

Farklı dezenfektanların balık işleme tesisinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas fluorescens* üzerine etkinliklerinin incelenmesi

An investigation of the efficacy of different disinfectants on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas fluorescens* isolated from fish processing plant

Aysy Besler^{1*} • Berna Kılınc^{2*}

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Muğla, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0003-3411-1043>

²Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi Bölümü, İzmir, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-4663-5082>

*Corresponding author: abesler@mu.edu.tr

Received date: 05.09.2022

Accepted date: 09.11.2022

How to cite this paper:

Besler, A & Kılınc, B. (2023). Farklı dezenfektanların balık işleme tesisinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas fluorescens* üzerine etkinliklerinin incelenmesi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40(3), 228-234. <https://doi.org/10.12714/egejfas.40.3.10>

Öz: Sağlıklı ve güvenli gıda üretimi, uluslararası düzeyde ihracat yapan işleme tesisleri için önemli bir konudur. Dezenfeksiyon uygulamaları kullanılarak, işleme tesisinin her aşamasında, çeşitli kaynaklardan gelecek balıkları kontamine edebilecek bakteri sayısı en düşük seviyede tutulmaya çalışılır. Bu çalışmada, balık işleme tesisinin kalıcı mikroflorasını oluşturan patojen bakteri izolatları üzerinde, farklı dezenfektanların etkili konsantrasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Dezenfektan olarak; %0,5; %1, %2 konsantrasyonlarda klor, kuarterner amonyum, glutraldehid ve hidrojen peroksitin, balık işleme tesisinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas fluorescens* üzerinde kantitatif süspansiyon testi ile antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışmamızda tüm dezenfektanların %2 konsantrasyonda izole edilen bakteriler üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Klor bileşiklerinin düşük konsantrasyonlarda (%0,5 ve %1) *S. aureus* ve *P. fluorescens* izolatlarında bakterisidal etkinlik göstermediği belirlenmiştir. Kuarterner amonyum bazlı dezenfektanların tüm izolatlar üzerine, hidrojen peroksit bileşiklerinin ise *Pseudomonas fluorescens* üzerine tüm konsantrasyonlarda etkinliği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Balık işleme tesisi, dezenfektan, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens*, antibakteriyel aktivite

Abstract: Healthy and safe food production is an important issue for processing plants that export internationally. With cleaning and disinfection, the number of bacteria that can contaminate fish by coming from various sources at every stage of the processing plant is kept to a minimum. In this study, it was aimed to determine the effective concentrations of different disinfectants on the bacterial strains forming the resident microflora of the fish processing plant. In the study, the effectiveness of 4 different disinfectants (chlorine, quaternary ammonium compounds, glutaraldehyde and hydrogen peroxide) was determined on bacteria isolated from different parts of the fish processing plant. The antimicrobial efficacy of different disinfectant concentrations was determined by the Quantitative Suspension Assay. In our study, it was determined that all disinfectants were effective on bacteria isolated at 2% concentration. It was determined that chlorine compounds did not show bactericidal activity at low concentrations (0.5%, 1%) on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas fluorescens* isolates. The effectiveness of quaternary ammonium-based disinfectants on all isolates and hydrogen peroxide compounds on *P. fluorescens* at all concentrations was determined.

Keywords: Fish processing plant, disinfectant, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens*, antimicrobial activity

GİRİŞ

Balık işleme endüstrisinde mikrobiyolojik kontaminasyon riskini kontrol etmek için, temiz ve dezenfekte edilmiş balık temas yüzeyleri çok önemlidir. Kontaminasyon, farklı temizlik ve sanitasyon teknikleri kullanılarak giderilmeye çalışılmaktadır (Martowitono, 2011). Bu amaçla gıda işleme ortamlarında mikroorganizmaların kontrolü için farklı kimyasal formülasyonlara sahip dezenfektanlar kullanılmaktadır (Iñiguez-Moreno vd., 2017). Gıda endüstrisinde en sık kullanılan dezenfektanlar klor bileşikleri (örn; hipoklorit ve klordioksit), organik asitler (örn; perasetik asit, laktik, asetik, propiyonik, sitrik ve benzoik asit), kuarterner amonyum bileşikleri (örn; benzalkonyum klorür ve didesyl dimethyl ammonium chloride), iyot bileşikleridir (Xiang vd., 2019).

Kuarterner amonyum bileşikleri (QA) mikroorganizmaların yüzeyindeki negatif yüklü grupları hedef alan katyonik maddelerdir ve en çok kullanılan dezenfektanlar arasında yer

almaktadır. Bu bileşikler Gram pozitif bakterilere, Gram negatif bakterilerden daha etkili olup funguslara ve zarflı virüslere karşı da iyi aktivite gösterirler (Reuter, 1998; Dvorak, 2005; Morente vd., 2013). Kuarterner amonyum bileşikleri grubundan olan didesyl dimethyl ammonium chloride (DDAC) çok sayıda üründe kullanılan bir dialkil-kuarterner amonyum bileşimidir (Anderson vd., 2016).

Aldehid grubundan olan, glutraldehid ve formaldehid ise geniş bir spektrumda dezenfektan etkisi gösterir ve proteinleri denatüre ederek, nükleik asitleri parçalayarak etkili olurlar. Glutraldehid hem düşük sıcaklıktaki dezenfeksiyonda kullanılabilmesi, hem de metal, kauçuk vb. içeren yüzeylerde aşındırıcı olmamasından dolayı sıklıkla kullanılan bir dezenfektandır (McDonnell ve Russell, 1999; Dvorak, 2005).

Oksidan madde olan hidrojen peroksit ve perasetik asit de mikroorganizmaların proteinlerini ve lipidlerini denatüre ederek

etki gösteren geniş spektrumlu maddelerdir (Dvorak, 2005; Anderson vd., 2016). Perasetik asit, hidrojen peroksitten daha güçlü bir dezenfektan olarak kabul edilmektedir. Ayrıca perasetik asit, dezenfeksiyondan sonra kalıntı bırakmaması, organik madde varlığında ve düşük sıcaklıklarda etkili olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Arda, 2000). Dezenfektan olarak kullanılan diğer bir grup halojen bileşiklerinden olan klor içeren sodyum veya kalsiyum hipoklorit özellikle gıda işleme tesislerinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olan, toksik tortular bırakmayan ve su sertliğinden etkilenmeyen bileşiklerdir (Rutala vd, 2008).

Farklı dezenfektanların mikroorganizmalar üzerine etkisinin incelendiği çeşitli çalışmalar (Can vd., 2010; Mısırlı ve Aydın, 2011; Li vd., 2014; Møretro ve Langsrud, 2017) ve farklı dezenfektanların su ürünleri işleme fabrikalarında kullanımı ile ilgili çok sayıda çalışma (Feliciano vd., 2010; Martowitono, 2011; Vázquez-Sánchez vd., 2014; Beeharry vd., 2016; Ifigüez-Moreno

vd., 2017) yapılmasına rağmen, kalıcı bakteriyel florayı oluşturan izolatlar üzerinde dezenfektanların antibakteriyel aktivitesinin belirlendiği kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu amaçla yapılan çalışmada, klor, kuarternar amonyum, gluteraldahid, ve hidrojen peroksit bazlı dezenfektanların balık işleme tesisinin farklı bölümlerinden dezenfeksiyon uygulaması sonrasında izole edilen *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas fluorescens* izolatları üzerinde antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Test edilen dezenfektanlar

Bu çalışmada, 2 farklı firmaya ait 4 farklı kimyasal formülasyon içeren dezenfektanın etkinliği incelenmiştir. Dezenfektan olarak; klor bazlı (K), kuarternar amonyum bazlı (QA), gluteraldehid bazlı (GA) ve hidrojen peroksit bazlı (HP) olanlar kullanılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Farklı dezenfektan formülasyonları
Table 1. Different disinfectant formulations

Ürün	Kısaltma	Aktif bileşenler
Klor bazlı	K	%5-15 Sodyum hidroksit, <%5 Sodyum hipoklorit, <%5Aminler, C10-16 alkildimetil, N-oksitler
Kuarternar amonyum bazlı	QA	<%5 Didesildimetilamonyum klorür
Gluteraldehid bazlı	GA	%15-25 Gluteraldehid, %5-15 Dördüncül amonyum bileşikleri, benzil-12-16-alkildimetil, klorürler, <%5 Didesildimetilamonyumklorür, <%5 Tetrasodyum etilendiamintetraasetat, <%5 Fosforik asit, <%5 d-limonen
Hidrojen peroksit bazlı	HP	%99,956 hidrojen peroksit (%50'lik), %0,044 kolloid gümüş

EN 1040 "Kantitatif süspansiyon"da bildirilen zorunlu deney şartları (konsantrasyon, sıcaklık, temas süresi ve bakteriler) kullanılmıştır. Dezenfektanlar üretici firmanın tavsiye ettiği en düşük konsantrasyonda (%2) ve tavsiye edilen konsantrasyonun altındaki konsantrasyonlar (%1,%0,5) kullanılarak dilüsyonları hazırlanmıştır. Tüm dezenfektanlar testten önce taze olarak hazırlanmışlardır. Seyreltilmiş ve dezenfektan kontrolü olarak sterilize edilmiş distile su kullanılmıştır. Her bir bakteri için işlem ikişer kez uygulanmıştır.

Test edilen bakteri türleri

Balık işleme tesis yüzeyinin 10 farklı bölümünden izole edilmiş olan 20 bakteri (*S. aureus* ve *P. fluorescens*) izolatlarının, farklı dezenfektanlara olan duyarlılıkları, farklı konsantrasyon ve sürelerde test edilmiştir. Test bakterileri, balık işleme tesis yüzeylerinden dezenfektan uygulamasından sonra izole edilmiştir. Yüzey örnekleri, sürtme (swab) yöntemi ile alınmıştır. 25 cm² alan steril serum fizyolojik ile nemlendirilmiş swab'lar ile taranmış ve bu swab çubukları, örnek olarak kabul edilmiştir. Bu örneklerden onluk seyreltmeler hazırlanmıştır (Collins vd., 1998; Bell vd., 2005). *Pseudomonas* spp. izolasyonunda, *Pseudomonas* Selective Agar Base (Cetrimide Agar, Merck, 105284.0500) besiyerine ekimler yapılmıştır. 37°C'de 48 saat inkübasyon sonunda petripler değerlendirilmiştir. Sarı-yeşil pigmentli ve uzun dalga

boyulu UV lamba ile floresan ışımaya veren koloniler *Pseudomonas* spp., olarak değerlendirilmiştir (Halkman, 2005). İdentifikasyon testi API 20NE test kiti ile yapılmıştır.

Staphylococcus spp., izolasyonu için, Baird – Parker Agar (Merck, 105406.0500) besiyerine ekimler yapılmıştır. Ekimden sonra petripler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (ISO,2003).Tipik ya da süpheli kolonilere Bactident Coagulase (Merck, 113306.00001) kullanılarak koagülaz testi yapılmıştır. *Staphylococcus* spp.'nin identifikasyonu, API *Staphylococcus* test kiti ve tamamlayıcı biyokimyasal yöntemlerle yapılmıştır (Halkman, 2005).

Bakterisidal aktivitenin belirlenmesi (Süspansiyon testi)

Dezenfektanların bakteriler üzerindeki etkinliği, EN 1040 "Kantitatif süspansiyon" test yöntemi kullanılarak saptanmıştır (TSE EN 1040, 2006). Nötralizasyon işleminin etkinliği de TSE EN 1040 standardına göre yapılmıştır. Nötrleştirici madde olarak Ringer solüsyonu ile hazırlanmış 30g/L Tween 80 çözeltisi kullanılmıştır. Test bakteri kullanılarak nötralizasyon sisteminin üremeyi inhibe etmediği, dezenfektanların aktivitelelerini durdurduğu kontrol edilmiştir.

Dezenfektanın etkinliğinin belirlenmesi için saf kültürler Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck, 105458.0500) besiyerine ekilerek aktif hale getirilmiştir. Sonrasında bu ilk pasajdan aynı

yolla ikinci bir pasaj hazırlanmış ve 37°C 24 saat inkübe edilmiştir. TSA petrisinden alınan bakteri kolonisi Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck, 105458.0500) içeren tüp içine pasajlanmış ve 37°C 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda tüpler 2000 rpm'de 20 dk. santrifüj edilmiştir. Hücre pelletleri %0,5 Tween 80 çözeltisi ile yıkanmıştır. TSB içerisinde bulunan ve McFarland 0,5 değerine göre ayarlanmış bakteri süspansiyonundan 1 ml alınarak 9 ml dezenfektan solüsyonu içerisine eklenmiştir. Her bir dilüsyon örneği 5 ve 15 dk. temas süresinde, 20°C inkübatörde (Mermert, Almanya) bekletilmiştir. Temas süresi sonunda, deney süspansiyonundan 1ml örnek alınmış ve içinde 8 ml nötrleştirici madde ile 1 ml steril distile su bulunan tüpe pipetlenmiştir. Daha sonra 20°C'de 5 dk. nötralizasyon işlemi için inkübatörde bekletilmiştir. Sürenin sonunda, sayım için, seyreltici kullanılarak 10⁻¹'den 10⁻⁶'a kadar seyreltme tüpleri hazırlanmıştır. Her bir dilüsyon örneğinden 100 µl alınıp TSA petrisinin üzerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petri 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir.

Oluşan koloniler sayılmış ve koloni oluşturan birim (kob) dilüsyon faktörüyle çarpılarak hesaplanmıştır. Mikrobiyal sayımlar log₁₀ ölçeğine dönüştürülmüştür. Bakteriyel azalma (redüksiyon oranı), bir dezenfektana maruz kalmadan önceki canlı koloni sayısından, maruz kaldıktan sonraki canlı koloni sayısı çıkarılarak hesaplanmıştır (log₁₀ redüksiyon= log₁₀ predezenfektanlı sayım-log₁₀ dezenfektanlı sayım). Antimikrobiyal etkinlik testlerinin sonuçları standartta verilen logaritmik limitlere göre değerlendirilmiştir. Bakterisidal aktivite için TSE EN 1040 gerekliliği, seçilen temas süresi içinde izolatlar üzerinde ≥5 log₁₀'luk azalma veya daha büyük olması etkili antimikrobiyal aktivite olarak kabul edilmiştir.

İstatiksel Analiz

Bakteri sayımlarının istatistiksel analizleri mutlak değerler üzerinden yapılmıştır. Bakteri sayılarının redüksiyon değerleri logaritmik değerlere dönüştürülmüştür. Logaritmik değerleri analiz etmek için tek yönlü ANOVA ve Duncan'ın çoklu aralık testleri kullanılmıştır. Analizler Statistical Package for Social Sciences 26.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD)

kullanılarak yapılmış olup, sonuçlar p<0.05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda kullanılan izolatların tamamı %2 konsantrasyonda glutraldehid, kuarterner amonyum, hidrojen peroksit ve klor 5 dk. temas süresinde duyarlı bulunmuştur. *S. aureus* izolatları üzerinde %0,5 klor konsantrasyonu 5 ve 15 dk. temas sürelerinde etkinlik gösterememiştir. Fakat %1 ve %2 klor çözeltilerinde bakteri izolatlarının duyarlı olduğu saptanmıştır. Ayrıca %0,5 ve %1 klor bazlı dezenfektanın 20°C'da 5 ve 15 dk. temas sürelerinde *P. fluorescens* izolatlarına etkinliği gözlenmemiştir. İstatistiksel olarak farklı dezenfektan konsantrasyon düzeyleri arasında anlamlı fark belirlenmiştir. *P. fluorescens* üzerinde 5 ve 15 dk. temas sürelerinde ve %0,5 ve %1 konsantrasyonlarda istatistiksel olarak herhangi bir farklılık gözlenmezken, anlamlı istatistiksel farklılık %2 düzeyinde mevcut olduğu gözlenmiştir (Tablo 2).

Kuarterner amonyum bazlı dezenfektanın test bakterileri üzerinde farklı azalma düzeyleri tespit edilmiştir. Fakat %0,5 ve %1 konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Tüm kuarterner amonyum konsantrasyonları test edilen izolatlar karşı en etkili dezenfektan olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak farklı dezenfektan konsantrasyon düzeyleri arasında anlamlı fark belirlenmiştir (Tablo 3).

Glutraldehidin %0,5 konsantrasyonunda 5 dk. temas süresinde *S. aureus* izolatları üzerine etkili olmadığı, fakat diğer konsantrasyonlarda test edilen izolatların duyarlı olduğu saptanmıştır. *P. fluorescens* izolatları üzerinde, %0,5 glutraldehid çözeltisi haricinde, tüm temas süresinde yeterli antibakteriyel etkinliği saptanmıştır (Tablo 4).

Test edilen *S. aureus* izolatlarına %1 hidrojen peroksitin antibakteriyel etkisi saptanmıştır (≥5 log₁₀ azalma). Ancak %0,5 hidrojen peroksit çözeltilerinin 5 dk. temas süresinde *S. aureus* izolatlarına karşı aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. *P. fluorescens* izolatlarına karşı, hidrojen peroksitin tüm konsantrasyonlarının etkili olduğu belirlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 2. *S. aureus* ve *P. fluorescens* suşlarının belirli temas sürelerinde klor bazlı dezenfektana karşı redüksiyon değerlerinin istatistiksel analizi sonuçları

Table 2. Statistical analysis results of reduction values of *S. aureus* and *P. fluorescens* isolates against chlorine-based disinfectant at certain contact times

Bakteri	Kontrol log ₁₀ kob/ml	Klor bazlı dezenfektan konsantrasyonları ve süreleri					
		%0,5		%1		%2	
		5 dk.	15 dk.	5 dk.	15 dk.	5 dk.	15 dk.
<i>S. aureus</i>	8,14±0,27 ^a	3,20±0,58 ^b	3,37±0,47 ^b	7,09±0,85 ^c	7,12±0,54 ^c	6,37±1,22 ^d	7,88±0,35 ^a
<i>P. fluorescens</i>	8,22±0,36 ^a	4,71±0,12 ^b	4,73±0,16 ^b	4,67±0,20 ^b	4,66±0,23 ^b	6,15±0,42 ^c	6,80±0,12 ^d

*Aynı harflerle takip edilmeyen aynı satırdaki ortalamalar, dezenfektan konsantrasyonları ve süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p < 0,05). Her bir kategori için redüksiyon değerleri istatistiksel özetlenmesi 'Ortalama±Standart sapma' olarak verilmiştir. Testlerde kullanılan başlangıç hücre sayıları: 1,5 x10⁸- 5x10⁹

Tablo 3. *S. aureus* ve *P. fluorescens* suşlarının belirli temas sürelerinde kuarterner amonyum bazlı dezenfektana (QA) karşı reduksiyon değerlerinin istatistiksel analiz sonuçları**Table 3** Statistical analysis results of reduction values of *S. aureus* and *P. fluorescens* isolates against quaternary ammonium-based disinfectant (QA) at certain contact times

Bakteri	Kontrol log ₁₀ kob/ml	Kuarterner amonyum bazlı dezenfektan konsantrasyonları ve süreleri					
		%0,5		%1		%2	
		5 dk.	15 dk.	5 dk.	15 dk.	5 dk.	15 dk.
<i>S. aureus</i>	7,69±0,47 ^a	6,39±1,15 ^b	7,12±0,15 ^c	6,99±0,21 ^c	6,93±0,20 ^c	7,15±0,06 ^c	8,06±0,18 ^a
<i>P. fluorescens</i>	8,47±0,38 ^a	5,93±1,04 ^b	5,60±1,18 ^b	6,13±1,10 ^b	6,29±0,97 ^b	6,39±1,15 ^b	7,32±0,55 ^c

*Aynı harflerle takip edilmeyen aynı satırdaki ortalamalar, dezenfektan konsantrasyonları ve süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p < 0,05). Her bir kategori için reduksiyon değerleri istatistiksel özetlenmesi 'Ortalama±Standart sapma' olarak verilmiştir. Testlerde kullanılan başlangıç hücre sayıları: 4,6x10⁷; 1,5 x10⁸- 5x10⁸

Tablo 4. *S. aureus* ve *P. fluorescens* suşlarının belirli temas sürelerinde glutaraldehid bazlı dezenfektana karşı reduksiyon değerlerinin istatistiksel analizi sonuçları**Table 4.** Statistical analysis results of reduction values of *S. aureus* and *P. fluorescens* isolates against glutaraldehyde-based disinfectant (QA) at certain contact times

Bakteri	Kontrol log ₁₀ kob/ml	Glutaraldehid bazlı dezenfektan konsantrasyonları ve süreleri					
		%0,5		%1		%2	
		5 dk.	15 dk.	5 dk.	15 dk.	5 dk.	15 dk.
<i>S. aureus</i>	8,35±0,45 ^a	4,24±0,34 ^b	6,82±0,91 ^c	6,80±0,26 ^c	6,85±0,20 ^c	7,18±0,23 ^d	7,22±0,14 ^d
<i>P. fluorescens</i>	8,60±0,51 ^a	3,21±0,24 ^b	2,65±0,14 ^b	6,42±1,32 ^c	6,39±1,14 ^c	7,16±0,73 ^c	6,84±0,96 ^c

*Aynı harflerle takip edilmeyen aynı satırdaki ortalamalar, dezenfektan konsantrasyonları ve süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p < 0,05). Her bir kategori için reduksiyon değerleri istatistiksel özetlenmesi 'Ortalama±Standart sapma' olarak verilmiştir. Testlerde kullanılan başlangıç hücre sayıları: 1,5 x10⁸- 5x10⁸

Tablo 5. *S. aureus* ve *P. fluorescens* suşlarının belirli temas sürelerinde hidrojen peroksit bazlı dezenfektana karşı reduksiyon değerlerinin istatistiksel analizi sonuçları**Table 5.** Statistical analysis results of reduction values of *S. aureus* and *P. fluorescens* isolates against hydrogen peroxide-based disinfectant at certain contact times

Bakteri	Kontrol log ₁₀ kob/ml	Hidrojen peroksit bazlı dezenfektan konsantrasyonları ve süreleri					
		%0,5		%1		%2	
		5 dk.	15 dk.	5 dk.	15 dk.	5 dk.	15 dk.
<i>S. aureus</i>	8,23±0,36 ^a	3,55±0,45 ^b	6,89±0,09 ^{cd}	5,97±0,35 ^e	7,12±0,10 ^d	6,60±0,54 ^c	8,03±0,35 ^a
<i>P. fluorescens</i>	8,14±0,27 ^a	5,56±0,31 ^b	7,15±0,80 ^{cd}	5,72±0,13 ^b	7,51±0,78 ^c	6,61±1,04 ^d	7,57±0,58 ^{ac}

*Aynı harflerle takip edilmeyen aynı satırdaki ortalamalar, dezenfektan konsantrasyonları ve süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p < 0,05). Her bir kategori için reduksiyon değerleri istatistiksel özetlenmesi 'Ortalama±Standart sapma' olarak verilmiştir. Testlerde kullanılan başlangıç hücre sayıları: 1,5 x10⁸- 5x10⁸

TARTIŞMA

Gıda endüstrisinde gıda ile temas eden yüzeylere, patojen bakterilerin yapışması çapraz kontaminasyon riskini artırmaktadır. Buna karşın dezenfektanların kullanımı üretim süreci boyunca gıdanın kontaminasyonunu azaltabilmektedir (Li vd., 2014). Gıdaların bozulmaması ve sağlık açısından sakıncalı hale gelmemesi için hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulması gıda üreten ve pazarlayan işletmelerde çok önemlidir (Duong, 2005). Gıda endüstrisinde hijyene odaklanma, kimyasal dezenfeksiyonun kullanımını arttırmış ve bunun seçici bir baskıya neden olması ile dezenfektanlara dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkmasına katkıda bulunacağı yönünde spekülasyonlar yapılmıştır (Thi vd., 2016).

Klor, düşük maliyeti ve geniş spektrumlu bir antimikrobiyal olarak hareket etme yeteneği nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Sharma vd., 2022). Çalışmamızda *P. fluorescens*'in test bakterisi olarak

kullanıldığı test sonuçları incelendiğinde, sodyum hipoklorit içeren dezenfektanların düşük konsantrasyonlarının (%0,5 ve %1) bakterisidal aktivite göstermediği bulunmuştur. *S. aureus*'un, klor bazlı dezenfektanlar haricinde, genellikle tüm dezenfektan konsantrasyonlarına duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Benzer olarak, Duong (2005) yaptığı çalışmada, 50 ve 200 ppm konsantrasyonlarda hipoklorit içeren dezenfektanların, özellikle yağ varlığında, perasetik asit ve kuarterner amonyum bileşikleri (%0,25, 0,5 ve 1) içeren formülasyonlardan daha az etkili olduğunu bulmuştur. Kocot ve Olszewska (2020) yaptığı çalışmada, *P. fluorescens* ve *S. aureus* biyofilmleri üzerinde klor bazlı dezenfektanları dirençli bulmuştur. İyot ve klor gibi çeşitli kimyasalların, yüzeydeki gıda artıkları ve kir ile reaksiyona girerek daha az etkili hale geldiği ve yüzeyi gerektiği gibi dezenfekte edemediği bildirilmiştir (Sharma vd., 2022). Bu veriler üretilen hammadde türünün, uygulanan dezenfektanların zaman- konsantrasyon ilişkisini etkileyen önemli bir parametre olduğunu bildirmektedir. Buna

karşın, [Thi vd. \(2016\)](#), *Pangasius* filetolarının yıkama suyundaki serbest klorün, toplam psikrofil bakteri sayısını 2 ve 4 log cfu/100 ml arasında azalttığını saptamıştır. Benzer bir çalışmada, [Cabeça vd., \(2012\)](#) sodyum hipoklorit'in biyofilm hücrelerine karşı en etkili dezenfektan olduğunu bildirmişlerdir. [DeQueiroz vd. \(2007\)](#) yaptıkları çalışmada, sodyum hipokloriti alüminyum veya paslanmaz çelik yüzeyler üzerinde, *P. aeruginosa* ATCC 19142 hücrelerinin öldürülmesi ve *P. aeruginosa* biyofilmlerinin uzaklaştırılması üzerinde denemişlerdir. Hücre sayılarının, 1 dakikada 3 log'dan 4 log'a ve 5 dakika sonra 4 log'dan 6 log'a azaldığını bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmada test edilen diğer bir dezenfektan olan kuarterner amonyum çözeltilisinin farklı konsantrasyonlarının *S. aureus* ve *P. fluorescens* suşlarına karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Benzer olarak [Li vd. \(2014\)](#) gıda kalıntıları (süt, sığır et suyu ve ton balığı) üzerinde, benzalkonyum klorür (BAC) ve alkil dimetilglisin hidroklorürün (AGH) bakterisit etkisini araştırmışlardır. Dezenfektan uygulamasından sonra patojen bakterileri (*Escherichia coli* O26, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Bacillus cereus* ve *B. cereus* sporları) sayılarının azalmış olduğunu bulmuşlardır. Fakat düşük konsantrasyonlarda (0,5 mg/ml, 2 mg/ml), dehidrasyondan ve dezenfektanların olumsuz etkilerinden bakteri hücrelerinin korunmuş olduğunu bildirmişlerdir. [Kuda vd. \(2008\)](#), gıda maddesi olmadan paslanmaz çelik yüzeylere yapıştırılan *E. coli* O26, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerinin, benzalkonyum klorüre karşı dirençlerini incelemiştir. *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerinin, benzalkonyum klorürün (BKC) (0,5 mg/ml) 10 dk. temas süresinden sonra sayılarının azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca *P. aeruginosa* BKC'ye direnç göstermesine rağmen, yapıştırılan diğer bakterilerin 2 mg /ml BKC ile inaktive edildiği bulunmuştur.

[Gosling vd. \(2017\)](#) *Salmonella*'yı ortadan kaldırmada gluteraldehid bazlı dezenfektanlardan olan gluteraldehid'in %2 konsantrasyonunun yüksek seviyeli dezenfeksiyon işlemi için etkili olduğunu, buna karşın çok fazla olumsuz etkilerinin de olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde dezenfektan olarak kullandığımız %2 gluteraldehid çözeltilisinin *P. fluorescens*'un test izolatu olarak kullanıldığı test sonuçları incelendiğinde yeterli antimikrobiyal aktivite gösterdiği fakat dezenfektanın % 0,5 konsantrasyonun ise 20°C'de tüm temas süresinde en düşük bakterisidal etki gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda % 0,5 gluteraldehid çözeltilisinin *S. aureus* izolatları üzerinde 5 dk. temas süresinde etkinlik göstermemiştir. Benzer bir çalışmada [Vizcaino-Alcaide vd. \(2003\)](#) gluteraldehid'in %2'lik konsantrasyonun 10-20 dk. içinde, mikobakteriler ve sporlar haricinde tüm mikroflorayı öldürdüğünü bildirmişlerdir. Fakat organik madde varlığında ise, gluteraldehid'in (%2) organik maddeyi metal yüzeye sabitleyerek, 2 saat içinde korozyona neden olduğu rapor etmişlerdir. Benzer olarak [Pineau vd. \(2008\)](#) gluteraldehid bazlı dezenfektanların (%2) protein birikimine ve fiksasyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir. [Al-Saleh vd. \(2021\)](#) diş hekimliğinde kullanılan kron kaplama malzemelerinin dezenfeksiyonunda NaOCl ve gluteraldehid dezenfektanlarını test etmiş ve *S. aureus*, *S. mutans* ve *E. coli* suşlarına karşı etkin olduğunu belirlemişlerdir. Test edilen dezenfektanlar arasında en iyi etki gösteren %2 gluteraldehid

olarak saptanmıştır. [Avcı vd. \(2017\)](#) hastanelerde sık kullanılan 4 adet antiseptik ve dezenfektanın hastaneden izole edilen hastane enfeksiyonu etkeni, dirençli farklı bakteriler üzerine etkisi ve etki süresinin karşılaştırılmasının amaçlandığı çalışmada, direkt ve ½ sulandırımında 1 dk. tüm bakterilerin üremesini inhibe eden glutaraldehid (%2) en etkili dezenfektan olarak saptanmıştır.

Dezenfektan olarak kullandığımız hidrojen peroksit tüm konsantrasyonlarda (%0,5, %1, %2) ve temas sürelerinde özellikle *P. fluorescens* izolatları üzerinde en etkili dezenfektan olarak saptanmıştır. Benzer bir çalışmada, [Hassan vd. \(2013\)](#) su ürünleri işleme fabrikalarındaki farklı lokasyonlarında, hidrojen peroksit ve ticari stabilize hidrojen peroksidin etkinlikleri ve etkinlik sürelerini incelemiştir. Ticari stabilize % 5 H₂O₂ belirgin bir şekilde daha iyi bir genel dezenfeksiyon etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Başka bir çalışma da [DeQueiroz ve Day \(2007\)](#) hidrojen peroksit dezenfektanlarını alüminyum veya paslanmaz çelik yüzeyler üzerinde, *P. aeruginosa* ATCC 19142 hücrelerinin öldürülmesi ve *P. aeruginosa* biyofilmlerinin uzaklaştırılması üzerinde denemişlerdir. Hücre sayılarının, 5 dk. temastan sonra 7 log azaldığı ve 20 dk. temastan sonra hiçbir canlı bakteri tespit etmemişlerdir. [Choi vd. \(2012\)](#), paslanmaz çelik yüzeylerde *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*'in hayatta kalma oranlarını ve aerosol haline getirilmiş hidrojen peroksit konsantrasyonunun (%0,25; %0,5) etkinliğini araştırmışlardır. Paslanmaz çelik yüzeylerde patojenlerin hayatta kalma oranlarının bakteri suşlarına ve koşullarına bağlı olarak değiştiğini ve aerosol şeklindeki hidrojen peroksit bazlı dezenfektanın bu patojenleri yüzeyden uzaklaştırmak için etkili olduğunu göstermişlerdir.

SONUÇ

Çalışmamızda kullandığımız dezenfektanlar balık işleme tesislerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Dezenfektanların doğru kullanılması ve seçilmesi protein ve nem açısından zengin bir ürünün işlendiği bu ortamlarda etkin bir dezenfeksiyon sağlamaktadır. Bunun için dezenfektanların istenen antibakteriyel etkinliği gösterdiğinin belirlenmesinde, işleme tesisi yüzeylerinden izole edilen kalıcı florayı temsil eden bakteriler üzerinde test edilmesi önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR VE MADDİ DESTEK

Bu çalışma kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki herhangi bir finansman kuruluşundan belirli bir hibe, fon veya başka bir destek almamıştır. Bu çalışma Aysu Besler'in doktora tezinin bir bölümünden özetlenmiştir.

YAZARLIK KATKISI

Araştırma, metodoloji, materyal hazırlama, finansman edinme, yazma 'Aysu Besler' tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırma, metodoloji ve gözden geçirme Berna Kılınc tarafından gerçekleştirilmiştir. Tüm yazarlar makaleyi okumuş ve onaylamıştır.

ETİK ONAY

Bu çalışma için özel bir etik onay gerekli değildi.

ÇIKAR/REKABET ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması ve/veya rekabet eden çıkarlar olmadığını beyan eder.

KAYNAKÇA

- Al-Saleh, S., Albaqawi, A.H., Alrawi, F., Tulbah, H.I., Al-Qahtani, A.S., Heer, E., Nisar, S.S., Vohra, F., & Abduljabbar, T. (2021). Effectiveness of synthetic and natural photosensitizers and different chemical disinfectants on the contaminated metal crown. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 36(11), 102601. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102601>
- Anderson, S.E.A., Shane, H., Long, C., Lukomska, E., Meade, B.J., & Marshall, N.B. (2016). Evaluation of the irritancy and hypersensitivity potential following topical application of didecyldimethylammonium chloride. *Journal of Immunotoxicology*, 13(4), 557-566. <https://doi.org/10.3109/1547691X.2016.1140854>
- Arda, M. (2000). *Basic Microbiology* (in Turkish) (pp.95-99). İkinci baskı (Genişletilmiş). Medisan Yayın Serisi:46, Ankara.
- Avcı, D., & Otkun, M. (2017). Evaluation of antibacterial activities of some antiseptics and disinfectants. (in Turkish with English abstract). *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 74(3), 211-220. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2017.75002>
- Beeharry, M., Goburdhun, D., & Neetoo, H. (2016). Comparative efficacy of chlorinated and non-chlorinated disinfectants on food contact surfaces in a tuna processing area. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 5(7), 1743-1754. ISSN:2277-4998
- Bell, C., Neaves, P., & Williams, A.P. (2005). *Food Microbiology and Laboratory Practice* (pp. 80-81). Blackwell publishing, Singapore.
- Cabeça, T.K., Pizzolitto, A.C., & Pizzolitto, E.L. (2012). Activity of disinfectants against foodborne pathogens in suspension and adhered to stainless steel surfaces. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(3), 1112-1119. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220120003000038>
- Can, E., Saka, Ş., & Firat, K. (2010). Disinfection of gilthead sea bream (*Sparus aurata*), red porgy (*Pagrus pagrus*) and common dentex (*Dentex dentex*) eggs from sparidae with different disinfectants. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(2), 299-306.
- Choi, N.Y., Baek, S.Y., Yoon, J.H., Choi, M.R., & Kang, D.H. (2012). Efficacy of on aerosolized hydrogen peroxide-based sanitizer on the reduction of pathogenic bacteria on a stainless steel surface. *Food Control*, 27, 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.027>
- Collins, C.H., Lyne, P.M., & Grange, J.M. (1998). *Microbiological Methods*, Seventh edition, Butterworth Heinemann, Printed in Great Britain, 493 p.
- DeQueiroz, G.A., & Day, D.F. (2007). Antimicrobial activity and effectiveness of a combination of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide in killing and removing *Pseudomonas aeruginosa* biofilms from surfaces. *Journal of Applied Microbiology*, 103(4), 794-802. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03299.x>
- Duong, N.T.H. (2005). The sanitising efficiency of different disinfectants used in the fish industry, *The United Nations University – Fisheries Training Programme*, 36 p.
- Dvorak, G. (2005). *The Center for Food Security & Public Health, Iowa State University*, 1-20.
- Feliciano, L., Lee, J., Lopes, J.A. & Pascall, M.A. (2010). Efficacy of sanitized ice in reducing bacterial load on fish fillet and in the water collected from the melted ice. *Journal of Food Science*, 75(4), 231-238. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01583.x>
- Gosling, R.J., Mawhinney, I., Vaughan, K., Davies, R.H. & Smith, R.P. (2017). Efficacy of disinfectants and detergents intended for a pig farm environment where *Salmonella* is present. *Veterinary Microbiology*, 204, 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.04.004>
- Halkman, A.K. (2005). *Food Microbiology Applications, Merck*, (in Turkish) (pp.211-252). Başak Matbaacılık Ltd.Şti., Ankara.
- Hassan, F., Lakshmanan, P.T., Geethalakshmi, V., & Mukundan, M.K. (2013). Evaluation of stabilised hydrogen peroxide as sanitiser in seafood

VERİ KULLANILABİLİRLİĞİ

Mevcut çalışmaya ait veri setleri editör veya hakemlerin talebi üzerine sorumlu yazar tarafından sağlanacaktır.

- processing industry. *Indian Journal of Fisheries*, 60 (2), 145-149.
- Íñiguez-Moreno, M., Avila-Novoa, M.G., Íñiguez-Moreno, E., Guerrero-Medina, P.J., & Gutiérrez-Lomeli, M. (2017). Antimicrobial activity of disinfectants commonly used in the food industry in Mexico. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10, 143-147. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.05.013>
- ISO 6888-3:2003. (2003). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -- Part 3: *Detection and MPN technique for low numbers*, 11p.
- Kocot, A.M., & Olszewska, M. A. (2020). Interaction of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* with *Listeria innocua* in dual species biofilms and inactivation following disinfectant treatments. *LWT-Food Science and Technology*, 118, 108736. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108736>
- Kuda, T., Yano, T., & Kuda, M.T. (2008). Resistances to benzalkonium chloride of bacteria dried with food elements on stainless steel surface. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 988-993. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.016>
- Li, R., Kuda, T., & Yano, T. (2014). Effect of food residues on efficiency of surfactant disinfectants against food related pathogens adhered on polystyrene and ceramic surfaces. *LWT-Food Science and Technology*, 57, 200-206. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.018>
- Martowitono, N. (2011). Efficiency of cleaning and disinfection on fish contact surfaces, United Nations University (UNU)- *Fisheries Training Programme, Final Project*, 25p.
- McDonnell, G., & Russell, A.D. (1999). Antiseptics and disinfectants: Activity, action and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1),147-179. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.1.147>
- Misirli, F., & Aydın, A. (2011). Effectiveness of different disinfectants used in the food production facility on selected foodborne pathogens. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 17 (Suppl A), S167-S171. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2010.3500>
- Morente, E.O., Fernandez-Fuentes, M.A., Burgos, M.J.G., Abriouel, H., Pulido, R.P., & Galvez, A. (2013). Biocide tolerance in bacteria. *International Journal of Food Microbiology, Review*, 162, 13-25. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.028>
- Mørretrø, T., & Langsrud, S. (2017). Residential bacteria on surfaces in the food industry and their implications for food safety and quality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 1022-1041. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12283>
- Pineau, L., Desbuquois, C., Marchetti, B., & Duc, D.L. (2008). Comparison of the fixative properties of five disinfectant solutions. *Journal of Hospital Infection*, 68,171-177. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2007.10.021>
- Reuter, G. (1998). Disinfection and hygiene in the field of food of animal origin. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41, 209-215. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(98\)00029-8](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00029-8)
- Rutala, W.A., Weber, D.J., & Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), (2008). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. *Disinfection and Sterilization Guideline*, 163p. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/>
- Sharma, S., Jaiswal, S., Duffy, B., & Jaiswal, A.K. (2022). Advances in emerging technologies for the decontamination of the food contact surfaces. *Food Research International*, 151, 110865. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110865>
- Thi, A.N.T., Sampers, I., Haute, S.V., Samapundo, S., Meulenaer, B.D., Heyndrickx, M., & Devlieghere, F. (2016). Evaluation of the safety and

- quality of wash water during the batch washing of *Pangasius* fish (*Pangasius hypophthalmus*) in chlorinated and non-chlorinated water. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 425- 431. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.048>
- TSE EN 1040, (2006). Chemical disinfectants and antiseptics, Basic bactericidal activity, test method and requirements (phase 1), *European Committee for Standardization (CEN)* (in Turkish)
- Vázquez-Sánchez, D., Cabo, M.L., Ibusquiza, P.S., & Rodríguez-Herrera, J.J.(2014). Biofilm-forming ability and resistance to industrial disinfectants of *Staphylococcus aureus* isolated from fishery products. *Food Control*, 39, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.029>
- Vizcaino-Alcaide, M.J., Herruzo-Cabrera, R., & Fernandez-Acenero, M.J. (2003). Comparison of the disinfectant efficacy of Perasafe® and 2% glutaraldehyde in in vitro tests. *Journal of Hospital Infection*, 53, 124-128. <https://doi.org/10.1053/jhin.2002.1296>
- Xiang, Q., Kang, C., Zhao, D., Niu, L., Liu, X., & Bai, Y. (2019). Influence of organic matters on the inactivation efficacy of plasma-activated water against *E.coli* O157:H7 and *S.aureus*. *Food Control*, 99, 28-33. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.019>