

## Dezenfektanların balık kökenli bakteriyel patojenler üzerine etkilerinin incelenmesi\*

Ertan Emek ONUK, Kadir Serdar DİKER

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Özet:** Çalışmada, balıklardan izole edilen *Aeromonas hydrophila* ve *Vibrio anguillarum* farklı konsantrasyonlardaki benzalkonyum klorür, glutaraldehid, formaldehid ve iyot'a 1-60 dakika temas süresinde, organik madde varlığında maruz bırakıldı. Fenol indeksi 2-Aminofenol'ün etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanıldı. Benzalkonyum klorür'ün 1:500'lük konsantrasyonu, *A. hydrophila*'yı 1 dakikada, *V. anguillarum*'u 5 dakikada öldürdü. *A. hydrophila* ve *V. anguillarum* glutaraldehid'in 3:1000'lik konsantrasyonu tarafından 1 dakikada inaktive edildi. Formaldehid'in, 37:5000'lik konsantrasyonu, *A. hydrophila*'yı 1 dakikada, *V. anguillarum*'u 5 dakikada öldürdü. İyot'un 10 ppm'lik konsantrasyonu, bütün organizmaları 1 dakikada öldürdü. Organizmalardan hiç biri benzalkonyum klorür'ün 1:25000'lik, glutaraldehid'in 3:5000'lik, formaldehid'in 37:40000'lik ve iyot'un 1 ppm'lik konsantrasyonu tarafından tamamen öldürülmedi. Fenol indeksi olarak, 2-aminofenol'ün etkisi, *A. hydrophila*, *V. anguillarum* için fenole göre 3.0 ve 3.3 kattır. Sonuç olarak, iyot organik madde varlığında çalışmada incelenen balık bakteriyel patojenlerine karşı en etkili dezenfektan olarak bulundu. Düşük konsantrasyondaki herhangi bir dezenfektanın öldürme zamanı farklı bakteri türlerinde değiştiği için sahada kullanmadan önce dezenfektan aktivitesinin hedef organizma için test edilmesinin gerektiği belirlendi.

Anahtar sözcükler: Bakteriyel, balık, dezenfektan.

### The investigation of the effects of disinfectants onto the bacterial pathogens of fish origins

**Summary:** In tests, *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio anguillarum* isolated from fish were exposed to different concentrations of benzalkonium chloride, glutaraldehyde, formaldehyde and Iodine in 1-60 minutes contact time, in the presence of organic substance. Phenol index was used to evaluate the effectiveness of 2-aminophenol. 1:500 concentration of benzalkonium chloride killed *A. hydrophila* in 1 minute, *V. anguillarum* in 5 minute. *A. hydrophila* and *V. anguillarum* were inactivated by 3:1000 concentration of glutaraldehyde in 1 minute. 37:5000 concentration of formaldehyde killed *A. hydrophila* in 1 minute, *V. anguillarum* in 5 minutes. 10 ppm concentration of iodine killed all organisms in 1 minute. None of organisms were completely killed by 1/2500 concentration of benzalkonium chloride, 3:5000 concentration of glutaraldehyde, 37:40000 concentration of formaldehyde and 1 ppm concentration of iodine. As phenol index, the activity of 2-aminophenol was 3.0 and 3.3 times more than phenol for, *A. hydrophila*, *V. anguillarum*. As a conclusion, iodine was found to be the most effective disinfectant against bacterial fish pathogens examined in the study, in the presence of organic matter. Since the killing times of any disinfectant in low concentration varies in different bacterial species, it was determined that disinfectant activity should be tested for target organisms before use in the field.

Key words: Bacterial, disinfectant, fish.

### Giriş

Antimikrobiyal pestisitler olarak adlandırılan dezenfekte edici ajanlar, cansız ortamlarda ve yüzeylerde bulunan bakteri, virüs ve mantar gibi zararlı mikroorganizmaların kontrol altına alınmasında veya ortamdan tamamen elimine edilmesinde kullanılmaktadırlar (10). Dezenfektanlar; aldehydler, alkaliler, alkoller, asitler, fenoller, halojenler, kuaterner amonyum bileşikleri (Quaternary Ammonium Compounds, QACs), oksidan ajanlar olarak gruplandırılmaktadırlar (10,7,14).

Dezenfektanların mikroorganizmalar üzerine gösterdikleri etkilerinin in-vitro ortamlarda değerlendirilmesi ve saha koşullarındaki uygulanabilirliklerinin belirlenmesi amacı ile bir takım testler kullanılmaktadır. Ancak

Resmi Analitik Kimyagerler Kurumu (The Association of Official Analytical Chemists, A.O.A.C.), Fenol Katsayısı Yöntemini saptamış ve bu test yapılan bir çok araştırmada standart test olarak referans alınmıştır. Daha sonraları ise A.O.A.C. Sulandırma (dilüsyon) Testi bu testin yerini almıştır (4).

Avrupa Birliği 1989'dan beri, dezenfektanların ve antiseptiklerin medikal alanda, besin hijyeninde ve veteriner alanında kullanımları için uygun bir test metodu geliştirmiştir. Geliştirilen bu test üç aşamalıdır. 1. aşama çalışmaları, süspansiyon testi olarak değerlendirilmekte ve distile su ile sulandırılan ürünün herhangi bir organik madde varlığında temel düzeyde aktivite gösterip göstermediği belirlenmektedir. Bu aşamada temel bakteri-

\* Bu çalışma doktora tezinin bir bölümünden özetlenmiştir.

sidal aktivitesinin belirlenmesinde *Staphylococcus aureus*'un ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın sadece bir suşu kullanılmaktadır. 2. aşama ise iki basamaktan oluşmaktadır. Birinci basamak çalışmalarında, test edilecek ürün, saha şartlarını temsil edecek koşullar altında yani organik madde ve birçok test mikroorganizmasının kullanıldığı yapay koşullarda, süspansiyon testi ile test edilmektedir. İkinci basamak çalışmaları yüzey testlerini içermektedir. 3. aşama ise saha testlerini içermektedir (13).

Son zamanlarda araştırmacılar, dezenfektanların etkinliğinin test edilmesi amacıyla çok değişik test metodları geliştirmiştir, ama bu testlerden bir çoğunun genel çalışma prensibi süspansiyon testine dayanmaktadır (6,8,9,12,17,5).

Bu çalışmanın genel prensibi Avrupa Süspansiyon Testine dayanmakla birlikte; birden fazla mikroorganizma ve dezenfektan hammaddesinin kullanılması ile ve her bir dezenfektan ve bakteri için 1-60 dakika temas süresinde yapılan bakteri sayımı ile bu testten ayrılmaktadır. Yapılan literatür araştırmaları sonucu; ülkemizde dezenfektanların önemli balık bakteriyel patojenleri üzerine etkilerinin incelendiği kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bakımdan, bu çalışmada beş temel dezenfektan hammaddesinin, balıkların başlıca bakteriyel infeksiyon etkenlerine karşı olan etkilerinin bir arada incelenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Bakteri suşları

Balıklardan izole edilen *Aeromonas hydrophila* ve *Vibrio anguillarum* suşları Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlandı.

### Dezenfektanlar

Deneyisel çalışmada 5 farklı dezenfektan kullanıldı. (1) İyot (%100, Cas. No. 7553-56-2, ABCR GmbH & Co. KG., Almanya). (2) Benzalkonyum klorür (%100, Cas. No. 8001-54-5, Albright ve Wilson, UK). (3) Glutaraldehyd (%100, Cas. No. 111-30-8, Chemos GmbH, Almanya). (4) Formaldehyd (%37, Cas. No. 50-00-0 Witton Chemical Co. Ltd., UK). (5) Fenol (2-aminophenol) (%100, Cas. No. 95-55-6, Chemos GmbH, Almanya).

### Bakteri sayımları

Çalışmada, test inokulumlarındaki bakteri konsantrasyonunu hesaplamak için ve testler sonrası dezenfektanların etkisini belirlemek için bakteri sayımları yapıldı. Miles ve Misra (11) yöntemi modifiye edilerek uygulandı. İnokulumlardaki bakteri konsantrasyonunu hesaplamak için yapılan sayımda; her bir bakterinin nutrient buyyon içindeki logaritmik faz subkültürlerden, fizyolojik tuzlu su içerisine 10 katlı sulandırma yapıldı.  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-6}$ 'lık sulandırma örneklerinden 0,1 ml alınarak nutrient agar'a 3 seri yayma tarzında ekim yapıldı. De-

zenfektanlarla temastan sonra bakteri sayısını belirlemek için yapılan sayımda; test ortamından 0,1 ml alınarak nutrient agar'a 3 seri yayma tarzında ekim yapıldı. Ekim yapılan tüm besiyerleri 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve orijinal süspansiyonun 1 ml'indeki ortalama bakteri sayısı Arda (2)'nin bildirdiği yöntemle göre hesaplandı.

### Antimikrobial aktivitenin saptanması

Sıvı formdaki % 100'lük Benzalkonyum klorür ve glutaraldehyd solüsyonundan sırasıyla, % 10'luk ve % 15'lik stok solüsyonlar hazırlandı. Bu stok solüsyonlardan, cam tüpler içerisine 7 seri olacak şekilde 1:50'lik, 1:100'lük, 1:150'lik, 1:200'lük ve 1:250'lik, sıvı formdaki % 37'lik formaldehyd solüsyonundan ise % 2'lik, % 1'lik, % 0.5'lik ve % 0.25'lik 8 er ml final solüsyonlar eklendi. Toz formunda bulunan % 100'lük iyot distile su içinde 1/10000 oranında sulandırıldı. Bu sulandırmadan cam tüpler içerisine 7 seri olacak şekilde 10 ppm ( $\mu\text{l/l}$ )'lik, 5'ppm'lik ve 2,5 ppm'lik ve 1 ppm'lik 8 er ml final solüsyonlar hazırlandı. Dezenfektan sulandırmaları steril distile su ile yapıldı. Her seri final solüsyon içerisine, 1'er ml ayrı ayrı sabit konsantrasyondaki iki bakteri subkültüründen ve sığır serum albümininden (Bovine Serum Albumin, BSA) eklendi ve homojen bir şekilde karışması sağlandı. 1, 5, 15, 30 ve 60'ncü dakikalarda karışımlardan 1 ml alınarak, 9 ml durdurucu solüsyonunun (Sorensen fosfat buffer (1.25 mM) (Sodyum fosfat, dibazik ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) ve Potasyum Fosfat, monobazik ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) içerisine % 0.6 w/v lesithin, % 6.0 w/v tween 80, % 0.8 w/v sodyum thiosulfat, % 0.5 w/v L-histidine hidroklorid ve % 0.72 w/v sığır serum albümini eklendi) içerisine eklenildi. 5 dakika durdurma süresinin ardından, bu karışımlardan 0,1 ml alınarak üç seri nutrient agara yayma şeklinde ekim yapıldı. Besiyerleri 37 °C'de 24 saat inkube edildi ve üreyen koloniler sayıldı. Dezenfektanların mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliği temas sürelerine göre değerlendirildi. Testler oda sıcaklığında yapıldı.

Toz formunda bulunan % 100'lük 2-aminofenol'ün cam tüp içerisine % 1'lik stok solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan bu stok solüsyonun farklı konsantrasyonlarını içeren dilüsyonlar, 2-aminofenol'ün her bir mikroorganizmayı 5 den 15 dakikaya kadar öldürme limitlerini kapsayacak şekilde hazırlandı. % 5'lik fenol stok solüsyonundan direkt olarak cam tüplerin içerisine 1/90'luk ve 1/100'lük sulandırmalar hazırlandı. 2-aminofenol'ün farklı sulandırmalarının bulunduğu cam tüpler, final fenol sulandırmaları (1/90'luk ve 1/100'lük) ve bakteri kültürü, 20 °C'de, 5 dakika su banyosunda tutuldu.

Kültürden 0.5 ml. aktarımların yapılacağı zaman dilimleri dikkate alınarak değişik konsantrasyondaki 2-aminofenol ve fenol dilüsyonlarının üzerine 30 saniye zaman aralıklarıyla aktarıldı. Böylelikle 30 saniye aralıklarla 10 tüpe 4.5 dakikada aktarıldı ve subkültüre trans-

ferden önce 30 saniye kaldı. Tüpler, su banyosundan çıkartıldıktan sonra, bakteri kültürü dezenfektan dilüsyonlarının içerisine bırakıldı. Homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra tekrar su banyosunun içerisine bırakıldı. İlk tüpünün inokulasyonunun üzerinden 5 dakika geçtikten sonra, bir öze dolusu karışım (bakteri kültürü + dezenfektan dilüsyonu) ilgili pasaj tüpüne aktarıldı. 30 saniye sonra ikinci tüpten ikinci pasaj tüpüne 1 öze dolusu karışım (bakteri kültürü + dezenfektan dilüsyonu) aktarıldı ve her dilüsyondan aynı şekilde aktarımlar yapıldı. İlk transfer gerçekleşikten 5 dakika sonra 10 dakikalık periyotta ikinci transfer setine başlandı ve son olarak 15 dakikalık periyot için tekrarlandı. Pasajlanmış kültürler 37 °C'de 48 saat inkube edilerek sonuçlar değerlendirildi. Değerlendirmede makroskopik inceleme, genellikle, yeterli oldu. Nadiren 3 günlük inkubasyon periyodu sonunda zayıf üremeleri veya şüpheli kontaminasyonları belirlemek için, uygun bir katı besi yerine ekim yapılarak mikroskopik inceleme yapıldı.

### Bulgular

Bir fenol türevi olan 2-aminofenol'ün etkinliğinin değerlendirilmesinde Resmi Analitik Kimyagerler Kurum'unun (A.O.A.C.), standart test olarak aldığı Fenol katsayısı yöntemi kullanıldı (4). Bu yöntemle 2-aminofenol'ün fenole göre *A. hydrophila* ve *V. anguillarum* üzerine etkisi Tablo 1 ve 2'de verilmiştir.

*Aeromonas hydrophila* ve *Vibrio anguillarum* şuşları üzerine benzalkonyum klorür, glutaraldehid, formaldehid ve iyot'un farklı konsantrasyonlarının etkisi Tablo 3 ve 4'te verilmiştir.

Table 1. As phenol index, the activity of 2-aminophenol on *A. hydrophila*

Tablo 1. Fenol indeksi olarak, 2-aminofenol'ün *A. hydrophila* üzerine etkisi

2-aminofenol sulandırma	Temas süresi (dk)		
	5	10	15
1/250	0	0	0
1/275	+	0	0
1/300	+	+	0
1/325	+	+	0
1/350	+	+	+
Fenol			
1/90	+	0	0
1/100	+	+	+

$$\text{Fenol katsayısı} = 275 / 90 = 3.0$$

Table 2. As phenol index, the activity of 2-aminophenol on *V. anguillarum*

Tablo 2. Fenol indeksi olarak, 2-aminofenol'ün *V. anguillarum* üzerine etkisi

2-aminofenol sulandırma	Temas süresi (dk)		
	5	10	15
1/250	0	0	0
1/275	+	0	0
1/300	+	0	0
1/325	+	+	0
1/350	+	+	+
Fenol			
1/90	+	0	0
1/100	+	+	+

$$\text{Fenol katsayısı} = 300 / 90 = 3.3$$

Table 3. The effects of different concentration of benzalkonium chloride, glutaraldehyde, formaldehyde and iodine on *A. hydrophila* in 1 to 60 minutes contact time

Tablo 3. Farklı konsantrasyonlardaki benzalkonyum klorür, glutaraldehid, formaldehid ve iyot'un 1-60 dakika temas süresinde *A. hydrophila* üzerine etkisi

Dezenfektan konsantrasyonları		0	1	Temas süresi (dk)			
				5	15	30	60
Benzalkonyum klorür (% 15)	1: 50	$9.1 \times 10^7$	0	0	0	0	0
	1:100	$9.1 \times 10^7$	$2.2 \times 10^3$	0	0	0	0
	1:150	$9.1 \times 10^7$	$9.1 \times 10^4$	$5.6 \times 10^4$	$8.1 \times 10^3$	0	0
	1:200	$9.1 \times 10^7$	$1.1 \times 10^5$	$7.2 \times 10^4$	$3.3 \times 10^4$	$8.7 \times 10^3$	0
	1:250	$9.1 \times 10^7$	$6.2 \times 10^6$	$3.1 \times 10^6$	$9.5 \times 10^5$	$7.8 \times 10^5$	$5.3 \times 10^5$
Glutaraldehid (% 10)	1: 50	$9.1 \times 10^7$	0	0	0	0	0
	1:100	$9.1 \times 10^7$	0	0	0	0	0
	1:150	$9.1 \times 10^7$	$1.0 \times 10^3$	$5.3 \times 10^2$	0	0	0
	1:200	$9.1 \times 10^7$	$8.7 \times 10^3$	$4.6 \times 10^3$	$9.7 \times 10^2$	$5.1 \times 10^2$	-
	1:250	$9.1 \times 10^7$	$5.2 \times 10^5$	$3.2 \times 10^5$	$9.1 \times 10^4$	$7.7 \times 10^4$	$5.3 \times 10^4$
Formaldehid (% 37)	% 2.0	$9.1 \times 10^7$	0	0	0	0	0
	% 1.0	$9.1 \times 10^7$	$1.7 \times 10^3$	$5.5 \times 10^2$	0	0	0
	% 0.50	$9.1 \times 10^7$	$8.2 \times 10^3$	$3.1 \times 10^3$	$7.6 \times 10^2$	0	0
	% 0.25	$9.1 \times 10^7$	$6.3 \times 10^5$	$3.7 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$7.3 \times 10^4$	$3.7 \times 10^4$
İyot (% 100)	10 ppm	$9.1 \times 10^7$	0	0	0	0	0
	5 ppm	$9.1 \times 10^7$	0	0	0	0	0
	2.5 ppm	$9.1 \times 10^7$	$7.7 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$	$5.4 \times 10^2$	0	0
	1 ppm	$9.1 \times 10^7$	$5.1 \times 10^5$	$1.6 \times 10^5$	$7.3 \times 10^4$	$3.1 \times 10^4$	$8.3 \times 10^3$

Table 4. The effects of different concentration of benzalkonium chloride, glutaraldehyde, formaldehyde and iodine on *V. anguillarum* in 1 to 60 minutes contact timeTablo 4. Farklı konsantrasyonlardaki benzalkonyum klorür, glutaraldehid, formaldehid ve iyot'un 1-60 dakika temas süresinde *V. anguillarum* üzerine etkisi

Dezenfektan konsantrasyonları		Temas süresi (dk)					
		0	1	5	15	30	60
Benzalkonyum klorür (% 15)	1: 50	$7.7 \times 10^7$	$4.1 \times 10^2$	0	0	0	0
	1:100	$7.7 \times 10^7$	$1.1 \times 10^3$	$6.3 \times 10^2$	0	0	0
	1:150	$7.7 \times 10^7$	$5.9 \times 10^3$	$2.2 \times 10^3$	$8.5 \times 10^2$	0	0
	1:200	$7.7 \times 10^7$	$4.4 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$	$8.3 \times 10^3$	$6.0 \times 10^3$	$4.2 \times 10^3$
	1:250	$7.7 \times 10^7$	$2.3 \times 10^5$	$9.3 \times 10^4$	$7.5 \times 10^4$	$4.1 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$
Glutaraldehid (% 10)	1: 50	$7.7 \times 10^7$	0	0	0	0	0
	1:100	$7.7 \times 10^7$	$4.3 \times 10^2$	0	0	0	0
	1:150	$7.7 \times 10^7$	$3.2 \times 10^3$	$8.1 \times 10^2$	$3.1 \times 10^2$	0	0
	1:200	$7.7 \times 10^7$	$2.7 \times 10^4$	$9.2 \times 10^3$	$6.8 \times 10^3$	$3.2 \times 10^3$	$1.0 \times 10^3$
	1:250	$7.7 \times 10^7$	$8.8 \times 10^5$	$7.2 \times 10^5$	$5.7 \times 10^5$	$2.6 \times 10^5$	$9.3 \times 10^4$
Formaldehid (% 37)	% 2.0	$7.7 \times 10^7$	$4.2 \times 10^2$	0	0	0	0
	% 1.0	$7.7 \times 10^7$	$1.0 \times 10^3$	$6.1 \times 10^2$	0	0	0
	% 0.50	$7.7 \times 10^7$	$9.1 \times 10^3$	$5.7 \times 10^3$	$1.5 \times 10^3$	$5.5 \times 10^2$	0
	% 0.25	$7.7 \times 10^7$	$6.3 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$	$8.6 \times 10^4$	$5.4 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$
İyot (% 100)	10 ppm	$7.7 \times 10^7$	0	0	0	0	0
	5 ppm	$7.7 \times 10^7$	$4.9 \times 10^2$	0	0	0	0
	2.5 ppm	$7.7 \times 10^7$	$4.0 \times 10^4$	$8.3 \times 10^3$	$2.7 \times 10^3$	$6.2 \times 10^2$	0
	1 ppm	$7.7 \times 10^7$	$8.1 \times 10^6$	$3.0 \times 10^6$	$9.5 \times 10^5$	$4.1 \times 10^5$	$2.1 \times 10^5$

### Tartışma ve Sonuç

Yüzey aktif katyonik deterjanlardan birisi olan ve QACs içerisinde yer alan benzalkonyum klorür, özellikle, hastahane ve klinik ortamlarında (14) oldukça sık kullanılan bir dezenfektan olarak bilinmektedir. Bu dezenfektanlar bakteri, mantar ve zarflı virüslere karşı oldukça yüksek düzeyde öldürücü etkiye sahipken, zarfsız virüsler ve mikobakterilere karşı etkinlikleri sınırlı bulunmuştur (7). Bu çalışmada benzalkonyum klorür'ün 1:50'lik konsantrasyonunun, 1 dakikada *A. hydrophila*'yı, 5 dakikada *V. anguillarum*'u öldürdüğü saptandı. Diğer ve ark. (5), farklı konsantrasyonlardaki genel dezenfektanların Gram negatif bir bakteri olan iki farklı *H. somnus* suşu üzerindeki etkilerini incelemişler ve QAC'nin (Zephirol) 1:50.000 konsantrasyonunun her iki suşuda 15 dakika içinde öldürdüğünü saptamışlardır. Yapılmış bu çalışmada QAC'nin oldukça düşük konsantrasyonda etki göstermesi önemli bir fark olarak görünse de saha koşullarının yansıtılması amacı ile ortama eklenen BSA varlığında QACs'nin etkinliklerinde azalmanın gözlemlendiği belirlenmiştir. Ayrıca dezenfektanların etkinliklerini değişik temas sürelerinde oluşturdukları saptanmıştır. Aarestrup ve Hasman (1) benzalkonyum klorürün *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *S. hyicus*, *E. faecalis* ve *E. faecium*'un üzerindeki etkinliklerini MIC testini kullanarak incelemişler ve bu dezenfektana karşı bir direncin gelişmediğini ortaya koymuşlardır. Yapılan çalışmada Benzalkonyum klorür'ün etkili bir dezenfektan olduğu ve benzalkonyum klorür'e karşı herhangi bir direncin gelişmediği saptandı.

Plastik ve metal ekipmanlara aşındırıcı etki göstermeyen ve geniş spektrumlu mikrobisidal aktiviteye sahip olan glutaraldehidler hastahane ve kümes ekipmanlarının dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (14). Standart olarak glutaraldehid'lerin % 2'lik sıvı solüsyonları pH 7.5-8.5 arasında mikrobisidal, sporosidal, fungusidal ve virusidal etki göstermektedir (16). Yapılan çalışmada glutaraldehid'in 1:50'lik konsantrasyonunun, 1 dakikada *A. hydrophila* ve *V. anguillarum*'u öldürdüğü saptandı. Elde edilen bu sonuçlar; standart olarak glutaraldehidlerin mikrobisidal etki gösterdikleri % 2'lik konsantrasyondan daha düşük konsantrasyonlarda da mikrobisidal etki gösterdiklerini kanıtlamaktadır.

Uzun yıllardan beri dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemlerinde yaygın ve sık olarak kullanılan formaldehidlerin çok düşük sulandırılmalarında (<1 ppm) bile ortaya çıkan tahriş edici ve karsinojenik etkisi, oldukça geniş spektrumlu mikrobisidal aktiviteye sahip olmasına rağmen, formaldehid ve türevlerinin kullanımını son yıllarda büyük ölçüde azaltmıştır (2). Diğer ve ark. (5), % 2'lik formalin'in iki farklı *H. somnus* suşunu 15 dakika içinde öldürdüğünü saptamıştır. Bu çalışmada ise formaldehid'in % 2'lik konsantrasyonunun, 1 dakikada *A. hydrophila*'yı, 5 dakikada *V. anguillarum*'u öldürdüğü saptandı. Yapılmış olan bu çalışmalar formaldehid'in etkisini mikroorganizmaların türüne bağlı olarak gösterdiği ve kullanılan diğer dezenfektanlara oranla sınırlı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca mikroorganizmalar üzerine gösterdikleri antimikrobiyal etkinin temas süresine bağlı olduğu da ortaya konuldu.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan ve geniş spektrumlu antimikrobiyel etkinliğe sahip dezenfektanlardan birisi de iyottur. Rutala ve Weber (15) tarafından yapılan bir çalışmada, iyot solüsyonlarının 1:2'lik ve 1:100'lük sulandırmalarının Gram pozitif bir bakteri olan *S. aureus* üzerine mikrobisidal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışmada iyot'un 10 ppm'lik konsantrasyonunun, 1 dakikada her iki bakteriyi öldürdüğü saptandı. Aynı şekilde Diker ve ark. (5), farklı konsantrasyonlardaki genel dezenfektanın iki farklı *H. somnus* suşu üzerindeki etkilerini incelemişler ve iyodoforlardaki 10 ppm serbest iyot'un  $10^6$  CFU/ml yoğunluğundaki organizmaları 1 dakika içinde öldürdüğünü saptamışlardır. Tüm bu sonuçlar iyot'un hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler karşısındaki etkisini ve geniş spektrumlu olduğunu kanıtlamaktadır.

Mikroorganizmalar üzerinde 2-aminofenol'ün gösterdiği etkinin fenol katsayı yöntemi kullanılarak belirlendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu yöntemle 2-aminofenol'ün fenole göre *A. hydrophila* üzerine 3.0 kat, *V. anguillarum* üzerine 3.3 kat daha etkin olduğu saptandı. Bu çalışmada fenol ve türevlerinin yüksek düzeyde antimikrobiyal etkiye sahip oldukları belirlendi.

Balıklardan izole edilen *V. anguillarum* ve *A. hydrophila*'nın dezenfektan hammaddelerine olan duyarlılıklarının oldukça yüksek bulunması ve bu duyarlılıklarının kullanılan bütün dezenfektan hammaddelerinde aynı şekilde saptanması dikkate değer bir nokta olarak saptanmıştır. Ayrıca *V. anguillarum* üzerine iyot'un, *A. hydrophila* üzerine ise kullanılan tüm dezenfektanların yüksek düzeyde etkili olduğu belirlendi.

Piyasada bulunan ticari dezenfektanların içerdikleri hammadde oranları dikkate alınarak hazırlanan stok solüsyonların önerilen konsantrasyonlarda kullanılmaları sonucu mikrobisidal etki gösterdikleri saptandı. Test edilen dezenfektanların organik madde varlığında çalışmasına karşın, organik madde varlığında bir çok dezenfektanın etkisini istenilen düzeyde ortaya koyamadığı bir gerçektir. Dezenfekte edilecek ortamın sadece dezenfektanlarla muamele edilmesi; kullanılan dezenfektanların ortamda bulunan organik maddeler tarafından etkisiz hale getirilmesine neden olmaktadır. Ayrıca ortamda bulunan organik maddeler mikroorganizmaların dezenfektanların etkisinden kaçmasını sağlayan fiziksel bir bariyer oluşturmaktadır. Saha koşullarında ortamdaki organik maddelerin türünün ve yoğunluğunun standart olmayacağı düşünülmüşse; dezenfeksiyon prosedürünün ilk olarak temizlikle başlaması gerektiği ortadadır.

### Kaynaklar

1. **Aarestrup FM, Hasman H** (2004): *Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection.* Vet Microbiol, **100**, 83-89

2. **Akbar-Khanzadeh F, Vaquerano MU, Akbar-Khanzadeh M, Bisesi MS** (1994): *Formaldehyde exposure, acute pulmonary response, and exposure control options in a gross anatomy laboratory.* Am J Ind Med, **26**, 61-75
3. **Arda M** (1997): *Mikrobiyal üremenin kontrolü.* 92-99 Temel Mikrobiyoloji, 1.Baskı Medisan Yayınevi, Ankara
4. **Bass GK** (1977): *Methods of testing disinfectants.* 49-77 In: SS Block (Ed), *Disinfection, Sterilization and Preservation.* 2<sup>nd</sup> ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
5. **Diker KS, Erdeğer J, Hashimoto K** (1989): *Effect of disinfectants on Haemophilus somnus.* Etlik Vet Mikrobiyol Derg, **6**, 137-141
6. **Gradeel KO, Randall L, Sayers AR, Davies RH** (2005): *Possible associations between Salmonella persistence in poultry houses and resistance to commonly used disinfectants and putative role of mar.* Vet Microbiol, **107**, 127-138.
7. **Jeffrey DJ** (1995): *Chemicals used as disinfectants: active ingredients and enhancing additives.* Rev Sci Tech Off Int Epiz, **14**, 57-74.
8. **Lambert RJM** (2001): *Advances in disinfection testing and modelling.* J Appl Microbiol, **91**, 351-363.
9. **Luppens SB, Rombouts FM, Abec T** (2002): *The effect of the growth phase of Staphylococcus aureus on resistance to disinfectants in a suspension test.* J Food Protect, **65**, 124-129.
10. **Maris P** (1995): *Modes of action of disinfectants.* Rev Sci Tech Off Int Epiz, **14**, 47-55.
11. **Miles AA, Misra SS** (1938): *The estimation of the bactericidal power of blood.* J Hyg, **38**, 732-749.
12. **Moretro T, Midtgaard ES, Nesse LL, Langsrud S** (2003): *Susceptibility of Salmonella isolated from fish feed factories to disinfectants and air-drying at surfaces.* Vet Microbiol, **94**, 207-217.
13. **Payne DN, Babb JR, Bradly CR** (1999): *An evaluation of the suitability of the European Ssuspension test to reflect in vitro activity of antiseptics against clinically significant organisms.* Lett Apply Microbiol, **28**, 7-12.
14. **Rutala WA** (1996): *APIC guideline for selection and use of disinfectants.* Am J Infect. Control, **24**, 313-342
15. **Rutala WA, Weber DJ** (1997): *Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health care facilities.* Clin Microbio Rev, **10**, 597-610
16. **Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ** (1993): *Inactivation of Clostridium difficile spores by disinfectants.* Infect Control Hosp Epidemiol, **14**, 36-39
17. **Wirtanen G, Salo S, Helander IM, Matilla-Sandholm T** (2001): *Microbiological methods for testing disinfectant efficiency on Pseudomonas biofilm.* Colloids Surf.B Biointerfaces, **20**, 37-50.

Geliş tarihi: 29.11.2005 / Kabul tarihi: 16.12.2005

### Yazışma adresi

Vet. Hek. Ertan Emek Onuk  
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
06110/Dışkapı, Ankara  
e-mail: ertanemekonuk1@hotmail.com