

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISLATMA SIVISINDAN İZOLE EDİLEN
MİKROORGANİZMALARIN POTASYUM DİMETİL-
DİTİYOKARBAMET İÇEREN ANTİMİKROBİYAL İLE
KONTROLÜ**

Nur KÖSE

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral BİRBİR**

İSTANBUL 2011

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISLATMA SIVISINDAN İZOLE EDİLEN
MİKROORGANİZMALARIN POTASYUM DİMETİL-
DİTİYOKARBAMET İÇEREN ANTİMİKROBİYAL İLE
KONTROLÜ**

**Nur KÖSE
(520108007)**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral BİRBİR**

İSTANBUL 2011

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve gerçekleştirilmesinde büyük emek sahibi olan, ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Prof. Dr. Meral BİRBİR'e,

Bu aşamaya gelmemde yardımları olan değerli hocalarıma,

Tezimin gerçekleşmesi için bana gerekli olanakları sağlayan ve maddi destekte bulunan Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen, tezimde büyük emeği olan, izolatlarını kullandığım Dr. Didem BERBER'e paylaşımları için,

Çalışmalarımızda bilgi ve birikimlerinden faydalandığım, yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ayşe OGAN ve Doç. Dr. Barış ÇALLI'ya

Zor zamanlarımda yardımları, teşvikleri, dostluğu ile yanımda olarak desteğini hep yanımda hissettiğim, birlikte çalışmaktan dolayı büyük mutluluk duyduğum, kendisinden çok şey öğrendiğim çalışma arkadaşım Emel ASLAN ÇON'a, tezimin incelenip düzeltilmesi aşamasında bana yardımcı ve manevi destek olan Canan VEYSELOVA ve Pınar YILMAZ'a,

Beni yetiştirip bu günlere getiren, hayatım boyunca destek ve ilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, benimle birlikte emek sarfeden ve bana karşı sabır gösteren canım aileme ve manevi olarak hep yanımda hissettiğim babama,

Tez aşamamda bana anlayış gösteren, hayatımızdaki zorlukları atlatmakta bana yol arkadaşı olan sevgili eşime,

Sonsuz Teşekkürlerimi Sunarım.

Nisan, 2011

Nur KÖSE

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
SEMBOLLER.....	vii
KISALTMALAR.....	viii
TABLolar.....	ix
BÖLÜM I. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER.....	2
II.1. DERİCİLİK SEKTÖRÜNE GENEL BAKIŞ.....	2
II.2. HAM DERİNİN YAPISI.....	3
II.2.1. Üst Deri Tabakası (Epidermis).....	3
II.2.2. Deri Tabakası (Dermis, Koryum).....	4
II.2.3. Alt Deri Tabakası (Hipodermis, Subkutan Doku).....	5
II.3. DERİ ÜRETİM AŞAMALARI.....	5
II.3.1. Ham Deri.....	5
II.3.2. Ham Derinin Kurutularak Korunması.....	5
II.3.2.1. Havada Kurutarak Koruma.....	6
II.3.2.2. Tuzlu Salamura ile Koruma.....	7
II.3.3. Islatma.....	7
II.3.4. Kireçlik.....	8
II.3.5. Kireç Giderme.....	9
II.3.6. Sama.....	9
II.3.7. Yağ Giderme.....	9
II.3.8. Piklaj.....	9

II.3.9. Sepileme (Tabaklama).....	10
II.3.10. Nötralizasyon.....	10
II.3.11. Son Sepileme	10
II.3.12. Boyama.....	11
II.3.13. Yağlama.....	11
II.3.14. Kurutma	11
II.3.15. Finisaj.....	11
II.4. STAPHYLOCOCCUS, BACILLUS, PSEUDOMONAS ve	
ENTEROBACTER CİNSLERİ HAKKINDA GENEL BİLGİ	
GENEL BİLGİLER.....	12
II.4.1. <i>Staphylococcus</i>	12
a. <i>Staphylococcus warneri</i>	13
b. <i>Staphylococcus xylosus</i>	13
c. <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	14
II.4.2. <i>Bacillus</i>	14
a. <i>Bacillus mycoides</i>	14
II.4.3. <i>Enterobacter</i>	14
a. <i>Enterobacter sakazakii</i>	15
II.4.4. <i>Pseudomonas</i>	15
a. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
II.5. ISLATMA SIVILARINDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLER	
VE ANTİMİKROBİYALLER İLE İLGİLİ DAHA ÖNCE	
YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	16
BÖLÜM III. ÇALIŞMALAR.....	19
III.1. ARAŞTIRMA ARAÇLARI.....	19
III.1.1. Kullanılan Besiyerleri.....	19
III.1.1.1. Nutrient Agar	19
III.1.1.2. Nutrient Broth.....	19
III.1.1.3. Mueller Hinton Agar.....	19
III.1.1.4. Mueller Hinton Broth.....	20
III.1.1.5. Jelatin Agar Besiyeri	
(Chapman Stone Jelatin Agar).....	20
III.1.1.7. Tween 80 Agar.....	20

III.1.2. Kullanılan Çözeltiler	21
III.1.2.1.% 0.85 Steril Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi	21
III.1.2.2.0.5 No'lu Mc Farland bulanıklık standardı	21
III.1.2.3. Potasyum Dimetil Di Tiyo Karbamet Çözeltisi	21
III.1.2.4. % 0,5'lik Sodyum Tiyosülfat Çözeltisi	21
III.1.3. Kullanılan Araçlar	21
III.2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	22
III.2.1. Daha Önceki Bir Çalışmada İslatma sıvılarından izole edilerek API test kiti ile tanımlanmış izolatların antimikrobiyal test için hazırlanması..	22
III.2.2. Test izolatlarının proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin belirlenmesi.....	22
III.2.2.1. Proteaz Aktivitesi	22
III.2.2.2. Lipaz Aktivitesi	23
III.2.3. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Test İzolatları Üzerine Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	23
III.2.4. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Test İzolatlarının Karışık Kültürü Üzerine Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerinin Farklı Temas Sürelerinde Belirlenmesi.....	24
III.2.5. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatlarında Antibakteriyel Etkinliğinin Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi ile Test Edilmesi.....	26
BÖLÜM IV. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	26
BÖLÜM V. SON DEĞERLENDİRMELER ve ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

ISLATMA SIVISINDAN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALARIN POTASYUM DİMETİL-DİTİYOKARBAMET İÇEREN ANTİMİKROBİYAL İLE KONTROLÜ

Deri endüstrisinde, mamul deride görülen zararın önemli bir kısmı tuzlanmış derilerin depolanması ve ıslatma sıvılarındaki bakteriyel faaliyetten kaynaklanmaktadır. Çalışmamızda, deri endüstrisinde kullanılan potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in farklı konsantrasyonlarının minimal inhibitör ve minimal bakterisidal etkileri, başka bir çalışmada ıslatma sıvısından izole edilerek tanımlanmış olan, proteolitik, lipolitik veya hem proteolitik hem de lipolitik aktivite gösteren *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, *Bacillus mycoides*, *Enterobacter sakazakii* ve *Pseudomonas aureginosa* üzerinde araştırılmıştır. Bu maddenin 142 mg/L'lik kullanım konsantrasyonu, 24 saatlik temas süresinde sadece *Staphylococcus warnerii*, *Staphylococcus lugdunensis* ve *Bacillus mycoides* bakterilerinde > 5 log azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 569 mg/L *Enterobacter sakazakii*'de > 5 log azalmaya neden olurken 1138 mg/L tüm test mikroorganizmalarında > 5 log azalmaya sebep olmuştur. Bu maddenin disk difüzyon yönteminde 64 µg'ı tüm test mikroorganizmalarında 18-24 mm arasında inhibisyon zonların oluşumuna neden olmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zonlar, *Enterobacter sakazakii* ve *Pseudomonas aureginosa*'da görülürken, en büyük zon *Staphylococcus warneri*'de görülmüştür. Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 4553 mg/L'lik konsantrasyonu 1 ve 2 saatlik temas süresinde karışık kültürde > 4 log azalmaya sebep olurken 2276 mg/L'lik konsantrasyonu 4 saatte > 4 log azalmaya sebep olmuştur. Aynı konsantrasyon, ancak 6 ve 8 saatlik temas sürelerinde karışık kültürde > 5 log azalmaya neden olmuştur. Sonuç olarak Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in deri ıslatma sıvısından izole edilen mikroorganizmaların tümünü inaktive etmesi için daha yüksek kullanım konsantrasyonun gerekli olduğu saptanmıştır.

Nisan, 2011

Nur KÖSE

ABSTRACT

THE CONTROL OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM THE SOAK LIQUOR WITH ANTIMICRIBIAL CONTAINING POTASSIUM DIMETHYL-DITHIOCARBAMATE

In the leather industry, most of defects seen on the leather originate from bacterial activity during storage of salted hides and the soaking processes. In the present study, the minimal inhibitory and minimal bactericidal effects of different concentrations of potassium dimethyl-dithiocarbamate used in the leather industry were examined on proteolytic, lipolytic or both proteolytic and lipolytic *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, *Bacillus mycoides*, *Enterobacter sakazakii* and *Pseudomonas aureginosa* isolated and identified from the soak liquor in the previous study.

It was determined that a 142 mg/L dose of potassium dimethyl-dithiocarbamate caused > 5 log unit inactivation only at *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus lugdunensis* and *Bacillus mycoides* at 24 h exposure time. Although 569 mg/L dose of the test substance caused > 5 log unit inactivation of *Enterobacter sakazakii*, 1138 mg/L produced > 5 log unit inactivation of all the test microorganisms.

64 µg of the active ingredient produced zones of inhibition between 18 and 24 mm on the test microorganisms with Kirby-Bauer disc diffusion method. While the smallest inhibition zone were seen at both *Enterobacter sakazakii* and *Pseudomonas aureginosa*, the largest inhibition zone was measured at *Staphylococcus warneri* at this concentration. 4553 mg/L of potassium dimethyl-dithiocarbamate caused > 4 log unit inactivation of the mixed culture at 1 and 2 h exposure times while 2276 mg/L dose of the antimicrobial agent produced > 4 log unit inactivation of the mixed culture at 4 h exposure time. However, the same concentration produced > 5 log unit inactivation at 6 and 8 h exposure times. As a conclusion, it was found that it is necessary to use higher concentration of potassium dimethyl-dithiocarbamate to inactivate all of the bacteria isolated from the hide soak liquor.

April, 2011

Nur KÖSE

SEMBOLLER

- °C** : Santigrad derece
g : Gram
L : Litre
mg : Miligram
mL : Mililitre
mm : Milimetre
µL : Mikrolitre
pH : Asitlik Bazlık Derecesi
ppm : Milyonda Bir Kısım
w/v : Ağırlık (Weight) / Hacim (Volume)

KISALTMALAR

- bs_ö** : Antimikrobiyal İlave Edilmeden Önce Test Ortamındaki Toplam Bakteri Sayısı
- bs_s** : Antimikrobiyal İlave Edilmeden Sonra Test Ortamındaki Toplam Bakteri Sayısı
- CAS** : Chemical Abstract Number
- İF** : İndirgenme Faktörü
- kob** : Koloni Oluşturma Birimi
- MİK** : Minimum İnhibitör Konsantrasyon
- MBK** : Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
- MHA** : Mueller Hinton Agar
- MHB** : Mueller Hinton Broth

TABLolar

	SAYFA
Tablo IV.1. Kullanılan Test İzolatlarının Proteolitik ve Lipolitik Aktiviteleri.	26
Tablo IV.2. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatları Üzerindeki Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktiviteleri	28
Tablo VI.3. Potasyum Dimetil-Ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatları Üzerindeki Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerine Ait İF Değerleri.....	29
Tablo VI.4. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Farklı Temas Sürelerinde Test İzolatlarının Karışık Kùltürleri Üzerindeki Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktiviteleri....	30
Tablo IV.5. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Farklı Temas Sürelerinde Test İzolatlarının Karışık Kùltürleri Üzerindeki Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerine Ait İF Değerleri.....	31
Tablo IV.6. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatlarında Oluşturduğu İnhibisyon Zonlarının Çapları (mm)....	34

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye'deki deri sektörü sanayimiz, yurdumuzdaki deri talep ihtiyacını karşılayabilen, önemli oranda ihracat yapabilen ve modern teknolojiyi kullanarak sürekli gelişen önemli bir sektördür. Buna karşın ithal ham maddeye büyük bağımlılığı ve kalite gibi eksiklikleri olup potansiyeli yeterince değerlendirilememektedir (Afşar ve Zengin, 2004).

Sektörün geleceğinin şekillenmesinde etkili olacak unsurlardan en önemlisi kaliteli deri üretilmesidir. Ham derilerde rastlanan konservasyon hataları deri kalitesini büyük ölçüde düşürerek önemli ölçüde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Kallenberger, 1984; Bailey ve Birbir, 1996; Birbir, 2004). Ham deri hatalarının bir kısmı da ıslatma sıvılarında bekletilme esnasında olmaktadır.

Deri fabrikalarında, tuzlanmış derilerde, ıslatma sıvılarında, ıslatılmış derilerde ve derinin değişik işlenti safhalarında bulunan mikroorganizmalar tüm dünyada deri sektöründe karşılaşılan önemli bir problemdir. Bu mikroorganizmalar, hem derilerin kontaminasyonuna yol açmakta hem de derileri olumsuz olarak etkileyerek kalite kaybına neden olarak büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Bu nedenle derilerde ve deri fabrikalarında bulunan mikroorganizmaların gelişiminin önlenmesi etkili dezenfeksiyon işlemlerinin uygulanmasıyla yakinen ilişkilidir.

Bundan önceki çalışmalarda Gebze Deri Organize Sanayisi'ndeki tabakhanelerden toplanarak araştırılan ıslatma sıvılarında oldukça fazla sayıda proteolitik ve lipolitik mezofil bakteriye rastlanılmıştır (Berber, 2009).

Dezenfeksiyon işlemlerindeki sorunların çoğu, kullanılan antimikrobiyal maddenin bakteriler üzerine etkili konsantrasyonun tam olarak saptanamamasındandır. Bu çalışmamızda deri endüstrisinde hem ülkemiz hem de dünya için önemli bir sorun olan mikroorganizmaların etkili dezenfeksiyon işlemi ile kontrol edilmesi amaçlanmıştır. Bu sebeple deri fabrikalarında ıslatma sıvısından izole edilen *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter sakazakii* ve *Bacillus mycoides* bakterileri test bakterileri olarak kullanılmıştır.

Aktif içeriği potasyum dimetil-ditiyokarbamet (%50) olan antimikrobiyal maddenin farklı konsantrasyonları, hem ayrı ayrı olarak hem de bu test mikroorganizmalarının karışık kültürleri üzerindeki minimum inhibitör ve minimum bakterisidal etkileri araştırılmıştır. Ayrıca antimikrobiyal aktivite, Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile de test edilmiştir.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

II.1. DERİCİLİK SEKTÖRÜNE GENEL BAKIŞ

Tarihi kaynaklara göre, derinin işlenerek kullanılması ilk çağlara dayanmaktadır. Mısırlılar, Romalılar, Yunanlılar, Türkler ve İslam toplumları çok çeşitli eşyalarda deriyi yaygın olarak kullanmışlardır. Anadolu'ya dericiliğin gelişi ise 1200'lü yıllara dayanmaktadır ve önemli bir meslek kolu haline gelmiştir (Koç, 2003).

Tarihimizin en eski ve yerleşik sektörlerinden biri olan ve uzun yıllar boyunca ülke ihracatında sürükleyici rol oynayan deri ve deri ürünleri sektörü birçok alt disiplini alt sektör olarak kapsamaktadır. Bu alt sektörlerden biri ve ham derinin kaynağı olan hayvancılığın ülkemizde önemli iktisadi işlevleri vardır. Son yıllarda canlı hayvan üretiminde yaşanan düşüş ile birlikte yan ürün olan ham derinin standart olarak elde edilememesi, kesim ve yüzüm hataları, konservasyon ve toplama yanlışları, ham derilerin uygun vasıtalarla, uygun koşullarda taşınmaması deri sektöründe kalite düşüşüne ve standart mamul üretiminde sıkıntılara sebep olmaktadır. Deri sanayinin en önemli maddesi olan ham deri ithal edilmek zorunda kalmış, maliyetler artmış ve rekabet şansı azalmıştır. Hayvancılığın, yalnızca deri sanayinin değil diğer birçok sanayi dalı için de önem taşımaktadır (DPT, 2007).

Ülkemizde her sene 2 milyon civarında büyükbaş hayvan kesilmekte ve deri elde edilmektedir ancak kesim yerleri ve mezbahalarda hayvanlar kesilip yüzülürken büyük kayıplara uğramaktadır. Yanlış yüzme sebebiyle %40'lara varan ekonomik zararlar görülür. Özellikle kurban bayramlarında yapılan kesimler oldukça fazladır ve bu kesimlerde de deri hasarı çok görülmektedir (http://www.tarimkutuphanesi.com/DERICILIK__00106.html).

Türk deri sektörüne alternatif pazarlar bulunması nedeniyle, sektörün reklam ve tanıtım olanaklarının artırılması, uluslararası tanıtım organizasyonları düzenlenmesi, kaliteli ham deri elde edilmesi için hayvancılığın da gelişimini teşvik edici politikalar uygulanması ve kalite farklılıklarını ortadan kaldırmak için saraciyelik deri standartları hazırlanıp uygulanması gerekmektedir (<http://kazlicesme.blogspot.com/search/label/deri%20mam%C3%BC1%C3%BC>).

Ülke talebini büyük oranda karşılayabilen ve dış pazarda payını belli oranlara çıkartabilmiş olan saraciye sektörü ülkemizde yüzyıllar boyu faaliyet gösteren, nüfusun ihtiyacını karşılayabilen, son yıllarda ise ihracata yönelim gösteren bir sektördür. Sektöre

yönelik yurt içi kaynaklar yetmemekte ve ham deri büyük oranda ithal edilmektedir. Sürekli artan ihracatın ise büyük bölümü Avrupa Birliği'ne (AB) olmaktadır. Sektörün AB'ye olan bu yakınlığı ile uzun vadede önemli iş fırsatlarının doğması beklenmekte fakat bunun için AB pazarına yönelik standartlarda altyapının oluşturulması gerekmektedir (DPT, 2007).

Dünyada deri sektörü, bu konuda lokomotif konumdaki AB ülkelerinden Çin, Tayvan, Hindistan gibi işçiliğin daha ucuz olduğu ülkelere kaymıştır. Birçok İtalyan, İspanyol ve Amerikan deri üreticisi firma, bu ülkeler ile ortak çalışmalar yapmıştır (DPT, 2007).

II.2. HAM DERİNİN YAPISI

Deri, dış çevre ile ilişkili bir örtü olmanın yanı sıra, canlıyı çarpma sürtünme ile oluşması muhtemel yaralanmalara ve hasara karşı korur. Ayrıca üretilen depoladığı melanin pigmenti sayesinde ultraviyole güneş ışınlarına karşı koruyucu rol oynar. Yapısındaki bezler, kan damarları ve yağ dokusu ile ısı dengelenmesinde görev alır (Aytekin, 1998).

Memeli hayvan derisi kesitleri incelendiğinde kimyasal ve fizyolojik yapı bakımından farklılık gösteren üst deri, dermis tabakası ve alt deri olarak adlandırılan üç tabakası olduğu görülür (Toptaş, 1998).

II.2.1. Üst Deri Tabakası (Epidermis)

Ektodermal kökenli olan epidermis, başlıca çok katlı yassı keratinize epitel hücrelerinden meydana gelmiştir. Kan damarı içermeyen üst deri tabakası bir alt tabaka olan koryum'dan beslenir (Aytekin, 1998).

Üst deri de kendi içinde 3 kısımda incelenir. Bunlardan en üstteki tabaka keratin içeren tırnaksı yapısından ötürü enzimlere dayanıklı, orta tabaka yarı tırnaksı ve en alt tabaka ise prekeratin üreten bazal tabakadır. Bazal tabakadaki hücreler sularını kaybederek üste itilir ve çekirdeklerini kaybederek tırnaksı yapıya dönüşürler ayrıca bazal tabaka hücrelerinde ışık etkisiyle deri rengini belirleyen pigmentler oluşur. Üst deri tabakası deri işlenmesi basamaklarından kireçleme esnasında tamamen uzaklaştırılır (<http://www.bahcesel.com/forumsel/genel-saglik-konulari/12312-cilt-derinin-yapilanmasi-tabakalari-kas-yapisi/>).

II.2.2. Dermis Tabakası (Koryum)

Mezodermal kökenli olan dermis tabakası, epidermisi destekleyen ve bunu bir alt komşu katman olan hipodermise bağlayan bağ dokusundan meydana gelir (Aytekin, 1998).

Koryum tabakası vücudun ısını dengeleyerek fizyolojik, çarpma, vurma, yaralanmalara karşı koruyarak da mekanik işlev görür. Deri üretiminin farklı basamaklarında üst ve alt deri tabakaları uzaklaştırılır, mamul deriyi koryum oluşturur. Koryum tabakasında bağ doku ve kollajen lif dokusu bulunur (Toptaş, 1993).

Koryum dikey kesitine bakıldığında ise aralarından kesin çizgiler olmayıp geçiş bölgeleriyle ayrılan üç tabaka görülür bu tabakalar; sırça tabakası, papiller tabaka ve retiküler tabakadır (Aytekin, 1998).

Bu tabakalardan ortada bulunan “papiller tabaka”nın kalınlığı hayvanın cinsine göre değişiklik gösterir, üst deri ile ilişkili olup bu nedenden dolayı kıl, kıl kılıfı, kıl kası, ter bezleri, yağ bezleri ve sinirler gibi kollajen olmayan yapıları içerir. Kollajen olmayan bu yapıların kireçlik aşamasında uzaklaştırılması, papiller tabakaya gevşek ve gözenekli bir görünüm kazandırır bu nedenle retiküler tabakadan daha dayanıksızdır. Deri işlentisi esnasında bu tabakanın daha da zayıflatılması ile dayanıklılık azalır ve doku gevşemesinden dolayı sırça boşluğu meydana gelir. Deri büküldüğünde ise sırçada katlanmalar ortaya çıkar hatta daha da zorlanırsa retiküler tabakadan ayrılabilir. Finisajda bu durum düzeltilmeye çalışılarak sırça boşluğunun azaltılması amaçlanır (Toptaş, 1993).

Papiller tabakaya ait olan “sırça tabakası” deriye görünümünü verdiği için deri kalitesi bakımından önem taşır. Oldukça sağlam bir tabakadır ve bağ dokusu bulundurmaz. Yapısındaki lifçikler oldukça ince ve sık oldukları için boyanması, kimyasallara tepkisi ve şişmesi diğer dokulardan farklıdır. Lifçiklerin yüzeyi arttırması sebebiyle boyamada daha fazla boya bağlar ve diğer tabakalardan daha açık renkte görünür. Esnemesi azdır ve aşırı şişerse diğer dokulara oranla daha kolay yırtılır. Değişik cinsteki hayvanların kılları deride farklı dizilimler gösterdiği için sırça tabakası da hayvan cinsine göre farklı cinse has görünüme sahiptir. Sırça görünümünden derinin ait olduğu hayvan anlaşılabilir (Toptaş, 1993).

Kalınlığı hayvanın cinsine göre değişen “retiküler tabaka” yağ doku hücrelerinin, kan ve lenf damarlarının, yağ bezlerinin, ter bezlerinin, kıl foliküllerinin ve bu kılların hareketini sağlayan kasların bulunduğu katmandır (<http://www.genetikbilimi.com/genbilim/ciltyapisi.htm>).

II.2.3. Alt Deri Tabakası (Hipodermis, Subkutan Doku)

Dermisin altında yer alan hipodermis (subkutan doku) deriyi alttaki komşu doku ve organlara bağlayan, onların üzerinde kayabilmesini sağlayan gevşek bağ dokudan meydana gelir (Aytekin, 1998).

Yağ, kas, kan damarları, sinir dokusu içeren, oldukça gevşek yapıdaki alt deri, sepileme bakımından önem taşımayan alt deri tabakası kireçlik işlemi sırasında deriden uzaklaştırılır (Toptaş, 1998).

II.3. DERİ ÜRETİM AŞAMALARI

II.3.1. Ham Deri

Yerli ham deri üretimi et ve ürünleri sanayiinin bir yan ürünü olarak sektöre dahil olmaktadır. Yerli ham derilerin temini özel kesim izni almış büyük mezbahalar ile çeşitli belediye ve özel sektöre ait kesimhanelere ek olarak kurban derilerinin toplandığı Türk Hava Kurumu ve ham derileri toplayan diğer gruplardan da sağlanmaktadır (DPT, 2007).

Kesim esnasında hayvanın kanının tamamen akıtılması önemlidir. Damarlarda kan kalırsa bakteriler için iyi bir besiyeri ortamı oluşur. Derinin yüzülmesinde kesik ve deliklerin oluşmasına neden olacak sivri uçlu ve keskin bıçak kullanılmamalıdır (Toptaş, 1998).

Yüzülmüş hayvan derileri, mikrobiyal saldırıya oldukça yatkındır. Deri üretim işlemlerinde mikroorganizmalar önemli bir faktördür. Deri üretiminde mikrobiyolojik aktivite oldukça zarar vericidir ve bu nedenle bakteri gelişimi önlenmelidir (Dahl, 1956).

Hayvan derisi hava, su, toprak, gübre ve dış kirlere çok çeşitli mikroorganizmalar içerir bu organizmalar canlı hayvanda az etkilidirler ancak derinin yüzümünden sonra ek olarak etli kısmın da kontaminasyonu beraber organizmalar sayılarını muazzam derecede artıracak uygun besiyeri ortamı elde etmiş olurlar. Çürüme deri bileşenlerini harap eder ve tabaklama işlemiyle deri çürümeye dayanıklı hale gelir. Eğer mikrobiyolojik harabiyet tabaklamadan önce meydana gelmiş ise tabaklama ne kadar iyi yapılmış olursa olsun mamul deri kalitesi düşük olur. Derinin mikrobiyolojik olarak bozulmasını önlemek için yüzüldükten hemen sonra oluşabilecek mikrobiyal bozulmayı önlemek gerekir (Dahl, 1956).

II.3.2. Ham Derinin Kurutularak Korunması

Deri proteinlerini mikroorganizmaların verebileceği zarardan korumak için yüzülüp kısa bir süre soğutulan derinin kısa süre içinde salamura yapılması gerekir. Ham derinin taze olarak işleme olanağı yoksa uygulanacak olan salamura yöntemi uzun süre koruyucu şekilde

olmalıdır. Ham deride protein parçalayıcı enzimler etkisiyle mamul deride hasar görülmekte ve dayanıklılığı azalmaktadır (Toptaş, 1993).

Genel olarak iki tip kurutma kullanılır:

-Hava ile kurutma

-Tuz ile kurutma

Bu her iki koruma işlemi de derinin suyunun dehidrasyonuna dayanır, bakterilerin üremek için suya ihtiyaç duymalarından dolayı bu işlemler ile derilerin tabakhaneye ulaşıncaya kadar mikrobiyal aktivitenin engellenmesi amaçlanır (Dahl, 1956).

II.3.2.1. Havada Kurularak Koruma

Çok eski zamanlardan beri kullanılagelen bu yöntemde deriler doğrudan doğruya hava ile kurularak derideki rutubetin hızlı bir şekilde uzaklaştırılması amaçlanır. Bu yöntemle daha çok koyun, keçi, kuzu, oğlak, tavşan, tilki ve benzeri kürk hayvanlarının derileri korunur, sığır derileri için uygun bir metot değildir (http://www.tarimkutuphanesi.com/DERICILIK__00106.html).

Asarak veya gererek yavaş yavaş yapılan kurutmada deri suyunun %55-65'ini kaybeder (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik>).

Taze deride su içeriği %60'tır. Basitçe havada kurumaya bırakılarak korunmuş derilerde su içeriği %15'e kadar düşürülür. Bu işlem uygun şekilde yapıldığında ve deri soğuk koşullarda saklandığında neredeyse süresiz olarak koruma sağlar. Kurutma etli yüzey tamamen kuruyup içindeki suyun buharlaşamayacağı şekilde hızlı değil de içindeki suyun da buharlaşmasına imkan sağlayacak şekilde yavaş olmalıdır. İçte su kalması durumunda aerobik ve anaerobik bakterilerin faaliyeti neticesinde kokuşma ve deride hasar meydana gelebilir (Dahl, 1956).

Havada kurularak koruma genellikle kuru ve sıcak iklimli ülkelerde ve tuzun bulunmadığı ya da pahalıya mal olduğu az gelişmiş ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Havada kurutmanın dezavantajı, kurutma esnasında fibröz ve nonfibröz proteinlerin bir arada yapışık kuruyup akabinde daha uzun bir ıslatma işlemi gerektirmesidir (Dahl, 1956).

II.3.2.2. Tuzlu Salamura ile Koruma

Nemli bölgelerde kurutma işlemi zordur ve uzun zaman alır. Zamanın uzun olması ise derilerde kokuşma meydana getirir. Genellikle ağır derilerde bu oldukça önemli bir tehdittir bu sebeplerle tuz kullanarak derilerin korunması iyi bir yöntemdir ve ülkemizde yaygın olarak kullanılmaktadır (http://www.tarimkutuphanesi.com/DERICILIK__00106.html).

Tuzlama derinin etli yüzeyinin kuru tuz tabakasıyla kaplandığı ya da tuzlu su ile muamele edildiği bir yöntemdir. İkincisi daha çok tercih edilir çünkü tuzlu su ile muamelede kan, kir ve bakteriler de deriden uzaklaştırılır. Her iki uygulamada da tuz osmotik hareket yoluyla su ile yer değiştirerek etli kısımdan deriye doğru nüfuz eder. Tuzla kurutma esnasında önemli miktarda fibröz olmayan (nonfibröz) protein çözünmemiştir ve tuz ile uzaklaştırılır. Kollajen iplikler birbirine yapışmaz ve bu nedenlerle tuzla muhafaza edilen deriler havada kurutulanlardan daha kısa süreli ıslatma işlemi gerektirir (Dahl, 1956).

II.3.3. Islatma

Deriler tabakhaneye ulaştıktan sonra ilk gördüğü işlem basamağı olan ıslatmanın temel amacı koruma ve depolama sırasında kaybettikleri suyu derilere geri kazandırarak derilerin konservasyon öncesi sahip olduğu nem miktarına ulaşmasını sağlamak, ham deri üzerindeki mikroorganizmalar, kan, kir, tuz, çamur ve idrar gibi pisliklerden temizlemek ve derinin yapısında bulunan ve suda çözünen albüminler ve nötral tuzlarda çözünen globülinler gibi eriyebilir proteinleri uzaklaştırmaktır (Rangarajan ve Didato, 2003).

Berrak, sertliği düşük, bakterilerden arınmış ve demir bileşikleri ihtiva etmeyen suyla yapılan salamura süresinde derinin kaybettiği suyun önemli bir bölümü kazandırılır (% 65'e çıkarılır). Derilerin yumuşama süresi aşağı-yukarı 24-48 saat arasındadır (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik>).

Islatmanın hızlandırılması için ıslatıcı, emülgatör, enzim ve alkaliler kullanılabilir. Islatma işleminin kontrollü yapılması ve mikroorganizma faaliyetlerinin önlenmesi gerekir bu işlem dolap mikser ve pervanede uygulanabilir (Dahl, 1956).

Hava kurusu derilere, içerdiği pıhtılaşmış protein ve kandan dolayı ıslatma solüsyonlarının nüfuz etmesi zor olmaktadır. Bu gibi deriler daha uzun ıslatma işlemi gerektirirler. Uzun süreli ıslatma periyodunda mikroorganizmaların sayısı oldukça artarak zarar görmüş deri materyaline neden olur (Dahl, 1956).

Islatma işleminin korunmuş deriler için üç fonksiyonu vardır:

- Bakteri gelişimini önlemek,
- Pıhtılaşmış fibriller arası proteinleri yaymak,
- Kollajen ipliklere yeniden suyun kazandırılmasına yardımcı olmak.

Genellikle klor, sodyum hipoklorit formunda antimikrobiyal madde olarak, çeşitli zayıf bazik tuz karışımları deride istenen sonuçlar için, ıslatma ajanları da çözeltilerin deriye nüfuz etmelerine yardım etmek ve ıslatma süresini kısaltmak için kullanılır (Dahl, 1956).

Tuzlu derilerin ıslatma işlemi kuru olanlara göre çok daha kolaydır. Çünkü tuzlanmış derilerde pıhtılaşabilir proteinlerin büyük bölümü zaten uzaklaştırılmıştır ve kollajen iplikler nispeten suyunu geri kazanabilir. Ek olarak, bu derileri ıslatmanın bir amacı da deride depolanan tuzun da uzaklaştırılmasıdır. Yeteri kadar tuzu uzaklaştırılmayan mamul derilerde tuz lekeleri meydana gelmektedir (Dahl, 1956).

II.3.4. Kireçlik

Kireçlikte, epidermis tabakasını, fibriler olmayan yapıları, kıl ve kıl köklerini deriden uzaklaştırmak, proteinlerinin şişmesini sağlayarak deri yapısını ve bileşenlerini açmak amaçlanır. Sonraki basamaklarda kullanılacak kimyasal maddelerin bağ yapabileceği aktif karboksil ve amino gruplarının ortaya çıkması sağlanır ve derideki lesitin, sefalin gibi erime noktası düşük olan yağları sabunlaştırarak deriden uzaklaştırılır. (<http://sites.google.com/site/deriteorisi/>).

Kıl giderme işlemi temel olarak iki şekilde yapılabilir. Bunlardan ilki kılların muhafaza edildiği “kıl gevşetme” dir. Kıl gevşetmede, kıl köklerinde kılı çevreleyen kıl kılıflarının parçalanması ile kılın gevşetilmesi ve gevşeyen kılların mekanik etki ile deriden uzaklaştırılmasıdır. Diğeri ise kıl keratininin yapısındaki disülfid köprülerine etki edilerek kılların hidrolitik parçalanmasıdır. Her iki metoda da benzeyen ve derinin etli yüzeyinden uygulanan kimyasal maddeler ile hem kıl kökleri hem de epidermis tabakasının eritildiği ve deriden ayrılan kıl ve yün tabakasının daha sonra mekanik olarak arındırıldığı bir diğer yöntem ise “badanalama” olarak adlandırılır (Toptaş, 1993).

II.3.5. Kireç Giderme

Kireçlik işlemi ile aktif uçların ortaya çıkarılması için şişirilen derilerin şişkinliği indirilir ve derilere belli bir yumuşaklık ve esneklik kazandırılır. Deri pH' ı kireç giderme sonrası yapılacak olan sama işlemi için uygun pH değerlerine getirilir. Deri bünyesinde lifsi yapıda bulunan ve ıslatmadan sama işlemine kadar yapılan işlem basamaklarında uzaklaştırılmamış olan eriyebilir proteinler enzimler yardımı ile uzaklaştırılır, kireçlik işleminde uzaklaştırılmamış kıl kökleri, epidermis ve pigmentlerde bakiyeleri uzaklaştırılır. (<http://dericilik.blogspot.com/2008/12/deri-teorisi-ve-deri-ileme-sanayisi.html>).

Kireç giderme işlemiyle, tolanın şişkinliği giderilerek kalan kireçli kimyasal maddeler deriden uzaklaştırılır (Toptaş, 1998).

II.3.6. Sama

Samada da kireç uzaklaştırma ve tola gelişimi devam etmektedir fakat samada meydana gelen tola gelişiminde epidermis kalıntıları ve kıl dipleri uzaklaştırılır, yağların bir kısmı parçalanır, çözünebilen proteinler uzaklaştırılır, kollajen lifler bölünerek karboksil ve amin grupları oluşturur. Liflerin oluşturduğu bu gruplardan dolayı deriye daha fazla boya ve sepi maddesi bağlanır (Toptaş, 2004).

II.3.7. Yağ Giderme

İşlenmemiş deride, hayvanın ırkına, yaşına, cinsine, yaşadığı koşullara bağlı olarak bulunan doğal yağlar, yağ giderme işlemi ile yeterli ölçüde deriden uzaklaştırılmazlarsa suyu itici özelliği olan yağlar işlenti basamaklarında kullanılan suyun ve kimyasalların derinin her yerine nüfuz etmesini engelleyerek mamul deride çok yönlü zarara neden olur. Bu nedenle çeşitli kimyasallarla derideki bu yağlar giderilir (<http://kazlicesme.blogspot.com>).

II.3.8. Piklaj

Sepi için ön hazırlık değeri taşıyan piklajda pH uygun asitlik seviyesine getirilerek sepi kimyasallarının hızlı ve etkili bağlanması sağlanmaya çalışılır. Piklajda pH'ın düşürülmesi için doğrudan asit verilirse deri aşırı su alarak şişer ve bu şişme kireçlikteki gibi zararsız olan ve kireç gidermede ortadan kalkan alkali şişme gibi değil, deride hasara ya da derinin kullanılamayacak hale gelmesine neden olacak derecededir. Bu nedenle asit uygun şekilde tuz uygulamasıyla ve yavaş verilmelidir (Toptaş, 2004).

II.3.9. Sepileme (Tabaklama)

Sepileme ya da tabaklama, deriyi dayanıklı hale getirmek için uygulanır. Tabaklamanın iyi olması derinin pikle pH'ının doğru ve homojen olarak ayarlanmasına bağlıdır aksi takdirde homojen olmayan pH, bölgesel tabaklama ve mukavemeti az mamul deriye neden olmaktadır (<http://dericilik.blogspot.com/2008/12/deri-teorisi-ve-deri-ileme-sanayisi.html>).

Sepide kullanılan maddeler şunlardır;

- Bitkisel sepi maddeleri,
- Sentetik sepi maddeleri,
- Mineral sepi maddeleri (krom, alüminyum),
- Yağ sepi maddeleri,
- Aldehit sepi maddeleri (formaldehit, glutardialdehit) (Toptaş, 2004).

II.3.10. Nötralizasyon

Nötralizasyon veya diğer bir deyişle asit giderme işlemi, genellikle bir önceki basamak olan sepileme, mineral sepi maddelerinden krom ile yapılmış ise katyon (+) yüklenmiş olan deri yüzeyi ve iç kısımlarında bu yükü azaltmayı hedefler. Bu işlem yapılmaz ya da yetersiz yapılırsa son sepi maddeleri, boya ve yağlamada kullanılan anyonik (-) karakterli kimyasallar deriye işleyemez, yüzeysel bağlanır ve neticesinde deri kalitesi ve fiziksel özellikleri bozulur (<http://kazlicesme.blogspot.com>).

Eğer son sepilemede krom, alüminyum, zirkonyum gibi katyonik yapılı maddeler kullanılacak ise önce bu maddeler uygulanır ve nötralizasyon işlemi daha sonra yapılır (Toptaş, 1993).

II.3.11. Son Sepileme

Yeni teknolojilerle krom sepilemenin kullanılması ile krom derinin son sepilenmesi de geliştirilmeye başlanmıştır. Bitkisel sepiden sonra, kuvvetli sepi yapılmış krom deri kullanılmasıyla büyük oranda yağlamaya müsait deriler ile deriye su geçirmezlik özelliği sağlanmış olur. Böylece iş ayakkabısı, asker botları, bazı spor ayakkabılar da böyle derilerle üretilmeye başlanır. Kuvvetli bitkisel sepilenmiş krom derilerde baskı ile basılan desen de iyi korunduğu için sırcası kusurlu derilerde kusuru kapatarak deriler değerlendirilmektedir (Toptaş, 1993).

II.3.12. Boyama

Boyama ile derilere istenilen renk verilir. Eğer var ise, sırça kusurları olan bölgeler daha açık, çok zedelenmiş sırça bölgeleri ise daha koyu renge boyanır. Giysilik derilerde, derinin homojen ve kesitinin tam olarak boyanmış olması önemlidir. Boyamanın tam ve doğru olması için de bu aşamaya kadar olan işlenti basamaklarının en iyi şekilde yapılmış olmasına bağlıdır. Islatma, kireçlik, tabaklama ve nötralizasyonun yetersiz yapılmış olması durumlarında boyama kötü ve yüzeysel olur (<http://dericilik.blogspot.com/2008/12/deri-teorisi-ve-deri-ileme-sanayisi.htm>).

II.3.13. Yağlama

Boyama işlemi ile arasında önemli bir ilişki bulunan yağlama, boyamadan önce ve sonra, aynı banyoda yapılmaktadır. Yağlama, son sepisi yapılmış derilerde, sırça ve et yüzeyinin boyanmasını dengelemektedir. Yağlama karışımında ne kadar nötral yağ olursa derinin rengi o kadar koyu olur, bu da bir boyama özelliği olarak kullanılmaktadır (<http://kazlicesme.blogspot.com>).

II.3.14. Kurutma

Kurutma, dericilikte boyama, yağlama gibi yaş işlemlerin sonunda ve finisajda uygulanır. Yaş işlemlerden sonra uygulanan kurutmadan önce derilere sıkma ve açkı uygulanır. Sıkma; hidrolik bir takım makineler vasıtasıyla deriden fiziksel olarak bağlı bulunan suyun uzaklaştırılmasıdır. Açkı ise; derinin ait olduğu hayvanın vücut yapısına göre aldığı şekli düzleştirmeyi ve düzgün bir deri yüzeyi elde edilmesini sağlar, ayrıca derinin lif yapısı sıkılaştırılmış olur. Kurutmada ise sıkma ile geriye kalan suyun deride % 14-18 oranında nem kalacak şekilde uzaklaştırılmasıdır. Esas olarak derideki suyun buharlaşarak hava tarafından alınmasına dayanır. Asma ile kurutma, germe ile kurutma, yapıştırma ile kurutma, vakum ile kurutma gibi farklı tiplerde uygulanabilmektedir (Toptaş, 1993).

II.3.15. Finisaj

Kuruyan deri; rutubetlendirme, iskefe, germe ve zımparalama gibi muameleler görek finisaja hazır duruma getirilir. Finisaj'ın görevleri;

- Derinin dış etkilere karşı korunması,
- Farklı parlaklık derecelerinde düzgün bir yüzey görünümü,
- Moda özelliklerinin deri yüzeyinde sağlanması,

-Derinin kullanım alanını çoğaltmak ve kullanım değerini yükseltmektir
(<http://kazlicesme.blogspot.com>).

Finisaj tabakası, üst üste birçok sayıda ince tabakadan oluşur. Deriye ilk uygulanan tabakanın kesite yeterince işleyerek sıkıca tutunması sağlanarak, sonra uygulanacak katlar gittikçe daha sertleşmelidir. Uygulanacak olan en son kat ise ciladır. Ütüleme işlemi ile de finisaj katlarının sıkıştırılıp düzgün bir yüzey elde edilmesi sağlanır. Ütülemede düz veya desenli plaka kullanılabilir. Finisaj işlemi deriden üretilecek mamul eşyanın özelliklerine göre yapılır. Finisaj tabakasının renklendirilmesinde pigment ya da anilin boya kullanılır. Pigment boya örtücü bir özellik gösterirken, anilin boyada finisaj katı şeffaf kalır. Cila katında anilin boya kullanılmasında mamul eşyanın kullanımı sırasında boya çıkmasına neden olur, bu sebeple cila katında anilin boya kullanılmamalıdır (Toptaş, 2004).

II.4. STAPHYLOCOCCUS, BACILLUS, ENTEROBACTER, PSEUDOMONAS CİNSLERİ HAKKINDA GENEL BİLGİ

II.4.1. Staphylococcus

Staphylococcus cinsi 0.5-1 µm çapında gram pozitif koklar halinde genellikle düzensiz, üzüm salkımı şeklinde yapılar halinde görülür. Bu mikroorganizmalar hareketsiz olup spor oluşturmazlar. Bu cinsin üyeleri, fakültatif anaerobiktir. Kolonileri agarda yuvarlak, konveks ve mukoiddir. *Staphylococcus*'lar kemoorganotrofturlar, zengin besiyerlerinde gelişirler. Solunum ve fermentasyon metabolizmaları vardır, karbonhidrattan asit üretirler ancak gaz oluşturmazlar. %5 NaCl içeren Nutrient Agar besiyerinde gelişebilirler ve genellikle katalaz pozitiflerdir. Oksidaz pozitif olanları sitokromlar bulundurur ve Voges Proskauer testleri pozitifdir. Birçok türü nitritten nitrat üretirler. 37 °C'de en uygun gelişim gösterirler. *Staphylococcus*'lar deride, insan ağızında ve üst solunum yollarında bulunabilirler ve insanda patojen olabilirler (Harley ve Prescott, 2002).

Staphylococcus cinsi içinde pek çok tür ve alttür bulunmaktadır. İnsan sağlığını etkileyen türlerden en sık rastlanan türleri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus*'tur. Daha ender rastlanan *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus capitis* ve *Staphylococcus saccharolyticus*'tur. Bu türler koagülaz negatif olup

fırsatçı patojendirler ve biyofilm oluşturma yetenekleri ile yabancı maddelere bağlı vücut enfeksiyonlarına neden olurlar. Genellikle antibiyotiklere karşı dirençlidirler (Kayser, 2005).

a. *Staphylococcus warneri*

0.5-1.2 µm çapında küresel hücrelerin tek tek, çiftler halinde ya da dördü bir araya gelmelerinden oluşmuştur. Hücre duvarları, teikoik asit, gliserol, glukoz ve N-asetilglukozaminden oluşmuştur. Kolonileri düz, genellikle ortası yüksek, rengi opak, yüzeyi parlaktır. Tek koloniler selektif olmayan katı besiyerinde 3-6 mm çapında koloniler oluşturabilirler. Koloniler yaşlandıkça yağlı ve yapışkanimsi olurlar. Koloni pigmentleri çeşitlilik göstermesine rağmen bir çok izolat sarımsı gri, sarı veya portakalimsı sarı renklerde pigment üretir. Bazı insan izolatlarında ise koloni kenarları sarı veya portakalimsı olup içi gri veya beyaz renkte olabilir. Genellikle NaCl konsantrasyonu %10 olan ortamlarda iyi gelişirler. Bir çok izolat 15-45 °C arasında gelişmesine rağmen, optimum olarak 30-40 °C'de gelişir. Koagülaz üretmezler, hemolizin nadiren üretilse de genellikle aktivitesi zayıftır (Brenner, 2005).

b. *Staphylococcus xylosus*

Staphylococcus xylosus, 0.8-1.2 µm çapında olan, küresel hücrelerin tek tek, çiftler halinde veya dördü gruplar olarak bir araya gelmesinden oluşur. Hücre duvarında teikoik asit asiti gliserol ve ribitol maddeleri bulunur. N-asetilglukozamine, ribitol genellikle β bağlarıyla bağlanırken, gliserol α bağlarıyla bağlanır. Koloni morfolojisi çeşitlilik gösterir ve diğer türlere benzemeyen bazı formları vardır. Katı besiyerinde kolonileri kabarık, hafif konveks, halkasal, yüzeyleri parlak, genellikle opaktır. Koloni kenarları tam, dalgalı ya da tırtıklı olabilir. Seçici olmayan besiyerinde tek kolonileri 4-10 mm çapında koloniler oluşturabilir. NaCl konsantrasyonları %10'dan fazla olan ortamlarda iyi gelişebilirler. Bütün suşları 10-40°C'de (optimum olarak ise 25-35 °C'de) gelişirler. *Staphylococcus xylosus* nadiren de olsa insan ya da hayvan enfeksiyonlarıyla ilişkili bulunmuştur. Bu mikroorganizmalar insan ve diğer memelilerin derilerinde yaygın olarak bulunurlar. Ayrıca bu canlıların ürünlerinden, atıklarından, toprak, plaj kumu, doğal sular gibi bazı çevresel kaynaklardan da izole edilmişlerdir (Brenner, 2005).

c. *Staphylococcus lugdunensis*

Staphylococcus lugdunensis ilk olarak 1988'de tanımlanmıştır ve çoğunlukla cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ajanı olarak izole edilmiştir. Bu patojen, beyin apsesi, sepsis, kronik osteomyelit ve enfeksiyonlara bağlı endokardit gibi önemli enfeksiyonların sebebi olarak bildirilmiştir. *Staphylococcus lugdunensis*, koagülaz negatiftir. Bu tür, normal insan deri florasının bir parçasıdır fakat cilt altı enfeksiyonları ile vasküler enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Ling ve Yeo, 2000).

II.4.2. *Bacillus*

Gram pozitif, endospor üreten bakteriler içinde *Bacillus* önemli bir gruptur. *Bacillus* cinsi, aerobik, bazen fakültatif anaerobiktir ve katalaz pozitifdir. *Bacillus* türleri laboratuvar kontaminantlarında ve toprakta yaygın olarak bulunurlar (Harley ve Prescott, 2002).

Endosporlar veya sporlar olumsuz çevre koşullarına karşı yüksek dirençlidirler. Sporlarda yüksek miktarda kalsiyum iyonları (Ca⁺⁺) ve dipikolinik asit bulundurmaları da dirençlerine katkı sağlar (Gerard, 2005).

Bacillus cinsinin türleri endospor şekillerine (oval, küresel), sporun hücredeki pozisyonuna (merkezi, uçta) ve türlerin şekeri fermente kabiliyetlerine göre sınıflandırılırlar. Bu cinse ait bir çok tür hareketlidir. Bazıları kapsül oluştururlar ve bazıları ise termofiliktir (Harley ve Prescott, 2002)

a. *Bacillus mycoides*

Bacillus cereus'a benzerlik gösterir fakat hareketsizdir ve agar yüzeyinde saçaklı koloniler oluşturur. Saçaklı koloni oluşturma yeteneği kaybedilebilir. DNA hibridizasyonu şu ana kadar birkaç suş için çalışılmıştır ve bu türün genetik homojenitesi hakkında fazla bilgi bulunmaz (Brenner, 2005).

II.4.3. *Enterobacter*

Fırsatçı bir patojen olan Gram negatif *Enterobacter*, hareketli bir koliform bakteridir. Laktozu fermente eden bu bakteri, insan ve hayvanların sindirim kanalında, toprakta, suda, bozulmakta olan bitkilerde ve kanalizasyon sızılarında bulunabilir. *Enterobacter* süt ürünlerinde de kontaminasyona neden olabilir. Bu mikroorganizma ayrıca, bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde idrar yolu ve kan enfeksiyonlarına neden olarak yaralarda ve ameliyat bölgelerinde üreyerek ciddi sorunlar oluşturabilirler. *Enterobacter* genellikle çoğu antimikrobiyal ilaçlara dirençlidir (Bauman, 2011).

a. *Enterobacter sakazakii*

Enterobacter sakazakii, genellikle üreaz negatif ve jelatinaz pozitifdir. D sorbitol'ü ve mukat'ı fermente etmez. Sarı pigment üretiyor oluşu identifikasyonunda önemlidir, bu sarı pigment en iyi olarak 25 °C'de oluşturulur (Brenner, 2005).

II.4.4. *Pseudomonas*

Gram negatif, aerob çomak şekilli *Pseudomonas*'lar doğada çok yaygın olarak bulunurlar. Çok az miktarda besin maddesi içeren nemli ortamlarda üreyebilirler (Anđ-Küçüker, 1997).

İnsan sağlığı açısından en önemli tür *Pseudomonas aureginosa*'dır. Bu tür, 2-4 µm uzunluğunda iri, bir veya birden fazla polar konumlu kamçıya sahip Gram negatif çomak şekilli bir bakteridir. Bazı izolatlarda glikokaliks bulunur. Bu mukoid izolatlar sıklıkla kistik fibrözlü kişilerden izole edilirler. Hücre duvarının dışında bulunan dış membran sayesinde bir çok antibiyotiğe karşı dirençlidirler (Anđ-Küçüker, 1997).

Pseudomonas hastalıklarına, bağışıklık sistemi sağlıklı olan kişilerde oldukça nadir rastlanırken, bu hastalıkların ortaya çıkmasında ön koşul savunma sistemlerinde bozukluklar olmasıdır (Anđ-Küçüker, 1997).

a. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa 0.5-0.7 µm çapında ve 1.5-3.0 µm uzunluğundadır. Tek kamçılıdır. Oksidaz pozitifdir. Nişasta hidrolizi yapmazlar. Katı besiyerinde iki tipte kolonisi gözlemlenebilir. Biri geniş, kenarları düz, ortası tümsek ve sahanda yumurta görünümünde olan tiptir diğeri ise küçük, pürüzlü yüzeye sahip ve konvektir. Küçük koloniler genellikle doğal kaynaklarda daha çok bulunmasına rağmen geniş kolonili olanlara klinik materyallerde rastlanır. Bu türün optimum yaşam sıcaklığı 37 °C'dir. Toprak ve sudan izole edilebilen bu tür, genellikle yara, yanık, üriner sistem enfeksiyonları gibi klinik örneklerden de izole edilmiştir. Bitkiler için de patojenik olabilirler (Brenner, 2005).

II.5. ISLATMA SIVILARINDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLER VE ANTİMİKROBİYALLER İLE İLGİLİ DAHA ÖNCE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Derilerde bulunan mikroorganizmalar tarafından üretilen proteolitik, lipolitik ve keratinolitik enzimler ile derilerde kötü koku oluşumu, önemli ölçüde sırça zararı, pürüzlü sırça tabakası, sırça soyulması, sırça tabakasında boşluklar, kıl gevşemesi, kıl kaybı ve derilerde delikler görülebilir (Vivian, 1969; Hendry ve ark., 1970; Tancous, 1971; Venkatesan ve ark., 1977; Haines, 1984; Bailey ve Birbir, 1993; Bailey ve Birbir, 1996; Birbir ve Bailey, 2000; Rangarajan ve ark., 2003).

Pek çok mikroorganizmanın kollajen dokusunu parçalayan ve bitmiş deri kalitesini olumsuz yönde etkileyen kollajenaz (Woods ve ark., 1970) gibi proteolitik enzimleri (McLaughlin ve Rockwell, 1922) ürettikleri bilinmektedir.

Araştırmacılar derilerden *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas punctata caviae*, *Acinetobacter imoffii*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter radioresistans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Arthrobacter protophormiae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pumilis*, *Brevibacterium lutescens*, *Citrobacter ferundii*, *Corynebacterium pyogenes*, *Dietzia maris*, *Delftia acidovorans*, *Enterococcus durans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Janibacter terrae*, *Jeotgalicoccus psychrophilus*, *Klebsiella pneumonia*, *Kurthia gibsonii*, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus morrhuae*, *Pantoea agglomerans*, *Photobacterium luminescens*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cannabina*, *Pseudomonas fulgida*, *Pseudomonas putida*, *Shewanella putrefaciens*, *Shigella boydii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus hominis* gibi bakteri türlerini ve *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Bergeyella*, *Brevibacterium*, *Comamonas*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycoplana*, *Myroides*, *Nocardiopsis*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Sarcina*, *Shewanella*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Weeksella* gibi cinsleri izole ettiklerini belirtmişlerdir (Leslie, 1923; Kritzingler ve Van Zyl, 1945; Anderson, 1949; Tancous, 1961; Roddy, 1963; Dempsey, 1969; Woods ve ark., 1970; Woods ve Atkinson, 1970; Venkatesan ve ark., 1970; Champion ve ark., 1970; Nandy ve Venkatesan, 1974; Rawlings ve Cooper, 1975; Kuroczkin ve Strzelczyk, 1989; Birbir, 1991; Hanlin ve ark., 1995; Boyd ve arkadaşları, 2003; Lunam ve Weir, 2006; Polkade, 2007).

Mikroorganizmaların kontrolünde antimikrobiyal maddeler sıklıkla kullanılmaktadır. Antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaları öldüren kimyasallar olup cansız objelerde ve yüzeylerde de kullanılabilirler. Enfeksiyonların kontrolünde oldukça önemli olan etanol ve katyonik deterjanlar, hastanelerde yerleri, masaları ve laboratuvar çalışma tezgahlarını dezenfekte etmek amacı ile kullanılmaktadır. Dezenfektanlar, kağıt, deri, plastik, tekstil, kereste, metal, petrol, havalandırma, elektrik kaynakları ve nükleer gibi pek çok çeşitli endüstrilerde de yaygınca kullanılmaktadır. Metilzotiyazolinon, katyonik deterjanlar, fenol içeren maddeler, klor ve klorlu maddeler bu endüstrilerde kullanılan sıklıkla kullanılan antimikrobiyallerdir (Madigan ve ark, 2009).

Deri endüstrisindeki bakterilerin gelişiminin engellemesi amacı ile çeşitli antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır. Kuarterner amonyum bileşikleri, izotiazol, halojen hale getirilmiş organik bileşikler (Bronopol (2-bromo-2-nitro-propan-1.3-diol), tiokarbamatlar ve benzotiazolün sülfür içeren heterosiklik benzeri türevleri (TCMTB) gibi diğer bileşikler) ve glutaraldehit deri endüstrisinde kullanılan biyositlerdir (www.uneptie.org/outreach/wssd/docs/further_resources/related_initiative.pdf).

Geçmişte kullanılan bakterisitlerin çoğunun civa bileşikleri veya klorlu fenoller olduğu açıklanmıştır. Bakteriler üzerine oldukça etkili olan bu antimikrobiyaller, çevreye zararlı oldukları için artık kullanılmamaktadır (Bailey, 2003).

İslatma sıvılarındaki bakteriyel populasyonun kontrolü için kullanılan antibakteriyel maddelerin etkileri mikroorganizma çeşidine göre değişmektedir ve bu kimyasallara karşı her bakteri türünün direnci ya da toleransı farklıdır. Bir antibakteriyel maddenin uzun süreli kullanılması ve yeterli dozda kullanılmaması ile bazı izolatlar bu antibakteriyel maddelere karşı dirençli geliştirmektedirler. Bunun sonucu olarak da antibakteriyel maddelerin varlığında bile bakteriyel gelişme görülebilmektedir (Vivian, 1969; Birbir ve ark., 2001; Weiss ve ark., 1984; Uğur, 2006). Antibakteriyel maddelere karşı direnç mekanizmasında mutasyon, plazmid veya transpozon önemli rol oynamaktadır (Russell, 2001; Uğur, 2006; Birbir ve ark., 2008; Madigan ve ark, 2009).

Farklı antibakteriyel maddelere karşı dirençli olan bakteriler bu karakteristik özelliklerini, aynı çevrede yaşayan diğer türlere horizontal gen transferi (transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyon) ile geçirebilmektedirler (Birbir ve ark., 2008; Russell, 2001; Madigan ve ark, 2009). Ayrıca araştırmacılar, antibakteriyelin uygulandığı ortamda farklı bakteri popülasyon varlığının dezenfeksiyonda önemli problemlere yol açtığını belirtmişlerdir. Farklı mikrobiyal popülasyona sahip ortamlarda her mikroorganizma çeşidi, kullanılan antibakteriyeye karşı farklı reaksiyon gösterebilir. Bazı türler yok olur, bazıları

değişir veya bazılarının gelişimleri engellenir ve bazı mikroorganizmalar ise bu antibakteriyelden etkilenmezler (Cremieux ve ark., 2001; Birbir ve ark., 2008). Bu durumda, başlangıçta az sayıda olan bir mikroorganizma türü üreyerek ortamda baskın hale geçebilir ve bunun sonucunda da öncekinden daha tehlikeli yeni bir bakteri topluluğu ortaya çıkabilir (Cremieux ve ark., 2001; Birbir ve ark., 2008).

Yine deri üretiminde kullanılan diğer bir bakterisit bronopoldür. Bronopolün aktif içeriği 2-bromo-2-nitropropan-1,3-dioldür (Muthusubramanian ve Mitra, 2006).

BÖLÜM III

YAPILAN ÇALIŞMALAR

III.1. ARAŞTIRMA ARAÇLARI

III.1.1. Kullanılan Besiyerleri

Nutrient Agar, Nutrient Broth, Müeller Hinton Agar, Müeller Hinton Broth, Jelatin Agar Besiyeri (Chapman Stone Jelatin Agar), Tween 80 Agar.

III.1.1.1. Nutrient Agar

Pepton (Et)	5 g
Et Özütü	3 g
Agar	12 g
Distile su	1000 mL
pH	7.0

Otoklav ile 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir (Bilgehan, 2004).

III.1.1.2. Nutrient Broth

Et Özütü	10 g
Pepton	10 g
Sodyum Klorür	5 g
Distile Su	1000 mL
pH	7.0

Besiyeri hazırlandıktan sonra tüplere belirli hacimlerde konularak otoklavda 121 °C’de 15 dakika steril edilmiştir (Bilgehan, 2004).

III.1.1.3. Mueller Hinton Agar

Et Özütü	2.0 g
Kazein Hidrolizat	17.5 g
Nişasta	1.5 g
Agar	17.0 g
Distile su	1000 mL
pH	7.0

Otoklavda 121°C’ de 15 dakika steril edilmiştir (Bilgehan, 2004).

III.1.1.4. Mueller Hinton Broth

Et Özütü	2.0 g
Kazein Hidrolizat	17.5 g
Nişasta	1.5 g
Distile su	1000 mL
pH	7.0

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir (Bilgehan, 2004).

III.1.1.5. Jelatin Agar Besiyeri (Chapman Stone Jelatin Agar)

Tripton	10 g
Maya özütü	2.5 g
D-mannit	10 g
K ₂ HPO ₄	5 g
Jelatin	30 g
Amonyum sülfat	75 g
Sodyum hidroksit (% 10)	6 cc
Sodyum klorid	5 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL
pH	7.0

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir (Beşe, 1974).

III.1.1.7. Tween 80 Agar

Pepton	10 g
Sodyum Klorür	5 g
Potasyum Klorür	0.1 g
Tween	10 g
Agar	15 g
Distile Su	1000 mL
pH	7.0

Otoklavda 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir (Beşe, 1974).

III.1.2. Kullanılan Çözeltiler

III.1.2.1. % 0.85 Steril Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi

NaCl	85 g
Distile su	1000 ml

III.1.2.2. 0.5 No'lu McFarland bulanıklık

0.18 M H ₂ SO ₄ (sülfürik asit)	9.95 mL
0.048 M BaCl ₂ (baryum klorür)	0.05 mL

(Bilgehan, 2004).

III.1.2.3. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet Çözeltisi

Potasyum dimetil-ditiyokarbamet	% 50
Diğer	% 50
25°C'deki yoğunluk	1.23 g/mL
pH (% 10)	10.0–13.0

III.1.2.4. % 0.5'lik Sodyum Tiyosülfat Çözeltisi

Sodyum Tiyosülfat	0.5 g
Steril Distile Su	100 mL

Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.3. Kullanılan Araçlar

Whatman No.1 filtre kağıdı, vorteks tüp karıştırıcı (Fisons Whirlimixer), hassas terazi (Sartorius Analytic), otoklav (HMC, HIRAYAMA), Pasteur fırını (Kermanlar), distile su cihazı (GFL), buzdolabı (Arçelik), otomatik pipetler (Volac Digital Micropipeter/England), etüv (Nüve EN500), pH metre (Sartorius Professional Meter PT-10 P, Goettingen, Germany), UV steril kabin (Tezsan Class II tip).

III.2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Çalışmamız aşağıda belirtilen aşamalardan oluşmuştur;

1. Daha Önceki Bir Çalışmada Islatma Sıvısından İzole Edilerek API Test Kiti ile Tanımlanmış Olan İzolatların Antimikrobiyal Test için Hazırlanması,
2. Test İzolatlarının Proteolitik ve Lipolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi,
3. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Test İzolatları Üzerine Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerinin Belirlenmesi,
4. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Test İzolatlarının Karışık Kültürü Üzerine Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerinin Farklı Temas Sürelerinde Belirlenmesi,
5. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatlarında Antibakteriyel Etkinliğinin Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi ile Test Edilmesi.

III.2.1. Daha Önceki Bir Çalışmada Islatma Sıvısından İzole Edilerek API Test Kiti ile Tanımlanmış Olan İzolatların Antimikrobiyal Test İçin Hazırlanması

Berber ve arkadaşları (2010)'nın yaptıkları çalışmada, antimikrobiyal olarak Didesildimetilamonyum Klorid kullanılan bir deri fabrikasında antimikrobiyal kullanım konsantrasyonunu ana ıslatma sıvısında iki katına (0.8 g/L) çıkararak kullanmışlardır. Daha sonra antimikrobiyal uygulanan ana ıslatma sıvısından izole edilen bakteriler API test kiti ile tanımlanmıştır. Bu çalışmasında Berber ve arkadaşları (2010)'nın tanımladığı izolatlardan 6 tanesi seçilerek kullanılmıştır. Stoklanan izolatlar, oda sıcaklığında çözündürülerek Nutrient Broth besiyerine ekilerek 35°C'de 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra Nutrient Agar'a plağa çizim yöntemiyle ekilip 35°C'de 24 saat bekletilerek saf koloniler üretilmiştir. Bu saf kolonilerden öze ile alınarak MHB besiyerinde üretilip Fizyolojik tuzlu su içerisinde McFarland 0.5 bulanıklık tüpüne göre (10^8 kob/mL) ayarlanmıştır (Bilgehan, 2004).

III.2.2. Test İzolatlarının Proteolitik ve Lipolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi

III.2.2.1. Proteaz Aktivitesi

MHA besi yerinde üreyen saf kolonilerden steril öze ile alınıp Chapman Stone Jelatin Agar yüzeyine plağa çizim yöntemi ile ekim yapılmıştır. 35 °C'de 48 saat etüvde bekletildikten sonra besiyerinde gelişen kolonilerin çevresindeki şeffaf zonlar pozitif proteolitik aktivite olarak değerlendirilmiştir (Beşe, 1974).

III.2.2.2. Lipaz Aktivitesi

MHA besiyerinde üretilen saf kolonilerden steril öze ile alınıp Tween 80 Agar besiyerine plağa çizim yöntemi ile ekim yapılmıştır ve 35°C’de 48 saat etüvde bekletilmiştir. Besiyerinde gelişen kolonilerin çevrelerinde oluşturdukları opak zonlar pozitif lipolitik aktivite olarak değerlendirilmiştir (Beşe, 1974).

III.2.3. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet’in Test İzolatları Üzerine Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Potasyum dimetil-ditiyokarbamet içeren antimikrobiyal Buckman Laboratuvarları (Belçika) tarafından geliştirilmiştir. CAS (Chemical Abstract Service) numarası 128-03-0 ve yoğunluğu 1.23 g/mL olan bu ürünün aktif içeriği % 50 (w/v) olarak verilmiştir. Çalışmalarımızda bütün deneylerimiz aktif içerik üzerinden yapılmıştır.

Potasyum dimetil-ditiyokarbamet’in önerilen kullanım konsantrasyonu 350-700 ppm’dir. Bu tezde, bu konsantrasyonların alt ve üst katlarını alarak aktif içerik üzerinden kullanım konsantrasyonları hesaplanmıştır.

Çalışmamızda potasyum dimetil-ditiyokarbamet içeren antimikrobiyalin 18, 36, 71, 142, 285, 569, 1138, 2276, 4553 ve 9106 ve 18211 mg/L’lik konsantrasyonları ayrı ayrı MHB besiyerinde hazırlanarak kullanılmıştır. Test izolatları fizyolojik tuzlu su içerisinde McFarland 0.5 bulanıklığına göre ayarlanmıştır (10^8 kob/mL). Bakteri süspansiyonlarından tüm tüplere 0.5’er mL eklenerek, 35 °C’de etüvde 24 saat üremeye bırakılmıştır. Tüplerde üremenin olup olmadığı bulanıklığa bakılarak incelenmiştir. Serinin başındaki tüplerde antimikrobiyal madde daha yoğun olduğundan üremeye rastlanamamıştır. Üremenin önlendiği son tüp test antimikrobiyalinin test edilen mikroorganizma üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004; Harley ve Prescott, 2004). Daha sonra bu tüplerden 0.1 mL alınarak içinde antimikrobiyali nötralize eden %0.5 sodyum tiyosülfat bulunduran 9.9 mL hacmindeki MHB içeren tüplere ilave edilmiştir. Nötralizasyon işleminden sonra bu tüplerden 0.1 mL alınarak hem direkt olarak hem de seri dilüsyonlar yapılarak (10^2 , 10^4 , 10^5 , 10^6) MHA besiyerine plağa yayma yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri 35 °C’de etüvde 24 saat üremeye bırakılmıştır ve bu süre sonunda besiyerinde üreyen koloniler sayılarak dilüsyon faktörleri ile çarpılmış ve 1mL’deki bakteri sayısı hesaplanmıştır (Bilgehan, 2004; Harley ve Prescott, 2004). Ayrıca, potasyum dimetil-ditiyokarbamet’in farklı konsantrasyonlarının test izolatlarının sayısındaki azalmayı tespit

edebilmek için aşağıdaki formül ile İF değerleri hesaplanmıştır (Birbir ve Birbir, 2006; Park ve ark., 2003).

$$\text{İF} = \log_{10}bs_0 - \log_{10}bs_s$$

bs_0 = Antimikrobiyal ilave edilmeden önce test ortamındaki toplam bakteri sayısı,

bs_s = Antimikrobiyal ilave edildikten sonra test ortamındaki toplam bakteri sayısı.

II.2.4. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Test İzolatlarının Karışık Kültürü Üzerine Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerinin Farklı Temas Sürelerinde Belirlenmesi

Çalışmamızda potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 142, 285, 569, 1138, 2276, 4553 ve 9106 ve 18211 mg/L'lik konsantrasyonları ayrı ayrı MHB besiyerinde hazırlanarak kullanılmıştır. Test izolatları, fizyolojik tuzlu su içerisinde McFarland 0.5 bulanıklığına göre ayarlanmıştır (10^8 kob/mL) ve her birinden eşit miktarlarda alınarak 10 mL'lik karışık kültür hazırlanmıştır. Her bir tüpe hazırlanmış olan karışık kültürden 1 mL ilave edilerek etüvde 35 °C'de 1, 2, 4, 6 ve 8 saatlik sürelerde bekletilmiştir. Her temas süresinin sonunda tüplerde üremenin olup olmadığı bulanıklığa bakılarak incelenmiştir. Ayrıca, her temas süresinin sonunda etüvde bekletilen tüplerden 0.1 mL hacminde bakteri süspansiyonları alınarak % 0.5'lik sodyum tiyosülfat ile nötralize edilmiştir. Nötralizasyon işleminden sonra bu tüplerden 0.1 mL alınarak hem direkt olarak hem de seri seyreltmeler yapılarak (10^2 , 10^4 , 10^5 , 10^6) MHA besiyerine plağa yayma yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri 35 °C'de etüvde 24 saat üremeye bırakılmıştır ve bu süre sonunda besiyerinde üreyen koloniler sayılarak dilüsyon faktörleri ile çarpılmış ve 1mL'deki bakteri sayısı hesaplanmıştır (Bilgehan, 2004; Harley ve Prescott, 2004). Ayrıca, potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in farklı konsantrasyonlarının farklı temas süreleri sonunda (1, 2, 4, 6 ve 8 saat) test izolatlarının karışık kültüründe bulunan bakteri sayısındaki azalmayı tespit edebilmek için aşağıdaki formül ile İF değerleri hesaplanmıştır (Birbir ve Birbir, 2006; Park ve ark., 2003).

$$\text{İF} = \log_{10}bs_0 - \log_{10}bs_s$$

bs_0 = Antimikrobiyal ilave edilmeden önce test ortamındaki toplam bakteri sayısı,

bs_s = Antimikrobiyal ilave edildikten sonra test ortamındaki toplam bakteri sayısı.

III.2.5. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatlarında Antibakteriyel Etkinliğinin Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi ile Test Edilmesi

Antimikrobiyal diskleri, antimikrobiyale ve mikroorganizmaların üremesine olumsuz etkisi olmayan Whatman No:1 süzgeç kağıdı kullanılarak hazırlanmıştır. Kağıt delme zımbası ile 6 mm çaplı diskler kesilerek her bir diskte belirli miktarlarda antimikrobiyalin bulunmasını sağlamak amacıyla disklerin ne kadar su çektiği ve çektiği su miktarında ne kadar antimikrobiyal bulunacağı hesaplanmıştır. Bunun için bir petri kutusuna konulup Pasteur fırınında 2 saat bekletilerek nemi iyice uzaklaştırıldıktan sonra pipet yardımı ile 100 adet diske su emdirilip bu emilen suyun miktarını 100'e bölerek her bir diskin emdiği ortalama su miktarı ortalama 7µL olarak bulunmuştur (Bilgehan, 2004). 150 mm çaplı steril cam petrilere 50'şer mL MHA dökülmüş, McFarland 0.5'e göre ayarlanmış 100'er µL bakteri süspansiyonu plağa yayma yöntemi ile ekilmiştir. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in 64, 78, 255, 510, 1020, 2034 ve 3500 µg konsantrasyonlarını içeren diskler yukarıda açıklanan metoda göre hazırlanmıştır. Daha sonra bu diskler, besiyeri üzerine yerleştirilerek besiyerleri 35°C etüvde 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür.

BÖLÜM IV

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda, derilerde bulunan protein ve yağları parçalayarak kalitesiz mamul deri oluşumuna neden olan izolatların, antimikrobiyal maddelerle kontrol altına alınması amaçlandığından test izolatlarının proteaz ve lipaz aktiviteleri araştırılmıştır (Tablo IV.1). Hem proteaz hem de lipaz aktivitesi gösteren 4 izolat, sadece proteaz aktivitesi gösteren 1 izolat ve sadece lipaz aktivitesi gösteren 1 izolat kullanılmıştır.

Tablo IV.1. Kullanılan Test İzolatlarının Proteolitik ve Lipolitik Aktiviteleri

İzolat Türü	Proteaz Aktivitesi	Lipaz Aktivitesi
<i>Staphylococcus lugduensis</i>	+	+
<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+
<i>Pseudomonas aureginosa</i>	+	+
<i>Enterobacter sakazakii</i>	+	-
<i>Staphylococcus xylosus</i>	-	+
<i>Bacillus mycoides</i>	+	+

Çalışmamızda ıslatma sıvısından daha önceki çalışmalarda izole edilen pozitif proteolitik ve lipolitik aktivite gösteren *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri*, *Pseudomonas aureginosa*, *Bacillus mycoides* ile sadece pozitif proteolitik aktivite gösteren *Enterobacter sakazakii* ve sadece lipolitik aktivite gösteren *Staphylococcus xylosus* izolatları kullanılmıştır.

Bilgi ve arkadaşları (2009), ana ıslatma sıvısında bulunan bakterisitler üzerine, % 0.4 oranında kuaterner bileşik içeren ticari bakterisitinin etkisini farklı tuz konsantrasyonlarında araştırmıştır. Araştırmacılar bakterisit içeren ana ıslatma sıvısında proteolitik ve lipolitik bakteri sayısını 10^4 kob/mL olarak bulmuşlardır.

Orlita (2004), ana ıslatma sıvısından *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus anthracoides*, *Bacillus pumilis* ve *Pseudomonas aureginosa* bakterilerini izole etmiştir.

Berber ve arkadaşları (2010), 0.8 g/L oranında didesil dimetil amonyum klorid içeren ana ıslatma sıvısından *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter amnigenus* biogrup I, *Enterobacter cloaceae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas aureginosa*, *Pseudomonas putida*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus faecium*,

Lactococcus lactis spp. *lactis*, *Aerococcus viridans*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Kocuria varians*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus cohnii* spp. *urealyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii*, *Staphylococcus warneri* ve *Micrococcus* spp. bakterilerini izole etmişlerdir.

Birbir ve Ilgaz (1996), 25 ıslatılmış deri örneğinden *Bacillus fluorescens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthrocoides*, *Bacillus fuscus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus liquidus*, *Bacillus gasoformans*, *Bacillus butyricus*, *Bacillus pumilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aureginosa*, *Achromobacter iophagus* ve *Alcaligenes marshalii* bakterilerini izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Birbir ve Bailey (1996), Amerika ve Kanada kökenli salamura derilerden izole ettikleri aşırı halofilik bakterilerin gelişmesini önlemek amacıyla deri sanayinde kullanılan 6 adet bakterisit çalışmaları kullanmışlardır. Test mikroorganizmaları üzerine bakterisitlerin tavsiye edilen konsantrasyonlarını ve bu dozun 2 ve 4 katı oranını kullanılmışlardır. Etken maddesi naftalen ve 1-2 diklorobenzen olan bakterisit A, trikloro-S-triazintron ve sodyum sülfat olan bakterisit B, sodyum bisülfid ve asetik asit olan bakterisit C, alkil fenol etoksilat ve potasyum dimetil ditrokarbonat olan bakterisit D, 2 (tiyosiyanometil-tiyo) benzotiyazol ve metilen bis (tiyosiyanat) olan bakterisit E ile sodyum-orto-fenilfenat ve orto-benzil-para-klorofenololan bakterisit F kullanılarak, pozitif jelatinaz aktivite gösteren izolatlar üzerinde yapılan çalışmada A, B ve E bakterisitlerinin salamura derilerde aşırı halofil bakterilerin gelişimlerini test edilen konsantrasyonlarda önlemelerine rağmen C, D ve F bakterisitlerinin ise önleyemediğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in test izolatları üzerindeki minimal inhibitör ve minimal bakterisidal aktiviteleri araştırılmıştır. Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 18 mg/L'lik konsantrasyonu, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus lugdunensis* ve *Bacillus mycoides* izolatları üzerinde > 4 log'luk azalmaya sebep olmuştur. 36 mg/L'lik konsantrasyonu ise bakteri sayısında en fazla indirgenmeye (> 5 log) *Bacillus mycoides*'te neden olmuştur. Bu konsantrasyonda *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus*, *Staphylococcus lugdunensis* ve *Enterobacter sakazaki*'de > 4 log'luk indirgenme görülmüştür. Bu aktif maddenin 71 mg/L'lik konsantrasyonu *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Enterobacter sakazaki*'de > 4 log'luk azalmaya neden olurken *Staphylococcus warneri* ve *Bacillus mycoides*'de > 5 log'luk azalmaya neden olmuştur. Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 142 ve 285 mg/L'lik konsantrasyonları, *Staphylococcus*

xylosus ve *Enterobacter sakazaki*'de > 4 log'luk azalmaya sebep olurken, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus lugdunensis* ve *Bacillus mycoides*'de > 5 log'luk azalma oluşturmuştur. Antimikrobiyalin, 569 mg/L'lik konsantrasyonu *Pseudomonas aureginosa* ve *Staphylococcus xylosus*'da > 4 log'luk indirgenmeye sebep olmuştur. *Staphylococcus warnerii*, *Staphylococcus lugdunensis* ile *Enterobacter sakazaki*'de ise > 5 log'luk indirgenme görülmüştür. Bu konsantrasyonda bakteri sayısında en fazla azalma *Bacillus mycoides*'de (> 6 log) görülmüştür. Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 1138 mg/L'lik konsantrasyonu, bakteri sayısında en fazla indirgenmeye *Pseudomonas aureginosa* ve *Bacillus mycoides*'de neden olmuştur (> 6 log), *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus lugdunensis* ve *Enterobacter sakazaki*'de ise > 5 log'luk azalma görülmüştür. Aktif içeriğin 2276 mg/L'lik konsantrasyonu, *Staphylococcus xylosus* ve *Staphylococcus warneri*'de 6 log'luk, *Bacillus mycoides* ve *Pseudomonas aureginosa*'da > 6 log'luk indirgenme oluştururken *Staphylococcus lugdunensis* ve *Enterobacter sakazaki*'de > 5 log'luk indirgenmeye neden olmuştur. Potasyum dimetil di tiyokarbamet'in 4553 mg/L'lik konsantrasyonu *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri*, *Pseudomonas aureginosa* ve *Bacillus mycoides*'de 7 log'luk azalmaya neden olurken, *Staphylococcus lugdunensis* ve *Enterobacter sakazaki*'de ise > 6 log'luk indirgenmeye neden olmuştur 9106 ve 18211 mg/L'lik konsantrasyonlar ise tüm test mikroorganizmalarını öldürmüştür (Tablo IV.2-IV.3).

Tablo IV.2. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatları Üzerindeki Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktiviteleri

	<i>S.xylosus</i>	<i>S. warnei</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>B. mycoides</i>	<i>E. sakazakii</i>	<i>P. aureginosa</i>
Konsantrasyon						
18211 mg/L	-	-	-	-	-	-
9106 mg/L	-	-	-	-	-	-
4553 mg/L	1X10	1X10	2 X10	1 X10	2 X10	1X10
2276 mg/L	1 X10 ²	1 X10 ²	1.1 X10 ²	2 X10	3 X10 ²	3 X10
1138 mg/L	2 X10 ²	2.4 X10 ²	2.6 X10 ²	2 X10	2.5 X10 ²	5 X10
569 mg/L	1.65 X10 ³	4 X10 ²	3.5 X10 ²	8 X10	7 X10 ²	2.12 X10 ³
285 mg/L	2.56 X10 ³	7.4 X10 ²	7.3 X10 ²	2.3 X10 ²	1.26 X10 ³	3.1 X10 ⁴
142 mg/L	4.52 X10 ³	8.4 X10 ²	9.4 X10 ²	4.6 X10 ²	1.34 X10 ³	4.32 X10 ⁴
71 mg/L	6.56 X10 ³	7.8 X10 ²	1.82 X10 ³	8.2 X10 ²	1.59 X10 ³	1X10 ⁵
36 mg/L	7.68 X10 ³	3.39 X10 ³	4.74 X10 ³	9.8 X10 ²	1 X10 ⁴	2X10 ⁵
18 mg/L	1.068 X10 ⁴	8.65 X10 ³	5.96 X10 ³	1.50 X10 ³	1.22 X10 ⁵	2X10 ⁶

Tablo IV.3. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatları Üzerindeki Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerine Ait İF Değerleri

	<i>S. xyloso</i>	<i>S. warnei</i>	<i>S. lugduensis</i>	<i>B. mycoides</i>	<i>E. sakazakii</i>	<i>P. aureginosa</i>
Konsantrasyon						
18211 mg/L	0	0	0	0	0	0
9106 mg/L	0	0	0	0	0	0
4553 mg/L	7	7.0	6.7	7.0	6.7	7.0
2276 mg/L	6.0	6.0	5.96	6.7	5.52	6.52
1138 mg/L	5.7	5.62	5.59	6.7	5.6	6.30
569 mg/L	4.78	5.40	5.46	6.1	5.15	4.67
285 mg/L	4.59	5.13	5.14	5.64	4.9	3.51
142 mg/L	4.34	5.08	5.03	5.34	4.87	3.36
71 mg/L	4.18	5.11	4.74	5.09	4.8	3.0
36 mg/L	4.11	4.47	4.32	5.01	4.0	2.7
18 mg/L	3.97	4.06	4.22	4.82	2.91	1.7

Sonuç olarak, kullandığımız test izolatlarının, potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in tüm konsantrasyonlarından etkilendiği ve bakteri sayılarında 1138 mg/L ve üzeri konsantrasyonlarda > 5 log'luk azalma görüldüğü çalışmamız sonucunda gözlenmiştir (Tablo IV.3).

Test izolatlarının karışık kültürleri üzerine Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in minimal inhibitör ve minimal bakterisidal aktiviteleri de çalışmamızda araştırılmıştır. Test mikroorganizmalarının karışık kültürleri üzerine potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 9106, 4553, 2276, 1138, 569, 285 ve 142 mg/L'lik konsantrasyonları uygulanarak 1, 2, 4, 6 ve 8 saat süre ile minimal inhibitör ve minimal bakterisidal aktiviteleri araştırılmıştır. Test mikroorganizmalarının sayıları antimikrobiyal maddenin tüm konsantrasyonlarıyla muamele sonucu azalmıştır (Tablo IV.4).

Tablo IV.4. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Farklı Temas Sürelerinde Test İzolatlarının Karışık Kültürleri Üzerindeki Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktiviteleri

	9106 mg/L	4553 mg/L	2276 mg/L	1138 mg/L	569 mg/L	285 mg/L	142 mg/L
1. Saat	2.3×10^3	5×10^3	3.2×10^6	3.2×10^6	5.3×10^6	4×10^6	4.7×10^6
2. Saat	-	3×10^3	6.1×10^5	6.7×10^5	9.6×10^5	2.7×10^6	4.8×10^6
4. Saat	-	2.7×10^3	4×10^3	1.6×10^5	4×10^5	4×10^5	3×10^6
6. Saat	-	1.2×10^2	5.7×10^2	7×10^3	8×10^5	2.3×10^5	2.5×10^6
8. Saat	-	1.3×10^2	1.5×10^2	4×10^3	1×10^5	3×10^5	1.3×10^6

Elde edilen bu verilere göre, kullandığımız antimikrobiyalin karışık kültürde sebep olduğu azalma miktarları logaritmik olarak Tablo IV.5.'de verilmiştir.

Tablo IV.5. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Farklı Temas Sürelerinde Test İzolatlarının Karışık Kültürleri Üzerindeki Minimal İnhibitör ve Minimal Bakterisidal Aktivitelerine Ait İF Değerleri

	9106 mg/L	4553 mg/L	2276 mg/L	1138 mg/L	569 mg/L	285 mg/L	142 mg/L
1. Saat	4.64	4.3	1.49	1.49	1.28	1.4	1.33
2. Saat	-	4.52	2.21	2.17	2.02	1.57	1.32
4. Saat	-	4.57	4.40	2.8	2.40	2.4	1.52
6. Saat	-	5.92	5.24	4.15	2.10	2.64	1.60
8. Saat	-	5.89	5.82	4.4	3.0	2.52	1.89

Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in MHB besiyerindeki 4553 ve 9106 mg/L'lik konsantrasyonlarının 1 saatlik temas süresinden sonra karışık kültürde > 4 log'luk azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 142, 285, 569, 1138 ve 2276 mg/L'lik konsantrasyonlarının ise 1 saatlik temas süresinden sonra karışık kültürde > 1 log'luk azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Aktif içeriğin 4553 mg/L'lik konsantrasyonu 1 saatlik temas süresinde karışık kültürü 10^3 seviyelerine indirmiştir. Islatma sıvısında mikroorganizma sayısının 10^3 kob/mL olduğunda bakteriyel zararın görülmeyeceği bildirilmiştir (Rutala, 2001). Bu sonuca göre bu potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 4553 mg/L'lik konsantrasyonunun bakteri sayısını 1 saat gibi kısa bir temas süresinde bile hızlıca düşürdüğü ve oldukça etkili olduğu görülmektedir. 4553 mg/L'lik konsantrasyon, 2 ve 4 saatlik temas sürelerinde > 4 log'luk azalmaya, 6 ve 8 saatlik temas sürelerinde ise karışık kültürde > 5 log'luk azalmaya sebep olmuştur.

Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 569, 1138 ve 2276 mg/L'lik konsantrasyonları 2 saatte > 2 log'luk azalmaya sebep olmuştur. 142 ve 285 mg/L'lik konsantrasyonları ise 2 saatte > 1 log'luk azalmaya sebep olmuştur.

2276 mg/L'lik konsantrasyonu 4 saatlik, 1138 mg/L'lik konsantrasyonu ise 6 ve 8 saatlik temas sürelerinde karışık kültür üzerinde > 4 log'luk azalmaya neden olmuştur.

Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 2276 mg/L'lik konsantrasyonunda 6 ve 8 saatlik temas sürelerinde ise karışık kültürde > 5 log'luk azalma görülmüştür.

Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 285, 569 ve 1138 mg/L'lik konsantrasyonları karışık kültürü 4 saatte, 285 ve 569 mg/L 6 saatte, 285 mg/L ise 8 saatte > 2 log'luk azalmaya sebep olmuştur.

569 mg/L 8 saate karışık kültürde 3 log'luk azalmaya sebep olmuştur. 142 mg/L ise karışık kültürde 6 ve 8 saatte > 1 log'luk azalmaya sebep olmuştur.

Araştırmacılar, test mikroorganizmalarında > 5 log'luk azalmaya sebep olan bir antimikrobiyalin iyi bir bakterisit olduğunu vurgulamıştır (Block, 2001). Deney sonuçlarımıza göre potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 2276 ve 4553 mg/L'lik konsantrasyonları da karışık kültürde 6. ve 8. saatlerde mükemmel bakterisidal aktivite göstermiştir. Bu konsantrasyonların deri fabrikalarında kullanıldığında, ıslatmadaki tüm mikroorganizmaların öldürülebileceği deney sonucumuzda açıkça görülmüştür.

Sonuç olarak, önerilen konsantrasyonlar olan 350 ppm ve 700 ppm'in aktif içerik bakımından konsantrasyonları olan 142 ve 285 mg/L'sinin tüm temas sürelerinde karışık kültürdeki bakteri sayısının azalmasına sebep olmuş fakat bu azalmanın bakteri sayısını derilere zarar vermeyecek sayıya indirmeye yeterli olmadığı görülmüştür. Bu nedenle ıslatma sıvısında veya tuzlu salamuradaki bakteri sayıları zararsız bir seviyeye (10^3) (Rutala, 2001) düşürülmek isteniyorsa potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 2276 mg/L'lik ticari antimikrobiyalin 5600 ppm'lik konsantrasyonunun kullanılması gerekmektedir.

Berber ve arkadaşları (2010), ana ıslatma sıvılarında bulunan bakteriler üzerine didesil dimetil amonyum klorid içeren kuaterner amonyum bileşiğinin etkisini 10 dk, 30 dk, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 5 saat, 6 saat, 7 saat ve 8 saat sürelerle incelemişlerdir. Araştırmacılar antimikrobiyalin deri endüstrisinde önerilen kullanım konsantrasyonunun (0.4 g/L) ıslatma sıvılarında bulunan bakterileri kontrol edemeyeceğini açıklamışlardır. Bu nedenle bu çalışmada test bakterisinin kullanım konsantrasyonu 0.8 g/L'ye yükseltilmiş ve 10 dk temas süresinden sonra bakteri sayısında 2 log'luk bir azalma saptanmıştır. Islatma sıvısında bulunan *Staphylococcus* türlerinin sayılarının bakterisit ile muameleden 10 dk sonra 10^5 'den 10^3 kob/mL'ye, 180 dk sonra ise 10^4 'den 10^3 kob/mL'ye düşürüldüğü açıklanmıştır. *Enterobacteriaceae* familyasına ait olan bakteri türlerinin sayılarının kontrol altına alındığı (10^3 kob/mL) ve 6 saat boyunca bu sayının sabit kaldığı açıklanmıştır. 7. Saatin sonunda ise bakteri sayısında 1 log'luk artış olduğu görüldüğü açıklanmıştır. *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerin toplam sayısının ise 4 saat boyunca değişmeden kaldığı (10^2) ve ıslatma işleminin sonunda 1 log'luk artış gösterdiği bildirilmiştir. Araştırmacılar didesil dimetil amonyum klorid

içeren kuaterner amonyum bileşiğinin kullanım konsantrasyonunun iki katına çıkarıldığında bakteri sayısının derilere zarar veremeyecek seviyeye ($<10^5$) düşürüldüğünü açıklamışlardır. Bilindiği gibi ıslatma işleminde bakteri sayısı 10^5 kob/mL olduğunda deride bakteriyel kusurlar olabileceği açıklanmıştır.

Bizim çalışmamızda da potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 4553 ve 9106 mg/L'lik konsantrasyonları karışık kültürde bakteri sayısını 1 saat içinde 10^3 seviyesine düşürmüştür. 569, 1138 ve 2276 mg/L'lik konsantrasyonları ise 2 saat içinde karışık kültürde bakteri sayısını 10^5 'e düşürmüştür.

Önerilen 285 mg/L'lik konsantrasyon ise bakteri sayısını 4 saat içinde 10^8 'den 10^5 'e indirmişdir. Buna karşın diğer önerilen doz olan 142 mg/L'lik konsantrasyon ise bakteri sayısını 8 saatin sonunda 10^8 'den 10^6 'ya düşürmüştür.

Çalışma sonuçlarımız, test bakterisinin 285 mg/L ve üzerindeki konsantrasyonlarda kullandığımız test bakterilerinin karışık kültürü üzerine etkili olacağını göstermiştir. Bizim çalışma sonuçlarımız da Berber ve arkadaşlarının (2010) sonuçlarıyla paralellik göstermiştir.

Ayrıca test izolatları üzerindeki antimikrobiyal aktivite, MHA besiyerinde 64, 128, 255, 510, 1020, 2034 μ g aktif içerik yani potasyum dimetil-ditiyokarbamet içeren difüzyon diskleriyle Kirby-Bauer yöntemi ile belirlenmiştir. Disklere emdirilmiş haldeki etken madde miktarı arttıkça agar yüzeyinde oluşan inhibisyon zon çaplarının da arttığı görülmüştür (Tablo IV.6.).

Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 64 μ g'ı, tüm test mikroorganizmalarında, 18 ile 24 mm arasında inhibisyon zonları oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Enterobacter sakazakii*'de 18 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus warneri*'de 24 mm olarak görülmüştür. 128 μ g'ı test organizmalarında 19 ile 25 mm arasında inhibisyon zonları oluşturmuştur. En küçük zon *Enterobacter sakazakii*'de 19 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus warneri*'de 25 mm olarak görülmüştür. 255 μ g'ı ise 20 ile 28 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Enterobacter sakazakii*'de 20 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus warneri*'de 28 mm olarak görülmüştür. Sonuçlarımızdan anlaşıldığı gibi potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 64, 128 ve 255 μ g'ı en küçük zonu *Enterobacter sakazakii*'de ve en büyük zonu da *Staphylococcus warneri*'de göstermiştir. 510 μ g'ı 22 ile 35 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Enterobacter sakazakii* ve *Pseudomonas aureginosa*'da 22 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus warneri*'de 35 mm olarak görülmüştür. Potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in 1020 μ g'ı 23 ile 38 mm arasında zonlar oluşturmuştur. En küçük zon *Pseudomonas aureginosa*'da 23 mm ve en büyük zon ise *Staphylococcus warneri*'de 38 mm olarak

görülmüştür. 2034 µg'ı ise tüm test mikroorganizmalarında 25 ile 40 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Enterobacter sakazakii*'de 25 mm ve en büyük zon ise *Staphylococcus warneri*'de 40 mm olarak görülmüştür. Bu sonuçlara göre potasyum dimetil-ditiyokarbamet'in tüm miktarlarına en duyarlı mikroorganizmanın *Staphylococcus warneri* olduğu görülmüştür (Tablo IV.6).

Antimikrobiyalin diske direkt olarak emdirildiği ve 3500 µg potasyum dimetil-ditiyokarbamet içeren disklerin ise tüm test mikroorganizmalarında 28 ile 42 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Enterobacter sakazakii* ve 28 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus warneri* ve *Staphylococcus xylosus*'da 40 mm olarak görülmüştür. Bu sonuçlara göre miktarda en duyarlı mikroorganizmaların *Staphylococcus warneri* ve *Staphylococcus xylosus* olduğu görülmüştür (Tablo IV.6).

Tablo IV.6. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test İzolatlarında Oluşturduğu İnhibisyon Zonlarının Çapları (mm)

	64 µg	128 µg	255 µg	510 µg	1020 µg	2034 µg	3500 µg
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	20	20	21	25	28	34	40
<i>Staphylococcus warneri</i>	24	25	28	35	38	40	42
<i>Staphylococcus xylosus</i>	21	22	23	25	27	36	42
<i>Bacillus mycoides</i>	22	24	25	26	29	31	33
<i>Enterobacter sakazakii</i>	18	19	20	22	24	25	28
<i>Pseudomonas aureginosa</i>	19	20	21	22	23	27	30

Derilerde bulunan zararı önlemek için deri endüstrisinde sıklıkla kuaterner amonyum bileşikleri, izotiyazoller, halojenlenmiş organik bileşikleri (bronopol; 2-bromo-2nitro-propan-

1.3-diol), tiyokarbametler, benzotiyazoller, gluteraldehitlerin kullanıldığı açıklanmıştır (Berber, 2009).

Muthusbramanian ve Mitra (2006), derilerde bulunan mikroorganizmaları ve zararı önlemek için bronopol'ü (2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol) ıslatma sıvılarında bakterisit olarak kullanmışlardır.

Rajakumar ve arkadaşları (1988), Busan 30'un % 0.005 konsantrasyonunun kromla tabaklanmış derilerde mantar gelişimini inhibe etmede 2 ay süreyle etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Jerome ve arkadaşları (1974), çeşitli mikroorganizmalara karşı bazı antimikrobiallerin aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar oktilizotiyazolon'un etkili olduğunu açıklamışlardır.

Gattner ve arkadaşları (1988), oktilizotiyazolon, metoksikarbonilamindenzimidazol ve tiyosiyanatometil-tiyobenzotiyazol maddelerinin kromla tabaklanmış derilerde mantar gelişimini önlemede etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Birbir ve arkadaşları (1996), bitkisel tabaklanmış kösele derilerden, kromla tabaklanmış derilerden 1-2 yıl depolanmış krom tabaklanmış derilerden, yeni ve kullanılmış ayakkabılardan ve insan ayaklarından 20 mantar türü ve 9 maya türünü izole etmişlerdir. Daha sonra deri endüstrisinde kullanılan antimikrobiallerin, izole edilen mikroorganizmalara karşı antifungal etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında antimikrobiyal olarak izotiyazolin, ve kuaterner amonyum bileşiği (fungusit A), benzotiyazol (fungusit B), p-kloro-m-kresol ve o-fenil-fenol (fungusit C) kullanmışlardır. Fungusit A'nın 1/16, fungusit B'nin 1/4 ve fungusit C'nin ise 1/32 dilüsyonlarında fungusların gelişimini durdurduğunu açıklamışlardır. Fungusit A ve fungusit C'nin derideki fungus gelişimini daha etkin olarak kontrol ettiğini gözlemlemişlerdir. Fungusit A 1:128, fungusit B 1:164 ve fungusit C 1:128 dilüsyonda deride gelişen mayaların gelişimini durdurduğunu açıklamışlardır. Araştırmacılar, kullanılan antimikrobiallerin farklı konsantrasyonlarının farklı türlerde antifungal etki gösterdiğini açıklamışlardır. Kullanılan antimikrobiyalin antifungal etkinliği hem mikroorganizma türüne hem de kullanılan konsantrasyona göre değişmiştir. Araştırmacılar deri endüstrisinde kullanılan antimikrobiyal konsantrasyonlarının deri fabrikalarından izole edilen fungus gelişimini kontrol etmede yetersiz olduğunu, bu antimikrobiyalin daha yüksek konsantrasyonlarının kullanılması gerektiğini önemle vurgulamışlardır.

Bizim çalışmamızda da kullanılan antimikrobiyalin ıslatma sıvısından izole edilen bakteri türlerini kontrol etmede farklı konsantrasyonlarda, farklı türler üzerinde, farklı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Bunun yanında potasyum dimetil-ditiyokarbamet aktif içerikli

antimikrobiyalin piyasada önerilen kullanım konsantrasyonlarından 350 ppm'in bakteri gelişimini engellemede yeterli olmadığı, 700 ppm'in bakteri popülasyonunu mamul deride zarar oluşturmayacak seviyeye çekebildiği ve daha üst konsantrasyonlarda ise gelişimin engellenebildiği görülmüştür.

BÖLÜM V.

SON DEĞERLENDİRMELER VE ÖNERİLER

Deri sektöründe yaygın olarak kullanılan antimikrobiallerden biri olan %50 potasyum dimetil-ditiyokarbamat içeren antimikrobialin önerilen kullanım konsantrasyonlarından olan 350 ppm'de mikroorganizmaları kontrol etmekte yetersiz olduğu, 700 ppm'de ise yeterli olduğu ancak mikroorganizma sayısı daha aşağı seviyelere düşürülmek istendiğinde antimikrobialin daha yüksek konsantrasyonlarının kullanılması gerektiği görülmüştür.

Deri sanayinde antimikrobiyal kullanımı için derilerden izole edilerek tanımlanan doğal izolatlar üzerine kullanılacak olan antimikrobialin aktivitesi önce laboratuvar koşullarında sonra da deri sanayinde test edilmelidir. Antimikrobiyal maddenin etkin dozu, uygulanan deri işlenti basamağından örnekler alarak sürekli olarak antimikrobiyal maddenin etkinliği incelenmelidir. Belli bir süre aynı antimikrobialin kullanımı sonucu bu antimikrobiale karşı dirençli suşlar gelişerek deri işlenti basamaklarında baskın bakteriyel flora haline gelebilirler. Bu nedenle antimikrobiyal maddeye karşı direnç saptandığı zaman başka bir etkin antimikrobiyal madde kullanılmalıdır. Özellikle yaz aylarında deri işlenti basamaklarında sıcaklık artışları görülmektedir. Sıcaklık artışı ile birlikte bakteriler daha hızlıca üreyerek oldukça fazla sayıya ulaşabilirler. Bu nedenle oldukça fazla sayıda olan bakteri popülasyonunu antimikrobialle kontrol etmek zorlaşır. Antimikrobiyal etkinliği direkt olarak mikroorganizma sayısı ile yakinen ilişkilidir. Mikroorganizma sayısı arttıkça daha fazla konsantrasyonda antimikrobiyal madde kullanılması gerekebilir. Bu nedenle antimikrobiyal aktivite testlerinde farklı bakteri sayıları ve farklı konsantrasyonlar sürekli olarak denenmelidir. Gerektiğinde ıslatma esnasındaki bakteri sayısını en aza indirmek için bakterisit ilave edilmelidir. Bakterisit deneyleri hem deri sanayinden izole edilen tek tek izolatlar hem de bu izolatlardan hazırlanan karışık kültür üzerine test edilmelidir. Bu çalışmamızda yukarıda belirttiğimiz konulara ışık tutacak çalışmalar yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Afşar, A.; Zengin G. “Dünyada ve Türkiye’de Hayvancılık ve Deri Sanayi İlişkileri”, *I. Ulusal Deri Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Deri Mühendisliği Bölümü ve Detek, 7-8 Ekim, İzmir –Türkiye (2004) 21-38.
- [2] Anderson, H.: “The Bacteriology of Hide Preservation”, *Journal of the Society of Leather Trades Chemists*, 7 (1949) 251-256.
- [3] Anđ-Küçüker, M.; Tümbay, E.; Anđ, Ö.: “*Tıbbi Mikrobiyoloji*”, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye, (1997) 152-157, 197-200, 226, 230,231
- [4] Aytekin, Y.:”*Temel Histoloji*”, Barış Kitabevi, İstanbul, Türkiye, (2005) 38-51
- [5] Bailey, D.G.: “The Preservation of Hides and Skins”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 98 (2003) 308-319.
- [6] Bailey, D.G. and Birbir, M.: “Study of the Extremely Halophilic Microorganisms Found on Commercially Brine-Cured Cattle Hides”, *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 88 (1993) 285-293.
- [7] Bailey, D.G.; Birbir, M.: “The Impact of Halophilic Organisms on the Grain Quality of Brine Cured Hides”, *Journal American Leather Chemists Association*, 91 (1996) 47-51.
- [8] Berber, D.; Birbir, M.; Hacıođlu, H.: “Efficacy Assessment of Bactericide Containing Didecyldimethylammonium Chloride on Bacteria Found in Soak Liquor at Different Exposure Times”, *JALCA*, vol.105, (2010), 354-359.
- [9] Berber, D.: “Tuzlarda ve Ham Derilerde *Archaea* ve *Bacteria* Populasyonlarının Fluorescence *In Situ* Hibridization (FISH) ile İncelenmesi”, *Doktora Tezi*, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, (2009) 99-175
- [10] Bilgehan, H.: “Klinik Mikrobiyolojik Tanı”, Barış Yayınları, Ankara, (2004) 130-180.
- [11] Bilgi, S.T.; Yapıcı, B.M.; Yapıcı, A.N.: Determination of Bacterial and Fungal Numbers in Floats of Pre-tanning Operations. *African Journal of Biotechnology* 8, (2009) 1602-1607
- [12] Birbir, M.: “Deri Endüstrisinde Kullanılan İşlenmiş ve İşlenmemiş Sığır Derilerinde Derinin Kalitesine Etki Eden Mikroorganizmaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu”, *Doktora Tezi*, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, (1991) 1-24.

- [13] Birbir, M. “Deri Konservasyonunda Kullanılan Tuzlarda Proteolitik ve Lipolitik Bakterilerin Araştırılması”, *1.Ulusal Deri Sempozyumu Bildiri Kitabı*, İzmir, (2004) 39-49.
- [14] Birbir, M., Özyaral, O., Johansson, C. and Ilgaz, A. “Antifungal Activities Against Mold and Yeast Strains”, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, (1996) 80, 114-117
- [15] Birbir Y.; Birbir M.: “Inactivation of extremely halophilic hide-damaging bacteria via low level direct electric current”, *J. Electrostat*, 64 (2006), 791-795.
- [16] Birbir, Y.; Uğur, G.; Birbir, M.: “Inactivation of Bacterial Population in Hide-Soak Liquors via Direct Electric Current”, *Journal of Electrostatics*, 66 (2008) 355–360.
- [17] Boyd C.; Haris C.; Maree C.: “Putrefaction Potentiometry. A New Look into Bacterial Attack on Hides and Skins”, *Society of Leather Technologists and Chemists*, (2003).
- [18] Brenner, D.J.: “Family I. *Enterobacteriaceae*”, *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Krieg, N.R.; Holt J.G. Editors.; Williams & Wilkins, Baltimore, MD, (2005) 587-850.
- [19] Champion, R.H.; Gilman, T.; Rook, A.J. and Sims, R.T.: “An Introduction to the Biology of the Skin”, *Blackwell Scientific Publications*, (1970) 197-205.
- [20] Cremieux, A.; Freney, J.; Davin-Regli, A.: “Methods of Testing Disinfectants”, In *Disinfection, Sterilization and Preservation*, 5th Edition, Block, S.S.Ed.; Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, (2001) 1305-1327.
- [21] Dahl, S.: “Prevention of Microbiological Deterioration of Leather”, *Leather Chem. Ass.*, 51 (1956) 103-117.
- [22] Dempsey, M.: “The Penetration of Bacteria into Hides and Skins”, *J. Soc. Leather Trades*, 53 (1) (1969) 32-35.
- [23] DPT (Devlet Planlama Teşkilatı) Dokuzuncu Beş Yıllık Kalkınma Planı: “Tekstil, Deri ve Giyim Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu”, DPT:2715, ÖİK:668, Ankara (2007) 261-289.
- [24] Gerardi, H.; Zimmerman, M.C.: “Wastewater Pathogens”, Wiley-Interscience, USA, (2005) 53-60
- [25] Haines, M.B.: “Quality Rawstock”, *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 66 (4) (1984) 164-173.
- [26] Hanlin, M.B.; Field, R.A. and Ray, B.: “Characterization of Predominant Bacteria in Cattle Hides and Their Control by a Bacteriocin Based Preservative”, *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 90 (1995) 380-320.

- [27] Harley, J.P. and Prescott, L.M.: “Laboratory Exercises in Microbiology, 5th Ed. The McGraw-Hill Companies, New York, NY, (2002) 93-95, 117-120, 143-144, 161-163, 291-295.
- [28] Hendry, M.F.; Cooper, D.R. and Woods, D.R.: “The Microbiology of Curing and Tanning Processes. Part IV. The Laboratory Screening of Antiseptics”, *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 66 (1971) 31-39.
- [29] Kallenberger, E.W. “Halophilic Bacteria in Brine Curing”. *Journal of the American Leather Chemists Association* (1984) 79, 104-111.
- [30] Kanagaraj, J.; Sastry, T.P.; Rose, C.: “Effective Preservation of Raw Goat Skins for the Reduction of Total Dissolved Solids”, *Journal of Cleaner Production*, 13 (2005) 959-964.
- [31] Kayser F.H., Bienz K.A., Eckert J., Zinkernagel R.M.: “Medical Microbiology”, Thieme, New York, USA (2005) 229-245
- [32] Koç, Ü.: XVI. Yüzyılda Anadolu’da Sanayi”, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Elazığ, Türkiye, (2003) 9-20
- [33] Kritzinger, C.C. and Van Zyl, J.H.M.: “The Preservation of Hides with Used Salt”, *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 11 (3) (1945) 207-213.
- [34] Kuroczkin, J.; Strzelczyk, B.A.: “Studies on the Microbial Degradation of Ancient Leather Bookbindings”, *International Biodeterioration*, 25 (1989) 39-47.
- [35] Ling, M.L.; Yeo, M.: “Staphylococcus lugdunensis: Report of First Case of Skin and Soft Tissue Infection in Singapore”, *Singapore Med. J.*, 41(4) (2000) 177-178.
- [36] Lunam, C.A. and Weir, K.A.: “Storage of Ostrich Skin. Effects of Preservation Methods on Skin Structure, Physical Properties & Microbial Flora”, A Report for the Rural Industries Research and Development Corporation, July , (2006).
- [37] Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Dunlop, P.V.; Clarck, D.P.: “Brock Biology of Microorganisms”, Twelfth Edition., Pearson Benjamin Cummings., (2009) 329-417.
- [38] McLaughlin, D.G. and Rockwell, E.G.: “The Bacteriology of Fresh Steer Hide”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 17 (7) (1922), 325-340.
- [39] Muthusubramanian, L. and Mitra, R.B.: “A Cleaner Production Method for the Synthesis of Bronopol – A Bactericide That is Useful in Leather Making”, *Journal of Cleaner Production* 14 (5) (2006) 536-538.
- [40] Oren, A.: “The Ecology of the Extremely Halophilic Archaea”, *FEMS Microbiol Reviews*, 13 (1994) 415-440

- [41] Oppong, D.; Bryant, S.; Rangarajan, R.; Steele, S.; Radwell, D. and Hyllengren, L.: “Application of Molecular Techniques to Identify Bacteria Isolated From the Leather Industry” *Journal of the American Leather Chemists Association*, 101 (2006) 140-145.
- [42] Orlita, A.: “Microbial Biodeterioration of Leather and Its Control: A Review”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53 (2004) 157-163.
- [43] Park, J-C.; Lee, M.S.; Lee, D. H.; Park, B. J.; Han, D-W.; Uzawa, M.; Takatori, K.: “Inactivation of Bacteria in Seawater by Low-amperage Electric Current”, *App. Environ. Microb.*, 69 (2003) 2405-2408.
- [44] Bauman, R.W.; "*Microbiology with Diseases by Taxonomy*" Third Edition, Pearson, (2011) 579.
- [45] Polkade, A.V.: “Molecular and Phylogenetic Studies on Microbial Diversity of Raw Buffalo Hide to be Used in Leather Manufacturing”, *Doctorate Thesis*, University of Pune, Faculty of Science, India, Pune (2007) 104.
- [46] Rangarajan, R.; Didato, T.D. and Bryant, S.: “Measurement of Bacterial Populations in Typical Tannery Soak Solutions by Traditional and New Approaches”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 98 (2003) 477-485.
- [47] Rawlings, D.E. and Cooper, D.R.: “Enumeration of Bacterial Populations in Fellmongery and Tannery Effluent”, *Journal of the Society of Leather Technologist and Chemists*, 59 (5) (1975) 134-141.
- [48] Roddy, W.T.: “Relationship Between Hide Deterioration and Leather Defects Proceedings of the Fifteenth Research Conference”, (1963) 45-52.
- [49] Rutala, W.A.; Barbee, S.L.; Aguiar N.C.; Sobsey, M.D.; Weber, D.J.: “Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens”, *Infect control hosp. Epidemiol.* (1) (2000) 33-8.
- [50] Tancous, J.J.: “A Study of *Clostridium* Bacterium that Causes Severe Hide Damage”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 56 (3) (1961) 106-119.
- [51] Tancous, J.J.: “ A Study of The Purple Color on The Flesh Side of Salt-Cured Hides”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 67 (8) (1971) 344-359.
- [52] Toptaş A.: “Deride Kalite Tesbiti”, *Sade Ofset ve Matbaacılık*, İstanbul, Türkiye, (1993), 65-71.
- [53] Toptaş, A.: “Deri İşlentisinde Hata Kaynakları”, *Reinleder-Ok kimya*, *Sade Ofset ve Matbaacılık*, İstanbul, Türkiye, (2004), 23-87
- [54] Toptaş, A.: “Deri Teknolojisi”, *Reinleder-Ok kimya*, *Sade Ofset ve Matbaacılık*, İstanbul, Türkiye, (1998), 15-98

- [55] Uğur, G.: “Deri Islatma Sıvılarındaki Bakterilerin Dogru Elektrik Akımı ile İnaktivasyonu”, *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, (2006).
- [56] Venkatesan, R.A.; Nandy, S.C.; Sen, S.N.: “Effect of Storage and Pretanning Operation on the Bacterial Flora and Its Population on Goat Skin”, *Leather Science*, 17 (12) (1970) 395-404.
- [57] Vivian, G.W.: “The Preservation of Hides and Skins Against Bacterial Damage”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 64 (10) (1969) 489-500.
- [58] Weiss, E.F.; Thornton, R.L.: “Growth and Control of Microbiological Activity During Hide Curing Process”, Buckman Laboratories Inc., (1984) 18.
- [59] Woods, D.R.; Atkinson, P.; Cooper, D.R. and Galloway, A.C.: “The Microbiology of Curing And Tanning Processes. Part II. Analysis of Aerobic Bacteria in Static Hide Brining”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 65 (1970) 164.
- [60] Woods, D.R.; Atkinson, P.; Cooper, D.R. and Galloway, A.C.: “The Microbiology of Curing And Tanning Processes. Part II. Analysis of Aerobic Bacteria in Static Hide Brining”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 65 (1970) 164.
- [61] Woods, D.R.; Atkinson, P. and Cooper, D.R.: “The Microbiology of Curing and Tanning Processes. Part III: Analysis of Aerobic Bacteria in Agitated Hide Brining”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 65 (8) (1970) 410–418.
- [62] http://scorecard.goodguide.com/chemical-profiles/summary.tcl?edf_substance_id=128-03-0 (Erişim Tarihi: Nisan 2011).
- [63] http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=23662387&loc=ec_rcs#class (Erişim Tarihi: Nisan 2011).
- [64] http://www.tarimkutuphanesi.com/DERICILIK__00106.html (Erişim Tarihi: Mart 2011).
- [65] <http://kazlicesme.blogspot.com/search/label/deri%20mam%C3%BCI%C3%BC> (Erişim Tarihi: Mart 2011).
- [66] <http://www.genetikbilimi.com/genbilim/ciltyapisi.htm> (Erişim Tarihi: Mart 2011).
- [67] www.uneptie.org/outreach/wssd/docs/further_resources/related_initiative.pdf (Erişim Tarihi: Mart 2011).

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında İstanbul'da doğdum. İlköğrenimimi Ümraniye Yamanevler İlköğretim Okulu'nda, orta öğrenimimi Ümraniye Anadolu Lisesi'nde ve yüksek öğrenimimi Marmara Üniversitesi, Atatürk Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'nde 2008 yılında tamamlayarak aynı yıl Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım.

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KABUL ve ONAY BELGESİ

Nur KÖSE'nin Islatma Sıvısından İzole Edilen Mikroorganizmaların Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet İçeren Antimikrobiyal ile Kontrolü başlıklı Lisansüstü tez çalışması, M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04.04.2011 tarih ve 2011/08-04 sayılı kararı ile oluşturulan jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Biyoloji Programında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak Kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Meral BİRBİR Marmara Üniversitesi
1. Üye : Prof. Dr. Ayşe OGAN Marmara Üniversitesi
2. Üye : Doç. Dr. Barış ÇALLI Marmara Üniversitesi
Tezin Savunulduğu Tarih : 12.04.2011

ONAY

M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25.04.2011 tarih ve 2011/09-19 sayılı kararı ile Nur KÖSE'in Biyoloji Anabilim Dalı Programında Y.Lisans (MSc.) derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Prof. Dr. Meral ÜNAL

