

Ultraviyole Dezenfeksiyon Yöntemi İle Numerik Pad Dezenfeksiyon Uygulaması

¹Muhammed Yıldız, ^{*2}Bilal Gürevin, ¹Furkan Gültürk, ³Tansel Cavit Kulak, ³Fatih Mehmet Yılmaz, ⁴Ali Furkan Kamanlı

¹Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Elektrik Elektronik Mühendisliği, Türkiye

^{*2}Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Mekatronik Mühendisliği, Türkiye
³Optimum Süreç Tasarımı ve Uygulamaları San. Tic. Ltd. Şti., Türkiye

⁴Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği, Türkiye

Özet

Bu çalışmada UV-C led ile dezenfektan işleminin bakteri popülasyonundaki üremeyi nasıl etkilediği üzerine bir inceleme yapılmıştır. Bu amaçla özellikle banka ve fabrika girişlerinde sıklıkla kullanılan numerik padler üzerinde UV-C uygulamasının yapılabilmesi için bir prototip geliştirilmiştir. Bu prototip kullanılarak yüzey üzerine belli sürelerde UV-C uygulaması yapılmıştır. Her bir işlem sonunda tek kullanımlık steril çöpler yardımı ile yüzeyden örnekler alınarak kanlı agar besiyerinde sürüntü testi yapılmıştır. Petri kaplarında bir haftalık süreç sonunda oluşan bakteri popülasyonları Pycharm programında Python programlama dili kullanılarak görüntü işleme teknikleri ile ölçülmüştür. Çıkan sonuçlara göre UV-C Ledin uygulanma süresinin bakteri popülasyonundaki artışı nasıl etkilediği incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: UV-C, görüntü işleme, dezenfektan, numerik pad, kanlı agar besiyeri

Abstract

In this study, an investigation has been made on how UV-C led disinfectant treatment affects growth in the bacterial population. For this purpose, a prototype has been developed for UV-C application on numerical pads, which are frequently used in banks and factory counters. Using this prototype, UV-C was applied on the surface for certain periods. At the end of each process, samples were taken from the surface with the help of disposable sterile stick and a test was performed on blood agar petri dishes. The bacterial populations formed at the end of a week in petri dishes were measured with image processing techniques using the Python programming language in the Pycharm program. According to the results, it was examined how the application time of UV-C Led affects the increase in the bacterial population.

Key words: UV-C, image processing, disinfectant, numerical pad, blood agar petri dishes

1. Giriş

Dezenfeksiyon bir cisim ya da maddenin patojen mikroorganizmalardan (bakteri sporları hariç) arındırılması (öldürülmesi veya üremelerinin durdurulması) işlemi olarak tanımlanmaktadır [1-2]. 2019'un son çeyreğinde Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıktığı ileri sürülen ve dünya çapında hızlı bir yayılım gösteren Covid-19 virüs salgını ile bu terim sıklıkla duyulmaya başlamıştır [3]. Enfeksiyon kontrolünde adını sıkça duyduğumuz bir diğer terim ise sterilizasyondur. Bu iki kavram birbirine yakın gibi görünse de dezenfeksiyon işlemindeki hedef zararlı ve patojen özellikte olan mikroorganizmalar iken sterilizasyon işleminde ise zararlı ve zararsız tüm mikroorganizmalar hedef alınmaktadır [4]. Bu iki yöntem kimyasal maddeler ile sağlandığı gibi fiziksel yöntemler ile de sağlanabilmektedir. Kimyasal madde ile dezenfektasyon yöntemi geçmiş yıllardan günümüze kadar devam etmekte iken fiziksel bir yöntem olan UV (ultraviyole) ışıkla dezenfeksiyon yöntemi ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır [5].

Her ne kadar geçmiş yıllarda üzerinde yoğunlaşılma bir yöntem olsa da UV ile dezenfektasyon son günlerde tüm dünyanın araştırma ve ilgi odağı olmuştur. UV ışınlar dalga boylarına göre UVA, UVB, UVC, MUV olarak değişik dalga boylarına ayrılmaktadır [6]. Covid-19 olarak duyduğumuz ve bir diğer adı SARS-CoV-2 olarak bilinen bu ve benzeri birçok virüs viral genomunu RNA taşıırken, bazı türlerde bu işlemi DNA yapar. Her iki nükleik asit de 265nm UV dalga boyunda parçalanıp yok olmaktadır [7-8]. Tüm bu bilgiler ışığında UV ışınlarının yüzey ve ortam dezenfeksiyonundaki uygulama farklılıkları büyük önem arz etmektedir. Günlük kullanım, seyahat, kamu, yiyecek, su endüstrisi, hastane gibi ortam farklılıklarında uygulanacak yöntemler de farklılık gösterecektir [9-10]. Yüzey temizliği için uzun zaman alan geniş ortamların dezenfeksiyonunda alan temizliğini üstlenecek UV uygulamalarına olan ihtiyaç artışı gözlemlenmektedir.

Bu çalışmada günlük hayatta birçok kişi tarafından kullanılan bankamatiklerdeki numerik padler gibi mikropların çokça bulunduğu bir alan üzerinde fiziksel dezenfektan olarak kullanılması amacıyla bir prototip geliştirilmiştir. Bu prototip sayesinde belirli bir yüzey alanındaki mikropların UV ışınlar ile ne oranda etkisiz hale getirildiği gözlemlenmiştir. Gerçekleştirilen uygulama iki aşamada ele alınmıştır. Birinci aşamada kendi kurduğumuz deney düzeneğimiz sayesinde belli sayıda numune alımı gerçekleştirilmiştir. Ve numune alımında izlenen prosedür hakkında bilgi verilmiştir. İkinci aşamada ise alınan numunelerdeki bakteri popülasyonunun çoğalma miktarları görüntü işleme tekniği ile incelenmiştir. Çıkan sonuçlar yüzde üreme miktarı olarak değerlendirilmiştir.

2. Materyel ve Metod

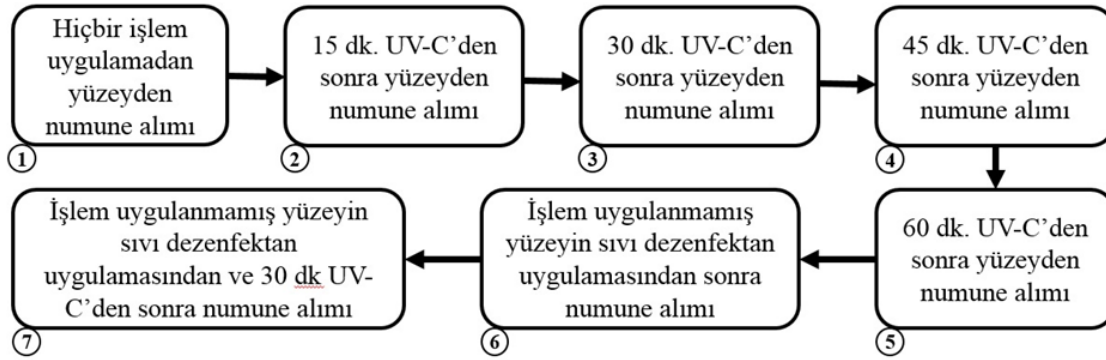
2.1. Deney düzeneği ve Numune Alma

Deneyin ilk aşamasında fabrika gişesinde çok sayıda personel tarafından kullanılan numerik padden bakteri popülasyonunu ölçmek için numune alımı gerçekleştirilmiştir. Yüzeyden numune alımında tek kullanımlık steril çöplerden faydalanılmıştır. Alınan numuneler kanlı agar besiyerinde 37 °C sıcaklıkta bir haftalık bir süre boyunca bekletilmiştir [11].



Şekil 1. Numerik pad dezenfektan prototipi

Numune alımı prosedürü Şekil 2’de gösterildiği gibi 7 aşamadan oluşmaktadır. Şekil 1’deki kendi geliştirdiğimiz UV-C dezanfeksiyon prototipi sayesinde bu prosedüre göre işlemler gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada numerik pad yüzeyinden hiçbir sterilizasyon işlemi uygulanmadan numune alınmıştır. İkinci aşamada yüzeye toplamda 15 dk. UV-C uygulaması yapıldıktan sonra numune alımı yapılmıştır. Üç, dört ve beşinci aşamaların her birinde ilave 15 dk. daha UV-C uygulaması yapılarak toplamda 30 dk., 45 dk. ve 60 dk. UV-C uygulamasından sonra numune alımı yapılmıştır. Altıncı aşamada hiçbir işlem görmemiş yüzeyden sadece sıvı dezenfektan uygulaması yapılarak numune alımı yapılmıştır. Son aşamada ise hiçbir işlem görmemiş yüzeyden hem sıvı dezenfektan hem de 30 dk. UV-C uygulamasından sonra numune alımı yapılmıştır.



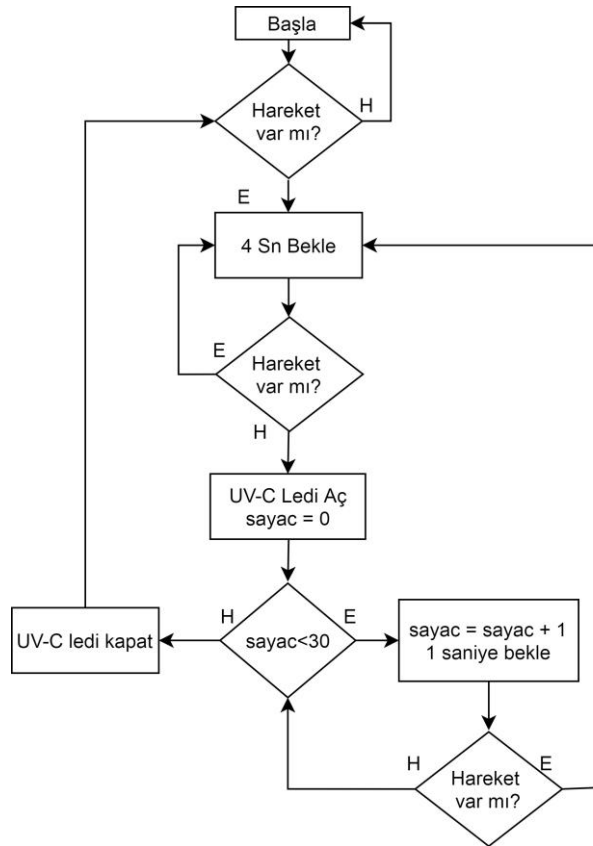
Şekil 2. Deney prosedürü

Şekil 1’deki aşamalara göre alınan numuneler belirlenen gün ve sıcaklıkta bekletildikten sonra bir sonraki bölümde her bir petri kabındaki bakteri popülasyonundaki üreme miktarları incelenmiştir.

2.1.1. UV-C Uygulaması

Numerik pad üzerine UV-C uygulaması Şekil 3’de gösterilen algoritmaya göre gerçekleştirilmiştir. Güç düğmesine basıldıktan sonra cihaz aktif olmaktadır. Hareket sensörü herhangi bir hareket

algıladığında dört saniye bekler ve sensör hala sinyal vermeye devam ediyorsa sinyal kesilene kadar beklemeye devam etmektedir. Sensörden sinyal gelmiyorsa UV-C led bir yarı iletken anahtarlama elemanı ile otuz saniyelik sterilizasyon işlemine başlamaktadır. Sterilizasyon sırasında sensör hareket algılasa, sinyal bitene kadar sterilizasyon işlemi durur ve hareket bittikten sonra tekrar çalışmaya başlamaktadır.



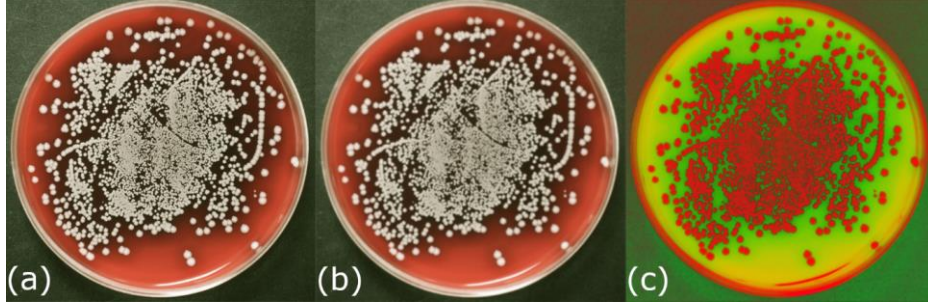
Şekil 3. Deney prosedürü

2.1.2. Bakteri popülasyonu ölçümü

Bu bölümde bir önceki bölümde alınan numunelerdeki bakteri popülasyonunun çoğalma durumu incelenmiştir. Alınan numunelerin kanlı agar besiyerinde belirli bir süre ve sıcaklıkta bekletilmesi sonrasında oluşan bakteri popülasyonu yüksek çözünürlüklü bir kamera ile fotoğraflanmıştır. Oluşturulan bu fotoğraflar üzerinde bakterinin kendi karakteristik rengine sahip olan pikseller sayılarak yaklaşık olarak bir yüzey alanı hesaplanmıştır. Bu amaçla Pycharm editöründe Python dili, OpenCV kütüphanesi ve geleneksel görüntü işleme teknikleri kullanılarak temel nitelikte bir yazılım geliştirilmiştir.

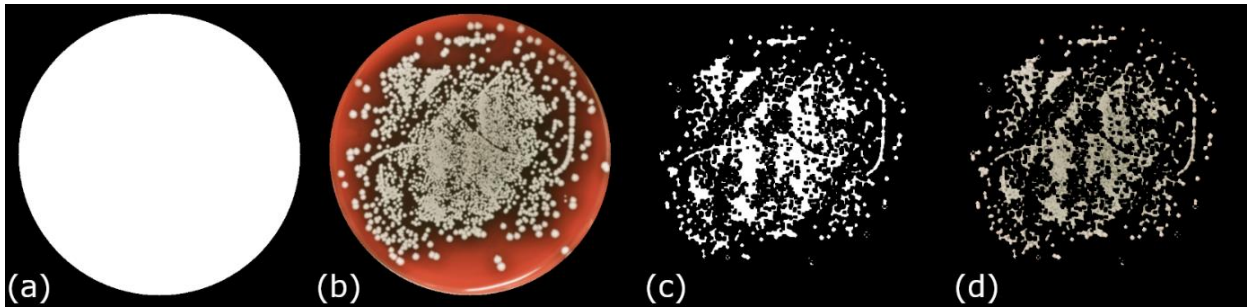
Bakteri popülasyonu ölçümü gerçekleştirilirken görüntü birkaç adımda işlenmektedir. Bu adımlardan ilki, görüntüdeki gürültüleri gidermek için görüntünün bulanıklaştırıldığı (bluring) filtreleme (filtering) aşamasıdır. Görüntüdeki büyük nesnelerin incelenmesi için küçük nesnelere

bulanıklaştırılarak daha da küçültülür ve bu sayede gürültüler azaltılır. Şekil 4’de görüntü üzerinde 5x5 boyutlu Gauss bulanıklaştırma filtre çekirdeği uygulanmış numune görüntüsü görülmektedir. İkinci aşama, BGR renk uzayındaki görüntünün HSV renk uzayına dönüştürüldüğü aşamadır. Renk uzayı dönüşümü ile amaçlanan görüntü üzerindeki renklerin karışıklığı artırılarak renklerin daha ayırt edilebilir hale gelmesidir [12, 14]. Şekil 2. (c)’de HSV renk uzayına dönüştürülmüş görüntü gösterilmiştir.



Şekil 4. (a) Numune görüntüsü, (b) bulanıklaştırma sonrası görüntü, (c) HSV renk uzayındaki görüntü

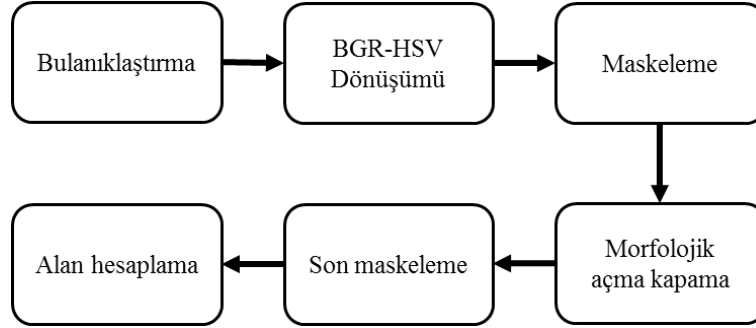
Üçüncü aşamada ise alanı ölçülecek görüntü bölgelerinin maskeleneceği maskeleme (masking) aşamasıdır. Maskeleme aşaması, görüntü üzerinde kanlı agar besiyeri ve bakterileri içeren iki farklı görüntü alanı için iki farklı maske içermektedir. Her maske, belirlenen renk aralıklarındaki pikseller için ‘1’ ve aralık dışındaki pikseller için ise ‘0’ değerini alan binary değerdeki görüntülerdir. Şekil 5’te numune görüntüsüne sırasıyla uygulanan maskeler ve maskeleme sonrası görüntüler gösterilmiştir.



Şekil 5. (a) Besiyeri maskesi, (b) Maske uygulanması sonrası görüntü, (c) Bakteri alanı maskesi, (d) Maske uygulandıktan sonra bakteri alanı görüntüsü

Dördüncü ve beşinci aşamalar morfolojik açma ve kapama aşamalarıdır. Morfolojik açma ve kapama işlemlerinin her biri aşınma (erode) ve genişleme (dilation) işlemlerinin farklı sırayla uygulanmasıyla oluşur. Ve bu işlemlerin uygulanmasıyla maske üzerindeki görüntü bölgesi dışında ve içinde bulunan nokta ve ince çizgi şeklindeki gürültüler giderilmektedir [15, 16]. Son aşama besiyeri ve bakteri alanlarının hesaplanması aşamasıdır. İşlenecek her numune görüntüsü için

bakteri alanının hesaplanması yanısıra besiyerinin yüzey alanının hesaplanması da zorunludur. Besiyeri alanının mm^2 cinsinden ölçülen yüzey alanı ile görüntü üzerinden hesaplanan piksel cinsinden alan değerleri arasında doğru orantı kurularak bakterinin mm^2 birimi cinsinden besiyeri yüzeyinde ne kadar alan kapladığı hesaplanmaktadır. Hesaplanan alanların birbirine oranı da hesaplanarak üreme oranı elde edilmektedir. Şekil 6'da bakteri popülasyonunu ölçmek için kullanılan görüntü işleme programın algoritması gösterilmektedir.



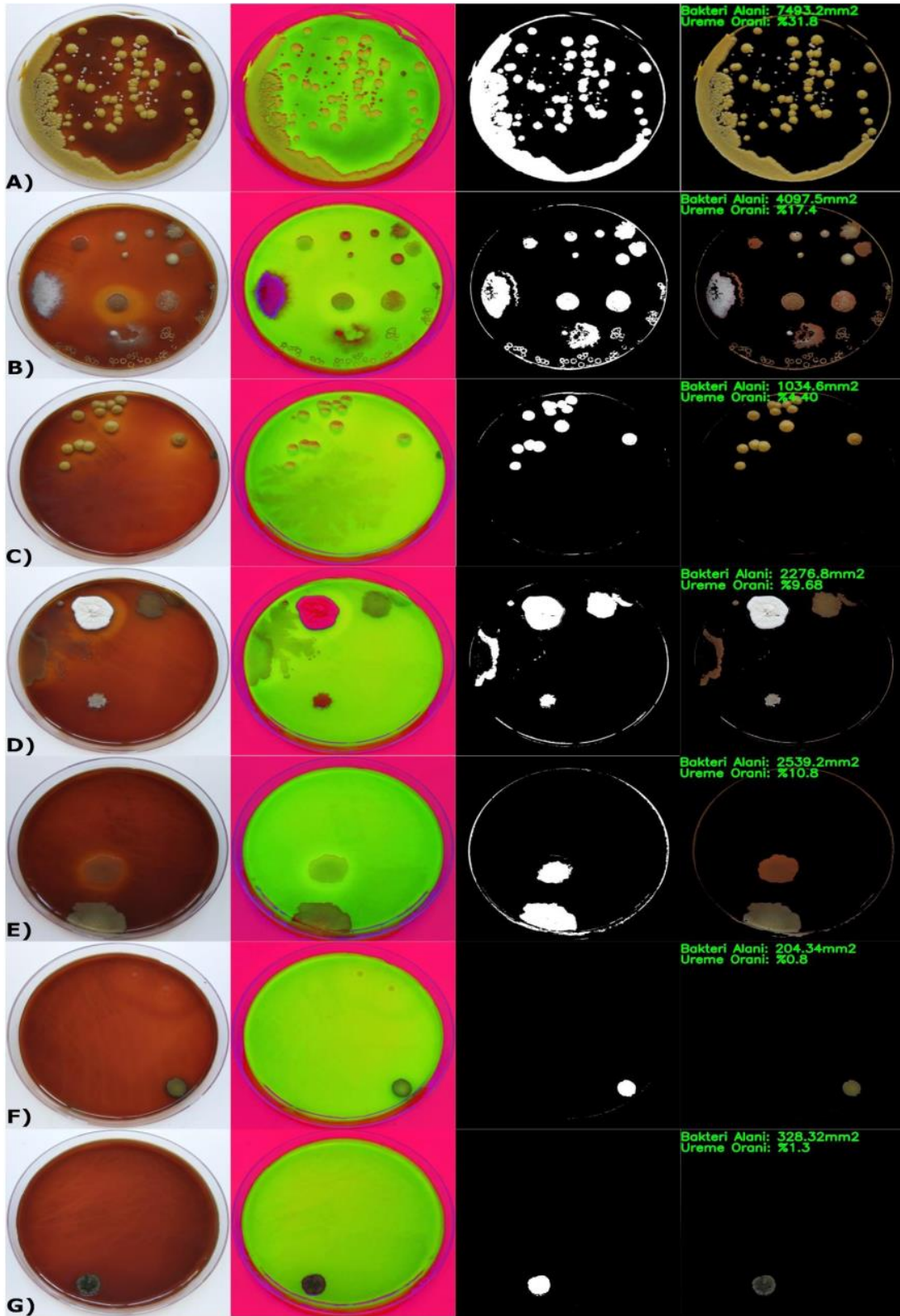
Şekil 6. Görüntü işleme ile bakteri popülasyonu tespiti aşamaları

3. Sonuçlar

Bölüm 2.1'de anlatılan yedi aşamadan oluşan deney prosedürüne göre alınan numunelerin bakteri popülasyonundaki üreme miktarları bir haftalık süre sonunda görüntü işleme teknikleri uygulanarak incelenmiştir. Görüntü işleme sonucunda elde edilen bakteri üreme oranları Şekil 6'da gösterildiği gibidir. Şekil 6 incelendiğinde hiç bir işlem uygulanmamış yüzeyde (Şekil 7-A) bakteri üremesi %31.8 iken 1 saatlik UV-C uygulanmış yüzeyin (Şekil 7-E) bakteri miktarı %10.8'dir. Sonuçlara bakıldığında en iyi değerlerin sıvı dezenfektan uygulanan Şekil 7-F ve hem sıvı dezenfektan hem de 30 dk. UV-C uygulaması yapılan Şekil 7-E de olduğu görülmektedir. Ayrıca 7 farklı petri kabından elde edilen sonuçlar Tablo 1'de toplu olarak ifade edilmiştir.

Tablo 1. Bakteri popülasyon miktarı

Numuneler	Bakteri Alanı (mm^2)	Üreme Oranı (%)
Numune-1 (işlem uygulanmayan yüzey)	7493.2	31.8%
Numune-2 (15 dk UV-C uygulaması)	4097.5	17.4%
Numune-3 (30 dk UV-C uygulaması)	1034.6	4.40%
Numune-4 (45 dk UV-C uygulaması)	2276.8	9.68%
Numune-5 (60 dk UV-C uygulaması)	2539.2	10.8%
Numune-6 (sıvı dezenfektan uygulaması)	204.34	0.8%
Numune-7 (sıvı dezenfektan / 30 dk UV-C)	328.32	1.3%



Şekil 7. 7 aşamadan oluşan deney prosedürü sonucunda elde edilen bakteri popülasyonları

4. Tartışma

Klinik mikobakteriyoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan kanlı agarın son yıllarda mikrobakterilerin üretilmesinde de kullanılabileceği tespit edilince bu durum ilgi odağı olmuştur [17]. Kanlı agarda bakteri üremesi 1-2 hafta içinde olgunlaşmış ve gözle görülür belirgin bir görüntüye kavuşmuştur. Alınan örneklerle yapılan çalışmada UV-C uygulamasına maruz kalma süresi ile bakteri oluşum oranı arasındaki ters orantı verilen karşılaştırma tablosunda görülmüştür. Verilerin ve görüntüler ışığında uygulamanın verimli bir şekilde sonuçları açığa çıkardığı ve bakteri alanlarındanda gözle ayırt edilebilir bir sonuç alındığı görülmektedir. Ayrıca bu tür bir uygulamanın görüntü işleme ile yapılmış olması üreme oranı ölçümüne farklı bir motod ile yaklaşıldığını göstermektedir.

Kaynaklar

- [1] İ. Dolapçı, "Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon," Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2015–2016 Ders Notu, pp. 1–20, 2016.
- [2] R. Güven. "Dezenfeksiyon ve sterilizasyon uygulamalarında hasta güvenliği kavramı". 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 411-422., 2007.
- [3] C. COVID & R. Team. Severe outcomes among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19)—United States, MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 69(12), 343-346, 2020.
- [4] C. H. Miller. "Sterilization and disinfection: what every dentist needs to know". The Journal of the American Dental Association, 123(3), 46-54, 1992.
- [5] A. Downes and T. P. Blunt, "The Influence of Light upon the Development of Bacteria 1," Nature, vol. 16, no. 402, pp. 218–218, 1877.
- [6] N. Özkütük, "Ultraviyole Lambalarının Kullanımı," 5. Ulus. Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, pp. 490–496, 2007.
- [7] P. Schubert, L. Johnson, D. C. Marks, and D. V. Devine, "Ultraviyolelet-based pathogen inactivation systems: Untangling the molecular targets activated in platelets," Front. Med., vol. 5, no. MAY, pp. 1–10, 2018.
- [8] T. Oppenländer, "Photochemical Purification of Water and Air: Advanced Oxidation Processes (AOPs) - Principles", Reaction Mechanisms, Reactor Concepts. 2003.
- [9] R. H. Davis, "Disinfection, Sterilization and Preservation", Am. Biol. Teach., 1969.
- [10] N. F. Gray, "Ultraviolet Disinfection. In Microbiology of Waterborne Diseases" (pp. 617-630). Academic Press, 2014.
- [11] A. Y. Çoban, A. Akgüneş & B. Durupinar. "Mikobakterilerin Üretilmesinde Kanlı Agar Besiyerinin Değerlendirilmesi". Mikrobiyol Bul, 45(4), 617-622, 2011.
- [12] G. M. Perihanoglu. "Dijital görüntü işleme teknikleri kullanılarak görüntülerden detay çıkarımı" (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü), 2015.
- [13] S. M. Aktürk & M. Aykut. "An improvement on GrabCut interactive segmentation method based on input color spaces". In 2018 26th Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU) (pp. 1-4). IEEE, 2018.
- [14] A. Albayrak & G. Bilgin. "Effects of color spaces to the cell segmentation in histopathological images". In 2016 24th Signal Processing and Communication Application Conference (SIU) (pp. 829-832). IEEE, 2016.

- [15] G. M. Perihanoglu, U. Özerman & D. Z. Şeker. “Kenar Algılama ve Morfoloji Operatörleri Kullanılarak Detay Çıkarımı Üzerine Bir Uygulama. Geomatik”, 3(2), 120-128, 2018
- [16] G. Yıldız & D. Yıldız, D. “Morfolojik İşlemler ve Kenar Algılama Yöntemler Vasıtasıyla Beyin Tümör Yeri Tespiti ve Tümör Alan Hesabının Yapılması”. International Journal of Multidisciplinary Studies and Innovative Technologies, 2(2), 39-42, 2018.
- [17] M. Drancourt, P. Carrieri, MJ. Gévaudan, D. Raoult. “Blood agar and Mycobacterium tuberculosis”: the end of a dogma. J Clin Microbiol; 41(4): 1710-1, 2003.