

FİTOPATOLOJİ LABORATUVARINDA STERİLİZASYON VE DEZENFEKSİYON YÖNTEMLERİ

Ümit ÖZYILMAZ¹

ÖZET

Sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemi tüm mikrobiyolojik çalışmaların temelini oluşturmaktadır. Fitopatoloji laboratuvarında, bu işlemlerden özellikle fungal ve bakteriyel etmenlerin bitkiden izolasyonu, çoğaltılması, saf kültürlerinin elde edilmesi, tanılanması ve diğer bütün testlerde ön koşul olarak yararlanılmaktadır. Gerek yanlış sterilizasyon yönteminin seçilmesi, gerekse uygun koşulların elde edilememesinden dolayı sterilizasyon amacına ulaşamamakta ve bazen de bu durumun farkına bile varılamamaktadır. Hatta insan sağlığı açısından risk de oluşturmaktadır. Bu nedenle sterilizasyonun amacına ulaşılabilmesi için doğru yöntemin ve doğru koşulların uygulanması son derece önemlidir. Sterilizasyon amacıyla kullanılan en yaygın yöntemler; kuru ve nemli yüksek sıcaklıklar, UV ışınlar ve bazı kimyasallardır. Bu çalışmada, malzemelerin veya maddelerin doğru yöntemler ve koşullar altında sterilize edilmesi, uygulamaların insana olabilecek zararları da göz önünde tutularak derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: otoklav, UV, filtrasyon, kontaminasyon, dekontaminasyon

Sterilization and Disinfection Methods in Phytopathology Laboratory

ABSTRACT

Sterilization and disinfection processes are fundamental to all microbiological studies. In Phytopathology laboratories, Isolating microorganisms especially fungal or bacterial pathogens in plants, obtaining pure cultures, growing and identification of them and carrying out all other tests are based on these methods. Selecting wrong sterilization methods and applying inappropriate conditions are hard to achieved success, in some cases this situation is even noticed. In fact constitutes a risk to human health as well. Therefore, in order to reach success, chosen the right method and right condition are extremely important. In sterilization, dry and wet high temperatures, UV rays and some chemicals are the most widely used methods for this purpose. In this study, right methods and conditions for sterilization of materials are reviewed while consider its probable health risk to human.

Key Words: autoclave, UV, filtration, contamination, decontamination

GİRİŞ

Sterilizasyon ve dezenfeksiyon Fitopatoloji laboratuvarında yürütülen çalışmaların ilk adımını oluşturmaktadır. Tüm genel ve bir konuya uzmanlaşmış mikrobiyoloji laboratuvarlarında olduğu gibi Fitopatoloji laboratuvarında da benzer cihazlar ve yöntemler yapılan çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu anlamda bu yöntemlerin doğru ve etkin kullanılabilmesi için öncelikle terimlerin ne anlama geldiğinin bilinmesi gerekmektedir. Sterilizasyon cansız maddelerde bulunan mikroorganizmaların, sporlar dahil tüm yaşam şekillerinin öldürülmesi işlemine denilmektedir. Dezenfeksiyon ise cansız maddelerin yüzeyinde bulunan mikroorganizmaların yok edilmesi işlemidir. Bu işlem bakteri sporlarına etki etmemektedir. Bu her iki işlem için fiziksel veya kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemlerinin başarısı; işleme tabii tutulacak maddelerin temizliğine, mikrobiyal kontaminasyonun türü ve miktarına, sıcaklığa ve uygulama süresine bağlıdır. Sterilizasyon ve dezenfeksiyon arasındaki tek fark dezenfeksiyonun sporlar üzerinde etkisiz

olması gibi gözükse de aslında olay biraz daha karmaşıktır. Örneğin, dezenfeksiyon amacıyla kullanılan ve yüksek düzeyde dezenfeksiyon sağlayan bazı maddeler uzun süre uygulandıklarında sporları da öldürebilmektedir.

Burada sözü edilen mikroorganizmalar - Fitopatoloji bilim dalının da çalışma kapsamında yer alan- protozoalar, funguslar, bakteriler ve virüslerdir. Bu mikroorganizmaların her türlü canlı formunun laboratuvar çalışmalarında kullanılan malzemelerden temizlenmesi gerekmektedir. Bu işlem için uygun yöntemlerin seçilmesi bir zorunluluktur. Laboratuvar çalışmaları sırasında bulaşan mikroorganizmalar çalışmaları zorlaştırmakta, sonuç alınamamasına, yanlış sonuç alınmasına ve güvensiz verilerin elde edilmesine neden olmaktadır.

Bunlara ek olarak laboratuvarında pek çok cihaz ve kimyasal uygun kullanılmadığında laboratuvar çalışanlarına zararlı etkiler yapabilmektedir. Bunların içerisinde sterilizasyona yarayan cihaz ve kimyasallar da bulunmaktadır.

Her ne kadar tıp alanında hizmet veren bir mikrobiyoloji laboratuvarı ile karşılaştırıldığında Fitopatoloji laboratuvarında çalışmak daha güvenli

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Çakmar-AYDIN

olarak görülse de enfeksiyonel bir hastalığın insana bulaşma riski vardır. Aseptik çalışılmamasından dolayı besi yerlerine bulaşma yolu ile karışıp ürüyen ve oradan da çalışanlara bulaşan konu dışı mikroorganizmalar insanda enfeksiyonel veya parçaları/ürünleri ile toksik etki göstererek hastalıklara neden olabilmektedirler. Uygun ortam bulduklarında laboratuvarında besi yerlerinde, saksı toprağında, torfta veya ölü bitki artıklarında bol miktarda gelişen fungusların sporları çok yoğun olduğunda daha önceden ciğer hastalıkları geçirmiş, ameliyat olmuş veya bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde ciddi alerjik veya ölümcül hastalıklara neden olabilmektedir (Caretta, 1992; Latgé, 1999; Laverde ve ark., 1973; Stein ve ark., 1970). "The Guardian" da yayımlanan bir haberde kompost üzerinde gelişen *Aspergillus*ların ürettiği sporları soluyan bir çiftçinin yaşamını çok kısa süre içinde yitirdiği haber edilmiştir (Adetunji, 2008). Bu gibi konular dikkate alındığında bitki hastalıkları ile uğraşan laboratuvarların da gerekli titizliği göstermesi gerektiği ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada; Fitopatoloji laboratuvarında aseptik çalışmayla ilgili alınabilecek tedbirler, sıklıkla ve yaygın olarak kullanılan fiziksel sterilizasyon yöntemleri ve kimyasal dezenfeksiyon yöntemleri tartışılmış, laboratuvarında mikroorganizmalardan arınmak için kullanılan yöntemlerin en etkili şekilde işleyebilmesi için gerekli uygun koşulların oluşturulması değerlendirilmiştir.

Aseptik çalışma ilk başta gerekli korunma önlemlerinin alınması ve laboratuvara gerekli temizlik özeninin gösterilmesi ile sağlanmaktadır. Laboratuvar doğrudan hava akımına kalmayan bir konumda olmalı ve doğrudan hava akımlarının oluşması engellenmelidir. Banko ve çalışma yüzeylerinin dezenfeksiyonu %70'lik etil alkol ile yapılmalıdır (Klement ve ark., 1990). Çalışanların dizlerini örtecek uzunlukta laboratuvar önlüğü giymeleri, laboratuvara girişte ve çıkışta ellerini sabunlu su ile yıkamaları gerekmektedir. Gerekirse çalışmaya uygun koruyuculuğu olan eldivenlerden giymelidir. Araştırmacıların çalışma sırasında gereken temizlik titizliğini göstermesi gerekmektedir. Bitki parçaları, toprak gibi mikroorganizmalarca bol örnekler ya laboratuvar dışında hazırlanmalı ya da olabildiğince temiz davranarak çalışmalar yürütülmelidir. Araştırmacıların çalışma sırasında gerek mikroorganizmaları gerekse kimyasal maddeleri değme-dokunma, sıçratma, dökme gibi yollarla laboratuvarında yerlere, bankolara, cihazlara bulaştırmaması gerekmektedir. Bulaşma durumunda ise çalışmanın hemen sonunda ya da derhal temizlik, gerekirse dezenfeksiyon yapılmalıdır. Bu durum diğer çalışanların çalışmaları, sağlıkları ile laboratuvar cihazlarının düzgün çalışması ve uzun ömürlü olmaları açısından oldukça önemlidir.

Çalışma sonunda kullanılan tüm malzemelerin temizliği, gerekirse sterilizasyonu yapılmalıdır.

Özellikle bitki hastalık etmenleri, bilhassa karantina patojenleri ile yapılan çalışmalarda kullanılan alet, ekipman gibi malzemelerin yanında petrideki mikroorganizma, bitki, bitki parçası gibi tüm malzemeler uygun bir şekilde hemen sterilize edilmeli daha sonra atılmalıdır. Kesinlikle sterilizasyon işlemi yapılmadan kullanılan malzemelerin temizleme işlemine başlanmamalı veya tek kullanımlık malzemeler doğrudan atılmamalıdır.

İlk kullanımda ya da çıkmayan kirleri bulunan cam malzemeler %5 lik hidroklorik asitte gece boyu bekletilmeli, suyla durulanmalı ve ardından yıkama işlemi yapılmalıdır (Mukherjee, 2010). Çoğu kez etil alkol de iyi bir çözücü olduğundan malzemelerin temizlenmesinde kullanılabilir (McDonnell, 2007). Malzemeler sabunlu/deterjanlı suyla yıkanmalı, musluk suyuyla iyice durulanmalı ve ardından saf sudan geçirilmelidir.

İnce oyuntulu, girintili-çıkıntılı veya ince delikli yapıya sahip malzemelerin temizlenmesinde ultrasonik su banyoları kullanılabilir (Rutala ve ark., 2008). Genel olarak 20-400 kHz'lik yüksek frekanslı ses titreşimleri yayarak çalışan bu ultrasonik su banyolarından 2-6 dakikadan 20 dakikaya kadar süre ile yararlanılmaktadır (Dietz ve Badavinac, 2001). Fitopatoloji laboratuvarında özellikle ince meshli eleklerin temizlenmesinde kullanılmaktadır. Ultrasonik temizleme materyalleri sterilize edemez, sporlar ve virüsler işlem sırasında inaktive olmaz. Ultrasonik işlemden sonra uygun bir sterilizasyon işleminin uygulanması gerekmektedir (Simmers ve ark., 2008). Her ne kadar bakterisit etki göstermese de uygun dezenfektan içinde yapılan sonikasyon bakterilerin öldürülmesine sinerjistik etki yapmaktadır (Rutala ve ark., 2008).

Sıklıkla ve yaygın olarak laboratuvarında kullanılan sterilizasyon ve dezenfeksiyon yöntemleri ise şu şekilde gruplandırılabilir.

• Fiziksel sterilizasyon yöntemleri

• Sıcaklık

* Alevden geçirme/yakma (Çok yüksek ısıya dayanıklı ince yapılı metaller ve cam malzemeler)

* Kuru sıcaklık (Cam, porselen, metal ve kuru olması gereken malzemeler)

* Nemli sıcaklık (Neme karşı hassas olmayan malzemeler, sıvılar, besi yerleri)

• Filtrasyon (Sıcaklık ile bozulan sıvı içindeki eriyik halindeki maddeler)

• Ultraviyole (Her türlü cansız yüzeyler)

• Kimyasal dezenfeksiyon yöntemleri (Canlı ve cansız yüzeyler)

FİZİKSEL STERİLİZASYON YÖNTEMLERİ

Sıcaklık








Genel olarak sıcaklık mikroorganizmaların protein, nükleik asit ve yağ yapısının bozulmasına neden olmaktadır. Protein ve diğer maddelerin sıcaklık ile kuagüle olması hücre ölümüne neden

olmaktadır. Sıcaklık çok yaygın olarak kullanılan bir sterilizasyon yöntemidir (McDonnell, 2007). Sıcaklık laboratuvar malzemelerinin veya kimyasalların yapısını bozabilmektedir. Bu durumun daha önceden araştırılıp tespit edilmiş olması gerekmektedir. Laboratuvarda kullanılan cam malzemeler ısıya dayanıklıdır, ancak plastik malzemeler ısıya dayanımları açısından farklılıklar göstermektedir. Bazı sert plastik malzemeler otoklav ile sterilizasyon için uygundur ve sıklıkla kullanılır (Çizelge 1) (Anonim, 2014a; Anonim, 2014b; Anonim, 2005). Malzemelerin hangi plastik materyalden yapıldığı malzemenin üzerine basılı olan kısaltmadan ya da geri dönüşüm işaretinden anlaşılabilir.

Alevden geçirme

Bir materyal yakılarak tamamen imha edilebilmektedir. Ancak Fitopatoloji laboratuvarında en sık kullanılan yöntem malzemeyi akkor hale getirip ya da yüzeyini aleve yalatıp daha sonra soğutup defalarca kullanılması şeklindedir. Bu amaçla ilk kez 1857 yılında tarif edilen bunzen (Jensen, 2005) günümüzde en çok kullanılan aletlerden biridir. Bunzen alevi sarı renkte olmamalı ve isli yanmamalıdır. Bunzenin altındaki gaz vanası ve hava kanalı uygun konuma getirilerek çok uzun boylu olmayan, is çıkarmayan mavi bir alev elde edilmelidir (Morgan, 1941). Bunzen alevindeki sıcaklık bunzenin tipi, gaz/hava karışımı ve alevde ölçüm yapılan

Çizelge 1. Bazı plastiklerin yapıldıkları malzemeler, yapıldığı malzeme kodu simgesi ve otoklava ile sterilizasyona dayanma durumları

Malzeme kodu	Malzeme	Otoklav ile sterilizasyona uygunluğu	
 01 PET	PETE veya PET	Polyethylene terephthalate	Uygun
 02 PE-HD	HDPE	High-density polyethylene	Uygun değil
 03 PVC	PVC veya V	Polyvinyl chloride	İşlenmesine bağlı
 04 PE-LD	LDPE	Low-density polyethylene	Uygun değil
 05 PP	PP	Polypropylene	Uygun
 06 PS	PS	Polystyrene	Uygun değil
Diğer malzemelerden yapılanlar ()			
Malzeme kodu	Otoklav ile sterilizasyona uygunluğu		
PTFE	Uygun		
FEP	Uygun		
ECTFE/ETFE	Uygun		
PCTFE	Uygun		
POM	Uygun		
PA	Uygun		
PC	Uygun		
PMMA	Uygun değil		
PPS	Uygun		
PSU	Uygun		
PMP/TPX	Uygun		

noktaya göre deneysel olarak yaklaşık 1000-2000 °C arasında değişmektedir (Chen ve ark., 1996). Normal çalışma koşullarında sıcaklığı 1500 °C civarındadır. Uygun şekilde gaz hava oranı ayarlanmış bunzen alevine bakıldığında tabanları ortak iç içe geçmiş 3 adet konik renkli kısım göze çarpar. Alevin en sıcak bölümü iç kısımdaki ikinci konik alevin tepe noktasıdır (Anonim, 2007). Bu sıcaklık kısa sürede mikroorganizmaları öldürebilmektedir.

Tel, iğne gibi malzemelerin akkor oluncaya kadar tutulması gerekmektedir. Pens, bisturi cam çubuk gibi malzemeler ateşe fazla süre tutulmamalıdır. Bu malzemelerin çabuk soğuyabilmesi için yeteri kadar sıcaklık ile muamele edilmesi gerekmektedir. Gereğinden fazla sıcaklık daha geç soğumalarına neden olmaktadır. Alevden geçirilen pens, bisturi cam çubuk gibi malzemeler hemen soğuyamayabilir, bunun önüne geçmek için bu malzemelerin kullanılan kısımları kağıt havlu ile temizlenmeli, etil alkole batırılmalı sonra ateşe tutulup üzerindeki alkolün yanması alevin dışında tamamlanmalıdır. Böylece aynı zamanda bu malzemelerin ömürleri de arttırılmış olur.

Kuru sıcaklık ile sterilizasyon

Kuru sıcaklık nemli hava ile sterilize edilemeyecek ya da nemden zarar gören malzemelerin sterilizasyonunda da kullanılmaktadır (McDonnell, 2007). Sıcaklık ile sterilizasyon işleminden önce malzemeler sterilizasyona dayanabilen alüminyum folyoya, cam/plastik taşıyıcılara ya da jelatinli torbalara yerleştirilmelidir. Böylece sterilizasyon işleminden sonra malzemeler taşınması sırasında veya kullanılıncaya kadar bekletilmesinde sterilliğini korunmuş olur. Örneğin sterilizasyondan önce havanların ağızları ve havan ellerinin uç kısımları alüminyum folyo ile kapatılmalıdır. Hangi malzemelerin kuru sıcaklıklarda (etüvde) sterilize edilebileceği Çizelge 2'de verilmiştir (Klement ve ark., 1990).

İyi bir sterilizasyon için malzemeler arasında havanın rahatça dolaşabileceği boşluklar olması gerekmektedir. Etüvün aşırı doldurulmaması hava sirkülasyonu açısından çok önemlidir. Kuru sıcaklık; protein, yağ ve nükleik asitlerin denatüre olmasının yanında oksidasyona (hücreden elektron atılmasına) uğratarak biyomoleküllerin yapısının ve fonksiyonunun kaybetmesine neden olmaktadır. Kuru sıcaklık ile etüvde malzemelerin sterilizasyonunda genel olarak kullanılan sıcaklıklar ve uygulama süreleri Çizelge 3'de verilmiştir (McDonnell, 2007). Süre istenilen sıcaklığa erişildiğinden başlatılmalıdır.

Nemli hava ile yüksek sıcaklıkta sterilizasyon

Su ve doymuş su buharı ısının iletilmesinde oldukça etkilidir. Bu nedenle sterilizasyon yöntemlerinden biri olarak kullanılmaktadır. Bazı mikroorganizmaların 15 dakika süre ile nemli sıcaklıklara dayanma dereceleri Çizelge 4'te

verilmiştir. 100 °C üzerindeki sıcaklık sadece basınç altındayken elde edilebilmektedir. Yüksek basınç ve sıcaklık otoklav adı verilen cihazlar ile elde edilmektedir. Bu cihaz ile farklı sıcaklıklarda ve sürelerde sterilizasyon sağlanırken (Çizelge 5) (McDonnell, 2007) çoğu kez genel durumlarda 121 °C de 15 dakika sterilizasyon için yeterli gelmektedir. Ancak otoklava konulacak olan sıvı maddenin hacmi arttıkça sürenin de uzatılması gerekmektedir (Çizelge 6) (Klement ve ark., 1990). Sıvıların, besi yerlerinin, ısıya dayanabilen malzemelerin hatta ısıya ve suya dayanabilen cihazların sterilizasyonunda sıklıkla kullanılabilir; ısıya ve basınca karşı hassas malzemelerin sterilizasyonunda kullanılmamalıdır (McDonnell, 2007). Krom ve diğer tümü metal malzemeler, kauçuk, alüminyum, ısı dayanımlı membran filtre, ısı dayanımlı plastik malzemeler, cam malzemeler, çok kullanıma uygun filtrasyon ekipmanları, sıvı ve agarlı besi yerleri ve parafin otoklav ile sterilize edilebilecek malzemelerin başında gelmektedir (Klement ve ark., 1990). Besi yerleri veya diğer sıvıların sterilizasyonu cam şişe veya erlen içinde yapılmalı ağızları kendi kapakları ya da alüminyum folyo ile kapatılmalıdır. Isıya dayanıklı kaplar içine konulan sıvıların yüksekliği kabın 1/3'ünü geçmemelidir. Aksi halde basınç oluşuncaya kadar ya da işlem sonunda basıncın azaltılması sırasında sıvı kaynarak kabın dışına taşabilmektedir. Ayrıca vidalı kapaklı kapların kullanılması sırasında kapaklar tam sıkıldıktan sonra 1/4 oranında geri çevrilerek gevşetilmeli ve işlem sırasında kabın içi ile dışı arasındaki basınç farkının oluşması engellenmelidir. İçeride buhar olacağından ıslanabilecek kağıt gibi malzemeler ya sterilize edilmemeli ya da duruma göre ısıya dayanabilen poşetler veya kaplar içine konulup doğrudan terleme yoluyla ıslanması engellenmelidir. Bu durumda bu malzemelerin az miktarda da olsa nemleneceği akıldan çıkarılmamalıdır.

Fitopatoloji laboratuvarlarında en çok sterilize edilen materyallerden biri de topraktır. Toprak yoğunluğu, miktarı, değişken nem ve organik madde içeriği açısından sterilize edilmesi en zor maddelerden bir tanesidir. Razavi darbar ve Lakzian (2007) topraktan mikroorganizmaların arındırılmasında otoklavlamamanın fumigasyon, mikrodalga ve ultraviyole uygulamalarına göre daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Toprak 121 °C de 20-30 dakika otoklav ile sterilize edilebilmektedir. Ancak genelde konulan toprağın ağırlığının yarım kilodan fazla olması durumunda 1 saat tercih edilmelidir (Alef ve Nannipleri, 1995). Çoğu araştırmacı toprağı aynı koşullar altında takip eden 2nci hatta 3ncü gün de tekrar sterilize etmektedir. Otoklavlama toprağın yapısını bozmakta ve amonyum ile amino asitlerin salımına neden olmaktadır. Ayrıca kil yüzey alanının azalmasına da neden olmaktadır (Trevors, 1996). Razavi darbar ve Lakzian (2007) otoklavlama sonunda toprakta ekstrekte edilebilir çözülebilir organik karbon ve azot miktarında anlamlı bir artışın

olduğunu, toprak pH sınır istatistiki olarak düştüğünü saptamışlardır. Bu da göstermektedir ki toprağın otoklav yolu ile sterilize edilmesi fiziksel ve kimyasal yapısını bozmaktadır. Çalışmaların bu husus dikkate alınarak yürütülmesi ve değerlendirilmesi akıldan çıkarılmamalıdır.

Sterilizasyonun yanında bazen malzemelerin içindeki, üzerindeki protein ve/veya nükleik asit gibi maddelerden de arınmak istenir. Çoğu zaman sterilizasyon yöntemleri ile bunlar bozunmaz. Gefrides ve ark. (2010) 2 saat otoklav uygulamasının nanogram düzeyinde DNA'yı elimine ettiğini saptamışlardır. Ancak otoklav ile DNA'nın ufak parçalara bölünmesine rağmen PCR ile yine de saptanabilir olduğu belirlenmiştir (Anonim, 2010; Elhafi ve ark., 2004). Ayrıca RNase'yi yok etmede tek başına başarısız olduğu belirtilmiştir (Schmitt, 2007).

Otoklav kurallara uygun kullanıldığında güvenli bir sterilizasyon aracıdır. Ancak dikkat edilmediğinde basınç ile çalışan bir cihaz olduğundan ölümcül kazalara neden olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Otoklav çalıştırılmadan önce içinde yeterli miktarda saf suyun olduğundan emin olunmalıdır. İçerisindeki saf suyun kirli olduğundan şüpheleniliyorsa muhakkak değiştirilmelidir. Otoklavda kullanılan sudan kaynaklı organik ve/veya inorganik maddelerin malzemeleri kontamine edebileceği bildirilmiştir (McDonnell, 2007). Malzemeler buhar sirkülasyonunu sağlayacak şekilde yerleştirilmeli, otoklavın kapağı sıkı bir şekilde kapatılmalı ve kapandığından emin olunmalıdır. Etkili bir sonuç alınması için otoklav çalıştırıldıktan sonra buhar çıkışını takiben 5 dakika sonra basıncın oluşması amacıyla hava vanası kapatılmalıdır. Böylece cihaz içindeki kuru havanın atılması ve yerine su buharı ile doymuş sıcak havanın homojen şekilde dolması sağlanmış olacaktır (Klement ve ark., 1990). İstenilen süre ve sıcaklıkta sterilizasyon tamamlandıktan sonra, kapak açılmadan önce basıncın düştüğünden ve sıcaklığın 90 °C'nin altına indiğinden emin olunmalıdır. Çoğu günümüz otoklavları otomatiktir ve bu işlemleri kendisi yapmaktadır.

Çizelge 2. Kuru sıcaklık (Etüv) ile sterilize edilebilecek malzemeler ve kullanılan sıcaklıklar

Yöntem	Uygulama
140-160 °C	Ağzı pamukla kapatılmış boş cam malzemeler Ağzı pamuk ucu alüminyum folyo ile kapatılmış cam pipetler Kalın kağıt/karton ile sarılmış cam petri, havan vb gibi malzemeler Isıya dayanabilen toz kimyasallar ve besin maddeleri Kaynama noktasına ulaşmamış yağlar
170-220 °C	Kapaksız ya da yüksek ısıya dayanıklı kapağı olan cam malzemeler Paslanmaz metal malzemeler

Çizelge 3. Genel olarak kuru sıcaklık ile sterilizasyonda kullanılan sıcaklıklar ve uygulama süreleri

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)
160	120
170	60
180*	30
190	6

*Sıklıkla kullanılan sterilizasyon derecesidir

Çizelge 4. Nemli sıcaklığın mikroorganizmaları öldürmesi için gereken süreler

Mikroorganizmaların vejetatif hücreleri	15 dk süre ile nemli sıcaklık derecesi
Fitopatogenik bakteriler	>50 °C
Saprotitik bakteriler	>60 °C
Funguslar	>60 °C
Fungal sporlar	>80 °C
Bakteriyel sporlar	>120 °C

Çizelge 5. Sterilizasyon için otoklavda kullanılan sıcaklık ve süreler

Sıcaklık (C)	Süre (dk)
115	>30
121*	>15
126	>10
132	>4
134	>3

*Sıklıkla kullanılan sterilizasyon derecesidir

Çizelge 6. Farklı hacimdeki sıvıların sterilizasyonu için 121 °C de beklemesi gereken süreler

Sıvının bulunduğu kap	Sıvı hacmi (ml)	Sterilizasyon süresi (dk)
Test tüpü	10	12-14
Erlen	50	12-14
Erlen	200	12-14
Erlen	1,000	20-25
Erlen	2,000	30-35
Erlen	8,000	45-50
Fermentör kabı	10,000	55-60

Ultraviyole ile dezenfeksiyon

Herhangi bir kimyasala gerek kalmadan Ultraviyole (UV) ışıktan yararlanılarak yapılan, kalıntı bırakmayan; sıvı, hava ve yüzeylerin dezenfeksiyonunda kullanılan, pratik ve ucuz bir yöntemdir (Bolton ve Cotton, 2008). Fitopatolojide ise genellikle çalışma yüzeyi ve ortam havasının dezenfeksiyonu amacıyla kullanılmaktadır. UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) ve UV-C (200-280 nm) olmak üzere 3 dalga boyu aralığına sahip UV ışığı vardır. Tüm UV dalga boyları mikroorganizmalara karşı efektif olarak etkili değildir. UV-C kısa dalga boylu UV ışınları sterilizasyonda en etkili şekilde kullanılmakta ve geniş spektrumlu bir antimikrobiyal etki göstermektedir.

280 nm ışık yayanların DNA RNA gibi nükleik asitler üzerine etkili olduğu (Bolton ve Cotton, 2008), 260 nm de yüksek dozlar ise proteinlerin hasar görmesine ve yapılarının/fonksiyonlarının bozulmasına ve hücre ölümüne neden olduğu (McDonnell, 2007) bildirilmiştir. UV ışınlarının etkili olabilmesi için hem sterilize edilecek yüzeyin hem de lamba yüzeyinin tozsuz ve temiz olması gerekmektedir (Burgener, 2006). Toz gibi en ufak bir bariyer bile UV ışığını etkisiz kılabilir.

UV ışını insan sağlığı açısından oldukça zararlıdır. Mavimsi mor renkteki bu ışıktan laboratuvarında sakınmak gerekmektedir. UV ışınları

deride ciddi yanıklara neden olurken, gözlerde geri dönüşü olmayan hasarlara neden olmaktadır (Burgener, 2006; McDonnell, 2007). Buna ek olarak civa içerdiğinden dolayı kırılması durumunda civa zehirlenmelerine de yol açabilmektedir (Bolton ve Cotton, 2008). UV ışınları kaliteli camdan rahatlıkla geçmektedir, hatta UV lambaların camları kuvarstır (McDonnell, 2007). Amerika Endüstriyel Hijyen Kurumu UV ışıklarının insan sağlığı açısından eşik sınırını (TLV) 6.0 mJ/cm² olarak belirlemiştir. Meehan ve Wilson (2006) ön tarafı cam ile kapalı 45 ekim kabini üzerinde yaptıkları denemelerde bu sınır değerine gelinebilmesi için ortalama 111 dakika, en kötü kabin için ise 56 dakika süre geçmesi gerektiğini saptamışlardır. Kabinlerin önlerindeki cam kaldırıldığında ise çıkan ışığın doz sınırına sadece 50 saniyede ulaştığını bildirmişlerdir. Bazı kabinlerde ise 15 cm cam aralığında bile önemli miktarda ışının çıktığı belirlenmiştir. Polikarbonattan yapılmış güvenlik camlarının UV ışığı %97 oranında emdiğini ve TLV eşik değerine 18 dakikada ulaşıldığı saptanmıştır. Pleksiglas (PMMA) normal cam gibi 300 nm ye kadar UV ışınlarını filtrelemektedir. Bazı üreticiler 300-400 nm arasını filtre etmesi için karışım veya kaplama ile bu plastik malzemeleri UV geçirgenliği açısından güçlendirmektedirler (Anonim, 2015a; Nordlund, 2011). Kabinlerin üretiminde kullanılan ön camların malzemesi, bu camlara yapılan

uygulamalar ile UV lambaların kabin içindeki konumlarındaki varyasyonlar dikkate alındığında UV lambası açık kabinlere yakın çalışılmaması doğru bir seçim olacaktır.

UV ışınları aynı zamanda havadaki O₂ moleküllerine çarparak ozon gazının oluşmasına da neden olmaktadır. Sıklıkla kullanılan UV lambaların bazıları etkili antimikrobiyal dalga boyu ışınların yanında antimikrobiyal etkisi olmayan 185 nm ışınlar da saçmakta ve ozon gazının oluşumuna neden olmaktadır. Kaliteli UV lamba üreticileri ozon gazının üretimine engel olmak amacıyla lamba camında bu dalga boyundaki ışınları absorbe eden özel bir kuvars cam kullanılmaktadır (O'Donnell ve ark., 2012).

Ozon için Amerika'daki çeşitli çevre ve sağlık kuruluşlarınca 0.08 - 0.2 ppm arasında sınır değerleri belirlenmiştir (Gottschalk ve ark., 2010). Ufak alanlarda, uygun olmayan lambalarla, uzun dezenfeksiyonlar sonucunda ozon gazı bu sınır seviyesine ulaşabilmektedir (8 saat boyunca, 0.1 ppm). Burnu hassas insanlar 0.015 ppm den itibaren ozon kokusunu almaya başlar ve 1 ppm de ise ozon gazı kokusu tamamıyla hissedilmektedir (Anonim, 2015b). Bu gazdan kurtulmak için havalandırma önerilebilmektedir, ancak tekrar kontaminasyon şansını arttıracığı için bu gazın az oluşmasını sağlamak en doğru yöntem olacaktır. Bu da gereğinden fazla sürelerde UV sterilizasyonundan kaçınılması anlamına gelmektedir. Giri ve Giri (2007) sterilizasyon için 30 dakika sürenin yeterli olduğunu, bu sürenin 45 dakikaya kadar çıkarılabileceğini bildirmişlerdir. Katara ve ark. (2008) bu süre zarfında yapılan uygulamaların UV kaynağından 2.5 metre mesafeye kadar etkili olduğunu saptamışlardır. Geffrides ve ark. (2010) 2 saatlik UV ışık uygulamasının nanogram düzeyindeki DNA yı elimine ettiğini saptamışlardır. BIOSAN marka PCR kabinlerinde 15-30 dakikalık bir UV ışık uygulamasının DNA/RNA ları inaktive ettiği belirtilmiştir (Anonim, 2015c).

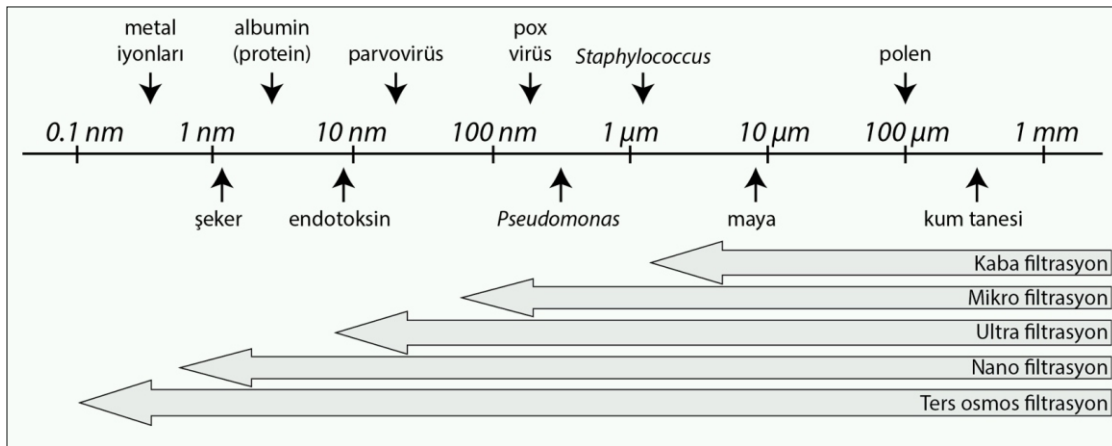
Cam veya plastik gibi taşıyıcılar içindeki katı ya

da sıvı maddelerin UV ışınları ile sterilizasyonunda bu taşıyıcı kapların UV geçirgenliklerinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Sterilizasyonun amacına ulaşabilmesi için bu taşıyıcı kapların UV geçirgen özellikte olması gerekmektedir. Pyrex ve Duran borasilikat camdan yapılmış şişe, erlen, beher gibi laboratuvar cam malzemeleri işleme şekline göre UV-C dalga boyu ışınlarının dezenfeksiyonda kullanılan dalga boyunu geçirmemektedir (Anonim, 2015d; Faust, 1997; Tonnesen, 2004).

Filtrasyon

En eski ve yaygın bir yöntem olarak kullanılan Filtrasyon; sıvı ve gazları kontamine eden materyallerden fiziksel olarak temizleyen bir uygulamadır. Mikroorganizmaları etkisiz kılmasından ziyade onları ayıran bir yöntem olduğu için gerçek bir biyosidal değildir. Sıvılar ve gazlar birçok filtreden geçebilirken içerisindeki kontaminantlar büyüklüklerine ve moleküler yapısına göre filtrelere takılırlar. Filtreler kağıt, fiber, pamuk gibi organik materyallerden yapılabileceği gibi cam, seramik, metal gibi inorganik malzemelerden de yapılabilmektedir. Özellikle sıvı içindeki antibiyotik gibi ısıya duyarlı olan maddelerin dezenfekte ya da sterilize edilmesinde kullanılmaktadır. Mikro filtrasyon yöntemi ile 0.05 µm büyüklüğe kadar partiküller filtre edilebilmektedir. Ancak laboratuvarlarda genel amaçlı filtrasyonun ekonomik olan 0.2 µm delik çaplı tek kullanımlık filtreler ile yapılmaktadır.

Filtrasyon aynı zamanda laboratuvar ortamının temizlenmesi için de kullanılmaktadır. Bunun için sıklıkla HEPA (High-Efficiency Particulate Air) adı verilen filtrelerden yararlanılır. Steril çalışma kabinlerinin ya da laboratuvar ortamındaki havanın filtrelenerek temiz bir çalışma ortamı oluşturmayı hedeflemekte ve 0.3 µm dan büyük parçaları tutabilmektedirler. Şekil 1 de filtrasyon yöntemleri filtre edebildikleri partikül büyüklüklerine referanslar verilerek gösterilmiştir (McDonnell, 2007).



Şekil 1. Filtrasyon yöntemleri ve filtre edebildikleri partikül büyüklüklerine bazı referanslar (büyüklük skalası log olarak verilmiştir)

KİMYASAL DEZENFEKSİYON YÖNTEMLERİ

Laboratuvar malzemeleri, canlı/cansız dokular, el, yüzey, yer ve havanın dezenfekte edilmesinde bir çok kimyasal madde kullanılabilir. Bunlar; asitler ve türevleri, bazlar, aldehitler, anilidler, antimikrobiyal boyalar, biguanidler, diamidinler, fenolik bileşikler, yüzey süfektantlar, uçucu yağlar, bitki ekstraktları, metaller, peroksijen ve diğer oksijenler, halojenler ve halojen veren kimyasallar ile alkoller olarak gruplandırılabilir (McDonnell, 2007). Bunların içinde Fitopatoloji laboratuvarında en çok kullanılanlar etil alkol, sodyum hipoklorit (halojenler ve halojen veren kimyasallar içinde yer alır) ve hidrojen peroksittir.

Alkoller özellikle etil alkol belki de tüm laboratuvarlarda kullanılan en yaygın, geniş spektrumlu ve hızlı sonuç veren dezenfektanlardan biridir. Alkoller su içermedikleri durumlarda daha etkisizdirler. Özellikle alkol oranı %80 fazla olanlar hücre duvarındaki proteinlerin çok hızlı bir şekilde kuagule olmasına neden olarak alkolün hücre içine girişini engellerler. Bu nedenle dezenfeksiyonda kullanılacakları zaman %50-80 oranında optimum %60-70 oranında kullanılırlar (Klement ve ark., 1990; McDonnell, 2007).

Hücrelerde protein denaturasyonuna ve kuagulyasyona, bunu takiben yapı ve fonksiyonların bozulmasına neden olmaktadır. Etkinlik buharlaşma oranı ve yüzeyde kalma süresine göre değişmektedir. Etil alkol (%70) 30 saniye gibi kısa bir sürede bakterisidal etki göstermektedir. Virüslere ve funguslara olan etki biraz daha uzun sürmektedir (>2 dakika). Bakteri sporlarına az ya da hiç etki etmemektedir. Yüksek konsantrasyonlarda parlayıp yanma riski vardır. Ellerde antiseptik olarak kullanılmaktadır. Ancak çok fazla kullanılması deride kurumaya ve çatlamalara neden olabilmektedir. Bitkiden mikroorganizma izolasyonu çalışmalarında çok büyük parçaların %70' lik etil alkole batırılıp yüzeyinin yakılması önerilmektedir (Klement ve ark., 1990). Alkol ile dezenfeksiyon DNA' dan arınma için etkili bir yöntem olmadığı akıldan çıkarılmamalıdır (Bonne ve ark., 2008).

Hipokloritler özellikle sıvı sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) solüsyonları sert yüzeylerin dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bazı durumlarda özellikle metallerin bu kimyasal ile dezenfeksiyonunda, işlem sonunda yüzeyin steril bir şekilde yıkanması gerekmektedir. Çünkü sodyum hipoklorit metallerde korozyona neden olarak malzemelerin bozulmasına neden olmaktadır. Klorin güvenilir geniş spektrumlu bir antimikrobiyal madde olarak kabul görmektedir. Ucuz, etkili, kullanımı kolay bir yöntemdir. Marketlerde satılan, sık bulunan, ev kullanım amaçlı olanlar yaklaşık %5 sodyum hipoklorit içermektedir. Bakteriler klorinin 0.1-0.3 mg/litre dozuna sadece 30 saniye dayanabilmektedirler. Ama geri kalan diğer

mikroorganizmalar daha dayanıklıdır. Yüksek konsantrasyonlarda deride tahrişe ve yanıklara neden olmaktadır. Etkisi proteinlerin, yağların ve karbonhidratların okside edilmesi ile olmaktadır. Bu da fonksiyon ve yapı bozulmasına neden olmaktadır. Aynı zamanda nükleik asitler üzerine etkileri de rapor edilmiştir. Yaklaşık 3 ppm aktif klorinin *Escherichia coli* bakterisinin gelişimini DNA sentezini engellemek suretiyle 5 dakika içinde durdurduğu rapor edilmiştir (McDonnell, 2007). Bunun yanında piyasadaki %5 ve %0.5 lik çamaşır suyunun DNA yı 1 dakika içinde dekontamine ettiği saptanmış ve 1/10 seyreltilmiş çamaşır suyu DNA ve RNA için dekontaminant olarak önerilmiştir (Prince ve Andrus, 1992). Moleküler çalışmalarda 1/10 seyreltilmiş çamaşır suyu çalışma yüzeylerine püskürtülüp 15-30 dakika beklendikten sonra temizlenip ardından steril saf su ile durulanması önerilebilir. Bonne ve ark. (2008), mantar deliciler aracılığıyla oluşan çapraz DNA bulaşmalarını engellemenin en iyi yolunun mantar deliciyi yaklaşık 5 saniye %100 çamaşır suyunda tuttuktan sonra 5 saniye su ile durulamanın, ardından %100 etil alkolde 5 -10 saniye tuttuktan sonra su ile durulayıp kurumasını beklemek olarak bulmuşlardır.

Çamaşır suyu ayrıca dokudan mikroorganizma izolasyonu sırasında yüzey dezenfektanı olarak kullanılmaktadır. İzole edilecek bitki parçaları kalınlığına göre 1 saniyeden 5 dakikaya kadar 1/10 seyreltilmiş (%0.5) çamaşır suyunda bekletilebilmektedir. Bu işlemin ardından steril saf su ile 3 kez durulanması gerekmektedir (Klement ve ark., 1990; Shurtleff ve Averre, 1997).

Bir diğer dezenfeksiyon ve aynı zamanda antiseptik olarak kullanılan kimyasal ise güçlü bir biyosid olan hidrojen peroksittir. Geniş spektrumlu ve oksidasyona neden olarak etki gösteren hidrojen peroksit piyasada %3 lük olacak şekilde bulunabilmektedir. %3' ün üzeri bakterisid, altı bakteriyostatik etki göstermektedir. Yüksek konsantrasyonlar yakıcıdır (McDonnell, 2007). Dünya Sağlık Örgütü etil alkol, hidrojen peroksit ve gliserin karışımı ile bir el dezenfektanı önermektedir (Etil alkol 96% 833.3 ml, H₂O₂ 3% 41.7 ml, gliserol 98% 14.5 ml ve 1000 ml ye saf su ile tamamlanır).

(Barampuram ve ark., 2014) pamuk tohumlarında yaptıkları bir çalışmada hidrojen peroksidi tek başına en etkili yüzey dezenfektanı olarak bulmuşlardır. Buna ek olarak en iyi tohum çimlenme oranına sahip olduğunu da saptamışlardır. Ayrıca sabunlu su ile yıkama, etil alkol ile muamele ardından hidrojen peroksit uygulamasını en iyi karışım yöntem olarak bildirmişlerdir. İspatlanmamış laboratuvar deneyimlerimize göre biber tohumlarının %3' lük hidrojen peroksitte 10-30 dakika tutulması sodyum hipokloride göre daha etkili bir yüzey dezenfeksiyonu sağladığı gözlemlenmiştir (yayınlanmamış veri).

SONUÇ

Diğer mikrobiyoloji laboratuvarlarında olduğu gibi Fitopatoloji laboratuvarlarında da uyulması gereken bir takım kurallar vardır. Laboratuvarda aseptik çalışma kurallarına uymak ve uygun sterilizasyon dezenfeksiyon yöntemlerini seçmek çalışmaların doğru yürütmesinin yanında laboratuvar çalışanlarının sağlıkları açısından da son derece önemlidir. Uygun sterilizasyon yönteminin seçilmesinin yanında süre, sıcaklık gibi koşulların da iyi belirlenmesi sistemin çalışması için önemlidir. Yanlış veya yetersiz koşullarda yapılan sterilizasyondan sonuç almak mümkün değildir. Bazı durumlarda fark edilemeyen bu durum çalışmaların yanlış yönlenmesine dahi neden olabilmektedir. Laboratuvarda aseptik koşulun başlangıcı temizliktir. Sıvı içermeyen ve yüksek sıcaklıklara dayanabilen camdan, porselenden ya da metalden yapılmış olan malzemeler etüvde sterilize edilmelidir. Malzemeleri genelde 180 °C de 30 dakika bekletmek sterilizasyonu için yeterli gelmektedir. Isıya dayanabilen sıvılar, organik maddeler ya da nemin zarar vermeyeceği madde ve malzemeler otoklav adı verilen cihazlarda sterilize edilirler. Normal bir sterilizasyon için 121 °C de 15 dakika yeterlidir. Ancak otoklava konulacak malzemenin büyüklüğü ya da sıvının hacmi sterilizasyonu engelleyen faktörlerdendir. Otoklav suyu bazı inorganik veya organik kontaminantlar içerebilir. Sterilizasyon sırasında buhar yoluyla malzemelerin bu tür maddeler ile kontamine olabileceği akıldan çıkarılmamalıdır. Hacim arttıkça veya toprak gibi içinde su miktarının az olduğu maddelerin sterilizasyonunda süresinin uzatılması çok önemlidir. Otoklav toprak sterilizasyonu için uygun bir cihazdır. Hacmine bağlı olarak iki gün 121°C de bir saat sterilizasyon yeterli gelmektedir. Ancak toprağın fiziksel ve kimyasal yapısının bozulacağı göz önünde bulundurulmalıdır. UV ışığı ile yapılan sterilizasyon özellikle yüzeylerin sterilizasyonunda çok etkilidir. Genellikle 15-30 dakikalık UV uygulaması yeterli gelmektedir. Özellikle moleküler çalışmalarda DNA ve RNA'nın bozulmasını sağlamasından dolayı çok etkili bir nükleik asit bozucu yöntemdir. UV ışığının insana verdiği zarar nedeniyle ışığın açık kaldığı sürece laboratuvarda bulunulmaması oldukça önemlidir. Yüzey dezenfektanı olarak %70 lik etil alkol veya 1/10 seyreltilmiş çamaşır suyu (%5 lik ticari üründen) rahatlıkla kullanılabilir. Bu yüzey dezenfektanlarına bir çok mikroorganizma hassastır ve uygulamadan sonra ölmektedir. Moleküler çalışmalarda DNA ve RNA'nın dekontamine edilmesinde etil alkol başarısız kalırken 1/10 seyreltilmiş çamaşır suyu çok etkilidir.

Doğru seçilmiş ve doğru koşullarda uygulanmış sterilizasyon yöntemleri çalışmalardan doğru sonuç alınması ayrıca insan ve çevre sağlığı açısından oldukça önemlidir. Bu çalışma ile Fitopatoloji laboratuvarında kullanılan sterilizasyon ve

dezenfeksiyon yöntemleri derlenmiş ve özetlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Adetunji J (2008) Man dies after inhaling fungal spores from garden compost. *The Guardian* 12 Haziran.
- Alef K, Nannipleri P (1995) *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press.
- Anonim (2005) Sterilization of Plastics. Zeus Industrial Products, Inc. <http://www.thomasnet.com/pdf.php?prid=101488> (Son erişim 28 Aralık 2014).
- Anonim (2007) Bunsen Burner Basics. Flinn Scientific, Inc Publication No 10512. <http://www.flinnsci.com/media/565420/sf10512.pdf> (Son erişim 12 Aralık 2014).
- Anonim (2010) Nucleic Acid Decontamination with The ExitusPlus Technology. AppliChem, Applications No:1. https://www.applichem.com/fileadmin/Application_Notes/Applications_No1_DNA-ExitusPlus1_en.pdf (Son erişim 30 Aralık 2014).
- Anonim (2014a) Plastic Packaging Resins. American Chemistry Council. <http://plastics.americanchemistry.com/Education-Resources/Plastics-101/Plastics-Resin-Codes-PDF.pdf> (Son erişim 9 Aralık 2014).
- Anonim (2014b) Technical Information - Plasticware, Physical properties and chemical resistance of plastics. Scilabware. <http://www.scilabware.com/Downloads/#Technical> (Son erişim 9 Aralık 2014).
- Anonim (2015a) Poly(methyl methacrylate). [http://en.wikipedia.org/wiki/Poly\(methyl_methacrylate\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Poly(methyl_methacrylate)) (Son erişim 9 Şubat 2015).
- Anonim (2015b) Important Informations about UVC-Lamps. ZED Ziegler Electronic Devices GmbH. http://www.z-e-d.com/documents/ls/Generals_UV-Lamps_2011.pdf (Son erişim 9 Şubat 2015).
- Anonim (2015c) UVC/T-M-AR, DNA/RNA UV-cleaner box. Biosan SIA. <http://biosan.lv/en/products/katalog/biosafety-equipment/uvct-m-ar.pdf> (Son erişim 9 Şubat 2015).
- Anonim (2015d) Properties of PYREX®, PYREXPLUS® and Low Actinic PYREX Code 7740 Glasses. Quartz National Scientific Company. <http://www.quartz.com/pxprop.pdf> (Son erişim 9 Şubat 2015).
- Barampuram S, Allen G, Krasnyanski S (2014) Effect of various sterilization procedures on the in vitro germination of cotton seeds. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 118(1): 179–185.
- Bolton J, Cotton C (2008) *Ultraviolet Disinfection Handbook*. American Waterworks Association.
- Bonne N, Clark P, Shearer P, Raidal S (2008) Elimination of false-positive polymerase chain reaction results resulting from hole punch carryover contamination. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 20(1): 60–63.
- Burgener J (2006) Position Paper on the Use of Ultraviolet Lights in Biological Safety Cabinets. *Applied Biosafety* 11(4): 228–230.
- Caretta G (1992) Epidemiology of allergic disease: the fungi. *Aerobiologia* 8(3): 439–445.
- Chen YC, Peters N, Schneemann GA, Wruck N, Renz U, Mansour MS (1996) The detailed flame structure of highly stretched turbulent premixed methane-air flames. *Combustion and Flame* 107(3): 223–244.
- Dietz E, Badavinac R (2001) Safety standards and infection control for dental hygienists. Delmar Cengage

- Learning.
- Elhafi G, Naylor CJ, Savage CE, Jones RC (2004) Microwave or autoclave treatments destroy the infectivity of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus but allow detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Avian pathology : journal of the WVPA* 33(3): 303–306.
- Faust CB (1997) *Modern Chemical Techniques: An Essential Reference for Students and Teachers*, 3rd ed. Royal Society of Chemistry.
- Gefrides LA, Powell MC, Donley MA, Kahn R (2010) UV irradiation and autoclave treatment for elimination of contaminating DNA from laboratory consumables. *Forensic Science International: Genetics* 4(2): 89–94.
- Giri CC, Giri A (2007) *Plant Biotechnology: Practical Manual*. IK International Publishing House.
- Gottschalk C, Libra JA, Saupe A (2010) *Ozonation of Water and Waste Water*, 2nd ed. Wiley-VCH.
- Jensen WB (2005) The Origin of the Bunsen Burner. *Journal of Chemical Education* 82(4): 518.
- Katara G, Hemvani N, Chitnis S, Chitnis V, Chitnis DS (2008) Surface disinfection by exposure to germicidal UV light. *Indian journal of medical microbiology* 26(3): 241–242.
- Klement Z, Rudolph K, Sands DC (1990) *Methods in phytobacteriology*. Akademiai Kiadó, Budapest, Hungary.
- Latgé JP (1999) *Aspergillus fumigatus and aspergillosis*. *Clinical microbiology reviews* 12(2): 310–50.
- Laverde S, Moncada LH, Restrepo A, Vera CL (1973) Mycotic keratitis; 5 cases caused by unusual fungi. *Medical Mycology* 11(2): 119–123.
- McDonnell GE (2007) *Antisepsis, disinfection, and sterilization : types, action, and resistance*. ASM Press, Washington, D.C.
- Meechan P, Wilson C (2006) Use of ultraviolet lights in biological safety cabinets: A contrarian view. *Applied Biosafety* 11(4): 222–227.
- Morgan AP (1941) *Simple Chemical Experiments*. D. Appleton-Century.
- Mukherjee KL (2010) *Medical Laboratory Technology Vol 1*. Tata McGraw-Hill Education.
- Nordlund TM (2011) *Quantitative Understanding of Biosystems: An Introduction to Biophysics*. CRC Press.
- O'Donnell C, Tiwari B, Cullen PJ, Rice RG (2012) *Ozone in Food Processing*. Wiley-Blackwell.
- Prince AM, Andrus L (1992) PCR: How to kill unwanted DNA. *BioTechniques* 12(3): 358–60.
- Razavi darbar S, Lakzian A (2007) Evaluation of chemical and biological consequences of soil sterilization methods. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 5(2): 87–91.
- Rutala W, Weber D, HICPAC (2008) *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities*. Centers for Disease Control and Prevention, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, Atlanta, USA.
- Schmitt D (2007) *Nucleic Acid Isolation and Purification* 3rd edition. Roche Diagnostics GmbH Roche Applied Science 68298 Mannheim Germany.
- Shurtleff MC, Averre CW (1997) *The plant disease clinic and field diagnosis of abiotic diseases*. St. Paul, Minn: APS Press.
- Simmers L, Simmers K, Simmers S (2008) *Workbook to Accompany Diversified Health Occupations*, 7th ed.

- Cengage Learning.
- Stein PD, Folkens AT, Hruska KA (1970) *Saccharomyces fungemia*. *Chest* 58(2): 173–175.
- Tonnesen HH (2004) *Photostability of Drugs and Drug Formulations*, 2nd ed. CRC Press LLC.
- Trevors JT (1996) Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. *Journal of Microbiological Methods* 26(1-2): 53–59.

Sorumlu Yazar
Ümit ÖZYILMAZ
uozyilmaz@gmail.com

*Adnan Menderes Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü,
Çakmar-AYDIN*

Geliş Tarihi : 09.03.2015
Kabul Tarihi : 01.06.2015