

Dezenfektanların *Brucella canis* Üzerine Etkileri

Hakan Yardımcı¹

Mehmet Akan¹

Jale Erdeğer¹

Özet

Bu çalışmada, değişik konsantrasyonlardaki beş genel dezenfektanın Brucella canis RM 6/66 ve 1/90 suşu üzerindeki etkileri incelendi. Fenol, formalin ve etil alkolün iki katlı test sulandırılmalarının, bir dakikada bakterileri öldürdüğü saptandı. İyot'un 10 ppm'e kadar olan konsantrasyonları bir dakikada, 2.5 ppm'lik konsantrasyonu 60 dakikada bakteriler üzerine etkili olmadı. Benzalkonyum klorid (kuarterner amonyum bileşiği) (1/200000) 30 dakikada etkili olurken daha kısa sürelerde etkisiz kaldı.

Anahtar Kelimeler: *Brucella canis, Dezenfektan, Köpek*

Summary

Effects of Disinfectants on Brucella canis

In this study, the effect of various concentration of five common disinfectants on Brucella canis RM 6/66 and 1/90 strains was investigated. Two-fold dilutions of phenol, formaline and ethyl alcohol were killed bacteria within one min. Free iodine in iodophore group up to 10 ppm and 2.5 ppm had no effect on B.canis within one min. and 60 min., respectively. Benzalkonium chloride(quarterner ammonium compound) in 1/200000 consantration was effective against B.canis strains within 30 min, but not in shorter periods.

Key Words: *Brucella canis, Disinfectant, Dog*

Giriş

Brucella canis, ilk olarak Carmichael tarafından 1967'de köpeklerin bulaşıcı abort etkeni olarak izole edilmiştir (1). Etken, dişi köpeklerde abort ve infertilite, erkeklerde ise epididimitis ve testikuler atrofiye neden olur. Değişik ülkelerde yapılan birçok çalışmada, etkenin köpeklerde yaygın bulunduğu bildirilmiştir (2,3,4). *B.canis*'in Türkiye'de köpeklerdeki varlığı serolojik olarak saptanmıştır (5). Etken insanlara da bulaşarak hastalık meydana getirmektedir. Bulaşma genellikle infekte hayvanların vaginal akıntıları, aborte fetus, plasenta artıkları, semen ve daha az olarak da idrar ile olmaktadır. İnfekte hayvanların teşhisinde laboratuvar muayeneleri önem taşır. Teşhiste, özellikle serolojik testlerden serum aglutinasyon testi ve ELISA kullanılmaktadır (6,7). Ayrıca, bakteriyolojik yoklamalardan da yararlanılmaktadır (8). Hastalıktan korunmak amacıyla henüz etkili bir aşı geliştirilmemiştir. İnfeksiyonun kontrolü için, portör hayvanların eliminasyonu yanında uygun hijyen ve dezenfeksiyon koşullarının sağlanması gerekmektedir. Bu nedenle, etkenin giderilmesi için etkili bir dezenfektanın seçilmesi önem taşımaktadır. Ancak yapılan literatür taramasında bugüne kadar bu konuyla ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, 5 gruba ait dezenfektanın değişik sürelerde *B.canis* suşları üzerine etkilerinin saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Test suşları: Denemede Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi kültür koleksiyonundan sağlanan *B.canis* RM6/66 ve 1/90 suşları kullanıldı.

Besi yerleri: *B.canis*'in üretilmesinde BHI (Brain Heart Infusion, Difco) buyyon ve %5 koyun kanlı TSA (Tripticase Soy Agar, Difco) kullanıldı.

¹A.Ü.Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

Tampon sıvı ve çözeltiler: Bakteri toplanmasında %0.85'lik fizyolojik tuzlu su, bakteri ve dezenfektan sulandırılmaları için Sorenson buffer (pH.7.0) kullanıldı.

Dezenfektanlar: Çalışmada, fenol (%0.5, Merck), betadine (iodine polivinylpyrrolidone %10, Kansuk), formaldehid solusyonu (formalin %37, Merck), zefiran (kurternar amonyum bileşiği, benzalkonyum klorid, %10, İltaş) ve etil alkol (%96, Merck) kullanıldı.

Dezenfektanların sulandırılması: Testlerde etken maddesi esas alınarak fenol'ün %0.5-%0.0625, betadine'nin 10-2.5 ppm, formaldehid solusyonu'nun %2-%0.25, zefiran'nın 1:50000-1:20000 arasındaki çift katlı sulandırılmaları ile etil alkol'un %70 ve %40'lık solusyonları kullanıldı.

Test süşunun standardizasyonu: B.canis RM6/66 ve 1/90 süşlerinin kültürel ve biyokimyasal özellikleri incelendi (3). B.canis süşlerinin TSA'daki 48 saatlik kültürleri steril fizyolojik tuzlu su ile toplandı. 5000 rpm'de 10 dakika 2 defa santrifüj edildi. Sediment Sorenson buffer ile yeniden süspanse edildi. TSA agarda canlı bakteri sayımı yapıldı. Tüm testlerde 10^7 CFU (Colony Forming Unit)/ml bakteri içeren süspanسیون en geç bir saat içinde kullanıldı. Bakteri sayımları, TSA'da yapıldı.

Test prosedürü: Steril cam tüpler içerisinde 0.2 ml ana bakteri süspanسیونu ile 9.8 ml dezenfektan sulandırılmaları karıştırıldı. Dezenfektan içermeyen Sorenson buffer kontrol olarak kullanıldı. Bakteri ve dezenfektan 22°C 'de 1, 5, 15, 30 ve 60 dakika süreyle muamele edildi. Her test süresinin bitiminde, 0.1 ml test sıvısı alınıp 9.9 ml Sorenson buffer, buradan alınan 1 ml sıvı da 9 ml BHI buyyona aktarılıp reaksiyon iki aşamada durduruldu. BHI buyyon 37°C 'de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Buradan da TSA'a ekim yapıldı ve bakteri üremesi 96 saat süreyle incelendi. Bu süre sonunda üremenin görülmemesi, dezenfektanın tüm bakterileri öldürdüğünü ortaya koydu.

Bulgular

Çalışmada kullanılan 5 dezenfektanın çeşitli sulandırılmalarının 1-60 dakika sürelerde B.canis süşleri üzerine etkileri Tablo 1.de gösterilmiştir. Fenol (%0.5-%0.0625), formalin (%2-%0.5) ve etil alkol (%70-%40) sulandırılmalarının, kontrol edilen sürelerde bütün bakterileri öldürdüğü saptandı. Buna karşın iyotun tüm sulandırılmaları ve zefiranın yalnız 1/200000 sulandırılması 1.dakikada etkili olamadı. İyotun 10 ppm'lik konsantrasyonu ve zefiranın 1/50000 ile 1/100000 sulandırılmaları bakterileri 5.dakika öldürdüğü saptandı. Aynı dezenfektanlardan iyodun 5 ppm'lik konsantrasyonu ile zefiranın 1/50000-1/100000 sulandırılmaları 15.dakikada etkili olurken diğer sulandırılmaları etkisiz kaldıkları belirlendi. Otuz ve 60.dakikada iyot 15.dakikadaki etkiyi gösterirken zefiran tüm sulandırılmalarında etkenleri öldürdü. Kuarternar amonyum bileşiği'nin 1/200000'lik sulandırılması 30 dakikada etkili olurken daha kısa sürelerde etkisiz kaldı. Kontrollerin tamamında üreme görüldü.

Tablo 1. Dezenfektanların B.canis Suşları (RM6/66 ve 1/90) Üzerinde Çeşitli Sürelerde Etkileri

Dezenfektan	İncelenen Yoğunluk	Üreme (dakika)				
		1	5	15	30	60
Fenol	%0.5	-	-	-	-	-
	%0.25	-	-	-	-	-
	%0.125	-	-	-	-	-
	%0.0625	-	-	-	-	-
İyot grubu (Betadine)	10 ppm	+	-	-	-	-
	5 ppm	+	+	-	-	-
	2.5 ppm	+	+	+	+	+
Benzalkonyum Klorid (Zefiran)	1/50000	-	-	-	-	-
	1/100000	-	-	-	-	-
	1/200000	+	+	+	-	-
Formalin (Formaldehit sol.)	%2	-	-	-	-	-
	%1	-	-	-	-	-
	%0.5	-	-	-	-	-
	%0.25	-	-	-	-	-
Etil alkol	%70	-	-	-	-	-
	%40	-	-	-	-	-
Kontroller		+	+	+	+	+

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, veteriner hekimlikte dezenfeksiyon amacıyla kullanılan 5 dezenfektanın B.canis suşları üzerine etkileri incelenmiştir. Etil alkol ve betadin'den daha çok laboratuvar ve klinikte kullanılan araçlar ile derinin dezenfeksiyonunda yararlanılmaktadır. Bunun yanısıra formaldehit solusyonu dokuların tesbiti, antijen hazırlanması ile laboratuvar, hayvan barınağı ya da kuluçka makineleri gibi yerlerin dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır. Fenol ve zefiran ise her türlü genel dezenfeksiyon amacıyla kullanılabilirlerdir.

Etil alkol, formalin ve fenol bütün sulandırılmaları zamana bağlı olmaksızın B.canis suşları üzerine öldürücü etki gösterirken, bu etkinin iyot ve zefiranda yoğunluk ve süreye bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. İyodun 2.5 ppm konsantrasyonunun da B.canis üzerinde 60 dakika sonunda etkili olmadığı saptanmış olup bu durum, iyodun kullanılacağı dezenfeksiyon işlemlerinde yoğunluğun önemini göstermiştir. Ayrıca zefiranın 1/200000 sulandırılmasının B.canis suşlarının üzerindeki etkisinin zamana bağlı olarak değiştiği ve öldürücü etkinin 30.dakikada başladığı belirlenmiştir.

Dezenfektanların, sporsuz Gram negatif bakterilere etkileri üzerinde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (9,10). Wang ve ark.(9) dezenfektanların Campylobacter jejuni üzerinde etkilerini araştırdıkları çalışmada, fenol bileşiklerinin %0.15, kuarternar amonyum bileşiklerinin 1:50.000, iyodoforun 10 mg/l, etil alkolün %70'lik konsantrasyonlarının mikroorganizmaları bir dakikada öldürdüklerini saptamışlardır. Aynı çalışmada formolün mikroorganizmaları 15 dakikada öldürdüğü bildirilmiştir. Haemophilus somnus üzerine dezenfektanların etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada (10), %0.078'lik fenolik bileşiğin, %70'lik etil alkol ve iodoformdaki 10 ppm serbest iyotun 10⁶ CFU/ml yoğunluğundaki organizmaları bir dakika içerisinde öldürdüğü saptanmıştır. Kuarternar amonyum bileşiğinin 1:50.000'lik dilusyonu ve %2 formalinin H.somnus'un her iki suşunu 15 dakikada öldürdüğünü bildirmişlerdir. Bu araştırmada elde edilen bulgular ile diğer çalışmalarda bildirilen sonuçlar arasında bir benzerlik bulunmuştur. Ancak, mikroorganizmalara etki eden dezenfektan yoğunlukları ve süreleri arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan dezenfektanların B.canis suşları üzerine etkisi, laboratuvar koşullarında saptanmıştır. Yazılı literatürde daha önce bu konu ile ilgili gerek yurtiçi gerekse yurt dışında yayınlanmış bir eser bulunmadığından; çalışmada elde edilen sonuçlar, dezenfektanların sahadaki uygulamalarına bir

temel oluşturacaktır. Ancak, genel dezenfeksiyonda doğal koşulların dezenfektanın aktivitesini etkileyebileceği; ısı, organik materyaller (dışkı, kan vs.), pH gibi birçok faktörün etkiyi olumlu ya da olumsuz yönde değiştirebileceği göz önünde tutulmalıdır.

Kaynaklar

1. Carmichael LE, Kenney RB: Canine abortion caused by *Brucella canis* JAVMA., 152: 605-616 (1968).
2. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Akay Ö: Özel Mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi Yayınları No:741, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum (1992).
3. Corbel MJ, Brinley-MorganWJ: Genus *Brucella*. In: Krieg,N.R. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Volume 1, pp.377-376, Baltimore, London (1984).
4. Creek N: *Brucella canis* in dogs. Iowa State Veterinarian, 3: 122-124 (1980).
5. Diker KS, Aydın N, Erdeğer J, Özyurt M: A serological of dogs for *Brucella canis* and *Brucella abortus* and evaluation of mercaptoethanol microagglutination test. A Ü Vet Fak Derg., 34: 268-277 (1988).
6. Alton GG, Jones LM, Pietz DE: Laboratory techniques in Brucellosis. Second edition. World Health Organization, Monograph Series, Geneva (1975).
7. Mateu-de-Antonio EM, Martin M, Soler M: Use of indirect enzyme-linked immunosorbent assay with hot saline solution extracts of a variant (M-) strain of *Brucella canis* for diagnosis of brucellosis in dogs. Am J Vet Res., 54: 1043-1046 (1993).
8. Wooley RE, Hitchcock PL, Blue JL, Neuman MA, Brown J, Shotts EB: Isolation of *Brucella canis* from a dog seronegative for Brucellosis. J Am Vet Med Assoc., 173:387-388 (1978).
9. Wang WL, Powers BW, Luechtefeld NW, Blaser MJ: Effects of disinfectants on *Campylobacter jejuni*. Appl Environ Microbiol., 45: 1202-1205 (1983).
10. Diker KS, Erdeğer J, Hashimoto K: Effect of disinfectants on *Haemophilus somnus*. Etlik Vet Mikrobiol Derg., 5: 137-142 (1989).