

ÇEŞİTLİ DEZENFEKTANLARIN *Pseudomonas aeruginosa* ve TEST ORGANİZMALARINA KARŞI ETKİSİ

Dilek KESKİN¹ Sanver EKMEKÇİ²

ÖZET

Bu çalışmada test edilen dezenfektanların *P.aeruginosa* ve test organizmalarına karşı etkinliğine bakılmıştır. Bu amaçla TS EN 1276: 1997 yöntemi kullanılmıştır. Test organizması olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 29998, *S.aureus* 6538 P kullanılmıştır. Kullanılan dezenfektanlar ise; gluteraldehit,, alkol ve hidrojen peroksit'dir . Yaptığımız çalışma sonucunda *P.aeruginosa*'nın test edilen bakterilerle kıyasladığımızda alkole dirençli olduğu bulunmuştur.Ayrıca *P.aeruginosa*'nın *E.coli* ve *S.aureus*'la kıyasla gluteraldehit ve hidrojenperoksitde kıyasla dirençli olmadığı ortaya çıkmıştır.

Anahtar Sözcükler: *P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus*, gluteraldehit, alkol, hidrojen peroksit

Efficacy of Different Disinfectans Against to *Pseudomonas aeruginosa* and Tested Microorganisms

ABSTRACT

In this study, tested disinfectants has seen to activity of *P.aeruginosa* and test organisms. TS EN 1276 has been used for this aim. *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 29998, *S.aureus* 6538 P are used for as a test organism. Tested disinfectants are ethyl alcohol, hydrogen peroxide and gluteraldehyde. As a result of this study, *P.aeruginosa* was found to be resistant aganist ethyl alcohol compared to tested bacteria. Also *P.aeruginosa* wasn't found to be resistant aganist gluteraldehyde and hydrogen peroxide compared to tested bacteria.

Keywords: *P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus*, alcohol gluteraldehyde and hydrogen peroxide

GİRİŞ

Pseudomonaceae familyası içinde yer alan ve fırsatçı türleri de içerebilen *Pseudomonas* cinsi bakteriler gram negatif, hafif veya düz kıvrımlı çubuklar şeklinde bakteriler olup, polar flagella ile hareket ederler ve son elektron alıcısı oksijen olan, zorunlu aerobtur. Oksidaz ve katalaz pozitif olan bu bakteriler floresans ve floresans olmayan çeşitli pigmentler üretirler. Birçoğu doğada, toprakta ve sulara yaygın bulunan *Pseudomonas* türlerinin bazıları bitkiler veya hayvanlar için patojenlerdir. *Pseudomonaslar* ısıya dirençli değildir, 55°C'de bir saat ısı uygulanması büyük bir kısmını tahrip eder.

Penisilline karşı dirençlidirler Ayrıca dezenfektanlara karşı dirençlidirler (Nickerson ve Sinsky,1977). Hayvan patojenlerinden en önemlileri *P.aeruginosa*, *P.pseudomallei* ve *P.mallei*'dir. Bitki patojenlerinden en önemlileri ise *P.solanacearum*, *P.syringae*, *P.marginalis* ve *P.cepacia*'dır (Bilgehan,2000).

Pseudomonaslar cinsi psikrofil türlerde içermesi nedeniyle buzdolabında saklanan ürünlerin bozulmasına neden olmaktadır. *Pseudomonaslar*ın bazıları 0°C'ye yakın sıcaklıklarda, bazıları ise 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda gelişmektedirler.

MATERYAL

Dezenfektanlar

Denemelerde kullanılan dezenfektanlar

gluteraldehit (%2) (Fortex) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hijyen ve Sanitasyon biriminden alkol (%70) (Descoderm), Hidrojen peroksit (%3) ticari satış noktalarından elde edilmiştir.

Test Organizmaları

Denemelerde *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 29998, *S.aureus* 6538 P test organizması olarak kullanılmıştır. Bu suşlar Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji anabilimdalından temin edilmiştir. Bunun yanı sıra etden ve sütden *P.aeruginosa* izole edilmiştir.

YÖNTEM

Dezenfektanların Etkisi

Dezenfektanlar 9 ml distile suya 1ml piyasadaki doz şeklinde seyreltilerek kullanılmıştır.

Denemeler TS EN (Europäische Norm) 1276:1997'ye göre yapılmıştır. Deney sonunda dezenfektanın organizmaların ne kadarını öldürdüğünü saptamak için % 0,85'lik fizyolojik su ile 10⁴e kadar yapılan seyreltmelerden 2 petriye 1'er ml ekim yapılmıştır ve üzerine 45 °C'ye soğutulmuş Triptik Soy Agar dökülür ve petriyer 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu petriyelerde oluşan koloniler sayılmıştır.

Etden ve Sütden *Paeruginosa* İzolasyonu10 gr/ml et yada süt örneğinin %1'lik peptonlu suda seyreltmesi yapıldıktan sonra dökme plaka yöntemine göre ekimi yapılmıştır. İzolatların seçiminde ise

¹ Doktora tezinden alınmıştır. ADÜ Çine Meslek Yüksekokulu Süleyman Pekgüzel Kampüsü Çine-AYDIN

² Ege Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, TEM Anabilim dalı Bornova-İZMİR

Pseudomonas CF agar (SR 102)'de 30°C'de 24-48 saat inkübasyon sonucunda beyaz, sarı ve yeşil pigment veren şüpheli kolonilerden EMB agara ekim yapılmıştır. 30°C'de 48 saat inkübasyon sonucunda renksiz olan koloniler laktoz negatif, mavi-siyah ve yeşilimsi parlak koyu koloniler laktoz pozitifdir. Bunlardan laktoz negatif olanlarla çalışmaya devam edilmiştir ve bu kolonilere Oksidasyon - Fermentasyon (O/F glukoz) testi yapılmıştır. *Pseudomonas*'ların oksidatif (O) reaksiyon vermektedir. Aynı örneklerle katalaz, oksidaz ve hareket testi yapılmıştır. Katalaz (+), hareket(+), oksidaz(+) olan tipik izolatlarla çalışmaya devam edilmiştir. Ayrıca 42°C'de üreme ve piyosyanin pigmentini oluşturma özelliğine bakılmıştır (Uraz ve Çıtak, 1998, TS : ISO 13720)

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Etden ve Sütten *Paeruginosa* İzolasyonu
Çeşitli araştırmacılar etden ve sütten *Paeruginosa* izole etmişlerdir (Stainer RY.1966, Juff JS.1973 King A. 1978. 6,7,8,9,10,11,12)

***Paeruginosa* ve Test Organizmalarına Karşı Gluteraldehitin Etkisi** Çizelge 1'de gluteraldehitin *Paeruginosa* ve test organizmalarını karşı etkisi verilmiştir.

Çizelge 1 Gluteraldehitin *Paeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus* ve İzole edilen *Paeruginosa* Türlerine Karşı Etkinliği

Organizma adı	Başlangıç bakterisi sayısı/ml	Konsant rasyon	Deney Sonu Organizma (kob/ml)
<i>Paeruginosa</i> ATCC 27853	1,2x10 ⁸	%0,02	2,4x10 ³
<i>E.coli</i> ATCC 29998	1,7x10 ⁸	%0,02	6,8x10 ⁴
<i>S.aureus</i> 6538 P	1,9x10 ⁸	%0,02	3,0x10 ²
Etden izole edilen <i>Paeruginosa</i>	1,5x10 ⁸	%0,02	7,0x10 ³
Sütten izole edilen <i>Paeruginosa</i>	3,0x10 ⁸	%0,02	7,0x10 ³

%0.02'lik dozunun kullanılma nedeni organizmaların bir kısmının canlılığını sağlayabilmek amacıyla yapılmıştır. Dezenfektanların %2- 0.2'lik dozu kullanıldığında bütün bakteriler hayatta kalamamışlardır. Çizelge 1 incelendiğinde *Paeruginosa*'nın *E.coli* ve *S.aureus*'a kıyasla gluteraldehite karşı dirençli olmadığı ortaya çıkmıştır.

Gluteraldehit ile ilgili çalışmalar *Bacillus* sp ve *E.coli* ile yapılmıştır. 4,2⁰ ve 37°C'de bekletilen % 2'lik gluteraldehitin *Bacillus pumilis* sporlarına etkisine bakılmıştır. 4°C'de bekletildiğinde sporisidal

aktivitesinde çok az bir değişiklik meydana gelirken, 37°C'de ise etkisini kaybetmiştir. 20°C'de bekletildiğinde ise sporisidal aktivitesinde orta derecede değişiklik meydana gelmiştir (Thomas ve Russel.,1974).

Külâh ve ark. (2002) yaptığı çalışmada gluteraldehit + gliksal içeren dezenfektanın tüm bakterilere (*Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bukholderia cepacia* ve standart *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşu) tüm dilüsyon ve zaman periyotlarında etkin olduğunu saptamışlardır. Gluteraldehit %2, 1, 0,50, 0,25 ve 0,125'lik konsantrasyonları ve süre olarak 1,3,5,10,15,30,45 ve 60 dakika kullanılmıştır.

Çizelge 2 Alkol'ün *Paeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus* ve diğer izole *Paeruginosa* türlerine karşı etkinliği

Organizma adı	Başlangıç bakterisi sayısı/ml	Konsant rasyon	Deney Sonu Organizma (kob/ml)
<i>Paeruginosa</i> ATCC 27853	1,2x10 ⁸	%0,070	5,0x10 ⁴
<i>E.coli</i> ATCC 29998	1,7x10 ⁸	%0,070	4,2x10 ³
<i>S.aureus</i> 6538 P	1,9x10 ⁸	%0,070	2,0 x10 ²
Etden izole edilen <i>Paeruginosa</i>	1,5x10 ⁸	%0,070	7,2x10 ⁴
Sütten izole edilen <i>Paeruginosa</i>	3,0x10 ⁸	%0,070	3,0x10 ⁴

Yapılan çalışmalarda belirli konsantrasyonların süreye bağlı olarak etkinliğine bakıldığından dolayı araştırmacılarla kıyaslama yapılamamıştır.

***Paeruginosa* ve Test Organizmalarına Karşı Alkolün Etkisi** Yanıcı olması nedeniyle gıda ekipmanlarının ve yüzey temizliğinde kullanımı uygun değildir. Çizelge 2'de alkolün *Paeruginosa* ve test organizmalarına etkisi verilmiştir.

Yaptığımız çalışma sonucunda *Paeruginosa*'nın *E.coli* ile kıyasladığımızda alkolere dirençli olduğu bulunmuştur.

Şenel ve Başoğlu (2002) yaptıkları çalışmada alkol bazlı dezenfektanın 5 dakikada *Paeruginosa* ve *E.coli* bakterilerin tamamını öldürdüklerini saptamışlardır.*S.aureus* ise alkol bazlı dezenfektanın uygulanması sonucu 1 dakika sonunda dahi üreme göstermemiştir. Sonuç olarak *S.aureus*'un bu dezenfektanlara karşı direncinin az olduğu yada kullanılan dezenfektanların bu mikroorganizma üzerine oldukça yüksek etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda belirli konsantrasyonların süreye bağlı olarak etkinliğine bakıldığından dolayı araştırmacılarla kıyaslama yapılamamıştır.

***Paeruginosa* ve Test Organizmalarına Karşı Hidrojen Peroksitin Etkisi**

Çizelge 3'de hidrojen peroksidin *P.aeruginosa* ve test organizmalarına karşı etkisi verilmiştir

Çizelge 3 Hidrojen Peroksidin *P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus* ve İzole edilen *Paeruginosa* Türlerine Karşı Etkinliği

Organizma adı	Başlangıç bakterisi sayısı/ml	Konsan t rasyon	Deney Sonu Organizma (kob/ml)
<i>Paeruginosa</i> ATCC 27853	1,2x10 ⁸	%0,03	1,4x10 ³
<i>E.coli</i> ATCC 29998	1,7x10 ⁸	%0,03	4,3x10 ³
<i>S.aureus</i> 6538 P	1,9x10 ⁸	%0,03	1,7x10 ²
Etden izole edilen <i>P.aeruginosa</i>	1,5x10 ⁸	%0,03	1,0x10 ³
Sütten izole edilen <i>P.aeruginosa</i>	3,0x10 ⁸	%0,03	2,7x10 ³

Çizelge 3 incelendiğinde *P.aeruginosa*'nın *E.coli* ve *S.aureus*'a kıyasla hidrojen perokside dirençli olmadığı ortaya çıkmıştır.

H₂O₂'nin dezenfeksiyon amaçlı kullanımı ile yapılan çalışmalarda, genellikle H₂O₂'nin sporlu bakterilere karşı etkinliğine, süre ve konsantrasyon arasındaki ilişkiye bakılmıştır (Toledo ve ark.,1973. Wardle ve Renninger.,1975).

H₂O₂'nin *P.aeruginosa*'ya etkili bir dezenfektan olduğu bulunmuştur. H₂O₂'nin *P.aeruginosa*'ya karşı etkinliğini test eden çalışmalara rastlanmadığından kıyaslama yapılamamıştır. Asitlere direnci az olan *P.aeruginosa*'ya Perasetikler grubundan olan H₂O₂'ye de dayanıksız olduğu bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda belirli konsantrasyonların süreye bağlı olarak etkinliğine bakıldığından dolayı araştırmacılarla kıyaslama yapılamamıştır.

KAYNAKLAR

- Bilgehan,H.,2000,Klinik Mikrobiyoloji-Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Barış Yayınları,İzmir,487s
- Cheung BA ve Westhoff,D.C. 1983. Isolation and identification of rophy bacteria in raw milk, J. Dairy Science, 66:1825-1834.
- Juff JS.1973. Identification of *Pseudomonas* species isolated from milk produced in South Eastren Oueensland, J. Appl. Bacteriol, 36:585-598.
- Jooste PJ, Britz T.J., Lategan P.M.1986. Screening for the presence of *Flavobacterium* strains in dairy sources, S.Afric.J.Dairy Sci.18(2) 564-569.
- King A. 1978. The identitification of *Pseudomonas* and related bacteria in a clinical laboratory, Internat. Med. Microbiol,11:165-175.
- Külah,C., Doğan,B., Gökdağ,İ., Çırak,Y.M ve Rota,S.,2002. Yoğun bakım ünitesi kaynaklı bazı non fermentatif gram negatif bakterilerin çeşitli antiseptik ve dezenfektanlara duyarlılıkları. Ankem Dergisi.16(1):31-35

- Mickova V, Lukasova J, and Konencny S. 1989 *Pseudomonas aeruginosa* in raw and pasteurized milk, Veter, Med.(Prah), 34(7), 411-419.
- Nickerson, J.T and Sinskey,A.J,1977, Microbiology of foods and food processing, Elsevier NothHolland, 306s.
- Stainer RY.1966. Microbial lipases ; their characteristicsts, role in food spoilage and industrial uses, J. Dairy Research,53:481-505.
- Rollier I,A Zutter DL, Hoof JV.1999. Identities of the *Pseudomonas* spp in flora from chilled chicken, Internat. J. Food Microbiol, 48: 87-96.
- Şenel,Y ve Başoğlu,F., 2002, Gıda işletmelerinde kullanılan bazı dezenfektanların mikroorganizmalar üzerine etkisi, Uludağ Üniver. Zir. Fak. Derg, 16:105-115.
- Thomas S.S and Russell, A.D,1974, Temperature-induced changes in sporicidal activity and chemical properties of gluteraldehyde, Applied Microbiol. Vol 28(3): 331-335.
- Toledo,R.T., Escher,F.E and Ayres,C, 1973, Sporicidal properties of hydrogen peroxide against food spoilage organisms, Applied Microbiol, Oct, 592-597.
- TS EN 1276, Kimyasal dezenfektanlar ve antiseptikler gıda, sanayi, ev ve kuruluşlarda kullanılan kimyasal dezenfektanlar ve antiseptiklerin bakterisidal aktivitelerinin değerlendirilmesi için nicel süspansiyon deneyi- Deney yöntemi ve Özellikler, Nisan,
- TS : ISO 13720.1997 .Et ve et ürünleri *Pseudomonas* spp sayımı
- Uraz G, Çıtak S.1998.Çeşitli yörelerden sağlanan çeşitli çiğ süt örneklerinden *Pseudomonas*'ların izolasyonu ve dağılımı üzerine bir araştırma. Tr.J.of Agriculture and Forestry 22:469-474
- Wardle,M.D and Renninger,M, 1975, Bactericidal effect of hydrogen peroxide on space craft isolates, Applied Microbiol, Oct, 710-711

Geliş Tarihi : 12.09.2007

Kabul Tarihi : 12.10.2007