

İnsan Amniyon Sıvısının Antimikrobiyal Aktivitesi (1)

Ahmet AKIN (**), Betül SEYREKBASAN (***)

(**) Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

(***) Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi, Ankara

ÖZET

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda vajinal doğum veya sezaryen ile doğum yapan kadınlardan alınan 52 adet amniyon sıvısının antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır.

Antimikrobiyal etkisini incelediğimiz 52 adet amniyon sıvısından 22'sinin (%42,3) *E.coli*, 23'ünün (%44,2) *S.aureus*, 24'ünün (%46,2) *S.agalactiae* ve 29 tanesinin (%55,8) *C.albicans* üzerine inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır. İncelenen örneklerin 30 tanesinde (%57,7) *E.coli*'ye, 29 tanesinde (%55,8) *S.aureus*'a, 28 tanesinde (%53,8) *S.agalactiae*'ye ve 23 tanesinde (%44,2) *C.albicans*'a karşı herhangi bir inhibitör etki belirlenmemiştir.

Ayrıca incelemeye aldığımız amniyon sıvılarının antimikrobiyal aktivitelerinin anne yaşı, doğum sayısı, gebelik haftası ve doğum şekli ile ilişkili olup olmadıkları araştırılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre, annenin yaşı ve doğum şekli ile antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir istatistiksel ilişki kurulamazken, gebelik haftası ve doğum sayısında istatistiksel olarak önemli bir ilişkinin bulunduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler : İnsan amniyon sıvısı, antimikrobiyal aktivite

SUMMARY

Antimicrobial Activity of Human Amniotic Fluid (1)

In this study, the antimicrobial activity of 52 amniotic fluid samples had been examined that were collected from the Department of Obstetrics and Gynecology of Ankara University during vaginal or cesarean deliveries.

Twenty two (42,3%) of 52 amniotic fluid samples showed inhibitory effect on *E.coli*, 23 (44,2%) on *S.aureus*, 24 (46,2%) on *S.agalactiae* and 29 (55,8%) on *C.albicans*. Thirty (57,7%), 29 (55,8%), 28 (53,8%), 23 (44,2%) of 52 amniotic fluid samples showed no inhibitory effect on *E.coli*, *S.aureus*, *S.agalactiae* and *C.albicans* respectively.

Relationships were also examined between the antimicrobial activity of the amniotic fluids and maternal age, number of birth, gestational week and type of delivery.

According to the results, there were no significant statistical relationship between the antimicrobial activity and maternal age and type of delivery but there was a significant statistical relationship between the antimicrobial activity and gestational week and number of birth.

Keywords : Human amniotic fluid, antimicrobial activity

GİRİŞ

Amniyotik keseyi dolduran ve koryon adı verilen bir zarla çevrili olan amniyon sıvısının sağlıklı bir gebelik ve fetus gelişimi için önemi büyüktür. Bu sıvı fetusun amniyon kesesi içinde rahat hareket etmesine, dıştan gelebilecek mekanik darbelerle karşı korunmasına, kas-iskelet sisteminin gelişmesine, simetrik büyümesine olanak sağlar, onun için bir yaşam ortamıdır ve havanın yerini tutmaktadır. Amniyon sıvısı, fetusa sağladığı ya-

rarları kadar anne sağlığı için de önemlidir. Bu sıvı sayesinde ağırlık kazanan fetus anne rahmine baskı yapmamış olur.

Amniyon sıvısının fetusu olumsuz etkilerden koruması ve onun gelişimine yardımcı olması yanında, onu infeksiyonlara karşı koruyabilecek antimikrobiyal etkisi olduğu da ileri sürülmektedir. Gebelikte karşılaşılabilecek fetal infeksiyonların anne sağlığı ve bebek gelişimi için son derece önemli olduğu, hatta bu infeksiyonların fetusun intrauterin evrede bile ölümüne neden olabileceği bildirilmektedir (1).

İletişim: Ahmet Akın

e-posta: aakin@pharmacy.ankara.edu.tr

Amniyon sıvısı, normal şartlarda dış ortama kapalı olan steril bir sıvıdır. Bu özelliğinin önemi çok büyüktür. Zira besleyici özellikleri yanında protein ve glukozca zengin olması nedeniyle, mikroorganizmaların üremesine uygun bir ortam teşkil etmektedir (2, 3, 4).

İntraamniyotik infeksiyon, amniyon sıvısının, sıvıyı içinde barındıran amniyon kesesinin ve anne adayını fetüs arasında yer alan koryon tabakasının infeksiyonudur (5). Bu infeksiyona virüsler, bakteriler ve parazitler neden olabilmektedir (6, 7, 8, 9).

Gebelikte görülen infeksiyonların en yaygın olanı üriner sistem infeksiyonlarıdır. Bunlar sistit, piyelonefrit veya asemptomatik bakteriüridir. Bu infeksiyonların başlıca oluşum nedeni ise, assendan yolla buraya gelen *Escherichia coli*, *B Grubu Streptokoklar*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus Sp.*, *Enterobacter Sp.*, *Citrobacter Sp.*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Candida albicans* gibi mikroorganizmalardır (10, 11, 12, 13).

Amniyotik sıvının antimikrobiyal aktivitesi ilk kez 1949 yılında Cattaneo tarafından bildirilmiş ve daha sonra araştırmalar bu konu üzerinde yoğunlaşmaya başlamıştır (14). Fetüsü infeksiyonlara karşı koruyan bu sıvının antimikrobiyal etkinliğinden birden fazla faktör sorumludur (15, 16, 17).

Bu noktadan hareketle çalışmamızda, amniyon sıvısının antimikrobiyal etkilerinin saptanması, anne yaşı, gebelik haftası, doğum sayısı ve doğum şekli ile antimikrobiyal etki arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmamızda, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında vajinal doğum veya sezaryen ile doğum yapan, çalışma kriterlerine uyan ve çalışmaya katılmak isteyen kadınlardan toplanan örnekler kullanılmıştır.

Amniyon sıvısı örnekleri, doğum için başvuran 32-41 haftalık gebelik dönemlerindeki, 19-39 yaş arası ve değişik sayıda doğum yapmış kadınlardan, normal veya sezaryen ile doğum sırasında hastane koşullarında toplanarak test edilmek üzere laboratuvara getirilmiştir.

Gebeliklerinin son dört haftasında antibiyotik kullanmamış, sağlıklı hamile kadınlardan toplanan amniyon sıvısı örneklerinin, kansız ve mekonyumsuz olmasına dikkat edildi ve uymayanlar ayrılmıştır (18, 19, 20, 21, 22, 23).

Çalışmaya başlamadan önce örnekler dakikada 3000 devirde 15 dk. santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı test edilmek üzere ayrılmıştır. Amniyon sıvısı örnekleri 0,45 µm por büyüklüğündeki filtrelerden geçirilmiştir. Örnekler aynı gün çalışıldı veya -20°C'de dondurularak saklanmıştır.

Gebelerden alınan 52 adet amniyon sıvısının antimikrobiyal etkinliği, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12401) ve *Candida albicans* (ATCC 10231) standart suşları kullanılarak araştırılmıştır. Bu suşlar Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi'nden temin edilmiştir.

Araştırmada kullanılan mikroorganizmalardan *C. albicans* hariç diğer suşların sıvı kültürleri Mueller Hinton Broth (MHB - Difco), *C. albicans* suşunun sıvı kültürü ise Sabouraud-Dextrose Broth (SDB – Merck) besiyerinde yapılmış ve 37°C de 24 saat inkübe edildikten sonra Mc Farland tüpleri ile 3x10⁸ Coloni Forming Unite (cfu)/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Mikroorganizma sayısını belirle-yebilmek amacıyla stok solusyonların (Ana kültür) steril fosfat tamponu ile logaritmik olarak artan dilusyonları hazırlanmıştır. Sonraki dilusyonlar buyyonda yapılmıştır (1).

Antibiotic Sulfonamide Sensitivity-Test Agar (ASS- Merck) besiyerine 10⁴ cfu/ml olan dilusyondan 0.1 ml yayılmış, yüzey kuruduktan sonra besiyeri yüzeyine steril silindirler (çapları 6,5 mm), pens yardımıyla yerleştirilmiş ve içlerine 50 ml amniyon sıvısı damlatılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Amniyon sıvılarının zon oluşturup oluşturmadığına bakılmıştır (24, 25, 26).

Elde edilen veriler antimikrobiyal aktivite, bu aktivitenin anne yaşı, doğum sayısı, gebelik haftası ve doğum şekli ile ilişkisi bulunup bulunmaması açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar ki-kare testine göre değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda vajinal veya sezaryen ile doğum yapan kadınlardan toplanan 52 adet amniyon sıvısı örneği incelemeye alınmış, bu örneklerin *E.coli*, *S.aureus*, *S.agalactiae* ve *C.albicans* üzerine antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve örneklerin alındığı bayanların yaş, gebelik haftası, doğum ve gebelik sayıları Tablo 1'de, test mikroorganizmaları üzerinde oluşturdukları zon çapları ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Amniyon sıvısı örneklerinin alındığı bayanların yaş, gebelik haftası, doğum ve gebelik sayısı ile doğum şekli

Örnek No	Yaş	Gebelik Haftası	Doğum Sayısı	Gebelik Sayısı	Doğum Şekli
1	26	40	2	3	N
2	29	38	0	1	N
3	22	39	0	1	N
4	31	38	1	4	N
5	20	39	0	1	N
6	22	34	0	1	S
7	24	40	1	2	N
8	19	39	0	1	N
9	21	41	0	1	N
10	24	39	2	4	N
11	30	37	0	1	N
12	29	39	1	3	S
13	36	39	1	2	S
14	35	38	0	1	S
15	32	40	1	2	S
16	37	37	0	1	S
17	27	40	0	1	S
18	37	39	2	3	S
19	37	40	1	2	S
20	29	38	1	2	S
21	27	38	2	3	S
22	24	38	1	2	S
23	27	38	0	1	S
24	29	39	1	2	S
25	21	38	0	2	S
26	34	40	2	3	S
27	24	39	1	2	S
28	23	39	1	2	S
29	22	39	0	2	S
30	37	34	0	1	S
31	39	36	0	1	S
32	23	39	1	2	S
33	25	39	1	2	S
34	26	39	1	2	S
35	30	40	1	3	S
36	20	40	0	1	S
37	24	34	0	2	S
38	29	39	1	2	S
39	33	38	2	3	S
40	20	40	0	1	S
41	29	39	1	2	N
42	23	40	0	1	N
43	25	39	1	2	S
44	31	38	1	2	N
45	23	39	1	2	S
46	20	39	0	1	N
47	37	32	0	1	S
48	27	39	1	2	S
49	22	39	1	2	S
50	34	40	1	3	N
51	30	40	1	2	S
52	32	39	1	2	N

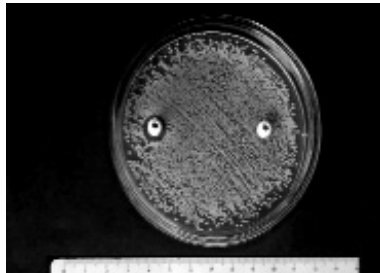
N : Normal Doğum S : Sezaryenle Doğum

Tablo 2. Amniyon sıvısı örneklerinin test mikroorganizmaları üzerinde oluşturdukları zon çapları (mm)

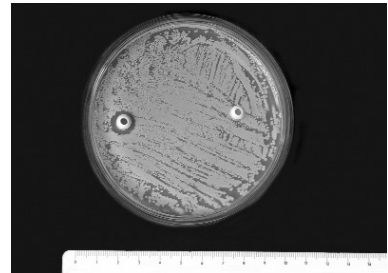
Örnek No	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>C. albicans</i>
1	7.4	-	-	8.0
2	-	11.3	-	-
3	8.0	-	7.5	9.0
4	7.6	-	-	9.0
5	8.2	9.0	8.2	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	9.0	12.0	9.3	12.0
9	-	-	-	-
10	-	9.4	-	9.2
11	-	-	-	-
12	-	8.5	9.0	12.0
13	13.0	12.0	13.0	9.0
14	-	-	-	13.0
15	12.0	9.0	12.0	9.8
16	-	-	-	-
17	-	8.0	-	-
18	8.6	-	9.3	12.0
19	-	-	-	-
20	8.4	11.2	-	12.0
21	9.0	8.2	10.0	9.0
22	12.0	9.0	12.0	13.0
23	9.0	-	-	-
24	13.0	11.4	12.0	-
25	-	-	8.9	8.0
26	-	-	-	-
27	9.8	-	-	8.7
28	-	-	9.6	9.5
29	11.3	11.4	12.0	11.6
30	-	-	-	-
31	-	-	-	-
32	9.4	9.2	11.5	-
33	-	9.4	9.7	12.0
34	9.2	8.6	-	11.2
35	-	-	-	-
36	-	11.7	12.1	-
37	-	-	-	-
38	10.8	12.1	12.6	11.8
39	-	9.4	9.2	9.0
40	-	-	-	-
41	9.8	-	-	-
42	-	-	-	9.8
43	9.8	11.6	11.3	11.2
44	-	-	8.6	-
45	-	-	8.8	-
46	-	-	-	9.2
47	-	-	-	-
48	-	9.7	9.7	10.3
49	9.1	-	-	9.6
50	-	10.3	11.8	8.8
51	8.6	-	-	11.4
52	-	12.1	9.8	9.9

- : Amniyon sıvısı örneklerinin inhibitör etki göstermediği mikroorganizmalar

Şekil 1. 38 ve 39 nolu amniyon sıvılarının *E.coli* üzerinde oluşturduğu zonların görünümü (38 nolu amniyon sıvısının zon çapı 10,8 mm)



Şekil 2. 23 ve 24 nolu amniyon sıvılarının *S.aureus* üzerinde oluşturduğu zonların görünümü. (24 nolu amniyon sıvısının zon çapı 11,4 mm)



Tablo 3. Amniyon sıvısı örneklerinin antimikrobiyal etki spektrumu

İncelenen Mikroorganizmalar	İncelenen Örnek Sayısı	Üreme Üzerine İnhibitör Etki Gösteren Örnekler		Üreme Üzerine İnhibitör Etki Göstermeyen Örnekler	
		Sayı	%	Sayı	%
<i>S. aureus</i>	52	23	44,2	29	55,8
<i>S. agalactiae</i>	52	24	46,2	28	53,8
<i>C. albicans</i>	52	29	55,8	23	44,2

Tablo 4. Amniyon sıvısı örneklerinin test edilen mikroorganizmalar üzerine etki yüzdeleri

İncelenen amniyon sıvısı sayısı	Test edilen mikroorganizmalardan									
	Birinin üremesini inhibe eden örnek		İkisinin üremesini inhibe eden örnek		Üçünün üremesini inhibe eden örnek		Dördünün de üremesini inhibe eden örnek		Hiçbiri üzerinde inhibitör etki göstermeyen örnek	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%

Tablo 5. Yaş dağılımı ve amniyon sıvılarının antimikrobiyal aktiviteleri

Yaş Grupları	Çalışılan Sıvı Sayısı	Toplamın Yüzdesi	Antimikrobiyal Aktivite											
			Aktif										İnaktif	
			Toplam		+		++		+++		++++			
			Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
19-22	11	21,1	8	20,5	1	11,1	3	33,3	2	15,4	2	25,0	3	23,1
23-26	13	25,0	11	28,2	2	22,2	4	44,5	3	23,1	2	25,0	2	15,4
27-30	13	25,0	11	28,2	4	44,5	1	11,1	4	30,8	2	25,0	2	15,4
31-34	7	13,5	6	15,4	1	11,1	1	11,1	3	23,0	1	12,5	1	7,7
35-39	8	15,4	3	7,7	1	11,1	0	0,0	1	7,7	1	12,5	5	38,4
Toplam	52	100	39	100	9	100	9	100	13	100	8	100	13	100

+ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece biri üzerine etkili
 ++ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece ikisi üzerine etkili

Analize alınan amniyon sıvılarının test edilen mikroorganizmalar üzerine olan antimikrobiyal etki spektrumları, antimikrobiyal etki yüzdeleri, yaş dağılımı ve amniyon sıvılarının antimikrobiyal aktiviteleri, gebelik haftalarına, doğum şekline ve doğum sayısına göre antimikrobiyal dağılımları Tablo 3, 4, 5 ve 6'da gösterilmiştir.

Tablo 3'ün incelenmesinden de anlaşılacağı gibi, incelenen 52 adet amniyon sıvısı örneğinden 22 adedi (%42.3) *E.coli*, 23 adedi (% 44.2) *S.aureus*, 24 adedi (%46.2) *S.agalactiae* ve 29 adedi (%55.8) *C.albicans* üzerine antimikrobiyal etki göstermiştir.

Çalışmaya alınan amniyon sıvılarından 39 (%75) adedi, test edilen mikroorganizmalardan en az biri üzerine inhibitör etki göstermiş, sadece 8 adedinin (%15.4), test edilen 4 mikroorganizma üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir (Tablo 4).

19-22 yaş grubunda incelenen 11 örnekten 8'inde (%72.7), 23-26 yaş grubunda incelenen 13 örnekten 11'inde (%84.6), 27-30 yaş grubunda incelenen 13 örnekten 11'inde (%84.6), 31-34 yaş grubunda incelenen 7 örnekten 6'sında (%85.7), 35 ve üzeri yaş grubunda incelenen 8 örnekten 3'ünde (%37.5) amniyon sıvıları inhibitör etkili bulunmuştur (Tablo 5). Sonuçlar ki-kare testine göre değerlendirilmiş, yaş ile antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($P \leq 0.05$).

+++ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece üçü üzerine etkili
 ++++ : Çalışılan mikroorganizmalardan dördü üzerine de etkili

Tablo 6. Gebelik haftalarına göre amniyon sıvılarının antimikrobiyal dağılımı

Gebelik haftası	Çalışılan sıvı sayısı	Toplam %	Antimikrobiyal Aktivite											
			Aktif										İnaktif	
			Toplam		+		++		+++		++++			
			Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
32-37	7	13,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	53,8
38-41	45	86,5	39	100	9	100	9	100	13	100	8	100	6	46,2
Toplam	52	100	39	100	9	100	9	100	13	100	8	100	13	100

+ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece biri üzerine etkili
 ++ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece ikisi üzerine etkili
 +++ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece üçü üzerine etkili

++++ : Çalışılan mikroorganizmalardan dördü üzerine de etkili

İncelenen 52 adet amniyon sıvısı örneğinin, antimikrobiyal etkisinin gebelik haftalarına göre ilişkisi araştırılmış ve antimikrobiyal aktivite dağılımı Tablo 6'da verilmiştir.

Gebelik haftası 32-37 arasında olan 7 örneğin hepsinde antimikrobiyal aktivite inaktif olarak bulunmuştur. Gebelik haftası 38-41 arasında değişen 45 örnekten 39'unda (%86,7) antimikrobiyal etki aktif, 6'sında (%13,3) inaktif olarak saptanmıştır. Gebelik haftası ile antimikrobiyal etki arasında ki-kare testine göre anlamlı bir ilişki gözlenmiştir ($P \leq 0,05$).

Amniyon sıvısı örneklerinin antimikrobiyal etkisi doğum şekline göre değerlendirildiğinde (Tablo 7), 16 normal doğumdan 13'ünde (%81,2), 36 sezaryen doğumdan 26'sında (%72,2) antimikrobiyal etki saptanmıştır. Sonuçlar ki-kare testine göre değerlendirilmiş, doğum şekli ile antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($P \leq 0,05$).

İncelenen amniyon sıvısı örneklerinin, antimikrobiyal etkisi doğum sayılarına göre değerlendirildiğinde (Tablo 8), hiç doğum yapmamış 21 deneğin 12'sinde (%57,1), daha önce 1 doğum yapmış olan 25 örneğin 22'sinde (%88), 2 doğum yapmış 6 örnekten 5'inde (%83,3) antimikrobiyal aktivitenin etkin olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak doğum sayılarına göre incelenen toplam 52 amniyon sıvısı örneğin 39'u (% 75) aktif, 13'ü (% 25) inaktif olarak saptanmıştır. Doğum sayısı ile antimikrobiyal etki arasında, ki-kare testine göre anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiştir ($P \leq 0,05$).

Tablo 7. Doğum şekline göre amniyon sıvılarının antimikrobiyal aktivite dağılımı

Doğum Şekli	Çalışılan Örnek Sayısı	Toplamın Yüzdesi	Antimikrobiyal aktivite											
			Aktif										İnaktif	
			Sayı	%	+	++	+++	++++	Sayı	%				
Normal	16	30,8	13	81,2	5	3	4	1	3	18,8				
Sezaryen	36	69,2	26	72,2	4	6	9	7	10	27,8				
Toplam	52	100	39						13					

+ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece biri üzerine etkili
 ++ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece ikisi üzerine etkili
 +++ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece üçü üzerine etkili
 ++++ : Çalışılan mikroorganizmalardan dördü üzerine de etkili

Tablo 8. Doğum sayısına göre amniyon sıvılarının antimikrobiyal aktivite dağılımı

Doğum Sayısı	Örnek Sayısı	Toplam %	Antimikrobiyal Aktivite											
			Aktif										Toplam	
			İnaktif		+		++		+++		++++			
			Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0	21	40,4	9	69,2	6	66,7	2	22,2	2	15,4	2	25	12	30,8
1	25	48,1	3	23,1	3	33,3	5	55,6	9	69,2	5	62,5	22	56,4
2	6	11,5	1	7,7	0	0	2	22,2	2	15,4	1	12,5	5	12,8
Toplam	52	100	13	100	9	100	9	100	13	100	8	100	39	100

+ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece biri üzerine etkili
 ++ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece ikisi üzerine etkili
 +++ : Çalışılan mikroorganizmalardan sadece üçü üzerine etkili
 ++++ : Çalışılan mikroorganizmalardan dördü üzerine de etkili

TARTIŞMA

Anne ve yenidoğanın morbidite ve mortalitesi üzerine önemli etkenlerden biri de amniyon sıvısı enfeksiyonlarıdır. Bu enfeksiyonlar yenidoğan sepsisinin en önemli nedenlerinden biridir (27, 28) Ancak amniyotik kaviteye ulaşan her mikroorganizma ile fetal ve maternal tahribatın olmadığı saptanmıştır. Sosyoekonomik düzeyi iyi olan toplumların amniyotik sıvı enfeksiyonu ve riskli doğum açısından daha dirençli oldukları ileri sürülmüştür (29).

Galask ve Synder (23), amniyon sıvısının *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis* ve *C.albicans*'ın üremesini tamamiyle durdurduğunu; *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* *Klebsiella* ve *E.coli*'nin üremesini ise geciktirdiğini ortaya koymuşlardır.

E.coli'nin bazı düşüklerde ve genital yol enfeksiyonlarında etken olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. *S.aureus* ve *C.albicans* diğer birçok mikroorganizma gibi vajende sıklıkla görülebilen patojenlerdir. Son yıllarda ise *B Grubu Streptokoklar* yenidoğan enfeksiyonların en sık rastlanan etkenlerinden biri olarak gösterilmektedir. Bu bakteriler yenidoğanların ilk iki ayı içinde görülen septisemi, pnömoni ve menenjitin önde gelen nedenlerinden biri haline gelmiştir. Menenjit olup da yaşayanların bazılarında nörolojik sekeller kalabilmektedir (19). Bundan hareketle çalışmamızda gebelikte son derece önemli olduğu için *E.coli*, *S.aureus*, *S.agalactiae* ve *C.albicans* gibi patojen mikroorganizmalar seçilmiştir.

Miller ve ark (30), 61 amniyon sıvısının 33 tanesinin (%54,1) *E.coli*, 8 tanesinin (%13,1) *Proteus mirabilis*, 2 tanesinin (%3,3) *S.aureus* üzerinde inhibitör etkili olduğunu, 61 amniyon sıvısından hiçbirinin *Streptococcus faecalis* üzerinde inhibitör etki göstermediğini saptamışlardır. Ayrıca çalışmaya dahil ettikleri 18 amniyon sıvısından 16 tanesinin (%88,9) *C.albicans* üzerine inhibitör etkide olduğunu göstermişlerdir.

Tafari ve ark (31), incelemeye aldıkları amniyon sıvısı örneklerinden %75'nin inhibitör etki göstermediğini % 25'inin ise inhibitör etki gösterdiğini belirtmişlerdir, 53 amniyon sıvısı örneğinin 1 tanesinin (%2) bakterisidal, 12 tanesinin (%23) bakteriyostatik etki gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Fındık ve ark (32), 105 amniyon sıvısından 62 tanesi-

nin (%59) *C.albicans*'ın, 67 tanesinin (%63,8) *S.aureus*'un, 42 tanesinin (%40) *E.coli*'nin üremesini inhibe ettiğini saptamışlardır. Çalışmaya aldıkları amniyon sıvısı örneklerinden 11 tanesi (%10,5) test edilen üç mikroorganizmanın üremesi üzerine inhibitör etki göstermemiştir. 38 amniyon sıvısı sadece bir çeşit mikroorganizmanın üremesini inhibe etmiş (%36,2), 34 amniyon sıvısı ise 3 çeşit mikroorganizmadan 2'si üzerine (%32,3) inhibitör etki göstermiştir. İnceledikleri 22 amniyon sıvısının (%21) ise çalışmada kullandıkları her üç mikroorganizmanın üremesi üzerine inhibitör etki yaptığını, 105 amniyon sıvısından 94'ünün (%89,5) çalıştıkları mikroorganizmalardan en az biri üzerinde inhibitör etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Ojo ve ark (33), çalışmalarında 51 tane amniyon sıvısının *E.coli*, *S.aureus* ve *C.albicans*'a karşı antimikrobiyal etkilerini test etmişler, bunların 20 tanesinin (%39,2) *S. aureus*, 21 tanesinin (%41,2) *C. albicans* ve 10 tanesinin de (%19,6) *E. coli*'nin üremesini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Amniyon sıvılarının test edilen mikroorganizmalardan en az birinin üremesi üzerine inhibitör etki yapmış olmasını gözönüne alarak, toplam inhibitör etkiyi %64,7 olarak saptamışlardır. İncelemeye aldıkları amniyon sıvısı örneklerinin 16 tanesinin (%31,4) bir mikroorganizmaya, 3 tanesinin (%5,9) iki mikroorganizmaya ve bir tanesinin de her üç mikroorganizmaya karşı inhibitör etki gösterdiğini bulmuşlardır.

Appelbaum ve ark ise (34), hamileliğin üçüncü trimestrinden aldıkları 85 amniyon sıvısı örneğinin 3 farklı gruptaki kadınlar üzerinde *E.coli*, *S.aureus*, *P.mirabilis*, *S.faecalis* ve *C.albicans* üzerine inhibitör etkilerini incelemişler, beyaz ırktan olan kadınlardan alınan amniyon sıvılarının inhibitör etkisinin % 76, Afrikalı kadınlarda %33, Hintli kadınlarda ise % 52 oranında olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda 52 adet amniyon sıvısının *E.coli*, *S.aureus*, *S.agalactiae* ve *C.albicans* üzerine antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Çalışmaya aldığımız amniyon sıvısı örneklerinden 22 tanesi (%42,3) *E.coli*'nin, 23 tanesi (%44,2) *S.aureus*'un, 24 tanesi (%46,2) *S.agalactiae*'nin ve 29 tanesi de (%55,8) *C.albicans*'ın üremesi üzerine inhibitör etki göstermiştir. Analize alınan amniyon sıvılarından 13'ü (%25) test edilen 4 mikroorganizmadan üçü, 9 tanesi (%17,3) ikisi, 9 tanesi (%17,3) biri üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Örneklerden 13 tanesinde (%25) antimikrobiyal aktivite gözlenmez-

ken, 8 tanesi (%15.4) test edilen tüm mikroorganizmaların üremesini inhibe etmiştir.

Ojo ve ark (33), yaptıkları bir çalışmada doğum sayısı ve antimikrobiyal etki arasındaki ilişkiyi incelemişler ve daha önce hiç doğum yapmamış kadınlardan alınan 15 amniyon sıvısından 9 tanesinin, 1-4 doğum yapmış kadından alınan 24 amniyon sıvısından 17 tanesinin, 5 ve daha fazla sayıda doğum yapmış kadınlardan alınan 12 amniyon sıvısından 7 tanesinin antimikrobiyal etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Sonuçları ki-kare testine göre değerlendirmişler, doğum sayısı ve antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır.

Fındık ve ark (32), inceledikleri amniyon sıvısı örneklerini doğum sayılarına göre değerlendirdiklerinde 1. doğumlarda 49 örnekten 44'ünde 2-4. doğumlarda 46 örnekten 40'ında 5 ve daha fazla olan doğumlarda ise 10 örnekten hepsinde antimikrobiyal etki saptamışlardır. Buldukları sonuçları ki-kare testine göre değerlendirmişler yaş ve doğum sayısı ile antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır.

Yaptığımız çalışmada ele aldığımız amniyon sıvılarını, doğum sayısına göre değerlendirdiğimizde hiç doğum yapmamış 21 deneğin 12'sinde antimikrobiyal etkinin aktif, 9'unda inaktif; daha önce 1 doğum yapmış olan 25 örnekten 22'sinde aktif, 3'ünde inaktif; 2 doğum yapmış 6 örnekten 5'inde aktif, 1'inde ise inaktif olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak doğum sayılarına göre incelenen toplam 52 amniyon sıvısından 39'unun (%75) antimikrobiyal aktivite açısından aktif, 13'ü (%25) inaktif etki yapmıştır. Sonuçlarımız ki-kare testine göre değerlendirilmiş, yaş ve antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki bulunamamış, fakat doğum sayısı ile antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir ($P \leq 0.05$).

Fındık ve ark (32), yaptığımız çalışmaya benzer olarak amniyon sıvısı örneklerinin antimikrobiyal etkisinin anne yaşı ve doğum sayısı ile ilişkisini değerlendirmişlerdir. Amniyon sıvılarının antimikrobiyal etkisini yaş gruplarına göre ele aldıklarında; 15-19 yaş grubunda inceledikleri 22 örnekten 20'sinin, 20-25 yaş grubunda 43 örnekten 39'unun, 25-29 grubunda 24 örnekten 19'unun ve 30 yaş üzerindeki 16 örneğin hepsinin inhibitör etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Ojo ve ark (33) ise, inceledikleri amniyon sıvılarının antimikrobiyal etkileri ile anne yaşı, doğum sayısı, gebelik haftası, sosyoekonomik düzey, mekonyumla

kirlenmiş ya da mekonyumsuz olmasını değerlendirmişlerdir. 20 yaş grubu ve öncesinde inceledikleri 6 amniyon sıvısından 3'ünü, 20-29 yaş grubundaki 33 amniyon sıvısından 22'sini, 30-39 yaş grubundaki 11 amniyon sıvısından 8 tanesini inhibitör etkili bulmuşlar ancak 40 yaş ve üzeri gruptan 1 amniyon sıvısını incelemeye almışlar ve etkisiz bulmuşlardır. Yaptıkları değerlendirmeye göre inceledikleri amniyon sıvısı örneklerinde anne yaşı ve antimikrobiyal etki arasında ki-kare testine göre anlamlı bir ilişki saptayamamışlardır.

Çalışmamızda ise 19-22 yaş grubunda incelenen 11 örnekten 8'inde, 23-26 yaş grubunda 13 örnekten 11'inde, 27-30 yaş grubunda 13 örnekten 11'inde, 31-34 yaş grubunda incelenen 7 örnekten 6'sında, 35 ve üzeri yaş grubunda incelenen 8 örnekten 3'ünde amniyon sıvılarının antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Buna göre gebelik yaşı ve antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bu veriler Ojo ve arkadaşlarının bulguları ile uygunluk göstermektedir.

Jankowski ve ark (35), gebelik haftası 14-42 arasında olan 60 hastanın amniyon sıvısının, *S.aureus*, *Brucella abortus* ve *C.albicans* üzerine antimikrobiyal etkisini incelemişler, gebelik haftası ilerledikçe antimikrobiyal aktivitenin arttığını bulmuşlardır.

Evans ve ark (24), 36-42. gebelik haftası içinde olan gebelerden aldıkları amniyon sıvısı örneklerinin *S.aureus* için inhibitör etkisini %86, *E.coli* için inhibitör etkisini ise %26 olarak bulmuşlardır (25). Schlievert ve arkadaşları; yaptıkları bir çalışmada gebelik haftası ile antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Maksimum inhibitör kapasitenin 36-40 haftalar arasında olduğunu, 34 haftadan önce ve 41 haftadan sonra inhibitör etkinin düştüğünü ileri sürmüşlerdir. Ayrıca incelemeye aldıkları 36-40 gebelik haftasındaki 50 amniyon sıvısının *E.coli* üzerine inhibitör etkisini agar plaklarda sayım yöntemiyle araştırmışlar ve % 100 etkili olduğunu saptamışlardır.

Ojo ve ark (33), gebelik haftası ve antimikrobiyal etki arasındaki ilişkiye baktıklarında 37. gebelik haftasından önce alınan 3 amniyon sıvısının hiçbirinin inhibitör etkisi olmadığını, 37-42. gebelik haftasında alınan 39 amniyon sıvısından 26 tanesinin, 42. gebelik haftasında alınan 6 amniyon sıvısından 2 tanesinin inhibitör etkili olduğunu saptamışlardır. Sonuçları ki-kare testine göre değerlendirdiklerinde gebelik haftası ve antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir

ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Bu bulgular bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir.

Bizim sonuçlarımız da Schlievert ve ark (24) bulgularıyla uygunluk göstermiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre gebelik haftası 32-37 arasında olan 7 örneğin hepsinde, antimikrobiyal aktivite inaktif olarak bulunmuştur. Gebelik haftası 38-41 arasında değişen 45 örnekten 39'unda antimikrobiyal etki aktif, 6'sında inaktif olarak saptanmıştır. Erken gebelik haftalarında alınan amniyon sıvılarının hepsinin inaktif olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar ki-kare testine göre değerlendirilmiş, gebelik haftası ile antimikrobiyal etki arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Amniyon sıvısının antimikrobiyal etkisinin ne zaman ortaya çıktığı tam olarak aydınlatılmamış olsa da, değişik gebelik haftalarından alınan amniyon sıvısı örnekleri incelendiğinde, en fazla inhibitör etkinin 38-40. gebelik haftalarında olduğu, bu sonucun yapılan doğum sayısı ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Erken gebelik haftalarında ise antimikrobiyal etkisinin olmadığı saptanmıştır. Sözü edilen etki üzerine gebelik yaşı ve doğum şeklinin herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür. İnhibisyon oranındaki değişikliklerin büyük olasılıkla antimikrobiyal faktör veya faktörlerin konsantrasyonlarındaki farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ojo ve ark (33), çalışmalarında sosyoekonomik düzey ile antimikrobiyal etki arasındaki ilişkiye de bakmışlar ancak ki-kare testine göre aralarında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Ayrıca mekonyumla kirlenmiş olan amniyon sıvıları ile mekonyumsuz amniyon sıvılarını antimikrobiyal etki açısından karşılaştırmışlar ve aralarında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. İncelemeye aldıkları mekonyumsuz 32 amniyon sıvısından 22 tanesinin (%68.7) aktif, 10 tanesini (%31.3) inaktif; mekonyumla kirlenmiş 19 amniyon sıvısından 11 tanesini (%57.9) aktif, 8 tanesini ise inaktif (%42.2) olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamıza mekonyumla kirlenmiş olan amniyon sıvılarını dahil etmediğimiz için böyle bir karşılaştırma yapamamıştır.

Sonuç olarak, değişik gebelik haftalarından alınan amniyon sıvısı örneklerinde en fazla inhibitör etkinin 38-40. gebelik haftalarında olduğu, bu sonucun doğum sayısı ile paralellik gösterdiği, erken gebelik haftalarında ise antimikrobiyal etkinin olmadığı görülmüştür. Gebelik yaşı ve doğum şeklinin bu etki üzerinde herhangi bir rolünün olmadığı saptanmıştır.

Bu verilerin ışığında amniyon sıvısının antimikrobi-

yal etkisinin bulunduğu, bu etkinin birçok faktöre bağlı olduğu, bu faktörlerin amniyon sıvısındaki miktarlarındaki farklılıkları antimikrobiyal etkinin bireyler hatta toplumlar arasında bile farklılıklar göstermesine yol açtığı, doğuma kadar her dönemde fetusun gelişmesi ve korunması için uygun bir ortam olmasının yanı sıra, enfeksiyonlara karşı da koruyan bir bariyer olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

- 1. Kiraz N, Akgün Y, Akşit F:** Gebeliğin son haftasında alınan amniyon sıvılarının antibakteriyel etkinliğinin araştırılması. Mikrobiyol Bül 27:27 (1993).
- 2. Dugaard HO, Thomsen AC, Henriques U, Qstergaard A:** Group B Streptococci in the lower urogenital tract and late abortions. Am J Obstet Gynecol 158:28 (1988).
- 3. Fıçıcıoğlu C, Eryılmaz N, Gürbüz A, Cantekin D, Api M, Eryılmaz E:** Preterm travayda intraamniyotik enfeksiyonun tanısında amniyotik sıvı glukoz konsantrasyon değeri. Kadın Doğum Dergisi 10:12 (1994).
- 4. Mikamo H, Kawazoe K, Sato Y, Tamaya T:** Elastase activity of anaerobes isolated from amniotic fluid with preterm premature rupture of membrans. Am J Obstet Gynecol 180:378 (1999).
- 5. Goldstein I, Zimmer EZ, Merzbach D, Peretz BA, Paldı E:** Intraamniotic infection in very early phase of the second trimester. Am J Obstet Gynecol 163:1261 (1990).
- 6. Goplerud CP, Ohm MJ, Galask RP:** Aerobic and anaerobic flora of the cervix during pregnancy and the puerperium. Am J Obstet Gynecol 126:858 (1976).
- 7. Romero R, Sirtori M, Oyarzun E:** Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. Am J Obstet Gynecol 161:817 (1989).
- 8. Oyarzun E, Yamamoto M, Kato S, Gomez R, Lizama L, Moenne A:** Specific detection of 16 microorganisms in amniotic fluid by polymerase chain reaction and its correlation with preterm delivery occurrence. Am J Obstet Gynecol 179:1115 (1998).
- 9. Schwebke JR, Richey CM, Weiss HL:** Correlation of behaviors with microbiological changes in vaginal flora. J Infect Dis 180:1632 (1999).
- 10. Beksaç MS, Demir N, Koç A, Yüksel A:** Obstetrik Maternal-Fetal Tıp & Perinatoloji. MN Medikal & Nobel Tıp Kitap Sarayı, Ankara (2001).

11. **Newton ER, Piper JM, Sham RN, Perdue ST, Pears W:** Predictors of the vaginal microflora. *Am J Obstet Gynecol* 184:845 (2001).
12. **Hillebrand L, Harmanlı ÖH, Whiteman W, Khandelwal M:** Urinary tract infections in pregnant women with bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 186:916 (2002).
13. **Balu RB, Savitz DA, Ananth CV, Hartmann KE, Miller WC, HEINE P:** Bacterial vaginosis vaginal fluid neutrophil defensin and preterm birth. *Obstet Gynecol* 101:862 (2003).
14. **Miller J, Michel J, Bercovici B, Argaman M, Sacks T:** Studies on the antimicrobial activity of amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 125:212 (1976).
15. **Schlievert P, Johnson W, Galask RP:** Bacterial growth inhibition by amniotic fluid, V. Phosphate to zinc ratio as a predictor of bacterial growth inhibition activity. *Am J Obstet Gynecol* 25:899 (1976).
16. **Larsen, Davis B:** Enhancement of the antimicrobial property of amniotic fluid by hyperthermia. *Obstet Gynecol* 63:425 (1984).
17. **Larsen B, Schlievert P, Galask R:** The spectrum of antibacterial activity of human amniotic fluid determined by scanning electron microscopy. *Am J Obstet Gynecol* 119:895 (1974).
18. **Güner MK, Usmen İ, Terek Y:** Antimicrobial activity of amniotic fluid obtained vaginally. *Int J Gynaecol Obstet* 17:294 (1979).
19. **Auger P, Marquis M, Dallaire L, Joly J:** Stunted growth of *Candida albicans* in human amniotic fluid in vitro. *J Lab Clin Med* 95:272 (1980).
20. **Hemming VG, Nagarajan K, Hess LW, Fischer GW, Wilson, SR, Thomas LS:** Rapid invitro replication of Group B *Streptococcus* in term human amniotic fluid. *Gynecol Obstet Invest* 19:124 (1985).
21. **Hoskins IA, Hemming VG, Johnson TRB, Winkel CA:** Effects of alterations of zinc to phosphorus ratios and meconium content on Group B *Streptococcus* growth in human amniotic fluid in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 157:770 (1987).
22. **Özcan FS, Ayhan A, Akalın EH:** Amniotik sıvısının bakterisidal etkisi ile kompleman ve immunglobulinler arasındaki ilişki. *Kadın Doğum Dergisi* 5:159 (1989).
23. **Özgen L:** İnsan Amniyotik Sıvısının Antibakteriyel Aktivitesi Üzerine Çinko, Transferrin ve Fosfat Düzeylerinin Etkisi. Uzmanlık Tezi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara (1991).
24. **Schlievert P, Larsen B, Johnson W, Galask RP:** Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. III. Demonstration of the variability of bacterial growth inhibition by amniotic fluid with a new-count technique. *Am J Obstet Gynecol* 122:809 (1975).
25. **Evans HE, Levy E, Glass L:** Effect of amniotic fluid on bacterial growth. *Obstet Gynecol* 49:35 (1977).
26. **Blanco JD, Gibbs RS, Krebs LF, Castaneda YS:** The association between the absence of amniotic fluid bacterial inhibitory activity and intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 143:749 (1982).
27. **Svensson L, Ingemarsson I, Mardh P:** Chorioamnionitis and the isolation of microorganisms from the placenta. *Obstet Gynecol* 67:403 (1986).
28. **Quinn PA, Butany J, Taylor J, Hannah W:** Chorioamnionitis: Its association with pregnancy outcome and microbial infection. *Am J Obstet Gynecol* 156:379 (1987).
29. **Tomblin J, Davis B, Larsen B:** Phosphate content of human amniotic fluid and its relationship to bacterial growth inhibition. *Am J Reproductive Imm Microbiology* 13:33 (1987).
30. **Miller J, Michel J, Bercovici B, Argaman M, Sacks T:** Studies on the antimicrobial activity of amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 125:212 (1976).
31. **Tafari N, Ross S, Naeye RL, Galask RP, Zaar B:** Failure of bacterial growth inhibition by amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 128:187 (1977).
32. **Fındık D, Tuncer İ, Baysal B, Fındık Y:** Amniyon sıvısının antimikrobiyal etkisi. *Mikrobiol Bül* 28:204 (1994).
33. **Ojo VA, Okpere EE, Obaseki-Ebor EE:** Antimicrobial properties of amniotic fluid from some Nigerian women. *Int J Gynecol Obstet* 24:97 (1986).
34. **Appelbaum PC, Holloway Y, Ross SM, Dhupelia I:** The effect of amniotic fluid on bacterial growth in three population groups. *Am J Obstet Gynecol* 128: 868 (1977).
35. **Jankowski RP, Aikins HE, Vahrson H, Gupta KG:** Antibacterial activity of amniotic fluid against *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Brucella abortus*. *Arch Gynak* 222:275 (1977).

