

PAPER DETAILS

TITLE: Tibbi sterilizasyonun kontrolünde kullanılan biyoindikatör sistemi tasarlanması

AUTHORS: Nurseli KANYILMAZ,Ahmet KOLUMAN

PAGES: 60-67

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1886359>



Research article / Araştırma makalesi

Tıbbi sterilizasyonun kontrolünde kullanılan biyoindikatör sistemi tasarlanması

Nurseli Kanyılmaz¹ , Ahmet Koluman^{*1} ¹Pamukkale Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği, 20160, Denizli, Türkiye

Öz

Sterilizasyon, hastane enfeksiyonlarını kontrol etmek için en etkili yöntemlerden biridir ve uluslararası standardizasyon kuruluşunun belirlediği standartlara göre uygulanmaktadır. Sterilizasyon yöntemi, tıbbi malzemenin fiziksel özelliklerine göre seçilmektedir. Bu çalışmada biyolojik indikatörler, işlemin uygulanacağı malzeme ve zaman parametresi değerlendirilerek üretilmiştir. *Geobacillus stearothermophilus* spor formda olup, biyolojik indikatör yapımında yaygın olarak kullanıldığından bu çalışma için seçilmiştir. Vejetatif formda olması ve düşük sıcaklıktaki sterilizasyon yöntemlerine verdiği cevap süresiyle seçilen bir diğer bakteri de *Escherichia coli* olmuştur. Seçilen iki bakteriyle çiftli kontrol yapılmıştır. *G. stearothermophilus* ve *E. coli* bakterilerinin büyümesi için glukoz ve nişasta besin maddesi olarak kullanılmıştır. Arduino Uno ve TCS3200 renk sensörü ile hazırlanan sistemden bakteri ve besin maddelerinden hangisinin daha hızlı sonuç verdiği test edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre iki bakterinin de otoklav biyoindikatörü olarak kullanıma uygun, halk sağlığı çalışmaları açısından yeterli olduğu görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, elektronik ve optik donanımı sayesinde insan gözünden daha hızlı ve doğru okuyabilen, analitik veriler ile optimize edilip, kayıt altına alınabilen bir cihazla kalite kontrol süreçlerinin daha doğru yapılabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Biyolojik indikatör; hijyen; optik donanım; sterilizasyon

Designation of bioindicator system for controlling the medical sterilization

Abstract

Sterilization is one of the most effective methods to control hospital infections, and is applied according to the standards set by the international standardization organization. The sterilization method is selected according to the physical properties of the medical material. In this study, biological indicators were produced by evaluating the material and time parameters of the process. *Geobacillus stearothermophilus* is in spore form and was chosen for use in this study because it is widely used in making biological indicators. *Escherichia coli* was another bacterium selected for its vegetative form and its response time to low-temperature sterilization methods. Paired control was performed with two selected bacteria. Glucose and starch were used as nutrients for the growth of *G. stearothermophilus* and *E. coli* bacteria. It was tested which of the bacteria and nutrients gave faster results from the system prepared with the Arduino Uno and TCS3200 color sensor. According to the results of the study, it was seen that both bacteria were suitable for use as autoclave bioindicators and were sufficient for studies in terms of public health. The results obtained from this study showed that quality control processes can be done more accurately using a device, which read faster and more accurately than the human eye and be optimized and recorded with analytical data with its electronic and optical equipment.

Keywords: Bioindicators; hygiene; optical devices; sterilization

* Sorumlu yazar.

E-mail: akoluman@pau.edu.tr (A. Koluman).

<https://doi.org/10.51753/flsrt.972920> Yazar katkıları

Geliş tarihi 24 Temmuz 2021; Kabul tarihi 24 Ağustos 2021

Çevrimiçi yayın 30 Ağustos 2021

2718-062X © 2021 This is an open access article published by Dergipark under the [CC BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) license.

1. Giriş

Sterilizasyon, tüm mikroorganizmaların ortadan kaldırılması işlemidir (Albert ve ark., 1998). Sterilizasyonun standartlarına uygun adımlar ile tıbbi malzemelerin üretimi ve kullanımında gerekli prosedürler sağlanmaktadır. Tek kullanımlık olmayan tüm tıbbi malzemelere sterilizasyon uygulanır ve sterilizasyon başarısız olduğunda enfeksiyonlara neden olabilir (Panta ve ark., 2019). Sterilizasyon işleminin başarısız olması insan sağlığı açısından risk oluşturduğu için medikal malzemelerin mikroorganizma barındırma olasılığı kontrol edilmektedir (Albert ve ark., 1998; Panta ve ark., 2019).

Hastane enfeksiyonlarının kontrol altına alınmaması, ölüm ve maliyet artışına sebep olmaktadır. Bu nedenle hastane giderlerinin büyük bir bölümü tekrar kullanılabilen malzemelerin sterilizasyonu için ayrılmaktadır (Castillo, 2017). Endüstriyel uygulamalarda sterilizasyon işlemi sonunda kalan mikroorganizma değeri SAL (Sterility Assurance Level) ile tanımlanmaktadır. Sterilizasyon yöntemleri; sterilizasyon işleminin ekonomikliğı, mikrobiyal uzaklaştırma mekanizmaları, malzemenin uygunluğu, yasal gereklilikler ve çalışma parametrelerine göre seçilmektedir. Sterilite direkt olarak ölçülmediği için validasyon işlemi biyolojik ve kimyasal indikatörler sayesinde yapılmaktadır. Kontrol sistemi tasarlama aşamasında ilk olarak sterilizasyon şartlarına dirençli bir mikroorganizma seçilmektedir. Steril olması istenen ürün ile sterilizasyon arasındaki etkileşimin başarısı kimyasal indikatör ile, sterilizasyon döngüsüne karşı direnci etkileyen parametrelerin etkisi ise biyolojik indikatör ile belirlenmektedir (Caylan, 2003).

Sterilizasyonun gerçekleştirilmesinde yaygın olarak kullanılan otoklav cihazları; gıda, kimya, mikrobiyoloji, tıp, diş hekimliğı, veterinerlik sektörlerinde öne çıkmaktadır. Steril edilecek malzemeye göre seçilen sterilizasyon yöntemi değişmektedir. Yaygın kullanılan buharla sterilizasyon, buharla doymuş bir ortamda 100 °C'den daha yüksek sıcaklık ile yapılan sterilizasyon çeşididir ve 121 °C'de 1,5 atmosfer basınçta 15 dakikada etkin değeri gösterir. Otoklavların sterilize edilecek ortama ve malzemeye bağlı olarak boyutu ve işlevi farklılık göstermektedir. Bir diğer yaygın kullanılan yöntem kuru hava ile sterilizasyonda Pastör fırınları, 175 °C'de 1 saat, 140 °C'de 3 saat işlem sürelerine sahiptir. Sıcaklık, basınç, nem, konsantrasyon verilerinin sensörler aracılığıyla cihaz ekranında görüntülenmesiyle sterilizasyon kontrolünün ilk aşaması gerçekleştirilmektedir. Kimyasal indikatörler, paketin yerleştirildiği yerde maruz kaldığı işlem sonunda kimyasal veya fiziksel değişikliklere uğrayarak renk değişimi sayesinde sterilizasyon işlemi bittiğinde sonuç gösteren indikatörlerdir. Ancak sterilizasyon işlemi hakkında kısıtlı bilgi sağlamaktadır (Black, 1993).

Biyolojik indikatörler, sterilizasyonla ilgili doğrudan bilgi sağlayarak mikroorganizmaların hücre bütünlüğünün bozulmasındaki etkiyi göstermektedir. Yaygın kullanılan otoklav etkinliğinin güvencesi standartlar tarafından belirlenir ve biyolojik indikatörler ile kanıtlanmaktadır. Sterilizasyon sonrası, sterilite güvence düzeyine (SAL) ulaşıldığının ispatlanması için standartta yaygın olarak 10⁶ yükünde spor içeren biyolojik indikatörler kullanılır. Biyolojik indikatörler steril edilecek cihazda; kapak, köşeler ve vakum drenaj çıkışları gibi sterilizasyon işleminin en zor gerçekleştiği bölgelere yerleştirilir. Sterilizasyon işleminde kontamine olmuş malzeme yıkanarak paketlenir, sterilizatöre ve yerleştirilir sterilizasyon işlemi sonunda tekrar kullanılmak üzere depolama alanına

kaldırılır (Rutala ve Weber, 2013).

Kısa zamanda tamamlanan, ameliyathanede kullanılan acil sterilizasyon için “flash sterilizasyon” terimi kullanılır. Bu teknikte aktif sporlarla ilişkili α -glukozidaz enzim aktivitesi ölçülmektedir. Enzim tespitiyle sonuç alınan biyoindikatörlerin ihtiyacı için bu teknik önemli olmuştur. Enzim canlı sporlarda tespit edilebilen normal bir bileşendir. Sterilizasyon sonrası canlı bir spor kalması halinde sterilizasyon başarısızlığı ortamın bulanıklığıyla belirlenir (Vesley ve ark., 1992; Albert ve ark., 1998).

Belli sterilizasyon işlemine direnç sağlayan bakteri sporlarından oluşan biyolojik indikatörler, sterilizasyon esnasındaki işlemde biyolojik ölümün gerçekleştiğini kanıtlar. Biyolojik indikatörler, ilgili sterilizasyon yöntemine göre en dayanıklı bakteri sporları seçilerek üretilmektedir. Geleneksel olarak biyoindikatörler *Bacillus* veya *Geobacillus* içeren bakteri sporlarıdır. Bakteriyel sporlar, izleme ve doğrulama döngülerinde vejetatif hücrelere kıyasla çevre stresine karşı dayanıklı olduğu için kullanımı yaygındır. Biyolojik göstergeler bir sterilizatörün rutin parametrelerinin izlenmesi ve yük takibi için de kullanılmaktadır ve bir sterilizasyon döngüsü sırasındaki koşulların tanımlanmış olan mikrobiyal inaktivasyon seviyesine ulaşmak için yeterli olup olmadığını kanıtlamaktadır (Sigwarth ve Moirandat, 2000). Bu göstergeler, büyüme ortamı ve sporları tek bir şişede birleştirilerek kontrol sağlar. Sterilizasyon sonrası spor içeren şeritler besiyerine aktarılabilir ya da aynı tüp içindeki besiyeri kırılmasıyla bir araya getirilerek sporun çeşidine ve üremesine uygun sıcaklıkta inkübatöre yerleştirilmektedir. Böylece sterilizasyon işleminin ardından sporların büyüme ortamı ile karışması sağlanır ve spor büyümesine uygun sıcaklıkta inkübe edilir. Büyüme ortamı, test organizmasının canlılığını etkileyebilecek herhangi bir sterilize edici ajan kalıntısını nötralize edebildiğinden emin olmak için valide edilmelidir. Belirtilen kültür koşullarını sağlayacak sıcaklığa ayarlanan böylece sıcaklığın rutin olarak izlenmesi için inkübatör kullanılmaktadır. Belirtilen sürede inkübasyon sonrasında üreme olmaz ise biyolojik ölümün gerçekleştiği doğrulanmaktadır. Sterilizasyon yapılacak malzemede bulunan mikroorganizmalar, sporlardan daha düşük dirençte olduğu için sterilizasyon gerçekleştirilmiş olur. Canlı mikroorganizmanın kullanımı bu sebepten yaygındır. *Geobacillus stearothermophilus* sporları en yüksek sıcaklıklara direnç gösterdiği için sterilizasyon kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır (Shintani, 2011).

Buhar sterilizasyonunda yüksek direnci ve tutarlı inaktivasyon etkinliği ile *G. stearothermophilus* tercih edilmekte iken *Bacillus pumilus* sporları diğer *Bacillus* türlerinden radyasyona daha dirençli olması sebebiyle mikroorganizmaların radyasyon direncini tespit için tutarlı yanıtlar almak ve doz oranını (kGy/zaman) ayarlamak için biyoindikatör olarak kullanılmaktadır (Wallace, 2016; Hansen ve ark., 2020).

Biyolojik indikatörlerin; sterilizatörün tamir gerektiren bir arızasından sonra, vücuda implante edilecek malzemelerin her çevriminde, paket malzemelerinin boyutu değiştiğinde kullanılması zorunludur. Biyolojik indikatörlerin düşük sıcaklıktaki sterilizasyonlarda her çevrimde kullanılması gerekmektedir. Kuru sıcaklık ve buharlı yöntemlerde ise invazif olma durumuna göre değerlendirilerek en az haftada bir kez kullanılmalıdır (Wallace, 2016).

Sterilizasyon işlem koşullarına dayanıklı canlı mikroorganizma içeren biyoindikatörler, kalitatif test sistemleridir. Biyoindikatörler, sterilizasyon işleminde belirlenmiş koşulların sağlanıp sağlanmadığıyla ilgili bilgi

vermektedir. Biyolojik göstergeler, sterilizasyon döngüsüne oldukça dayanıklı bakteri sporları seçilerek işlevini gerçekleştirmektedir (Pflug ve Odlaug, 1986). Bu biyolojik göstergeler, sporları çoğaltarak ve büyüme ortamındaki asit metabolitlerinin üretimini ölçmek için bir pH göstergesine dayanır. Spor emdirilmiş kâğıt şeritler, kendinden besiyerli kapalı sistemler ve enzim bazlı biyolojik indikatörler olarak 3 çeşit biyolojik indikatör üretilmektedir. Biyolojik indikatörlerin ilk çeşidi, zarfların içinde aşılansmış kâğıt şeritler şeklindedir. Bunlar sterilizasyon işleminden sonra steril kültür ortamına aktarılır ve 7 gün süreyle inkübe edilir. Bu yöntemle, sterilizasyon başarısızlığı büyüme ortamının bulanıklığıyla gözlemlenmektedir (Shintani, 2011). İkinci çeşit biyolojik indikatörler, kullanıma hazır bir pakette geri kazanım için gerekli spor şeridi ve büyüme ortamını içeren bağımsız sistemlerdir. Sporları çoğaltarak ve hücreleri kopyalayarak büyüme ortamındaki asit metabolitlerinin üretimini ölçen biyolojik göstergeler, pH ölçümüne dayanır. Bu sistemle birlikte, birinci olarak açıklanan kâğıt şeritlere kıyasla kontaminasyon sorunu ortadan kaldırılır. Ancak hayatta kalan sporların tespiti için 24-168 saat okuma süresi gerekmektedir. Spor içeren kâğıt şerit biyoindikatörler, sterilizasyon işleminden sonra yaygın olarak 7 gün süreyle inkübe edilir. Yeni bir sterilizasyon yöntemi için 7 günlük bir referans inkübasyon süresini desteklemek için yeterli veri bulunmadığında, doğrulamanın dayandırılacağı referans inkübasyon süresi olarak en az 14 gün kullanılmaktadır (ISO 14161, 2009; ISO 11140-1, 2014; ISO 13485, 2016; ISO 11138-1, 2017).

Kendinden besiyeri içeren kapalı sistemlerde hayatta kalan sporların tespiti için 24-168 saat okuma süresi gereklidir. Üreme tespit sistemine göre çok farklı zamanlarda sonuç verebilen biyoindikatörler, yaygın olarak 1-48 saatte sonuç verir bununla birlikte referans inkübasyon süresi değişmektedir. Enzim aktivitesi sayesinde daha kısa inkübasyon süreleriyle tespit edilebilen biyolojik kalıntı, enzim tabanlı algılama sistemleri sayesinde tespit edilerek bu süre kısaltılmıştır. Kültür yöntemi ile en az 24 saatte sonuç alınırken, enzim aktivitesi ile bu süre 1-4 saatte yapılabilmektedir. Günümüzde en az 1 saatte sonuç alınan biyoindikatörler üretilmişken, bunlar 4 saatte sonuç alınan indikatörlere göre oldukça pahalıdır (Albert ve ark., 1998; Rutala ve ark., 2001).

Biyolojik indikatörlerin sonuçları; türbidimetrik, florimetrik ve spektrofotometrik olmak üzere 3 farklı yöntemle ölçülebilir. Türbidimetrik yöntemde gözle tespit yapılır negatif sonucu garantilemek için inkübasyon süresi en az 2 saattir. Spektrofotometrik yöntemde renk değiştiren besiyerinin otomatik okuması sağlanmaktadır. Florimetrik yöntemde ise floresan vermeyen maddeyi floresan verir hale getirdiği için α -glukozidaz veya α -galaktozidaz aktivitesi okumayı sağlamaktadır. Bu yöntem, floresans veren substratların kullanıldığı ve floresansın otomatik okuyucu tarafından okunduğu yöntemdir. Biyolojik indikatörlerde sonuç almak için uzun inkübasyon zamanı gerekmektedir. Bu problem, 1 saat gibi kısa sürede floresan vermeyen bir maddeyi floresan verir hale getiren spor enzimlerinden α -glukozidaz ile çözülmüştür. Kısa sürede sonucun elde edilmesi, sterilizasyonun denetlenmesinde biyolojik indikatörlerin kullanımını yaygınlaştırmıştır (Gillis ve ark., 2010; Dlugokenski ve ark., 2011).

COVID-19 salgını ile kişisel koruyucu ekipmanların kullanımı artmıştır (Genc, 2020). N95 tipi maskelerin kullanımının artması kişisel koruyucu ekipmanı kıtlığına yol açmıştır. Bu maskelerin tek kullanımlık olması amaçlanmıştır ancak sterilizasyon yapılarak tekrar kullanılması eksiklikleri

azaltmada yararlı olacaktır. Hidrojen peroksit sterilizasyon yöntemi kullanılarak, 1.0×10^6 yüklü *G. stearothermophilus* biyoindikatörü ile sterilizasyon doğrulanmaktadır. *G. stearothermophilus* sporları, SARS-CoV-2 gibi zarflı virüslere göre sterilizasyona önemli ölçüde daha dirençlidir. Viral canlılığın doğrudan ölçümü yerine biyoindikatör kullanımı verilerin yorumlanmasında önemli bir örnek teşkil etmektedir (Rutala ve ark., 2001; Cabbari ve ark., 2012).

Bu çalışmada materyal olarak *G. stearothermophilus* ve *Escherichia coli* kullanılmıştır. Sterilizasyon için yaygın olarak kullanılan test organizması, *G. stearothermophilus*'tur. *G. stearothermophilus* sporları buharla, formaldehit ve hidrojen peroksit gibi sterilizasyon metodlarında yüksek direnci ve tutarlı inaktivasyon kinetiği nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Sıcaklık, pH, besin ve iyon içeriği gibi sporlanmayı tetikleyen çevresel koşullar, oluşan sporların çeşitli özelliklerini etkilemektedir. Sıcaklık etkili sterilizasyon yöntemlerinde sporulasyon sırasında *G. stearothermophilus* sterilizasyon direnci üzerinde en büyük etkiye sahip olan değişken başlangıç pH'dır. Düşük besin konsantrasyonu ve 8.5 civarında alkali pH uygun kabul edilir. Çalışmada kullanılan *E. coli* ve *G. stearothermophilus* bakterileri ATCC kültür koleksiyonundan elde edilmiştir. *G. stearothermophilus*, yüksek sıcaklığa dayanıklı olması ve hataları erken sonuç olarak vermesi sebebiyle tercih edilmiştir. *E. coli*, *Enterobacteriaceae* familyasından olup gram negatif, çoğunlukla hareketli, fakültatif anaerob, sporsuz, çubuk şeklinde bir bakteri türüdür. Genellikle insan ve hayvan bağırsaklarında olduğu için hastanede üriner sistem işlemlerinde bulaşmaya neden olabilir. *E. coli* glukoz besin maddesinden asit ve gaz yaparak, ekildiği besiyerlerinde kolayca renk değişimi oluşturmaktadır. *E. coli*, vejetatif üremesi sebebiyle düşük sıcaklık sterilizasyonları için tercih edilmiştir (Shintani, 1996; Soylu, 2005; Royalty-Hann, 2007; Guizelini ve ark., 2012; Thill ve Spaltenstein, 2020).

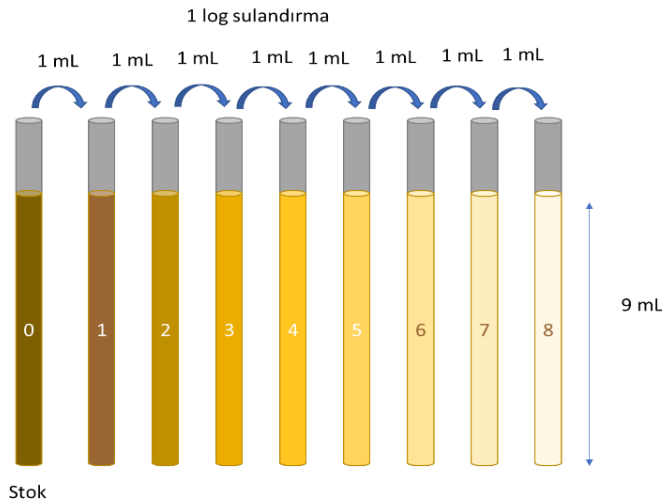
Biyoindikatörlerin kullanımı yaygın ve kalite yönetim sistemlerinde çoğu zaman zorunlu kılınmasına karşılık, sonuçlanma süresinin 24 saat olduğu, bu süre içerisinde olumsuz bir sonucun büyük etkisi olduğu gözlemlenmektedir. Sterilizasyon işleminde kullanılan biyoindikatörler etüvlerde bekletilerek cevap alınması hedeflenmektedir. Bu da mikroorganizmanın üreme süresine göre 18-24 saatlik bir süreyi kapsamaktadır. Bu süreç içerisinde uygun olmayan bir sterilizasyon işlemine ait ürünler dolaşıma çıkarsa, mikrobiyolojik kalite ve halk sağlığı üzerine doğrudan etkili olmaktadır. Yanlış paketleme, gaz konsantrasyon yetersizliği, sterilizasyon zaman ve sıcaklık yetersizliği, yükleme hataları, nem, buhar, basınç parametrelerinde uygunsuzluk gibi etkenler biyolojik indikatörlerin sonucunun pozitif olması halinde değerlendirilmektedir (ISO 14161, 2009; ISO 11140-1, 2014; ISO 13485, 2016; ISO 11138-1, 2017).

Sterilizasyon kontrolünde kullanılan biyolojik indikatörler uzun inkübasyon süreleri nedeniyle dezavantajlı olmaktadır. Geleneksel biyoindikatörler 24 saat içerisinde sonuç verirken, bu çalışmada dizayn edilen sistem ile 4 saat içerisinde sonuç alınmaktadır. Bu çalışmada alınan 4 saatteki sonuçla, sterilizasyonu başarısız olmuş malzemenin hastane içerisindeki kullanımı engellenmiştir. Optik okuma ile okuma hataları ortadan kaldırılarak, kişisel hatalar ortadan kaldırılmıştır.

2. Gereç ve yöntemler

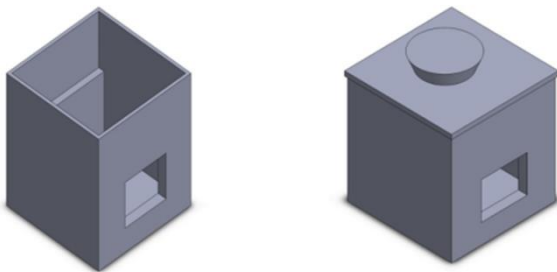
Bu çalışmada, sporlu mikroorganizma olarak *G. stearothermophilus* ve vejetatif formda bulunan mikroorga-

nizma olarak *E. coli* kullanılmıştır. Farklı şeker katkıları ile kullanılan iki bakteri, çiftli kontrol yapabilmek için seçilmiştir. Hazırlanan biyoidikatörler Arduino Uno ve TCS3200 sensör ile test edilmiştir. Çalışmada Brain Heart Infusion Broth içerisinde belirli oranlarda nişasta veya glukoz besin maddeleri, fenol kırmızısı veya brom krezol moru renk indikatörleri eklenmiştir. *G. steorotherophilus* ve *E. coli* üremesinin renk değişimi optik olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan Tryptic Soy Broth 125 mL ölçülerinde dörde ayrılmıştır. Birinci behere 1,2 g nişasta ve 0,16 g fenol kırmızısı, ikincisine 1,2 g glukoz ve 0,16 g fenol kırmızısı, üçüncüsüne 1,2 g nişasta ve 0,16 g brom krezol moru, dördüncüsüne 1,2 g glukoz ve 0,16 g brom krezol moru eklenerek manyetik karıştırıcıda homojenize edilmiştir. Eklenerek bakteri gücü saptanırken seri dilüsyonlar 10 ve güçleri halinde azaltılarak hesap yapılmıştır. 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 ve 10^1 güçlerinde ayarlanan indikatörlerin seyreltme işlemi Şekil 1’de gösterilmiştir. ISO 13485’e göre farklı enerji kaynakları ve renk indikatörleri için düşük, orta, yüksek seviyelerde bulaştırma gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1. Dilüsyon şeması.

Renk değişimi Şekil 2’deki gibi tasarlanan kutunun içinde ölçülmüştür. Üç boyutlu yazıcıdan yazdırılan kutu 70x70x70 cm boyutlarındadır. İçerisine renk tespitini gerçekleştirecek 6,6x6,6 cm boyutlarındaki TCS3200 renk sensörü sabitlenmiştir. Kapak boyu 7,5x7,5 cm ve Eppendorf tüp girişi 1,2 cm olacak şekilde tasarlanmıştır.



Şekil 2. Renk sensörü ve Eppendorf tüpün yerleştirildiği kutu.

Arduino Uno, USB kablosuyla bilgisayara bağlanarak 5V çalışma gerilimiyle renk sensörüne güç sağlamaktadır. Arduino Uno’da 14 adet dijital giriş/çıkış pini bulunur, bunlardan 6’sı PWM çıkışı olarak kullanılabilir. Arduinodaki pinler bilgisayara

bağlanarak kodlanmıştır (Arduino Türkiye, 2021). Renk sensörlerinde yaygın olarak kullanılan RGB (red, green, blue) renk uzayıdır. Görme işlemi ortamdaki ışık sayesinde gerçekleşir. Renk sensörünün ışığı algılamasıyla, görme olayının gerçekleşme prensibi benzerdir. TCS3200 renk sensöründe bulunan 4 adet beyaz LED cisme ışık gönderir, bu ışıklar cisme çarparak geri yansır ve sensör yansıyan ışınları değerlendirerek renk çeşitlerini belirlemektedir. Fotodiyot ve akım frekans dönüştürücü içeren renk sensörü oluşturduğu verileri bilgisayara uygun kodlarla aktarmaktadır. Bir adet çıkış ve dört adet giriş pini bulunmaktadır. Gelen ışığın şiddetiyle doğru orantılı kare dalga üretilir ve bu kare dalgayı kullanarak veri almaktadır. Sensör, fotodiyotların üzerindeki filtreler sayesinde renkleri ayırt etmektedir. Sensörde üzerindeki 8x8 fotodiyotların 16’sı mavi, 16’sı yeşil, 16’sı kırmızı filtredir ve geriye kalan 16 fotodiyotta ise filtre bulunmamaktadır. Renk bilgisini kontrol etmek için fotodiyotların S2 ve S3 pinleri kullanılmıştır. RGB renk uzayında veriler 0 ile 255 aralığında ifade edilmektedir. Örneğin 255-0-0 kırmızı rengi göstermektedir (Robotistan, 2021). Renk sensöründen elde edilecek sonuç için Arduino IDE uygulamasında kodlar yazılmıştır. Çalışmada üretilen biyoidikatörler Eppendorf tüplere aktarıldıktan sonra 37 °C ve 55 °C etüve yerleştirildi. 2 saatte bir etüvden çıkarılarak kutuya yerleştirildi ve okuma sonucu bilgisayar ekranından alındı.

ISO 13485 standardına uygun olacak şekilde düşük, orta ve yüksek seviyede bulaştırma yapılarak cihazın validasyonu gerçekleştirilmiştir. Öncelikle renk indikatörleri cihaza tanıtılarak sarı ve kırmızı renk değişimlerinin tanınması sağlanmıştır. 10 adet mor ve 10 adet kırmızı renk tüp pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. 10 adet sarı renk negatif kontrol olarak tanımlandıktan sonra okutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bakteri inokulasyon seviyesine göre 2 saatte bir değişim kontrol edilerek ölçümler kayıt altına alınmıştır. Bir örnek 3 kere okutulmuş ve hepsinde aynı sonuç alınmıştır.

3. Bulgular

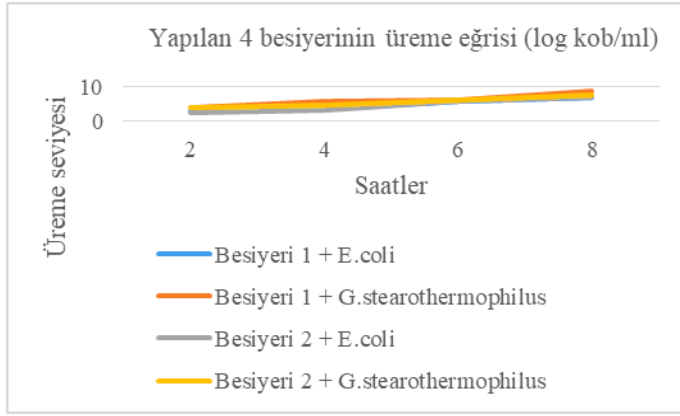
Biyoidikatörlerin sterilizasyon başarısını hızlı şekilde ölçmeye yönelik bir sistem dizayn edilmiştir. *G. steorotherophilus* ve *E. coli* için glukoz veya nişasta eklenen indikatörlerden alınan sonuçlar karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda fenol kırmızısı ve brom krezol moru sonuçları da renk indikatörü veriminde kıyaslanmıştır. Ekimlerden sonra 2, 4, 6, 8. saatlerde ölçüm yapılmıştır. Ölçüm sonuçları Tablo 1’de gösterilmiştir. Üreme grafiği ise Şekil 3’teki gibidir.

Tablo 1

Besiyeri çeşitlerinde bakterilerin saatlik üreme sayıları (log10 kob/mL).

Kontrol	Besiyeri 1	Besiyeri 1	Besiyeri 2	Besiyeri 2
Saatleri	1	+ <i>G. stearother-</i>	2	+ <i>G. stearother-</i>
	+ <i>E. coli</i>	<i>mophilus</i>	+ <i>E. coli</i>	<i>mophilus</i>
2	2,869232	3,908485	2,491362	3,982271233
4	3,748188	5,78533	3,380211	4,653212514
6	5,819544	6,041393	5,875061	6,322219295
8	6,838849	8,662757832	6,892095	7,838849091

Biyoidikatörde kullanılacak renk indikatör seçimi için yapılan çalışmada kullanılan PR ve BCP arasından hızlı sonuç alan renk indikatörü seçilmiştir. Alınan sonuçlar Tablo 2’de



Şekil 3. Üreme eğrisi.

Tablo 2

Bakteri cinsi ve enerji kaynağına göre tespit süreleri sonuç özeti.

Bakteri	İndikatör	Enerji Kaynağı	2.saat	4.saat	6.saat	8.saat	24.saat
<i>E. coli</i>	PR	Nişasta	-	+	+	+	+
		Glukoz	-	+	+	+	+
	BCP	Nişasta	-	+	+	+	+
		Glukoz	-	+	+	+	+
<i>G. stearrowthermophilus</i>	PR	Nişasta	-	+	+	+	+
		Glukoz	-	+	+	+	+
	BCP	Nişasta	-	-	-	-	+
		Glukoz	-	-	-	-	+

PR: Fenol kırmızısı, BCP: Brom krezol moru

Tablo 3

Bakteri cinsi ve enerji kaynağına göre tespit süreleri sonuç özeti.

Saat	Bakteri adı	Enerji kaynağı	Optik donanım okuma sonuçları			
			R	G	B	Değerlendirme
0. saat	<i>G. stearrowthermophilus</i>	Glukoz	38	31	32	Negatif
2. saat			38	31	33	Negatif
4. saat			30	26	35	Pozitif
6. saat			29	29	38	Pozitif
8. saat			29	31	40	Pozitif
24. saat			29	31	40	Pozitif

R: kırmızı, G: yeşil, B: mavi

Tablo 4

Bakteri cinsi ve enerji kaynağına göre tespit süreleri sonuç özeti.

Saat	Bakteri adı	Enerji kaynağı	Optik donanım okuma sonuçları			
			R	G	B	Değerlendirme
0. saat	<i>G. stearrowthermophilus</i>	Nişasta	38	30	33	Negatif
2. saat			38	31	33	Negatif
4. saat			32	27	38	Pozitif
6. saat			31	41	41	Pozitif
8. saat			29	31	40	Pozitif
24. saat			30	24	32	Pozitif

R: kırmızı, G: yeşil, B: mavi

Tablo 5

Bakteri cinsi ve enerji kaynağına göre tespit süreleri sonuç özeti.

Saat	Bakteri adı	Enerji kaynağı	Optik donanım okuma sonuçları			
			R	G	B	Değerlendirme
0. saat	<i>E. coli</i>	Glukoz	38	31	32	Negatif
2. saat			38	31	33	Negatif
4. saat			30	26	35	Pozitif
6. saat			29	29	38	Pozitif
8. saat			29	31	40	Pozitif
24. saat			29	31	40	Pozitif

R: kırmızı, G: yeşil, B: mavi

gösterilmiştir. PR daha hızlı ve etkili olduğu için seçildikten sonra biyoindikatör üretimine başlanmıştır. Bu üretim sonucunda ise tasarlanan deney düzeneğinde biyoindikatörler optik donanıma okutulmuştur. *G. stearrowthermophilus* için 4. saat itibarıyla glukoz enerji kaynağı pozitif sonuç vermiştir. Buna ait ayrıntılı bilgiler Tablo 3'te gösterilmiştir. 4. saat için *G. stearrowthermophilus* içeren ve 108, 107 değerinde ekim yapılan indikatörlerde renk değişimi gözlemlenmiştir. *G. stearrowthermophilus* kullanılan nişasta içerikli biyoindikatör ile 4. saat itibarıyla pozitif sonuç alınmıştır. Tablo 4'te saatlik değişimler gösterilmiştir. *E. coli* ve glukoz içerikli biyoindikatör 4. saatten sonra pozitif sonuç vermiştir ve Tablo 5'te görülmektedir. *E. coli* kullanılan nişasta içerikli biyoindikatör ile 4. saat itibarıyla pozitif sonuç alınmıştır. Buna ait saatlik veriler Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6

Bakteri cinsi ve enerji kaynağına göre tespit süreleri sonuç özeti.

Saat	Bakteri adı	Enerji kaynağı	Optik donanım okuma sonuçları			
			R	G	B	Değerlendirme
0. saat	<i>E. coli</i>	Nişasta	40	30	28	Negatif
2. saat			38	31	33	Negatif
4. saat			33	27	39	Pozitif
6. saat			29	29	38	Pozitif
8. saat			29	31	40	Pozitif
24. saat			30	28	36	Pozitif

R: kırmızı, G: yeşil, B: mavi

4. Tartışma

Bu çalışmada *E. coli*, ISO 11138 içerisindeki indikatör mikroorganizmalardan vejetatif grup için; *G. stearothermophilus*, sporlu grup için tercih edilmiştir. *E. coli* 100 °C üzerinde canlılığını kaybeden bir mikroorganizma olduğu için düşük sıcaklıklarda gerçekleşen sterilizasyonun etkisini araştırmada, *G. stearothermophilus* ise 121 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda canlılığını kaybeden sporlu bir mikroorganizma olması sayesinde yüksek sıcaklıklardaki sterilizasyonun etkisini test etmek üzere seçilmiştir. Çalışmanın amacı, geleneksel sistemlerde inkübasyon süresi 24 saat iken tarafımızdan seçilen bakterilerle ve farklı enerji kaynakları ile bu süreyi kısaltmaktır. Renk değişimi gözle ölçülemeyecek seviyede olması halinde optik donanım ile tespit edilerek insan hatası ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır. Otoklav işlemi bir başarısızlık ile sonuçlanması halinde hızlı biçimde tedbir alınarak kullanımda sterilite sağlanmaktadır.

Çalışmada kullanılan *G. stearothermophilus* ve *E. coli* mikroorganizmaları, ekimlerinden sonra 2, 4, 6, 8. saatlerinde alınan ölçümler ile değerlendirilmiştir. Bir başka araştırmada *E. coli*'nin birçok karbon kaynağından enerji elde edebildiği kaydedilmiştir ve bu sebeple çalışmamızda iki farklı şeker kaynağı kullanılmıştır. İki şeker kaynağı katabolik hücrel hızın aktivitesiyle ilgili olarak farklı zamanlarda sonuç vermiştir (Baev ve ark., 2006). Düşük miktarda enerji kaynağı olarak kullanılan şekerlerin yüksek metabolizma hızı ile üremeyi teşvik ettiği gözlemlenmiştir (Belaich ve Belaich, 1976). Bu veri çalışmamızda eklenen az miktarda glukoz ile hızlı sonuç aldığımız sonuçlarımızla uyumlu olmaktadır. Düşük miktarda enerji kaynağı olarak kullanılan şekerlerin yüksek metabolizma hızı ile üremeyi teşvik ettiği gözlemlenmiştir (Belaich ve Belaich, 1976). Bu veri çalışmamızda eklenen az miktarda glukoz ile hızlı sonuç aldığımız sonuçlarımızla uyumlu olmaktadır.

Okamoto ve ark. (2015), nişastadan bir vinil monomer itakonik asidin fermentatif üretimini üzerine çeşitli çalışmalar yapmıştır. Başka çalışmada *E. coli*'nin şekerleri kullanım metabolizması karşılaştırılarak; glukoz, galaktaz, mannoz, maltoz ribozdan hemen yararlanırken galaktozda büyüme gecikmeli olarak başlamıştır. Bu çalışmalar ile glukozdan hızlı sonuç elde edildiği bir kez daha görülmüştür (Lendenmann ve Egli 2020).

Minimal ve zengin glukoz ortamında *E. coli* genomunun hücre süreçleri düzenleyicilerinin önü açılmıştır. *E. coli*'nin asetat gibi oluşan metabolit streslerden kendini koruyabildiği bildirilmiştir. Buna bağlı olarak çalışmamızda glukoz ortamında üreme hızının yüksek seviyede olması açıklanabilmiştir (Tao ve ark. 1999).

Smerilli ve ark. (2015), *G. stearothermophilus* ve nişastayı kullanarak biyofafineri için önemli bir kimyasal olan laktik asit

üretimini gerçekleştirmiştir. Mtimet ve ark. (2015), bu alanda ürettikleri sporlar için, 45°C'de sıcaklıktakilerin 57°C sıcaklıktaki üretilenlere göre daha dayanıklı olduğunu kaydetmişlerdir. Yaygın olarak gıda endüstrisinde kullanılan *G. stearothermophilus*, besin kaynağı olarak kullandığımız nişastayı laktik asit üretimiyle göstermiştir.

Laskaris ve Chaney (1969), *B. stearothermophilus* için yaptıkları çalışmalarda son kullanma tarihinden önce ısı direncinde düşüş olduğunu, spor şerit preparatlarında standardizasyon eksikliğini kaydetmiştir. Geleneksel biyoindikatör tasarımı yapılmış ve 24 saatte cevap alınmıştır. Çalışmamızda kullanılan benzer mikroorganizma ile daha kısa sürede cevap alınarak bu sürenin kısaltılmasıyla halk sağlığı için zaman kazanılmıştır.

ISO standartlarına göre biyoindikatör olarak kullanılabilen bakteriler arasında *E. coli* bulunmaktadır. *E. coli* birçok kaynaktan test edilmiştir. Biyogaz tesislerinde patojen azaltma kapasitesi *Enterococcus faecalis* ve *Clostridium perfringens*, sırasıyla 55 °C ve 70 °C sıcaklıklarda gösterge organizmalar olarak kullanılabilirken, 37 °C'de *E. coli* indikatör olarak tercih edilmiştir (Watcharasukarn ve ark. 2009). Hossain ve ark. (2015), otoklavlama ve süper kritik karbon dioksit (SC-CO₂) tekniği ile klinik katı atıklarda bulunan *E. coli* inaktivasyonunu gerçekleştirmiştir. Otoklav sterilizasyonuna tabi tutulan klinik katı atıktaki bakterilerin inaktivasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada farklı sterilizasyon yöntemlerinde farklı bakterilerin indikatör olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir. Mikrodalga plazmanın sterilizasyon için kullanılması yeni bir yöntem olup, *E. coli* bu yöntemin sterilizasyon etkilerini araştırmak için kullanılmıştır. Bu çalışmada da geleneksel uygulama dışında *E. coli* kullanımı uygulanarak çalışmamızdaki *E. coli* seçimimizi desteklemiştir.

Spektrofotometre, fizik, gıda mühendisliği, biyoteknoloji alanlarında numunelerin temel ölçüm aracı olarak kullanılmaktadır. Kim ve ark. (2015), LED ve renk sensörünü kullanarak numune konsantrasyonunu ve renk bilgisini veren bir sistem tasarlamıştır. Spektrofotometreyle dalga boyu ve saflık değerlerini elde ederek ekonomik bir sistem kurmuşlardır. Bu veriler çalışmamızda elde edilen LED ve sensör uyumluluğu için destekleyici olmuştur.

Bu çalışmada Türkiye'de otoklav biyoindikatörü üretimini arttırarak ve üretim aşamalarını hızlandırarak toplam kaliteye hizmet etmek hedeflenmiştir. Çalışmamızda yaygın kullanılan biyoindikatörlere ek olarak sterilizasyon başarısının tespit süresi kısaltılmıştır. Bu da şeker kaynaklarının kullanım çeşitliliği sayesinde gerçekleştirilmiştir. Hassasiyet ile ilgili yaptığımız çalışmada, piyasada mevcut ürünlerde 8 log₁₀ kob/mL mikroorganizma mevcutken, yaptığımız şeker desteğine bağlı olarak 4. saat itibarıyla 5 log₁₀ kob/mL seviyesinde renk değişimi gözlemlenmiştir. Böylelikle az mikroorganizma kullanarak hızlı bir şekilde hassasiyet gözlemlenmektedir.

5. Sonuç

Piyasada yaygın olarak kullanılan biyoindikatörlerin sterilizasyon işleminin başarısız olması durumunda 24 saatte sonuç veriyor olması, kontamine tıbbi cihaz parçası veya malzemelerin kullanımı halinde enfeksiyon ve bulaşla sonuçlanabilmektedir. Bu çalışmada, *E. coli* ve *G. stearothermophilus* bakterileri ile farklı şeker katkısı eklenen brotlardan otoklav biyoindikatörleri elde edilmiştir. Hızlı ve hatasız cevap almak için Arduino Uno ve TCS3200 sensör ile ile tasarımı tamamlanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, her iki bakterinin ve her iki şeker katkısının yeterli olduğu belirlenmiştir. Fenol kırmızısı renk indikatörünün ise brom krezol moru renk indikatörüne göre hızlı cevap verdiği görülmüştür. Her iki bakterinin halk sağlığı için kullanıma uygun olduğu kaydedilmiştir. Bu çalışma ile bir otoklav işleminde kullanılan biyolojik indikatörün en kısa 4 saat sonra sterilite uygunluğunun belirlenebileceği tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler ile yerli biyoindikatör üretimine

Kaynaklar

- Albert, H., Davies, D. J. G., Woodson, L. P., & Soper, C. J. (1998). Biological indicators for steam sterilization: characterization of a rapid biological indicator utilizing *Bacillus stearothermophilus* spore-associated alpha-glucosidase enzyme. *Journal of Applied Microbiology*, 85(5), 865-874.
- Arduino Türkiye, (2021). Arduino Uno Resmi Web Sayfası, <http://arduinoturkiye.com/arduino-uno/>, Son erişim 4 Temmuz 2021.
- Baev, M., Baev, D., Radek, A. & Campbell, J. (2006). Growth of *Escherichia coli* MG1655 on LB medium: monitoring utilization of sugars, alcohols, and organic acids with transcriptional microarrays. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 310-316.
- Belaich, A., & Belaich, J. P. (1976). Microcalorimetric study of the anaerobic growth of *Escherichia coli*: measurements of the affinity of whole cells for various energy substrates. *Journal of Bacteriology*, 125(1), 19-24.
- Black, J. (1993). *Microbiology*. (pp. 1-334). Prentice Hall.
- Cabbari, H., Alikhah, H., Alamdari, N., Behzad, M., Mehrabi, E., Borzui, L. & Bakhshian, F. (2012). Developing the use of quality indicators in sterilization practices. *Iranian Journal of Public Health*, 64-69.
- Castillo, R. B. (2017). Establishment of penetration time on medical device product families based on ISO 17665-3 during performance qualification of steam sterilization: a case study. *18th Word Sterilization Congress*, Bonn, Germany, 4-7.
- Caylan, R. (2003). Sterilitenin Kontrolü, <https://www.das.org.tr/kitaplar/kitap2003/05.htm>, Son erişim 4 Temmuz 2021.
- Długokenski, R. E., Sella, S. R., Guizelini, B. P., Vandenberghe, L. P., Woiciechowski, A. L., Soccol, C. R., & Minozzo, J. C. (2011). Use of soybean vinasses as a germinant medium for a *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 sterilization biological indicator. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(2), 713-719.
- Genc, B. N. (2020). Critical management of COVID-19 pandemic in Turkey. *Frontiers in Life Sciences and Related Technologies*, 1(2), 69-73.
- Gillis, J., Mosley, G., Kowalski, J., Krushefski, G., Nirgenau, P., & McCauley, K. (2010). Understanding biological indicator grow-out times. *Journal of Pharmaceutical Technology*, 34, 1-9.
- Guizelini, B. P., Vandenberghe, L. P., Sella, S. R. B., & Soccol, C. R. (2012). Study of the influence of sporulation conditions on heat resistance of *Geobacillus stearothermophilus* used in the development of biological indicators for steam sterilization. *Archives of Microbiology*, 194(12), 991-999.
- Hansen J., M., Fidopias N., Bryans T., Luebke M. & Rymer T. (2020). Radiation sterilization: Dose is dose. *Biomedical Instrumentation Technology*, 54(1), 45-52.
- Hossain, M., Balakrishnan, V., Rahman, N. N. A., Sarker, M., Islam, Z., & Kadir, M. O. A. (2012). Treatment of clinical solid waste using a steam autoclave as a possible alternative technology to incineration. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(3), 855-867.

yönelik bir prototip oluşturulmuş ve bu ürünlerin hazırlanmasında da rehber doküman olarak hizmet etmesi hedeflenmiştir. Optik ve elektronik donanım ile insan hatası olmadan hızlı bir şekilde sonuç alınan bu sistem sayesinde kalite kontrol süreçlerinin daha hızlı ve doğru yapılabileceği kanaati oluşmuştur.

Teşekkür: Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı yüksek lisans programı kapsamında yazılan yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır.

Çıkar çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Etik beyanı: Bu çalışmada, yazarlar, hiç bir insan ya da hayvan denek kullanılmadığını ve Etik Kurul iznine gerek olmadığını beyan eder.

- ISO 11138-1, (2017). Sterilization of health care products - Biological indicators - Part 1: General requirements.
- ISO 11140-1, (2014). Sterilization of health care products - Chemical indicators - Part 1: General requirements.
- ISO 13485, (2016). Medical devices - Quality management systems - Requirements for regulatory purposes.
- ISO 14161, (2009). Sterilization of health care products - Biological indicators - Guidance for the selection, use and interpretation of results.
- Kim, J. S., Kim, A. H., Oh, H. B., Goh, B. J., Lee, E. S., Kim, J. S., ... & Jun, J. H. (2015). Simple LED spectrophotometer for analysis of color information. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 26(s1), 1773-1780.
- Laskaris, T., & Chaney, A. L. (1969). Reliability of biologic autoclave sterilization indicators. *American Journal of Clinical Pathology*, 52(4-ts), 495-500.
- Lendenmann, U., & Egli, T., (1995). Is *Escherichia coli* growing in glucose-limited chemostat culture able to utilize other sugars without lag?, <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/micro/141/1/mic-141-71.pdf?expires=1605721776&id=id&accname=guest&checksum=BF39A4A3CE8AAF93AB4857F5F2336640>, Son erişim 4 Temmuz 2021.
- Mtimet, N., Trunet, C., Mathot, A. G., Venaille, L., Laguerinel, I., Coroller, L., & Couvert, O. (2015). Modeling the behavior of *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 12980 throughout its life cycle as vegetative cells or spores using growth boundaries. *Food Microbiology*, 48, 153-162.
- Okamoto, S., Chin, T., Nagata, K., Takahashi, T., Ohara, H., & Aso, Y. (2015). Production of itaconic acid in *Escherichia coli* expressing recombinant α -amylase using starch as substrate. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 119(5), 548-553.
- Panta, G., Richardson, A. K., Shaw, I. C., Chambers, S., & Coope, P. A. (2019). Effectiveness of steam sterilization of reusable medical devices in primary and secondary care public hospitals in Nepal and factors associated with ineffective sterilization: A nation-wide cross-sectional study. *Plos One*, 14(11), e0225595.
- Pflug, I. J., & Odlaug, T. E. (1986). Biological indicators in the pharmaceutical and medical device industry. *Journal of Parenteral Science and Technology*, 40, 242-248.
- Robotistan, (2021). TCS3200 ve Arduino ile Renk Algılama Uygulaması, <https://maker.robotistan.com/tcs3200-ile-renk-algilama-uygulamasi/#Gerekli-Malzemeler>, Son erişim 4 Temmuz 2021.
- Royalty-Hann, W. (2007). Solutions for biological indicator problems from a quality assurance viewpoint. *Biocontrol Science*, 12(2), 77-81.
- Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2001). New disinfection and sterilization methods. *Emerging Infectious Diseases*, 7(2), 348-353.
- Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2013). Disinfection and sterilization: an

- overview. *American Journal of Infection Control*, 41(5), 2-5.
- Shintani, H. (1996). Factors in the preparation of biological indicators that affect the decimal reduction time. *Biomedical Instrumentation & Technology*, 30(5), 449-453.
- Shintani, H. (2011). Validation of sterilization procedures and usage of biological indicators in the manufacture of healthcare products, *Biocontrol Science*, 1-4.
- Sigwarth, V., & Moirandat, C. (2000). Development and quantification of H₂O₂ decontamination cycles. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 54(4), 286-304.
- Smerilli, M., Neureiter, M., Wurzh, S., Haas, C., Frühauf, S., & Fuchs, W. (2015). Direct fermentation of potato starch and potato residues to lactic acid by *Geobacillus stearothermophilus* under non-sterile conditions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 90(4), 648-657.
- Soylu, T. (2005). Sterilizasyonun kontrolü. In: Gunaydin, M., Sarnic, A., Gurler, B. (eds). 4. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi*, İstanbul, 87-98.
- Tao, H., Bausch, C., Richmond, C., Blattner, F. R., & Conway, T. (1999). Functional genomics: expression analysis of *Escherichia coli* growing on minimal and rich media. *Journal of Bacteriology*, 181(20), 6425-6440.
- Thill, S. A., & Spaltenstein, M. (2020). Toward efficient low-temperature ozone gas sterilization of medical devices. *Ozone: Science & Engineering*, 42(5), 386-398.
- Vesley, D., Langholz, A. C., Rohlfing, S. R., & Foltz, W. E. (1992). Fluorimetric detection of a *Bacillus stearothermophilus* spore-bound enzyme, α -d-glucosidase, for rapid indication of flash sterilization failure. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(2), 717-719.
- Wallace, C. A. (2016). New developments in disinfection and sterilization. *American Journal of Infection Control*, 44(5), 23-27.
- Watcharasukarn, M., Kaparaju, P., Steyer, J. P., Krogfelt, K. A., & Angelidaki, I. (2009). Screening *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Clostridium perfringens* as indicator organisms in evaluating pathogen-reducing capacity in biogas plants. *Microbial Ecology*, 58(2), 221-230.

Cite as/Atıf şekli: Kanyilmaz, N., & Koluman, A. (2021). Tıbbi sterilizasyonun kontrolünde kullanılan biyoindikatör sistemi tasarlanması. *Front Life Sci RT*, 2(2), 60-67.