanobakteri tetiklenmesinde dirençli olabilir.
- **Al veya Fe tuzları ile çöküntü:** çökelti sürekli değildir ve büyük miktarlar gerekmektedir. Çevre kirliliğine neden olur. Göl veya göleti taramadan önce faydalı olabilir.
- **Ca (OH)2 veya CaCO3 yayılması:** bu geriye döndürülebilir bir çökeltidir. Biyotop değişikliğine, siyanobakteri ve kimi zaman daha toksik türlerin dağılımına neden olur. Bunun yalnızca küçük barajlarda etkili olduğu gözlemlenmiştir.

- biyolojik önlemler:

- siyanoları yiyen balıklar: biyota değişikliği, balıkların yemesi halinde uyarı.
- trofik zincirin izlenmesi: zooplankton yiyen balıkların azalmasındansa etobur balıkları arttırdıktan sonra zooplankton artar ve son olarak fitoplankton artabilir. Akılcıca bir çözümün izlenmesi zordur.
- P rekabeti için makrofitleri teşvik eder. Yalnızca Pnin ışık konsantrasyonunda çalışır.

- **fiziksel ajanlar:** ultrason ile su sesi. Bu metot Britanya'da deneysel bir metottur ve etkinliği henüz kanıtlanmamıştır.

- **tırmıklı at:** bu sistematik olmayan bir denemedir ve etkisi düşüktür. Yalnızca sığ göletlerde gerçekleştirilebilir. Kimi yazarlar negatif etkilerinin dahi olabileceğini düşünmektedirler.

8.2. Önleyici tedbirler

Hali hazırda kontamine olmuş alanlarda siyanobakterilerin orataya çıkmasını ve daha fazla siyanobakteri patlaması olmasını azaltmak için, yüzme sularına nütrient *öğelerinin* akışının azaltılması gereklidir. Aşağıda belirtilmiş olan Britanya bölgesinde gerçekleştirilmiş olan farklı çözümlere bakınız.

- **Evsel atık sulardan P nin azaltılması:** çamaşır deterjanlarında P yükünün önlenmesi. Fransa'da 2007 yılında başarılıdır. Kanalizasyon tesislerinde P artırımının geliştirilmesi. Britanya'da bertaraf etme düzeyi yaklaşık %90'dır. Çevreye deşarj olmaması için bireysel evsel artırımın kontrolü (Britanya'da ilerleme aşamasındadır).
- **Gübrelerden P'nin azaltılması:** toprak analizi yapılması ve tarım bilimine ilişkin bilgilerin çiftçilere gönderilmesi. Gübreler üzerinden vergilerin arttırılması.
- **Çiftlik hayvanlarından P nin azaltılması:** çok aşamalı, fitaz beslemenin kullanılması. Çiftlikte atıksu artırımının ve katı P ihracının oluşturulması. Spesifik düzenlemelerin zorunlu hale getirilmesi: Britanya'da 100 U P/ha'nın aşımına izin verilmemektedir ve yayma için sınırlı dönemlere uyulması zorunludur.
- **Su akışının durdurulması:** akarsu, dere ve hendekler boyunca 10 m otlak şeridi ile arazilerden su ortamına P transferinin önlenmesi için düzenlemelerin getirilmesi. Aynı zamanda araziler etrafında set ve çitler ile toprağın kış mahsulleri ile kaplanması zorunludur.
- Sanayi tesislerinden **P sızıntısının kontrol edilmesi ve bunun azaltılması**

9. Geriye kalan eksiklikler

Aşağıda bulunan ve detaylı olmayan liste üzerinde birçok ilerlemenin kaydedilmesi gereklidir.

- Öngörülse modeller için siyanobakterilerin ekolojisinin daha iyi anlaşılması ve siyanobakteri ile patlamaların mevcudiyetinin öngörülmesi gerekmektedir.
- Toksinlerin toksisitesi, epidemiyolojisi ve risk değerlendirmesi hakkında daha fazla bilgi edinilmesi gerekmektedir (dermal maruziyet, nörotoksikite, uzun dönemli maruziyet,...)örn. BMAA.
- Etkili göstergelerin bulunması. Bu, çoklu parametrelerin olduğu konuların çözülmesi için her zaman bir sorun teşkil etmektedir (sudaki pestisitler veya ilaç kalıntıları için de durum aynıdır örneğin: tüm moleküllerin araştırılması mümkün değildir).
- Etkin ve hızlı analiz metotlarının geliştirilmesi.
- Etkin bir araştırmanın geliştirilmesi (uydu).
- Siyanobakteri artımı hakkında daha fazla bilgi edinilmesi (kimyasal, fiziksel, biyolojik).
- Risk yönetimi ve yüzme sularının sınıflandırılması için yönetmeliğin geliştirilmesi (eşikler, yasaklama ve sınıflandırma).
- vs...

İKİNCİ KISIM

YÜZME SULARINDA O.OVATA PATLAMALARINI İZLEME REHBERİ

OSTREOPSIS OVATA PATLAMALARININ YÖNETİMİ HAKKINDA İTALYAN KILAVUZ İLKELERİ

ENZO FUNARİ

1.1. Giriş

Zararlı Alg Patlamaları (HAB) hadisesi, patlamayla bağlantılı ekonomik kayıp ve insan zehirlenmeleri göz önüne alındığında dahi iyi bilinmektedir. Zehirlenme vakaları özellikle, deniz algisi toksinlerinin çok yüksek konsantrasyonlara ulaşabildiği durumlarda kabuklu deniz canlılarının tüketiminden ileri gelir. Öte yandan, yüzme sularında bu toksinlerin tehlikeli konsantrasyonlara ulaşması pek de muhtemel değildir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) "Guidelines for safe recreational water environments"¹ (WHO, 2003) belgesine göre, yüzme sularındaki deniz toksik alglerinin ağız yoluyla alımı ile insanda sağlık etkileri arasındaki ilişkiye dair hiçbir kanıt bulunmamaktadır. Aslında, yüzme veya rekreasyon faaliyetleri esnasında yutulabilecek su miktarının toksik dozda alg toksini içermesi olası değildir. Yine de, bazı deniz siyanobakteri türlerine maruz kalmanın (*Lyngbya majuscula*, *Oscillatoria nigroviridis*, *Schizothrix calcicola*), çeşitli derecelerde deri irritasyonu vakalarına yol açtığı görülmüştür. Son olarak; Meksika Körfezinde meydana gelen *Karenia brevis* patlamalarından ileri gelen toksin, hücre veya parçacık içeren serpintilerin solunması, bir dizi solunum sistemi etkisiyle ilişkilendirilmiştir. Benzer bir olay, teorik olarak İtalya ve diğer Akdeniz kıyılarında patlama yapan *Ostreopsis ovata*'ya bağlanmıştır (Brescianini ve ark., 2006).

Yüzme sularının yönetimi hakkındaki 2006/7/CE sayılı AB Direktifi, insan sağlığını toksik alglere maruziyetle ilişkilendirilen olası neticelerden korumak amacıyla açık ve net hükümler içermektedir. Esasında, direktifteki ifade şöyledir: "yüzme suyu profiline makro alg ve/veya deniz fitoplanktonu çoğalması eğilimi göstermesi durumunda, kabul edilebilirliğin ve sağlık risklerinin tespiti için araştırmalar yapılır ve halkın bilgilendirilmesi de dâhil uygun yönetim önlemleri uygulanır".

O. ovata denizde yaşayan, *Gonyaulacales* dizininden, epifitik olarak kayalık deniz yataklarında veya yapay resiflerde bulunan kırmızı ve kahverengi makro alglerin üzerinde yaşayan bir bentik dinoflagelat türüdür. Bu tür, genellikle tropikal ve subtropikal bölgelerdeki korunmuş, kıyı içi alanlarda bulunur; ancak son yıllarda Akdenizdeki dağılımı artmakta ve su sıcaklıklarının, basıncın yüksek, hidrodinamizmin düşük olduğu durumlarda patlamalar görülebilmektedir.

O. ovata, ayrıca *O. siamensis*, *O. lenticularis*, *O. heptagona*, *O. mascarenensis*, *O. labens* türlerinin biyolojik test sonuçlarına göre potansiyel olarak toksik oldukları bilinmektedir (fareler üzerinde akut toksisite testleri, sitotoksisite, hemoliz).

İtalya'da Adriyatik ve Tiran sahillerinde genellikle yaz aylarında *Ostreopsis* spp. patlamaları bildirilmektedir (Monti ve ark. 2007; Martinelli ve ark. 2009; Sansoni ve ark. 2003; Gallitelli ve ark. 2005; Ciminiello ve ark. 2006). 2005 yılında, Genova kentinin kıyı şeridinde, yaklaşık 200 kişinin rinore, öksürük, ateş, hafif nefes darlığı, hapşurma ile birlikte bronkokonstriksiyon ve bazı vakalarda konjonktivit gibi semptomlardan yakındıkları bildirilmiştir. Hemen hemen tüm vakalarda semptomlar birkaç saatte gerilemiştir. Yalnızca 20 kişi hastaneye kaldırılmıştır. Vakalara neden olan etkenin, üst solunum yolu irritasyonuna yol açan deniz suyu serpintilerindeki alg parçacıkları olduğu hipotezi benimsenmiştir. Aslında, bu hadisenin ardından su kolonunda ve makro alg numunelerinde yüksek yoğunlukta *Ostreopsis ovata* bulunmuştur (Brescianini ve ark. 2006). Her iki vakada da, boyutları birkaç metre kareye varan açık kahverengi birikintilerin "köpüklendiği" farkedilmiştir. Aynı algler, kayalık ve makro alglerin üst katmanlarını biyofilm gibi kaplamıştır. Aynı zamanda ve yerde, epibentik organizmalar üzerinde

¹ Rekreasyon amaçlı su ortamları için güvenlik kuralları

çeşitli olumsuz etkiler de gözlemlenmiştir. Su, plankton ve makrofit numuneleri üzerinde yapılan analizler, başlıca toksin olan palytoxin ve ovatoxin-a olduğu düşünülen palytoksin benzeri bir bileşenin varlığını ortaya koymuştur (Ciminiello ve ark. 2006, 2008).

Bu toksinler, deniz ürünlerinde birikebileceğinden sağlık açısından risk teşkil eder. Ne yazık ki, toksikolojik ve çevresel veriler herhangi bir niceliksel risk değerlendirmesi yapılmasına olanak vermeyen ölçüde sınırlıdır. Bu sınırlamalara karşın, Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA) son dönemde (2009) yayınladığı bir görüşte, bu bağlamdaki son teknolojiyi tanımlamanın yanı sıra tüketicilerin tehlikeli maruziyetleri önlemeleri için yararlı bir dizi rehber de sağlamıştır.

1.2. İtalyan Kılavuz İlkeleri

Cenova'daki olay ve İtalya'da meydana gelen benzeri başka küçük hadiseler ciddi endişe yaratmıştır. Bu sorunu ele almak üzere, 2006 yılında İtalya Sağlık Bakanlığı, ulusal sınırlar içinde kullanılmak üzere konuya özel kılavuz ilkeler hazırlamaları için bir grup uzmanı görevlendirmiştir. Bu kılavuz ilkeler, yayınlanmış ve tehlikeli maruziyetlerin önlenmesi için *Ostreopsis spp* patlamalarına ilişkin risklerin yönetiminde başarıyla uygulanmıştır. Kılavuz ilkeler, bu sorunun izlenmesiyle yükümlü yerel makamlar ve laboratuvarlar için kullanışlı, pratik bir araçtır.

Kılavuz ilkeler, aşağıda da açıklandığı üzere üç safhada düzenlenmiştir.

1. Rutin safha

Riskli kıyı bölgelerinde rutin izleme faaliyetleri yürütmek gerekli olup, yüzme sezonunda bu faaliyetlerin aktifleştirilmesi zorunludur.

Rutin safha kapsamında:

- a) *Ostreopsis spp* patlaması olasılığının yüksek olduğu kıyı bölgelerinin tespit edilmesi (geçmiş verilere veya bölgelerin özel niteliklerine dayanılarak);
- b) planlar hazırlanır: izleme (1), sendrom gözetimi (2) ve risk bildirimi (3).

a) Riskli bölgelerin tespit edilmesi

Mevcut veriler esas alınarak, kayalık setlerle çevrili küçük koylar veya yapay dalgakıranlar içindeki su aynaları gibi çok dar alanlarda yaz aylarında gerçekleşen *Ostreopsis spp* patlamaları gözlemlenir. Bu bölgelerde, su devir daimi oldukça sınırlı olup su sıcaklıkları yüksek değerlere ulaşır. Kılavuz ilkeler, riskli bölgelerin aşağıdaki unsurlar göz önüne alınarak tespit edilmesini tavsiye eder: jeolojik yapı profili, dalgakıranların mevcudiyeti, su hidrodinamiği koşulları, makro alglerin olası varlığı veya mikro alg çoğalmasını elverişli kılabilen her türlü etken.

b) 1. İzleme planı

Riskli bölgelerdeki numune alma noktaları, su altı kumsalın ilk birkaç metrelik kısmında veya söz konusu mikro alglerin çoğaldığının görüldüğü başka herhangi bir yerde bulunmalıdır.

Bu numune alma alanları mümkün olduğunca yüzme suyu izleme faaliyetleri için seçilen alanlarla örtüşmelidir.

Numune alma alanlarında, aşağıdaki ölçüm ve faaliyetler yürütülmelidir:

- ana fiziksel ve kimyasal parametrelerin belirlenmesi;
- hava ve rüzgar koşulları ile hava sıcaklığının kaydedilmesi;
- deniz yatağından su numunesi alma, makro alg ve/veya diğer bentonik organizma numunelerinin alınması;
- 1 metreden derin bölgelerde, su kolonu boyunca fitoplankton numunesi alma;
- görsel incelemede gözlenmesi halinde köpükten numune alma.

Tüm numuneler soğutucuya konmalı; ışık almayan ortamda saklanmalı ve mümkün olan en kısa sürede (24 saat içinde) analiz için laboratuvarlara sevk edilmelidir.

Materyalin tüm numune alma ve taşınma safhalarında, teknik çalışanlar güvenlik prosedürlerinde öngörülen kişisel koruyucu cihazları kullanmalıdır.

b) 2. Sendrom gözetim planı.

Sendrom gözetimi, bir sendromu belirleyen bir dizi semptom, şikayet veya tanısal kodun (vaka tanımı) varlığını esas alan, yaygın bir Halk Sağlığı aracıdır. "Sendrom" teriminin kullanılması, gözetimin amacının belirli bir etiyolojik teşhisle veya kesin hatları olan bir klinik tabloyla sınırlandırılmayacağını, bir salgın olayını tespit eden bir semptomlar/belirtiler bütünü söz konusu olduğunu ortaya koyar.

İlgili duruma mahsus bir sendrom gözetimi sisteminin kurulması, bilhassa potansiyel olarak *Ostreopsis spp* maruziyetiyle ilgili olabilecek vakaların erken tespiti için, sağlık çalışanlarının da aktif katılımıyla halk sağlığının korunması için gereken önleyici tedbirlerin derhal uygulanması açısından önem taşır.

Sendrom gözetimi ağında yer alan ana yapılar, veri analiz ve işleme çalışmalarından sorumlu bir kurumun koordine etmesi gereken Acil Durum Birimleridir. Acil Durum Birimleri, esasında 2005 ve 2006 yazlarında Cenova'da meydana gelen salgınlara dayanan vaka tanımlarıyla eşleşen girişleri merkez koordinatörüne bildirir. Vaka tanımı, bilhassa aşağıdaki hususları da kapsayacak şekilde hastanelere başvuran hastalardan alınan en önemli hasta öyküsü verileriyle klinik veriler esas alınarak yapılır:

- Deniz kenarında bulunma (kıydan <90 m), *Ostreopsis spp* alg patlaması eşliğinde;
- Hastane Acil Servisine başvuru;
- Aşağıdaki semptomların en az iki tanesinin bulunması: öksürük, nefes darlığı, boğaz ağrısı, rinore, $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ateş, baş ağrısı, göz yaşarması, mide bulantısı/kusma ve dermatit).

Gözetim sisteminin verileri, çevresel verilerin toplanması ve değerlendirilmesiyle birlikte dikkat, uyarı ve acil durum safhalarının tanımlanmasına katkıda bulunur.

Bu tür bir klinik-epidemiolojik gözetim sisteminin ek hedefleri aşağıda kısaca sıralanmıştır:

- Deniz suyu serpintilerine maruziyetin mevcudiyeti veya yokluğunda üst solunum yolları ile konjunktival mukozanın irritatif sendromlarının insidansının değerlendirmesi;
- Daha yüksek bir riske maruz kalabilecek nüfusun özelliklerinin belirlenmesi (başka bir deyişle; astımı olan bireyler, yaşlılar, çocuklar);
- Daha yüksek risk taşıyan bölgelerin haritasının çıkarılması;
- Dikkat, alarm ve acil durum safhalarının tanımlanması içi çevresel verilerin entegrasyonu;
- Hastaneler ve yerel makamlarla sıkı işbirliği içinde halk sağlığına ilişkin önleyici tedbirlerin uygulamaya konması.

b) 3. Risk iletişim planı

Yetkili makam, alarm ve acil durum safhalarından dahi önce tüm ilgili paydaşları ve halkı bilgilendirmek üzere bir risk bildirim planı hazırlamakla yükümlüdür. Bu nedenle, bilgi alışverişinin kolaylaştırılması ve hatta halkın gözetim faaliyetlerine aktif katılımının teşvik edilmesi için özel olarak halka hitap eden, sade bir dille hazırlanmış bir iletişim sisteminin öne çıkarılması gerekir (bir başka deyişle; patlama varlığını, klinik vakaları, ihtiyofaunanın (balığa benzeyen) karaya vurması durumlarında ikaz yayınlayarak).

2. Alarm safhası

Bu safhada, *Ostreopsis spp* patlaması meydana gelme olasılığı özellikle yüksektir. *Ostreopsis spp* yoğunluğu ve/veya su sıcaklığının sürekli yükseldiği ve meteorolojik koşulların patlama lehinde olduğu (yukarı bakınız) rutin safhadaki faaliyetlerin sonuçlara dayanılarak, bu safha öngörülebilir.

Bu tür durumların başlangıç aşamasında aşağıdaki eylemler tavsiye edilir:

- Olaydan etkilenen kıyı bölgesinin tespiti ve özelliklerinin saptanması;
- Yerel makamların olası riskle ilgili bilgilendirilmesi;
- Gerekirse izleme faaliyetlerinin yoğunlaştırılması;
- Sendrom gözetimi planının uygulanması.

Bu safhada, kabuklu deniz canlıları numuneleri veya kalıcı ya da dönemsel olarak riskli bölgelerde yaşayan diğer akuatik türler, palitoksin veya analog gruplarının varlığını doğrulamak ve niteliklerini tespit etmek üzere toplanmalı ve analiz edilmelidir.

3. Acil durum safhası

Bu safha, *Ostreopsis spp* patlamasının meydana geldiği bir duruma karşılık gelir. Bu safhada, tehlikeli maruziyetleri asgariye indirmeyi ve önlemeyi amaçlayan yönetim önlemlerinin alınması gereklidir.

Geçmiş veriler esas alındığında, *Ostreopsis spp*'nin suda 100000 hücre/L'den yüksek yoğunluklarda bulunmasının insanlar üzerinde tehlikeli etkilere neden olduğu gözlemlenmiştir. Bu algler, zaman zaman kahverengimsi jel süspansiyonlar üreten sualtı katı kütle ve makrofitlerini kapsamıştır. Su sıcaklığı en az 22° C, deniz koşullarında ise birkaç gün boyunca düşük kıyı hidrodinamizmi ve artan hava sıcaklığı dikkat çekmiştir. Ancak, bu tür bir durum *tek başına* ciddi bir sağlık riski teşkil etmeyebilir; zira soluyarak maruz kalmada alg hücreleri veya parçacıklarını (ve/veya toksin) içeren serpintilerin oluşmuş olması gerekir. Dolayısıyla bu koşullar, son derece sınırlı bir sahil bölgesinde bu mikroalglerin büyük miktarını 'toksik serpinti' formunda taşıyıp getiren bir deniz fırtınası eşliğinde ortaya çıkacaktır.

Bu safhada, aşağıdaki önlemler alınmalıdır:

- Serpinti oluşumuna katkıda bulunabilecek meteorolojik ve deniz koşullarında dikkat edin (kıyıdan esen rüzgârlar, artan atmosfer basıncı, vb.);
- Acil durum safhasında etkilenen bölgeyi testpi edin, niteliklerini belirleyin ve sınıflandırın;
- Bölgesel yapıları, bilimsel, teknik ve örgütsel boyutları ile koordine edin;
- İlgili halkın bilgilendirilmesi için etkili bir iletişim kampanyası yürütün.

Kılavuz ilkeler ayrıca, insan sağlığı açısından olası zararlı etkileri de hafifletmeyi amaçlayan aşağıdaki tavsiyeleri sunar:

a) İnsanları, özellikle de solunum sistemi hastalıklarından (astım gibi) muzdarip kişileri ve riskli yüzme alanında kısa süre kaldıktan sonra solunum yolu irritasyonu, göz yaşarması ve bazı başka semptomları fark eden kişileri kritik anlarda sahilden ayrılmaya davet edin. Zaman zaman, bu tür semptomları ortadan kaldırmak veya hafifletmek birkaç metre geri çekilmenin yeterli olduğu bildirilmiştir. Sahilden uzaklaştıktan sonra da semptomların devam etmesi veya kötüleşmesi durumunda ise, hastaneye başvurularak maruziyet bölgesinin tanıtılması önerilmektedir;

b) Kontrolleri yoğunlaştırmak ve ilgili bölgelerden toplanan yenebilir organizmaların tüketimi yasasını bir kez daha doğrulamak için yerel makamları uyarın.

Acil durum safhası sona erdiğinde, uygun bir takip çalışması yapılarak rekreasyon amaçlı faaliyetlere bağlı ekonomik kayıpların tahmin edilmesi uygun olacaktır.

Kılavuz ilkelerde numune alma faaliyetleri, *Ostreopsidacee'nin* taksonomik tespiti, toksisite testi ve kimyasal analiz konularında yerel düzeydeki laboratuvarlara hitap etmek amacıyla ayrıca özel teknik ve uygulamaya yönelik belgeler de (Ekler halinde) sunulmuştur.

Bu kılavuz ilkeler, bilimsel içeriklerinin güncelleştirilmesi ve uygulamadan gelen deneyimler esas alınarak yaklaşımın bazı yönlerinin ince ayarının yapılması için halihazırda revizyondan geçirilmektedir.

1.3. Kaynakça

Brescianini, C., Grillo, C., Melchiorre, N., Bertolotto, R., Ferrari, A., Vivaldi, B., Icardi, G., Gramaccioni, L., Funari, E., Scardala, S., 2006. *Ostreopsis ovata* algal blooms affecting human health in Genova, Italy, 2005 and 2006. *Eurosurveillance*, Volume 11, Issue 36.

Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Fattorusso, E., Forino, M., Magno, G.S., Tartaglione, L., Grillo, C., Melchiorre, N., 2006. The Genoa 2005 outbreak. Determination of putative palytoxin in Mediterranean *Ostreopsis ovata* by a new liquid chromatography tandem mass spectrometry method. *Anal. Chem.* 78, 6153–6159.

Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Fattorusso, E., Forino, M., Tartaglione, L., Grillo, C., Melchiorre, N., 2008. Putative palytoxin and its new analogue, ovatoxin-a, in *Ostreopsis ovata* collected along the Ligurian coasts during the 2006 toxic outbreak. *J. Am. Soc. Mass Spectrom* 19,111–120.

European Food Safety Authority, 2009. Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish–Palytoxin group1 EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 7(12):1393.

Gallitelli, M., Ungaro, N., Addante, L.M., Procacci, V., Gentiloni, N. and Sabbà, C., 2005. Respiratory illness as a reaction to tropical algal blooms occurring in a temperate climate, *JAMA* 293, pp. 2599–2600.

Martinelli, E., Morbidoni, M., Farroni, L., Mengarelli, C., Mariottini, M., Verna, M., 2009. Inchiesta epidemiologica per sospetta epidemia da aerosol marino. *ARS*; 123:36-39.

Monti, M., Minocci, M., Beran, A., Ives, L., 2006. First record of *Ostreopsis* cfr. *ovata* on macroalgae in the Northern Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 54: 598–601.

Monti, M., Minocci, M., Beran, A. and Ivesa, L., 2007. First record of *Ostreopsis* cfr. *ovata* on macroalgae in the Northern Adriatic Sea. *Mar. Poll. Bull.* 54, pp. 598–601.

Sansoni, G., Borghini, B., Camici, G., Casotti, M., Righini, P. and Fustighi, C., 2003. Fioriture algali di *Ostreopsis ovata* (Gonyaulacales: Dinophyceae): un problema emergente, *Biol. Amb* 17, pp. 17–23.

WHO, 2003. Guidelines for safe recreational water environment. Volume1. Coastal and fresh waters. Geneva: World Health Organization.

ALGAL TOKSİNLERİN TOKSİKOLOJİK PROFİLLERİ: PALİTOKSİNLER MERCEK ALTINDA

Emanuela Testai

Istituto Superiore di Sanità- Environment and Primary Prevention Dept. – Roma (İtalya)

(emanuela.testai@iss.it)

2.1. Giriş

Toksin üreten zararlı alg patlaması (HAB) türleri arasında, son derece çeşitli fizyolojik gereklilikleri olan farklı sınıflara ve dizinlere ait planktonik ve bentik mikroalgler yer alır. Paralitık Kabuklu Su Ürünleri Zehirlenmesi (PSP), Diyaretik Kabuklu Su Ürünleri Zehirlenmesi (DSP), Nörotoksik Kabuklu Su Ürünleri Zehirlenmesi (NSP), Amnezik Kabuklu Su Ürünleri Zehirlenmesi (ASP), Ciguatera Balık Zehirlenmesinde oynadıkları role göre pek çok farklı toksin üretilir, gruplanır. Her türün veya hatta her soyun, halk sağlığı ve kabuklu deniz ürünü kullanımı için ana tehdidi teşkil eden kendine özel bir toksin profili vardır. Bu tür fitoplankton patlamalarının balıkçılık, su ürünleri yetiştiriciliği ve kapsamında yüzme suyu kalitesi de olan turizm sektörü üzerinde büyük ekonomik etkileri olabilir. UNEP Küresel Çevre programına (2002) göre, yıllar içinde Kore’de tek bir HAB olayı nedeniyle yaklaşık 133 milyon ABD doları tutarında ekonomik kayıp yaşandı.

Ostreopsis spp. (Sınıf: Dinophyceae, Tür: *Ostreopsis*) mikroalgleri tek hücreli epifitik bentik dinoflagelatlar: önceleri, sadece tropikal ve sub-tropikal bölgelerde koloni kurdukları düşünülüyordu (Pasifik Okyanusu, Karayip Denizi, Japonya’daki Ryukyu Adası), ancak günümüzde ılık denizlerde de gitgide daha sık tespit edilmektedirler. Bu da, bentik ortamdaki coğrafi yayılmalarını ortaya koymaktadır. Akdeniz bölgesinde, *Ostreopsis spp.*’nin ortaya çıkışı ve çoğalması ilk kez 1970’lerin sonunda ve 1980’lerde kaydedilmiştir. Familya içindeki en küçük türlerin varlığı olan *Ostreopsis ovata* ilk kez 1994 yılında, Lazio bölgesindeki kıyılarda kayıtlara geçmiştir. O zamandan bugüne, *O. Ovata* varlığı İtalya sahil şeridinde, Cenova körfezi ve Trieste körfezi gibi kuzey bölgeler de dâhil birkaç kez kayda geçmiştir.

Ostreopsis spp., 1995 yılında *O. Siamensis*’ten izole toksin üretmiş ve palitoksin (PTX) benzeri bileşenler olarak nitelendirilmiştir. PTX, lipofilik/hidrofilik alanları olan polietoksillenmiş bir polieterdir (MW = 2,680 Da). İsmi, Palythoa familyasının yumuşak mercanlarının ürettiği toksinle olan benzerliğinden ileri gelir. O zamandan bu yana, en az 8 farklı PTX analogları bilinmektedir: PTX, ostreocin-D, İtalya’da *O. Ovata* tarafından üretilen birkaç ovatoksin (a-f), omoPTX, neoPTX, bishomoPTX ve 42-OH-PTX.

Akdeniz’de son 10 yılda familya *Trichodesmium* familyasına ait siyanobakteriler tespit edilmiş ve son dönemde bunların PTX benzeri, tam da *O. Ovata* gibi bileşenler ürettiği ortaya konmuştur. Bu husus da, PTX bugüne dek izole edilmiş doğal menşei en toksik bileşenlerden biri olarak görüldüğünden insan sağlığı açısından büyüyen bir endişe kaynağı olmuştur.

PTX, Na⁺/K⁺-ATPase (moleküler hedefi, membran potansiyelini kontrol etmede rol alır) membranının işlevine zarar verir. Enzimler, ikisinin de eğilimi çok yüksek iki bağlanma bölgesine işaret eder (Km₁=25 pM ve Km₂=1.5 nM). Birincil etki (bölgeye daha yüksek eğilimle ile bağlanmadan kaynaklanan), iyonlara karşı membran geçirgenliğinin artışıdır. PTX konsantrasyonu diğer bölgeye bağlanmaya yetecek yüksekliğe ulaştığında, Na⁺/K⁺- inhibe edilir. Pompayı, özellikli olmayan bir katyonik kanala dönüştürmesi gerekir.

Tropikal ve sub-tropikal bölgelerde kontamine balık ve kabuklu ürün tüketiminden sonra insanlarda, ölümlü sonuçlanan zehirlenme vakaları. Diğer intoksikasyon vakaları, yalnızca semptomlar esas alındığında bu toksinle ilişkilendirilmiştir. Akdenizde İspanya, Fransa ve İtalya kıyı şeridinde ve Akdeniz kıyılarının diğer bölümlerinde *Ostreopsis spp.* artarak çoğalırken, insan intoksikasyonu olaylarını da beraberinde getirmiştir.

2.2. İnsan Maruziyeti

İnsan maruziyeti aşağıdaki şekillerde meydana gelebilir:

- Kontamine deniz ürünleri (özellikle yumuşakçalar ve kabuklular) ve yüzme ya da rekreasyon amaçlı faaliyetler sırasında yutmaya bağlı olarak ağız yoluyla
- Yüzme ve profesyonel faaliyetler sırasında deri yoluyla
- Deniz suyu serpintilerine bağlı olarak solunum yoluyla

Gıda ağında PTX birikmesi, yenilebilir organizmalarda (kabuklu ürünler, balık, yumuşakçalar, ekino-derimler) ciddi konsantrasyonlara ulaşılmasına yol açabilir.

2.2.1 Ağız yolu: Tropikal ve sub-tropikal bölgelerde ölümlü sonuçlanan bazı intoksikasyon vakaları literatürde bildirilmiştir. Öte yandan, Akdeniz bölgesinde kabuklu su ürünleri ile deniz kestanelerinin kontaminasyonu görülmüş olmakla birlikte ağız yoluyla maruziyetin (yüzme faaliyetleri sırasında yutma dâhil) ardından hiçbir insan toksikasyonu bildirilmemiştir.

İtalya'da, ovatoxin-a (303-625 µg/kg) varlığı esas olarak kayalık kıyılarda toplanan vahşi midyelerde bildirilmiştir. Fransa'da kontaminasyon, toplam deniz kestanesi etinin 450 µg PLTX eq/kg ve toplam midye etinin 230 µg PLTX eq/kg'lık kısmına ulaşmıştır.

Bununla birlikte, PLTX'ler ve ilgili toksinlerin rutin testi yapılmamaktadır. Aslına bakarsanız, hiçbir İtalyan/AB mevzuatında hâlihazırda izleme programlarına alınmamışlardır.

PTX için toksikolojik veri tabanı sınırlıdır. Hemen hemen tamamıyla, birkaç yoldan uygulama ile kemirgenler üzerinde yapılmış akut toksisite çalışmalarından ibarettir.

PTX toksisitesi büyük oranda uygulama yoluna bağlıdır; deney hayvanlarında PTX ve ostreocin-D ağız yoluyla uygulamanın ardından, parenteral uygulamaya kıyasla çok daha az toksiktir (yaklaşık 1000 kat). Farelerde, ağız yoluyla LD50 = 510-767 µg/kg b.w. değeri tahmin edilmiş; toksisitenin son noktası olarak yalnızca ölüm değerlendirilmiştir (uygulamadan sonraki 24 saat içinde meydana gelir). Gözlem dönemi boyunca, farelerden bazılarında kaşınma, sıçrama, arka bacaklarda felç, solunum güçlüğü ve zaman zaman siyanoz görülmüştür.

2004 yılında, Roma'daki Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), 'Marine Biotoxins' adında ve bir dizi toksin hakkındaki mevcut verileri gözden geçiren (azaspiraci, palitoksinler, brevetoksin, döngüsel imin, domoik asit, okadaik asit, pektenotoksin, saksitoksinler, yessotoksin, ciguatoksinler) bir kitapçık yayınlamıştır (<http://www.fao.org/docrep/007/y5486e/y5486e00.HTM>). Ortak FAO/IOC/WHO özel görevli Uzman İstişare Grubu, mevcut bilgiler ışığında, tabloda da gösterildiği üzere, bu toksin grubu için geçici akut referans dozları (ARfD) önermiştir.

Tablo1. ArfD'nin elde edilmesinde kullanılan özet veriler ve mevcut rehber düzeylerde

Toksin grubu	LOAEL ^{1,2} NOAEL ⁽²⁾ µg/kg vücut ağırlığı	Güvenlik faktörü (İnsan verisi (H) Hayvan verisi(A))	Geçici akut RfD ¹	100 g (1), 250 g(2) ve 380 g (3) dayalı olarak elde edilen rehber değer	AB mevzuatında mevcut olarak uygulanan limit değer
AZA	0.4 (1)	10 (H)	0.04 µg/kg 2.4 µg/adult ^(a)	0.024 mg/kg SM (1) 0.0096 mg/kg SM (2) 0.0063 mg/kg SM (3)	0.16 mg/kg SM
BTX			N/A		
Siklik imin			N/A		
DA	1,000 (1)	10 (H)	100 µg/kg 6 mg/adult ^(a)	60 mg/kg SM (1) 24 mg/kg SM (2) 16 mg/kg SM (3)	20 mg/kg SM
OA	1 (1)	3 (H)	0.33 µg/kg 20 µg/adult ^(a)	0.2 mg/kg SM (1) 0.08 mg/kg SM (2) 0.05 mg/kg SM (3)	0.16 mg/kg SM
PTX			N/A		0.16 mg OA equivalents/kg SM
STX	2 (1)	3 (H)	0.7 µg/kg 42 µg/adult ^(a)	0.42 mg/kg SM (1) 0.17 mg/kg SM (2) 0.11 mg/kg SM (3)	0.8 mg/kg SM
YTX	5,000 (2)	100 (A)	50 µg/kg 3 mg/adult ^(a)	30 mg/kg SM (1) 12 mg/kg SM (2) 8 mg/kg SM (3)	1 mg/kg SM

SM: kabuklu deniz hayvanı eti; LOAEL:Lowest Observed Adverse Effect Level; NOAEL: No Observed Adverse Effect Level;N/A: mevcut değil, AB: Avrupa Birliği(a): 60 kg'lık vücut ağırlığı olan kişi

Akut referans doz, normal şartlarda, vücut ağırlığı (bw) esas alınarak (mg/kg veya µg/kg vücut ağırlığı) ifade edilen, 24 saat veya daha kısa bir sürede, değerlendirme esnasında bilinen bütün gerçekler esas alındığında tüketici üzerinde dikkate değer bir sağlık riski oluşturmaksızın vücuda alınabilen gıdadaki madde miktarının tahminidir (JMPPR, 2002). Ayrıca rehber düzeyler, bir yetişkin tarafından 100 gr, 250 gr veya 380 gr kabuklu su ürünü eti tüketimi esas alınarak sonuçlar arasında kıyaslama neticesinde elde edilir. Bununla birlikte, Uzman İstişaresi sonucunda, risk değerlendirmesinde zaman zaman kullanılan standart 100 gr porsiyonun akut riskin değerlendirmesinde yeterli olmadığı tespit edilmiştir. Öte yandan 250 gr porsiyon, haklarında mevcut veri olan pek çok ülkenin tüketicilerinin %97,5'ini kapsar.

Sınırlı veri tabanı nedeniyle PTX için hiçbir ARfD çıkarılamamıştır; öte yandan, STX gibi başka toksinler için bir referans değeri mevcuttur ve bu değer örnek olarak alınacaktır.

Paralitik kabuklu su ürünü zehirlenmesine neden olan toksinler (PSP) veya saksitoksinler, bir tetrahidropurin grubu ve 2 guanidin alt ünitesinden meydana gelen aynı molekülün 20'yi aşkın konjenerinden oluşan bir familyadır.

Önleme programlarının etkin bir biçimde uygulanmadığı ülkelerde halen STX ile kontamine olmuş deniz ürünlerinin alınmasına bağlı insan ölümleri meydana gelmektedir. Ayrıca her yıl dünya çapında, %15 mortalite oranı ile 2000'i aşkın gıda kaynaklı PSP insan vakasının meydana geldiği tahmin edilmektedir.

Türlerine bağlı olmak üzere, farelerdeki STX toksisitesi kayda değer oranda değişiklik gösterebilmektedir. Farelerde 10 µg/kg'da i.p LD50 ve 263 µg/kg bw'de oral LD50 ile STX en toksik türdür.

7,8,9-guanidin fonksiyonunun toksik etkide rol oynadığı tespit edilmiştir: karbomil grubu yan zincirin çıkarılması, orijinal toksik aktivitenin yaklaşık %60'ını temsil eden bir molekülü oluşturmaktadır.

Etki mekanizması, nöronal hücrelerdeki Na-kanallarının bloke edilmesi ile kardiyak hücrelerdeki Ca⁺⁺ ile K⁺'nin bloke edilmesine dayanır. Bu suretle, periferik sinirlerde ve iskelet veya kalp kaslarında elektrik iletiminin yayılmasını önler. Bunun sonucunda, kas ve solunum felci meydana gelir. Memelilerde görülen tipik nörolojik semptomlar; birkaç dakika içinde ölüme sonuçlanan gerginlik hali, sıçrama, ataksiya, kasılma ve felç şeklinde tarif edilir.

İnsanların farklı STX'lere reaksiyon düzeyi ciddi farklılıklar gösterir: 140-300 µg STX eq/insan'ın herhangi bir semptom oluşturmadığı veya hafif semptomlar oluşturduğu bildirilirken; bir vaka raporunda, kişi başına »300 µg PSP toksinin ölümcül olabileceği gösterilmiştir (FAO, 2004). 460-12400 µg STX eq/insan alımını takiben, hafif ila orta şiddetli semptomlardan felce ve ölüme kadar uzanan geniş çaplı etkiler bildirilmiştir (FAO, 2004).

Bu yüksek oranda çeşitlilik, bireysel yatkınlıklar arasındaki farkların yanı sıra farklı STX varyantlarına gerçek maruziyet düzeyinin tespitindeki belirsizliklere atfedilmiştir.

Semptomlar, hafif ila orta şiddette olduğunda, STX intoksikasyonu sonucunda genellikle tam iyileşme gerçekleşir. Ölümle sonuçlanan vakalarda ise, PSP ile kontamine olmuş gıdanın tüketimini takip eden 2 ila 12 saat içinde solunum felci meydana gelir (FAO, 2004).

PSP intoksikasyonu hakkındaki veriler, bireyler arası yatkınlıktaki olası farklılıklar da kapsanarak oldukça geniş bir maruz popülasyondaki pek çok bireyde gözlenen etkilerden çıkarılır. Dolayısıyla, sağlık bazlı referans değeri elde edilirken bir belirsizlik faktörü kullanılmasına gerek yoktur.

Aynı veriler, deniz ürünlerindeki güvenli kontaminasyon düzeyinin tanımlanması için AB tarafından da incelenmiştir.

Yukarıda anlatılan veriler esas alındığında, kişi başına <150 µg STX doz (60 kg vücut ağırlığı varsayıldığında ≈2.5 µg STXeq/kg bw karşılık gelir), kayda değer akut etkilere neden olmayan bir doz olarak düşünülebilir. 200 gr kabuklu su ürünü eti tüketimi esas alındığında, Avrupa Birliği (EU) ürünün insan tüketimine yönelik olarak pazarlanıp satılması için PSP toksin sınırını 80 µg STX eq/100 gr deniz ürünü (91/492/EEC sayılı AB Direktifi) olarak belirlemiştir. Aynı sınır değeri, başka ülkelerin yanı sıra ABD, Avustralya ve Japonya tarafından da benimsenmiştir. Öte yandan, 160 µg STX eq/100 gr'a kadar olan düzeyler arasında yumuşakça ve midyelerin konservelenmesine izin verilen Kanada gibi başka ülkeler daha yüksek düzeyleri tolere edilebilir kabul etmiştir (FAO, 2004).

AB tarafından benimsenen en muhafazakar değerde dahi, mevzuatta belirtilen sınır ile şiddetli intoksikasyonlara veya ölüme yol açan doz arasındaki güvenlik marjı oldukça küçük (<10) görünmektedir; bir başka deyişle, akut etkilere ilişkin doz-yanıt eğrisi oldukça dik olduğundan, sınıra yakın maruziyetlerde tedbirli olma gereği ortaya çıkmaktadır. Halihazırda, izleme çalışmaları fareler üzerindeki biyolojik deneylere (resmi analiz yöntemi) dayandığı sürece daha düşük tolerans düzeyi belirlemek ne pratik ne de gerçekçi olacaktır; zira, hassasiyeti sınırlıdır (tespit sınırı ≈ 40 µg STX eq/100 gr kabuklu su ürünü). En azından şu an için, 2.5 µg STX/kg bw'ya yakın veya bunu aşan akut maruziyetlerin akut risk teşkil ettiği sonucuna varılabilir.

Daha yakın geçmişte, Molluscan Bivalves'daki biyotoksinler hakkında toplanan Ortak FAO/WHO/IOC özel Uzman İstişare Grubu, STX'i yeniden değerlendirmiştir. Yukarıda anlatılan aynı veri setine dayanılarak, 2.0 µg/kg bw (önceden NOAEL olarak değerlendirilen) değerinde geçici bir LOAEL tespit edilmiştir. Bu da, NOAEL yerine LOAEL değerinin kullanılmasını meşrulaştırmak amacıyla güvenlik faktörü olarak 3'ün uygulanmasının ardından, geçici 0.7 µg STX eq/kg bw değerinde bir ARfD sonucunu doğurmuştur.

ARfD, 60 kg vücut ağırlığındaki bir yetişkinde 42 µg STX eq/insan'a karşılık gelmektedir. Yetişkin başına 250 gr kabuklu su ürünü tüketildiği varsayıldığında (haklarında mevcut veri bulunan pek çok ülkedeki tüketicilerin %97,5'ini kapsar), 17 µg STX eq/100 gr bir kılavuz değeri elde edilebilir. Bu da, pek çok ülke tarafından benimsenen mevcut yasal sınırın yaklaşık ¼'üne karşılık gelir.

Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA), faaliyetleri kapsamında aynı zamanda deniz biyotoksinlerini de dikkate almıştır. EFSA'nın, Gıda Zincirindeki Kontaminantlar Paneli (CONTAM Paneli) 2007'den bu yana çeşitli deniz biyotoksinleri hakkında, Avrupa Birliği'nin (AB) AB mevzuatında belirlendiği şekliyle insan sağlığı ve analiz yöntemleri sınırlarını değerlendirmek üzere bir dizi görüş benimsemiştir:

okadaic acid (OA) and analogues,

- √ azaspiracid (AZA)-group toxins,
- √ yessotoxin (YTX)-group toxins,
- √ saxitoxin (STX)-group toxins,
- √ pectenotoxin (PTX)-group toxins,
- √ domoic acid (DA),
- √ **palytoxin (PTX)-group toxins,**
- √ ciguatoxin (CTX)-group toxins,
- √ cyclic imines (CIs)
- √ brevetoxin (BTX)-group toxins.

Ayrıca, bivalve yumuşakçalarda ürün işlemenin lipofilik deniz biyotoksini düzeyleri üzerindeki etkisi hakkında bir bildiri ve hâlihazırda yasal düzenlemesi olan deniz biyotoksinleri ile ilgili bir görüş özeti yayınlamıştır.

PTX ile ilgili veri seti dikkate alındığında (<http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/1393.htm>), EFSA insan vakalarından yola çıkılarak akut toksisite ile ilgili güvenilir niceliksel veri bulunmadığı, dolayısıyla da hayvan verileri esas alınarak herhangi bir referans değerinde elde edilmemesi gerektiği sonucuna varmıştır. Aslında PTX toksisitesi ile ilgili görüşünde, 200 µg/kg b.w. farelerde LOAEL'i referans noktası olarak kullanarak EFSA, kemirgenler üzerinde yapılmış mevcut bir dizi vivo oral (gavaj) akut toksisite çalışmasından bir ARfD elde etmiştir. PTX'in 200 µg/kg b.w. dolaylarında dilaltı uygulamasının iç organlarda toksisiteye neden olduğu fark edilmiştir. PTX'in ağızda mukozalar arası taşınması göz ardı edilemediğinden, CONTAM Paneli; varsayılan belirsizlik faktörleri türü 10 ve türler arası varyant için 10'a ek olarak, PTX ile ostreosin-D toplamına uygulanan 0,2 µg/kg b.w.'nin oral ARfD'sini elde etmek için fazladan belirsizlik faktörü 10 uygulamaya karar vermiştir.

Bu temel üzerinde, kabuklu su ürünlerinde bulunan PTX ile ilgili bileşenlerinin azami konsantrasyonları, kabuklu su ürünü etinde 30 µg/kg hesaplanmıştır. Bu hesaplamada, yüksek tüketicileri deniz biyotoksinlerinin akut etkilerinden korumak amacıyla, risk değerlendirmelerinde kullanılmak üzere 60kg vücut ağırlığı ile 400gr deniz ürünü porsiyon tüketimi (EFSA, 2009) Avrupa'da tüketilen büyük porsiyon için uygun bir tahmin olarak dikkate alınmıştır (EFSA, 2010).

PTX tespiti yöntemlerine gelince, farelerde uygulanan biyolojik teknikler (MBA), PTX grubu toksinlerin tespitinde geleneksel olarak kullanılan yöntemlerdir. İntraperitoneal enjeksiyonla MBA'da PTX için 24 saatlik LD₅₀ değeri kısa bir süre önce 0.295 µg/kg- olarak belirlenmiştir. Bu değer, akut oral toksisiteye kıyasla 3 büyüklük kertesini daha yüksektir. Son dönemde, alternatif olarak hücre temelli teknikler geliştirilmiş, immün tespitinden alınan sonuçlar ümit vadetmektedir.

Bununla birlikte, MBA da dâhil olmak üzere her türlü biyolojik yöntemden elde edilen pozitif sonuçların kimyasal yöntemlerde teyit edilmesi gerekmektedir. Yüksek performanslı sıvı kromatografi-floresan tespiti (HPLC-FLD) ve sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) yöntemleri belirleme açısından değerli araçlar olabilir; ancak sertifikalı referans materyaller ile standartlar kadar yöntem optimizasyonu ve validasyonu da gereklidir.

EFSA'nın tavsiyeleri aşağıda verilmiştir:

- Kabuklu su ürünleri ile diğer deniz ürünlerinde PTX grubu toksinlerin varlığına ilişkin daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır.
- Üye devletlerde PTX grubu toksinlere bağlı zehirlenme vakaları için, gerçek olay ve maruziyet yolları hakkında bilgi edinebilmek amacıyla bildirim sistemleri kurulmalıdır.
- PTX'in toksikolojik profili hakkında daha iyi verilere ihtiyaç vardır.
- PTX grubu toksinlerin yüksek akut toksisitesi ve artan oluşumları nedeniyle, insan sağlığını korumak için uygun stratejilerin geliştirilmesi gereklidir.

Şu ana dek, tekrarlayan PTX toksisitesi hakkında herhangi bir veri mevcut olmamıştır. Çok kısa süre önce, yedi günlük PLTX uygulamasının öldürücü olduğu ve günlük $\geq 30 \mu\text{g}/\text{kg}$ dozlarda toksik etkilerin görüldüğü bildirilmiştir. Geçici akut altı NOAEL'in (kullanılan hayvan sayısının sınırlı olması nedeniyle) günlük $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ eşdeğerinde olduğu (akut değerden yaklaşık 100 kat daha düşük) tahmin edilmişti. Bu da, son derece dik bir doz-cevap eğrisine işaret etmektedir. Tedavi döneminde ölen farelerde gastrointestinal düzeyde makroskopik değişiklikler gözlemlenmiştir. Histolojik analiz sonuçları, yerel olarak akciğer ve miyokardiyum hasarı düzeyinde nekroz ile ilişkilendirilen şiddetli enflamasyonu vurgulamıştır. Kalpte hasar, toksinin kalp kası hücreleri üzerindeki in vitro etkisiyle de desteklenmiştir.

2.2.2. Deri Maruziyeti

İtalya sahilleri boyunca kayda alınan ilk sağlık sorunlarında, Toskana ve Apulia'da hem deniz suyu-na hem de/veya deniz suyu serpintisine maruz kalan insanlarda genel rahatsızlıklar tanımlanmıştır. Daha sonra, rinore, öksürük, nefes darlığı ve ateş gibi semptomlar, Bari sahilindeki patlamalarla ilişkilendirilerek tanımlanmıştır. Nadiren, yüzme faaliyetlerinden sonra dermatit vakaları bildirilmiştir. Ancak, başka bölgelerde dermal toksisite PLTX benzeri moleküllerle ilişkilendirilmiştir.

Akvaryum dekorasyonunda mercan olarak kullanılan zoantidlere (*Palythoa*) temasın ardından deri toksisitesi vakaları bildirilmiştir: ısrarlı dermo-toksisite ve perioral parestezi belirtileri sağlıklı cilde sahip bir hastada PLTX ile ilişkilendirilmiştir.

PTX içeren zoantid mercanlarını (*Parazoanthus* spp.) taşıyan bir deri toksisitesi vakasında hasta, akvaryumunu temizlerken parmaklarını kesmiştir. Yaralanan alanın etrafında şişlik, parestezi ve hissizlik ile birlikte dermal distres, ayrıca sistemik semptomlar kaydedilmiştir.

Bu dermatit vakasının esas sebebi henüz kuşku götürmez bir biçimde belirlenememiştir. Hâlihazırda, PTX deri toksisitesi hakkında çok az veri mevcuttur.

2.2.3. Soluma

İtalya'da insanların deniz suyu serpintilerine ve/veya *O. Ovata* çoğalması beraberinde deniz suyuna maruziyeti, temel olarak üst solunum yolunu etkileyen semptomlarla ilişkilendirilmiştir. Halsizlik vakaları ile algal toksinler arasındaki sebep-sonuç ilişkisi tamamen aydınlatılmamıştır. Deniz suyunda tespit edilen *Ostreopsis* hücreleri konsantrasyonları, dinoflagelatlar toksin ürettiklerinde dahi her zaman aynı miktarda toksin üretmedikleri için insan riski açısından tahmin olanağı sunmaz. *Ostreopsis* hücre debrisisi aynı zamanda deniz suyu serpintisinde de var olabilir, katkısı göz ardı edilmemelidir.

Her hâlükârda, *Ostreopsis* patlamalarıyla ilişkilendirilen sağlık sorunlarının yinelenmesi bu olaylar arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

En ciddi sağlık sorunları 2005 yazında ve daha düşük bir yoğunlukla 2006 yılında, Liguria kıyılarında meydana gelmiş; Cenova sahilini kullanan ve sahilde gezinen 200'ü aşkın kişi ateş, boğaz ağrısı,

öksürük, nefes darlığı, rinore, baş ağrısı, bulantı, kusma, göz yaşarması gibi geniş bir spektruma yayılan semptomlarla kendini gösteren, alışılmamış, grip benzeri bir sendromdan muzdarip olmuştur. Hastaların yaklaşık %20'sinin hastaneye yatırılması (1-3 gün) gerekmiş; bazıları için ise yerel hastanelerin yoğun bakım ünitelerine ihtiyaç duyulmuştur.

Ayrıca, *Ostreopsis* patlamaları sırasında serpinti ve/veya deniz suyuna maruziyetin ardından sıklıkla deride irritasyon gözlemlenmiştir. 2005 yazında, dermatit insidansı %5 idi.

Cenova'da tarif edilenlere benzer semptomlar İtalya'nın başka sahillerinde de bildirilse de, *O. Ova-ta* patlamaları olması halinde diğer AB ülkelerinde de PTX soluma toksikolojisi hakkında kesin veriler elde edilememiştir. Net bir sonuca varılmadığı gibi, herhangi bir referans değer de elde edilmesi şu an için mümkün değildir.

Cenova'da 2005 yılında yaşanan olayın hemen ardından, 'kırmızı gel-git' adı verilen Meksika körfezinde meydana gelen *Karenia brevis* patlamaları arasında bir paralel çizilmiştir. *K. Brevis*, ağız yoluyla (kontamine olmuş deniz mahsulleri aracılığıyla) vücuda alındıktan sonra, Na⁺ kanallarının aktifleşmesine bağlı olarak nörolojik semptomlara ve akut gastroenterite neden olan brevetoksin (PbTX) üretir. *Karenia brevis* patlamalarının varlığı halinde solumayı takiben, maruz kalan bireyler nefes alma güçlüğü ve üst solunum yolunun orta ila şiddetli irritasyonundan şikâyetçi olmuşlardır.

Kontamine olmayan serpintiye ve PbTX içeren serpintiye (münferit numune alıcılar kullanılmıştır) maruz bırakılan sağlıklı gönüllüler ve solunum sistemi hastalıkları olan (astım, KOAH) bireyler üzerinde kontrollü maruziyetle bazı çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Serpinti numunelerinin nitelikleri aşağıdaki gibi saptanmıştır: PbTX içeriği, partiküllerdeki MMAD ve pH. Ayrıca, çevresel koşullar da kayıt altına alınmıştır (bir başka deyişle, rüzgâr varlığı ve yoğunluğu, yönü, nem, sıcaklık). Yapılan bu çalışmalar, PbTX içeren serpinti ile üst solunum yolunun irritasyonu arasında bir ilişki olduğunu, hâlihazırda solunum sistemi rahatsızlığı olan kişilerde şiddetinin arttığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, bazı sınırları vardır: esasında, patlama sırasında oluşan serpintinin nitelikleri belirlendiğinde, PbTX'in yanı sıra, hücre debrisisi, bakteriler ve MMAD'si üst solunum yolunda biriktiğinde irritasyona katkıda bulunan diğer bileşenlerin varlığı ortaya konmuştur.

Sonuç olarak, PbTX için olduğu gibi PTX ve ilgili bileşenlerin de soluma toksisitesini destekleyen bir dizi kanıt bulunmasına karşın, kesin sonuçlar çıkarılamaz. Öte yandan, serpinti içindeki toksinlerin tespit edilmesi olasılığından başlamak üzere daha fazla veriye acil ihtiyaç olduğu da son derece açık bir biçimde ortaya çıkmıştır.

(EPİDEMİYOLOJİK VE ÇEVRESEL) İZLEME İLE OSTREOPSIS'İN SAĞLIK ETKİLERİNİN ÖNLENMESİNİN FRANSA'DA AKDENİZ KIYI ŞERİDİNDE 2007 İLE 2010 YILLARI ARASINDAKİ BİLANÇOSU

Dr Alexis Armengaud, Cire sud, InVS / ARS Paca, Marseille, France

3.1. Özet

Son derece uygun iklimsel koşullar, tropikal toksik bir mikro alg olan « *Ostreopsis* »in Akdeniz boyunca gelişmesine imkân vermiştir. Kontamine olmuş olan deniz serpintilerinin solunması, 2004 yılında Barcelona'nın kuzeyinde ve 2005 yılında Cenova'da 225'i acil durum olarak kabul edilen ve 20'si hastanede yatılı olmak üzere (ateşli solunum yolu sendromları ve deri tahrişi ile kulak burun boğaz sendromları olarak) önemli miktarda salgına neden olmuştur. 2006 yılında Marsilya'da Frioul adasındaki bir koyda yüzen birkaç kişide de aynı şekilde *Ostreopsis*'e bağlı semptomlar kendini göstermiştir.

Aynı şekilde 2007 yılından bu yana, Sağlık Genel Müdürlüğü (DGS) epidemiyolojik ve çevresel bir izleme ile yüzme sularında *Ostreopsis* mevcudiyetine bağlı riskleri önlemeye yönelik bir yönetimi birbirine bağlayan türden bir düzenlemeyi uygulamaya koymuştur. Bu düzenleme, Akdeniz kıyısındaki 9 departmanı kapsamakta olup, Ifremer, Marsilya Anti-zehir Merkezi (CAP), Bölge Sağlık Ajansları (ARS) ve Güney Cire ve Languedoc-Roussillon Bölgesi Sağlık İzleme Enstitüsü (Cire) gibi partnerleri devreye sokmaktadır. Uzmanları, değerlendiriciler ile risk yöneticilerini bir araya getiren karar vermeye yardımcı olan bir birim (CAD), ilgili belediye başkanları ve valilere, tedbir ve risk yönetimi önlemleri önermektedir. Özellikle *Ostreopsis* patlamalarının meydana gelme sebepleri ve bu algın sağlık açısından bir risk oluşturabilmesi için deniz suyundaki konsantrasyon düzeyleri hakkındaki bilinmeyenlerin varlığı dikkate alındığında, bu araştırma amaçlı izleme 2007 ile 2009 yılları arasında yürütülmüştür. Bu yüzme alanları izlemesi, özellikle toksik gıda riskleri (deniz ürünlerinde *Palitoksin* biyo-birikimi) üzerine yapılan araştırma faaliyetlerine bağlanmıştır.

2007 ve 2008 yıllarında yüzücülerde gözlenen ve *Ostreopsis*'e maruziyete bağlı olduğundan şüphelenilen semptomlar zararsız olarak nitelendirilmiştir (oral-yutak mukozalarından tahriş ile ateşli veya ateşsiz göz ve/veya deri tahrişi). Şüpheli olarak belirtilmiş insan vakaları sayısı az olmuştur. Son olarak bu 2 yıllık izleme üzerinden *Ostreopsis* ile kontamine olmuş deniz serpintilerine bağlı hiçbir toplu maruziyet durumuna karşılaşılmamış ve hiçbir ateşli solunum yolu patolojisinin ortaya çıktığı gözlemlenmemiştir.

Aynı şekilde 2009 yılında, *Ostreopsis* yoluyla kontamine olmuş deniz serpintilerine maruziyete bağlı ve deniz ürünlerinde *Palitoksin* nedeniyle toksik gıda risklerine bağlı olarak toplu semptomların ortaya çıkması sonucu verilen alarmlar kısıtlı kalmıştır. Alarm düzeyleri (yüzme alanları üzerindeki deniz suyunda *Ostreopsis* konsantrasyonları) 4 000'den 30 000C/L deniz suyuna ve 30 000'den 100 000C/L'ye doğru yükseltilecek ve deniz serpintileri risklerine yönelik meteorolojik tahminler dahil edilerek tekrardan ayarlanmıştır. Neticede departman tarafından aylık 2 ila 4 numune alımı amacıyla gözlem amaçlı 2 yüzme alanı üzerinde hızlı testler uygulamaya konmuştur.

2009 yılında, CAP Marsilya tarafından birçok şüpheli olarak gruplandırılmış insan vakası bildirilmiş olsa da, hiçbir toplu olgu saptanmamıştır. Bu vaka grupları yoluyla hedef olan alanlar üzerinde hızlı testlerle yapılan kontrol, önleyici tedbirlerin alınmasına (halkın bilgilendirilmesi, yüzme alanının geçici

olarak yasaklanması) elverişli bir uygulamaya imkan veren süreler içerisinde gerçekleştirilememiştir. Son olarak beslenme planı üzerinde, deniz ürünlerinde *Palitoksin* için sınır değerini aşılması durumu *Ostreopsis* patlamalarının olduğu alanlar üzerinde gözlemlenmiş olup, bu riskli alanlarda deniz ürünlerinin tüketilmesine yasaklar getirilmiştir.

DGS/EA3/EA4/2010/238 sayılı ve 30 Haziran 2010 tarihli Sağlık Genel Müdürlüğü birim notu ile, yüzmeye sularında toksik mikro alg *Ostreopsis* mevcudiyetine bağlı insan vakalarının oluşmasını önlemek için yüzmeye sezonu boyunca Fransa'nın Akdeniz'e kıyısı olan bölgelerindeki Bölge Sağlık Ajansları ile belediyelerinin uygulamaya koyacağı sağlık ve çevresel izleme modellerinin yanı sıra yönetim modelleri tanımlanmıştır. Bu birim notu aynı zamanda Akdeniz'de hobi amaçlı balıkçılığa konu olan ve toksik *Ostreopsis* tarafından kirletilebilecek olan deniz ürünlerinin tüketimine bağlı oluşan sağlık risklerinin yönetim önlemlerini de tanımlamaktadır.

Bu izleme deneysel olarak kalmakla birlikte, Akdeniz kıyısındaki yüzmeye alanları izleme noktalarının çoğunda yüzmeye alanı izlemesinin genişletilmesi ve *Ostreopsis* hakkında bilgilendirmenin ilgili belediye başkanlarına yönelik olarak kuvvetlendirilmesi uygun görülmektedir. Plajlardan sorumlu yerel aktörler arasında "denizanası" riski görünümündeki bu sorunu yönetmek ve *Ostreopsis* tarafından kontamine olmuş deniz serpintilerine maruziyeti öngörmek ve engellemek için daha iyi bir şekilde konumlandırılmışlardır. Son olarak, *Palitoksinlere* yönelik Avrupa toksikolojik gıda eşiklerinin düşürülmesi, *Ostreopsis* tarafından kontamine olmuş yüzmeye ve hobi amaçlı balıkçılık alanları üzerinden daha kuvvetli bir deniz ürünü (deniz kestaneleri, midyeler, balıklar) toksikolojik izlemesi yapılmasını dayatmaktadır.

Anahtar kelimeler

Ostreopsis / Epidemiyolojik izleme, sağlık tedbiri

3.2. Kapsam

Daha çok *palitoksin* ve türevlerini içeren tropikal ortamlarda *Ostreopsis* türü potansiyel olarak benetik toksik mikro-algın (dinoflagelat) Akdeniz denizinde gelişmesinin kökeninde muhtemelen uygun iklimsel koşullar yatmaktadır [1-3]. 2004 yılında Barselona'nın (İspanya) kuzeyinde ve 2005 yılında Cenova'da (İtalya) ateşli solunum yolu sendromları ile deri tahrişleri veya üst solunum yolları sendromları ile baş gösteren dikkate değer salgınlardan, kontamine olmuş deniz serpintilerinin tenefüssü ise, sorumludur [3-6].

2006 yılında Marsilya'da Frioul adasında küçük bir koyda bulunan bazı kişilerde *Ostreopsis* maruziyetine bağlı sendromlar görülmüştür [6]. Aynı şekilde 2007 yılından beri, Sağlık Genel Müdürlüğü (DGS) epidemiyolojik ve çevresel bir izlemenin yanı sıra yüzmeye sularında *Ostreopsis* mevcudiyetine bağlı risklere yönelik tedbirsel yönetimi birbirine bağlamıştır.

Bu düzenleme, Akdeniz kıyısındaki 9 departmanı kapsamakta olup, Fransız deniz işletimi araştırma enstitüsü (Ifremer), Marsilya anti-zehir merkezi (CAP), bölge sağlık ajansları (ARS) ve Marsilya ile Montpellier bölgeleri arası epidemiyoloji birimlerini bir araya getirmektedir. Halk sağlığı bakımından potansiyel bir tehdidin olması halinde, uzmanları, değerlendiricileri ve risk yöneticilerini bir araya getiren karar vermeye yardımcı bir birim (CAD) ulusal protokol tarafından öngörülen koşullar yerine getirildiğinde ilgili belediye başkanlarına ve valilere tedbir ve risk yönetimi önlemleri önerir.

Özellikle *Ostreopsis* patlamalarının (kuvvetli patlamaların) ortaya çıkma nedenleri ile bu algın deniz sularında sağlık açısından bir risk oluşturabilecek konsantrasyon düzeyi hakkında bilinmeyenlerin varlığı dikkate alındığında, özellikle toksik gıda riskleri (*palitoksin* ve türevlerinin deniz ürünlerinde biyo-birikimi) üzerine olan araştırma eylemlerini bir araya getiren bu keşifsel izleme 2007 ve 2010 yıllarında gerçekleştirilmiştir [7;8].

3.3. İzleminin Amacı

İzleme düzenlemesi öncelikli olarak 2005 yılında Cenova'da gözlemlenmiş olan *Ostreopsis* türü tarafından kontamine olmuş deniz serpintilerine maruziyete bağlı olarak toplu vakaların oluşmasını önlemeyi, kontamine olmuş su ile temas sonucu daha hafif şiddetli semptomların (kulak burun boğaz tahrişi ve deri tahrişi ile hafif ateşlenme...) oluşmasını ve son olarak da *palitoksin* ve türevlerine (PLTX) bağlı toksik gıda risklerinin belirlenmesini hedeflemektedir.

Bu amaçla, izleme aşağıdakilere imkan vermelidir:

- Deniz ortamında *Ostreopsis* türü bentik dinoflagelatların mevcudiyetinin önceden belirlenmesi;
- *Ostreopsis* tarafından kontamine olmuş sulara maruziyete bağlı olabilecek (deniz serpintilerinin solunum yoluyla veya su ile doğrudan temas yoluyla olabilecek) şüpheli insan vakalarının önceden tahmin edilmesi;
- Sağlık riskleri durumunda plajlara ve yüzme alanına gerektiğinde erişimi kısıtlamak için sağlık yetkililerinin ve belediyelerin hızlı bir şekilde uyarılması.

3.4. Metot

15 Haziran ile 15 Eylül arasında yürütülen "*Ostreopsis*" izlemesi çalışması, hem çevresel hem de sağlık amaçlı bir izleme olup yönetim modelleri ile sağlık risklerini önleme çalışmalarını birbirine bağlamaktadır.

Çevresel izleme

Çevresel izleme; alg patlamalarının (efloresansların) yanı sıra, *Ostreopsis* türü mikro-alg numune alımları ile analizlerini saptamak amacıyla yüzme alanı noktalarının tamamının görsel bir izlemesini oluşturur.

2006'dan 2008'e kadar analizler birkaç deneysel alan üzerinde Utermöhl metoduna göre (ters mikroskop yoluyla fitoplanktonların sayılması için kullanılan NF-EN-15204 rehber normlu metoda göre) haftalık su ve mikro-alg numunesi alımları üzerinden Ifremer tarafından gerçekleştirilmiştir.

2009-2010 yıllarında, yüzme alanı izlemesi numune alımları Ifremer tarafından onaylanmış olan hızlı sayım diye adlandırılan bir tekniğe göre (Sedgewick-Rafter hücresi) birkaç örnek alanından (yüzme alanları arasından departman tarafından seçilmiş 2 alan üzerinden, aylık 2 ila 4 numune alınmasına göre) yalnızca deniz suyu üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Korsika'da, numune alımları gezici alanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hızlı testlerle [8] yapılan izlemeler, kabuklu yetiştiriciliği alanları üzerinde Ifremer tarafından gerçekleştirilen izlemelerden gelen bilgilerin yanı sıra mikro-alg ekolojisi ile *Ostreopsis* patlamalarının olduğu alanlardaki *palitoksin* ve türevlerinin biyo-birikimine ilişkin araştırma programlarından edinilen bilgilerle tamamlanmıştır.

Sonuç olarak, - 2010 Temmuzunda Anses olan - Fransız gıda sağlığı güvenliği ajansı (Afsa), bu türden gıda toksikolojisi konularında [9;10] Sağlık Genel Müdürlüğü (DGS) ve Gıda Genel Müdürlüğü (DGAI) tarafından yönetilmektedir.

2009 yılından beri, bilgilendirme ve alarm düzeyleri (yüzme alanları üzerinde deniz suyundaki *Ostreopsis* konsantrasyonu) deniz suyunda 4 000'den 30 000 C/l'ye (litre başına hücre) yükseltılarak tekrardan düzenlenmiş ve deniz serpintileri risklerine meteorolojik öngörüler entegre edilmiştir [8].

Sağlık etkilerinin izlenmesi

Sağlık etkileri izlenmesi Marsilya CAP'ında (şekil 2) birinci düzeyden aktörler (dalgalılık merkezleri ve okulları, plajlardaki cankurtaran yerleri kıyı bölgelerindeki eczaneler...) ile ikinci düzeyden aktörler (acil durum servisleri, Samu Merkezi 15, pratisyen doktorlar) tarafından şüpheli insan vakalarının belirtilmesine dayalı olmuştur [8].

Şüpheli insan vakaları, doğrudan temas eden kişiler (yüzenler, dalanlar) veya denizin yakınlarında bulunan kişiler (plaja gidenler veya deniz kenarına gidenler, kıyıda balık tutanlar, hobi amaçlı kullananlar, kayak yapanlar) olup, deniz suyu veya deniz serpintileri ile temastan 2 ila 6 saat sonra aşağıdaki semptomların en az ikisini gösteren kişilerdir:

- ateş (derecesi $\geq 38^{\circ}\text{C}$) (ateş, titreme, terleme...);
- faranjit (boğaz ağrısı);
- öksürük;
- solunum güçlükleri (nefes almada zorluklar);
- sefalji (baş ağrısı);
- bulantı (kusma isteği);
- nezle (burun tıkanıklığı ve/veya burun akması);
- konjonktivit (batan göz ve göz akması);
- kusma;
- dermatit (deride kızarıklıklar ve kaşıntı).



Şekil 1. 2009 sezonunda Fransa'da Ostreopsis türü bentik mikro-algların saptanması için yüzme alanı izlenmesindeki numune alım noktalarının haritası.

Marsilya CAP, yüzme alanı üzerinde *Ostreopsis* varlığının teyit edilmesi veya olmadığının belirtilmesi için hızlı testlerin yapılabilmesi bakımından şüpheli olarak görülen vaka gruplarının bildirimini doğrulanması ve teyidinden (aynı gün aynı plaj üzerinde en az 2 ateş solunum yolu sendromu ve/veya deri tahrişi ile kulak burun boğaz sendromu) ve klinik tanımlamalarından sorumludur [8].

Ostreopsis bağılı sağlık riskleri hakkında ve sinyal verme ile önleme bakımından birinci ve ikinci izleme düzeyindeki aktörlerin bilgilendirilmesi için, belediyelerde ve kıyı şeridindeki eczanelerde bir afiş asımı kampanyası gerçekleştirilmiş olup, dalgıçlık merkezlerine ve okullarına da ilanlar dağıtılmıştır. Son olarak, bölgedeki serbest doktorlar, Paca serbest doktorlar bölge birliği bülteni yoluyla (URML) 2009 yılında konuya karşı hassaslaştırılmıştır.

3.5. Sağlık Etkilerinin Önlenmesi Modelleri

Yönetim bakımından, bir plajda yüksek konsntrasyonlardaki *Ostreopsis*'e rastlanması veya aynı plajda grup halinde insan vakalarının rapor edilmesi karara yardımcı bir birimin (CAD) hızlı olarak devreye sokulmasını sağlar[8].

Bu belirtilen CAD tele-konferans yoluyla toplanmakla birlikte, *Ostreopsis* sağlık riskinin değerlendirilmesi ve bu riske ilişkin yönetim önlemlerinin önerilmesinden sorumludur. Bu birim uzmanlar ve kurum yetkililerinden oluşmaktadır: Marsilya CAP'ı, Toulon'daki Ifremer, Villefranch-sur-Mer deniz bilim laboratuvarı (MediOS programı), Bölge Sağlık Ajansı, Cire, hijyen ve sağlıktan sorumlu belediye birimleri (SCHS) ve/veya ilgili belediye başkanları, Bölge Sağlık Müdürlüğü/acil sağlık hizmetleri departmanı, Sağlık İzleme Enstitüsü (InVs) ve Fransız gıda sağlığı ve güvenliği ajansı (Afsa) [8].

Bu CAD, belediye başkanlarına ve/veya valilere plaja erişimin kısıtlanması veya plajın geçici olarak kapatılması gibi izleme önlemlerinde bulunur. Dirençli *Ostreopsis* patlamaları durumunda ise, deniz kestanelerinin ve deniz ürünlerinin toplanması ve tüketilmesinin yasaklanması da aynı şekilde önerilebilir. Günlük olarak yapılan su kalitesinin ve meteorolojik koşulların analitik izlemesi ise bu önlemlerin kaldırılacağı tarihin belirlenmesine imkân verir [8].

3.6. Sonuçlar

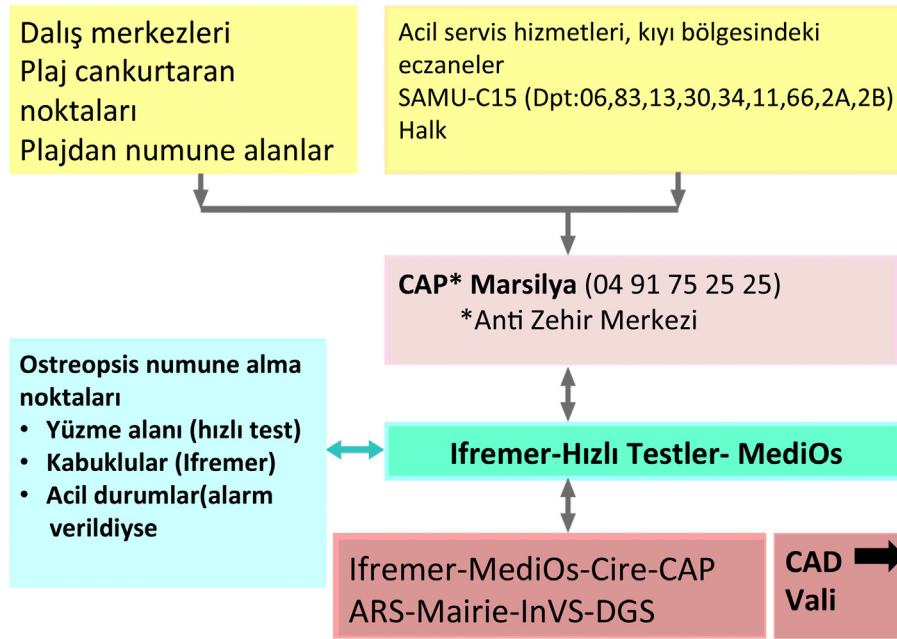
Karşılaşılan *Ostreopsis* patlamaları durumunda (>30 000 C/l deniz suyu) yüzücülerde gözlemlenen semptomlar hafif olarak kalmıştır. *Ostreopsis* tarafından kontamine olmuş deniz serpintilerine toplu maruziyete ilişkin hiçbir durumla karşılaşılmaş olup, hiçbir ateşli solunum yolu patolojisinin ortaya çıkışı da gözlemlenmemiştir. Şüpheli insan vakaları sayısı da 2006'dan 2009 yılına kadar olan dönemde 47 olup, son derece düşüktür. Söz konusu olan düşük düzeyli ateş (5 vaka, %11) veya ateşsiz ağız ve yutak mukozaları ile gözde tahriş (16 vaka, %31) ve/veya deri tahrişi (31 vaka, %66) vakalarıdır [6].

2008 yılında, benimsenmiş olan alarm düzeyleri, denizaneleri tarafından yol açılmış olanlardan daha az düzeyde sağlık vakaları için CAD'ın devreye sokulmasına sebep olmuştur (16 kez). 2009 yılında, CAD'ın devreye sokulması eşikleri yükseltilmiş ve alarma düzeylerinin aşımından ötürü 2 yüzme alanı kapatılmıştır. Marsilya CAP tarafından birçok şüpheli insan vakası bildirilmiştir (tablo).

Bununla birlikte Cenova'dakine benzer hiçbir toplu olgu saptanmamıştır. Bu gruplanmış insan vakaları yoluyla hedeflenen alanlardaki "hızlı testler" yoluyla yapılan kontrol, önleyici tedbirlerin (halkın bilgilendirilmesi, yüzme alanının geçici olarak kapatılması) devreye sokulmasına imkân verecek sürelerde gerçekleştirilememiştir.

Son olarak, gıda planı üzerinde deniz ürünlerinde *palitoksin* ve türevleri için önerilen limit değer aşımaları *Ostreopsis* patlaması alanları üzerinde gözlemlenmiş (2008'de denizkestanesi etinde toplam 468 µgPLTX/kg ve yenilebilir deniz kestanesi sindirim borusunda (*Paracentrotus lividus*) 361 µgPLTX/kg ile 2009'da midyelerin sindirim salgılarında 217 µgPLTX/kg) ve riskli alanlarda deniz ürünü tüketimine yasaklamalar getirilmiştir [9-13].

2010 yılında, izleme yoluyla hiçbir *Ostreopsis* patlaması saptanmamış olup, Var'da Ağustos ortasında hiçbir kontrol amaçlı numune alımı hızlı bir şekilde yapılmadan Marsilya CAP'ı tarafından yalnızca 3 şüpheli vakanın 1 tek gruplandırması bildirilmiştir (tablo).



Şekil 2. 2009 yılında Fransa’da Ostreopsis’i izleme ve önleme aracı

Tablo 2. 2009 yılında Fransa’da Ostreopsis’e ilişkin sağlık amaçlı ve çevresel izleme ile kıyı şeridi üzerinde tedbirsiz önlemlerin uygulamaya konması.

Ostreopsis olduğu şüphelenilen alanlar	2009 alarmları (tarih)	Nb CAS* CAP *Signalés au CAP	Görsel inceleme	Ostreopsis C/L Deniz suyu	2009 yılında alınan kararlar
Menton (06) « Plage Rondely »	CAP 18 juillet	6	evet		
Villefranche/mer (06) « Marinière »	Medios/CAP 20 juillet	11		1 245 200	Yüzme yasağı
Nice (06) « plage Hotel Beurivage »	CAP 26 juillet	Plusieurs	hayır		
Juan les Pins (06) « au milieu de la plage »	CAP 29 juillet	2	evet	< 1000 à Antibes	500m’de Ostreopsis verifikasyon noktası
La Ciotat (13) « Mugel »	Ddass/CAP 31 juillet	2	hayır	< 1000	Ostreopsis verifikasyonu
Cote Bleue (13) « Martigues Anse couronne vieille »	Ddass/CAP 1 aout	22	evet	< 1000	Ostreopsis verifikasyonu
Marseille (13) « Frioul Morgiret »	Ifremer/CAP 5 septembre	0	evet	116 200	Interdiction baignade
Le Lavandou (83) « Plage St Clair »	Ddass 12 aout	0	evet	< 1000	Ostreopsis verifikasyonu
Corse (2A et 2B) « suivi de 19 points de mesure itinérant »	Ddass/Dss juillet-aout	0	—	2 Points Ajaccio ≈ 10 000 6 Pt = 1000 11 Pt < 1000	Ostreopsis takibi
Languedoc Roussillon Dpt (30 et 34 et 66) « suivi 8 points de mesure »	Ddass/Cire juillet-aout	0	—	3/8 Points (+) = Catalogne : 1 Pt = 2000 2 Pt = 1000	Ostreopsis takibi

3.7. Tartışma

2007'den beri epidemiyolojik ve çevresel bir izlemeyi birbirine bağlayan ve Akdeniz kıyı şeridindeki 9 departmanı kapsayan deneysel amaçlı bir izleme aracı Sağlık Genel Müdürlüğü tarafından uygulamaya konmuştur. 2010 yılında güncellenmiş olan bir prosedürler rehberi ise bunun organizasyonu ile işleyişini netleştirmektedir [14]. Bu araç yüzme sularında *Ostreopsis* mevcudiyetine bağlı risklerin özellikle tedbirsel yönetim bakımından birleştirilmesini sunar ve bunları, bilhassa toksik gıda riski üzerinden araştıran çalışmalara bağlar (deniz ürünlerinde palitoksin ve türevlerinin biyo-birikimi).

Birden çok akademik disiplini ilgilendiren bir CAD'ın izleme sırasındaki alarmlar halinde aktif hale gelmesi, yeni durumların incelenmesine, yeni izleme prosedürlerinin test edilmesine ve yönetim önlemlerinin benimsenmesine imkan tanımıştır. Her bir izleme sezonunun geçmişe dönük değerlendirilmesi, bir sonraki sezon sırasında izleme protokolünün bunlara göre adapte edilmesi şeklinde kendini göstermektedir.

2007-2010 arasındaki 4 yılda izlemelerin bilançosu *Ostreopsis* türüne ilişkin birçok bilinmezin sürmekte olduğunu göstermiştir ve bu durum sağlık üzerinde, patlamaların öngörülmesi veya hatta izleme modelleri üzerinde de kendini göstermektedir. *Ostreopsis* ekolojisi hakkındaki bilgilerin artırılması, patlama durumlarının daha iyi bir şekilde öngörülmesine imkân verecektir. Karara yardımcı birimin tekrarladığı uzmanlık çalışmaları yoluyla bu risk durumlarının analizi sırasında öğrenilenler ise, daha sonradan Ramoge anlaşması çerçevesinde İtalyan ekipleriyle düzenlenmiş olan toplantılar sırasında karşılaştırılmış ve bilgiler zenginleştirilmiştir.

Bu deneysel verilerin elde edilmesi izleme ve tedbir aracının bunlara göre uyarlanmasına imkan vermiştir. Sağlık alanında bu deneysel araç, belirgin şekilde hafif olan sağlık etkileri, aynı zamanda nadir ancak bir o kadar da ciddi potansiyel gıda zehirlenmelerinin ortaya çıkışı veya yakın bir tarih olan 2009 yılında Cezayir'de [15], 2005'te de Cenova'da [4;5] olduğu gibi toplu ve şiddetli ateşli solunum yolu patolojileri dikkate alınarak oluşturulmak zorundadır.

2009-2010 yıllarında uygulamaya konmuş olan bu izleme, uygulanabilirlik ve maruziyet nedenlerinden ötürü yalnızca deniz suyunda ölçülen *Ostreopsis* konsantrasyonlarının izlemesine de konu olurken, departman başına 2 yüzme alanı üzerinde çevresel izlemeyi kapsamıştır. Bu durum Akdeniz'e komşu 3 bölge için toplamda 700 yüzme alanı noktası üzerinden 20 ölçüm noktasını temsil etmektedir. Böylesine zayıf bir rakamla, patlamaların saptanması olasılığı zayıf kalmış ve "Cenova"daki türden toplu vakaların etkin şekilde önlenmesinin tasarlanmasına imkân vermemiştir. Ayrıca, 2008 ve 2009 yıllarında şiddetli *Ostreopsis* konsantrasyonlarının olduğu alanlardaki birçok bildirim kökeni olan "MediOs2" araştırma projesi çerçevesinde, 2010 yılında deniz ortamında sayımlar gerçekleştirilmemiş olup, kurumsal izleme önceki yıllarda olduğu gibi zenginleştirilememiştir.

Yüzme alanları üzerinde gruplandırılmış olan bildirimler sırasında "hızlı *Ostreopsis* testleri" yoluyla yapılan kontroller zorlukla gerçekleştirilebilmiştir. Bu zorlukların birçok nedeni vardır. Bu testler şu an için yönetmeliksel alanının dışında yapılmakta olup, bunların bir ek maliyeti vardır ve uyarlanabilirliği sınırlı kalmış bir yüzme alanı izlemesine ilişkin genel bir uygulama çerçevesinde yapılmaktadırlar. Gıda risklerine ilişkin "Ifremer-Dgal" ve "Villefranche-sur-Mer/DGS deniz bilim laboratuvarı" etütleri 2008 ve 2009 *Ostreopsis* patlamaları sırasında yapılmış olup, halk sağlığı koruma eşik değerlerini aşan palitoksin ve türevi yoğunlukları görülmüştür [16].

Bu değerler 2007-2008 yıllarında kabuklu etinde 250 µg/kg (250g'lık bir porsiyonu referans alan hesaplama) [9;10] ve 2008-2009 yılında 160 µg/kg'dır (400g'lık bir porsiyona denk gelen hesaplama) [11;12]. Bu *Ostreopsis* patlamalarının olduğu alanlardan çıkarılan deniz ürünlerinin tüketiminin yasaklandığı, 2008-2009 sezonlarında birçok defa hatırlatılmıştır.

Bu tarihten sonra Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından Aralık 2009'da eşik değerler düşürülmüştür. EFSA palitoksinler için yenmeye ilişkin yeni sınır değerleri 30 µg/kg kabuklu eti kon-

santrasyonu olarak önermiştir [13]. Böylesi bir sağlık koruması eşiği ile *Ostreopsis* türü toksik mikroalg tarafından kontamine olmuş alanlarda deniz ürünlerinin tüketiminin sistemli olarak yasaklanması muhtemeldir.

Bu türden gıda riskleri ve kontamine olmuş deniz serpintilerine bağlı ateşli solunum yolu toplu sendromlarının ortaya çıkması ile baş etmek için ve Akdeniz kıyı şeridi üzerindeki çevresel izlemenin daha etkili hale getirilmesi bakımından *Ostreopsis* hakkındaki bilgilerin artırılmasının istenmesi uygun olacaktır. Bu izleme Marsilya CAP'ı tarafından gerçekleştirilen sağlık izlemesi ile derinlemesine işbirliği içerisinde yapılmalıdır.

Cenova'dakine benzer türden toplu olguların ortaya çıkma riskini daha iyi bir şekilde öngörmek için, numune alım noktaları üzerinde *Ostreopsis*'e yönelik yüzme suyu kalitesinin çevresel izlemesinin kuvvetlendirilmesi gerekli görülmektedir.

Son olarak *palitoksin* ve türevleri için Avrupa gıda toksikolojisi eşiklerinin düşürülmesi, *Ostreopsis* tarafından kontamine olmuş yüzme alanlarındaki ticari balıkçılığın yanı sıra, hobi amaçlı balıkçılığa da konu olan deniz ürünlerinin (deniz kestaneleri, midyeler, balıklar) toksikolojik izlemesinin kuvvetlendirilmesini dayatmalıdır.

Kıyı şeridi belediyelerinin yanı sıra, seçimle işbaşına gelenler, plaj ve su faaliyetleri yöneticileri veya yüzme alanı kullanıcılarını amaçlayan derinlemesine bir iletişim, kriz ve acil durum yönetiminden *Ostreopsis* risklerine yönelik öngörülmüş ve bütünsel bir yönetime geçilmesi için gerekli olarak görülmektedir [17,18,19]. Plajlardan sorumlu yerel aktörler denizanalılarına bağlı risklerde hali hazırda olduğu üzere, *Ostreopsis* tarafından kontamine olmuş deniz serpintilerine maruziyetin öngörülmesi ve önlenmesine yönelik bu sorunun yönetiminde en iyi konumlanmış taraflardır.

Dr Alexis Armengaud

Cire Sud

ARS paca

132 Bd de Paris

CS50039

13331 Marseille Cedex 03

tel : +33 (0)4 13 55 83 08 / 81 01 Fax : +33 (0)4 13 55 83 47

e-mail : alexis.armengaud@ars.sante.fr

e-mail : ars-paca-cire@ars.sante.fr

Sayfa sonu notları

¹ Ek 1'de bulunan N°DGS/EA4/2009/196 sayılı ve 07 Temmuz 2009 tarihli sayılı birim notunda mevcut olan yüzme sularında yüzme sezonu sırasında Akdeniz çevresindeki departmanların valileri tarafından uygulamaya konacak olan sağlık amaçlı ve çevresel izlemeye ilişkin Ifremer tarafından tanımlanmış hızlı testlerin uygulamaya konması modelleri. 2009 yüzme sezonunda Akdeniz'deki yüzme sularında *Ostreopsis spp.* mevcudiyetine bağlı insan vakalarının oluşumunu önlemek amaçlı izleme ve müdahale protokolü.

http://www.sante-sports.gouv.fr/fichiers/bo/2009/09-08/ste_20090008_0100_0128.pdf bağlantısından bulunabilir.

² MédiOs programı, Villefranche-sur-Mer (CNRS-UMR 7093) deniz bilim laboratuvarı ile işbirliği içerisinde Afsa-DGS etütleri ve Marsilya'daki Frioul yüzme alanı üzerindeki Ifremer-DGAL etütleri. Palitoksin ve türevlerinin analizleri sıvı kromatografisi/kütle spektrometresi (CL-SM/SM) ile Ifremer tarafından gerçekleştirilmiştir.

³ Ramoge anlaşması üç Devletin (Fransa, İtalya, Monako) kıyı şeridinde bütünsel bir yönetim için gerekli eylemleri yerine getirecekleri bilimsel, teknik, hukuksal ve idari bir işbirliğini aracını temsil etmektedir.

Bu anlaşma çerçevesinde, analiz ve çalışma metotlarını uyumlaştırmayı hedefleyen birçok faaliyet deniz ortamı ile kıyı şeridi hakkındaki bilgileri arttırmış olup, halk çevre hakkında hassaslaştırılmıştır.

3.8. Referanslar

- [1] Penna A, Vila M, Fraga S, Giacobbe MG, Andreoni F, Riobó P, ve diğerleri, Characterisation of *Ostreopsis*'in özellikleri ve Akdenizin batısında bulunan *Coolia*'nın (Dinophyceae) morfolojisi, toksisitesi ile bu yayının bir iç kopyası 5p8S rDNA dizinleri J Phycolp 2005;41(1): 212-25sf.
- [2] Kantin Rp Akdeniz'de *Ostreopsis* spp. mevcudiyeti ile buna bağlı risklerin sentez notu. La Seyne-sur-Mer : Ifremer, Azur Corse Bölgesi çevre laboratuvarı kaynakları, Nisan 2007, sf. 21.
- [3] Kermarec F, Dor F, Armengaud A, Charlet F, Kantin R, Sauzade D, ve diğerleri. Yüzme sularında veya su faaliyetlerinin yapıldığı sularda *Ostreopsis* mevcudiyetine bağlı sağlık riskleri. Çevre Riski Santep 2008;7(5): 357-63 Şu linkten bulunabilir: <http://www.ifremer.fr/docelec/doc/2008/publication-6164.pdf>
- [4] Gallitelli M, Ungaro N, Addante LM, Procacci V, Silveri NG, Sabbà Cp Respiratory ılıman iklimlerde tropik alg patlamalarının meydana gelmesine yönelik hastalıklar. JAMA 2005;293(21):2599-600.
- [5] Brescianini C, Grillo C, Melchiorre N, Bertolotto R, Ferrari A, Vivaldi B, ve diğerleri. Genoa, İtalya'da 2005 ve 2006'da insan sağlığını etkileyen *Ostreopsis ovata* alg patlamaları. Euro Surveillp 2006;11(36): pii=3040p Şu linkten bulunabilir: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/060907.asp#3>
- [6] Tichadou L, Glaizal M, Armengaud A, Grossel H, Lemée R, Kantin R, ve diğerleri. Akdeniz'de *Ostreopsis* türü patlamaların sağlık üzerine etkileri: 2006 ile 2009 yılları arasında Fransız Akdeniz kıyı şeridi deneyimi. ClinToxicolp 2010;48(8):839-44.
- [7] Tubaro A, Durando P, Del Favero G, Ansaldi F, Icardi G, Deeds JR, ve diğerleri. Palitoksin maruziyetine bağlı insan zehirlenmeleri vakalarının tanımları. Toxicolp 2011;57(3): 478-95.
- [8] Sağlık ve spordan sorumlu bakanlık. Sağlık genel müdürlüğü. Yüzme sularında toksik mikro alg *Ostreopsis* mevcudiyetine bağlı insan vakalarının önlenmesi için 2009 yüzme sezonu sırasında Akdeniz kıyı şeridindeki departmanların valileri tarafından gerçekleştirilmiş sağlık amaçlı ve çevresel izlemeye ilişkin 07 Temmuz 2009 tarihli ve DGS/EA4 n°2009-196 sayılı hizmet notu. Şu linkten bulunabilir: http://www.sante-sports.gouv.fr/fichiers/bo/2009/09-08/ste_20090008_0100_0128.pdf
- [9] Lenoir S, Hossen Vp Notu. *Palitoksin* ve türevlerine ilişkin bilgiler hakkında. Maisons-Alfort: Fransız gıda sağlığı güvenliği ajansı, 26 Temmuz 2005.
- [10] Afssa. *Ostreopsis ovata* bulunan deniz ürünlerinin tüketimine ilişkin Fransız gıda sağlığı güvenliği ajansının bilimsel ve teknik dayanağı. Maisons-Alfort: Afssa ; 22 Ağustos 2007. 8 sf. Şu linkten bulunabilir: <http://www.afssa.fr/Documents/RCCP2007sa0227.pdf>
- [11] Deniz ortamının ve bentik mikro alg *Ostreopsis*'in dikkate alınmasıyla gıdaların izlenmesine ilişkin genel yapının tamamlanmasına ilişkin Afssap Görüşü. Maisons-Alfort: Afssa; 11Temmuz 2008.
- [12] Afssap, Riskli dönemlerin ve referans noktalarının tanımlanmasına ilişkin kabuklu yetiştiriciliği alanlarındaki lipofil fikotoksinlerin izlenmesine ilişkin düzenleme hakkında Fransız gıda sağlığı güvenliği ajansı görüşü. Maisons-Alfort: Afssa; 4 Aralık 2009. 24 sayfa.
- [13] Kontamine olmuş Gıda Zinciri hakkında EFSA Paneli (CONTAM). Denizlerde yaşayan biyo-toksin deniz kabukluları hakkında bilimsel görüş- Palitoksin grubu. EFSA Dergisi 2009; 7(12):1393[40 ppp]p Şu linkten bulunabilir: <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/doc/1393.pdf>

[14]- 30 Temmuz 2010 tarihli ve DGS/EA3/EA4/2010/238 sayılı, hobi amaçlı balıkçılığa konu olan deniz ürünlerinin toksik mikro alg *Ostreopsis* spp. ile kontaminasyonu ve Akdeniz’de yüzme sularında bunların mevcudiyetine ilişkin 2010 yüzme sezonu için sağlık risklerinin yönetim modelleri ile sağlık amaçlı ve çevresel izlemeye ilişkin hizmet notu. Sağlık Genel Müdürlüğü, çevre ve gıdalara ilişkin risklerin önlenmesi alt müdürlüğü, beslenme ve gıda ofisi, suların kalite ofisi. Sağlık Bakanlığı. Paris, Fransa. Şu linkten bulunabilir: http://www.sante.gouv.fr/fichiers/bo/2010/10-08/ste_20100008_0100_0161.pdf

[15] Illoul H, Hernández FR, Vila M, Adjas N, Younes AA, Bournissa M, ve diğerleri. Cezayir kıyı sularında *Ostreopsis* türüne bağlı insanlarda solunum zehirlenmesi vakası (SW Akdeniz). *Ostreopsis Gelişiminie* ilişkin Uluslar arası Konferans (ICOD); 2011 Nisan 6-8, Villefranche-sur-Mer, Fransa.

[16]- R. Biré, S.Trotereau, R.Lemée, C.Delpont, B.Chabot, Y.Aumond, S.Krys. 2009’da Fransız Akdeniz kıyısından toplanmış olan farklı tropik düzeylerden deniz organizmalarında palitoksin mevcudiyeti. Basın makalesi. Zararlı algler, Sayı 28, Ağustos 2013, Sayfa 10–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2013.04.007>

[17]- “Ramoge ARPAL” kitapçığının çevirisi, Nisan 2007. Monako Prensiliği Ulusal İşbirliği Müdürlüğü, RAMOGE Anlaşması sekreterası. 9, rue Princesse Marie de Lorraine. 98000 Monaco. Şu linkten bulunabilir: <http://www.ramoge.org/Documents/ostreopsis.pdf>

[18]- *Ostreopsis*’e ilişkin sayfayı gösteren internet sitesi. ARS paca Cire güney Marsilya. Aşağıdaki linkten bulunabilir:
<http://www.ars.paca.sante.fr/Surveillance-liee-a-la-presenc.141660.0.html>

[19]- Aşağıdaki linkten bulunabilecek *Ostreopsis ovata*’ya ilişkin halkın bilgilendirilmesi afişi: http://www.ars.paca.sante.fr/fileadmin/PACA/Site_Ars_Paca/Sante_publique/new_veille_et_securite_sanitaire/Pathologies/Pathologies_liees_a_l_environnement/eau_et_sante/ostreopsis/AfficheOstreopsis2010.pdf

