

60174

T.C

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YÜZEY DEZENFEKTANLARININ BAKTERİSİDAL
ETKİNLİĞİNİ BELİRLEMEDE KAPASİTE, TAŞIYICI VE
SÜSPANSİYON YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ö. ALPAY ÖZBEK
UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN : Doç. Dr. Y. HAKAN ABACIOĞLU

İZMİR 1997

TEŐEKKÜR

Asistanlık eğitimim ve tezimle ilgili çalıŐmalarımdaki katkılarından ötürü danışman hocam Sayın Doç. Dr. Y. Hakan ABACIOĞLU'na, anabilim dalı başkanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nuran YULUĞ'a, ayrıca yetiŐmemde emekleri geçen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Vedat ORHAN'a, Sayın Prof. Dr. Nedim akır'a, Sayın Prof. Dr. Hakkı BAHAR'a, Sayın Prof. Dr. AyŐe YÜCE'ye, Sayın Doç. Dr. Zeynep GÜLAY'a, Sayın Doç. Dr. Mine YÜCESOY'a, Sayın Öğr. Gör. Dr. Özlem YILMAZ'a ve tüm çalışma arkadaşlarıma teŐekkür ederim.

Dr. Ö. Alpay Özbek
Eylöl 1997

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| TABLO LİSTESİ----- | i |
| KISALTMALAR----- | ii |
| ÖZET ----- | iii |
| SUMMARY----- | iv |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ----- | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER ----- | 2 |
| 2.1. Kullanılan Terimlerin Tanımlanması----- | 2 |
| 2.2. Dezenfektanların Sınıflandırılmaları ve Etki Mekanizmaları ----- | 3 |
| 2.2.1. Alkoller----- | 3 |
| 2.2.2. Halojenler----- | 4 |
| 2.2.2.1. Klor ve Klor Bileşikleri----- | 4 |
| 2.2.2.2. İyot ve İyot Bileşikleri----- | 5 |
| 2.2.3. Formaldehit----- | 6 |
| 2.2.4. Glutaraldehit----- | 6 |
| 2.2.5. Fenoller----- | 7 |
| 2.2.6. Kuaterner Amonyum Bileşikleri----- | 8 |
| 2.2.7. Peroksijen bileşikleri----- | 9 |
| 2.2.8. Ağır metaller----- | 9 |
| 2.3. Dezenfektan Test Yöntemlerinin Tarihsel Gelişimi----- | 11 |
| 2.4. Dezenfektan Test Yöntemlerinin Esasları----- | 16 |
| 2.4.1. Mikroorganizmalar----- | 16 |
| 2.4.2. Besiyeri ve Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması----- | 16 |
| 2.4.3. Mikroorganizmalarla dezenfektanın karşılaşma koşulları----- | 17 |
| 2.4.4. Mikroorganizma Süspansiyonu ve Dezenfektanların hacimleri----- | 17 |
| 2.4.5. Isının Etkisi----- | 17 |
| 2.4.6. Dezenfektanların Konsantrasyon ve Süre İlişkisi----- | 17 |
| 2.4.7. Etkileşen maddeler----- | 18 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4.8. Artık dezenfektan etkinliğinin durdurulması | 18 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 20 |
| 3.1. Gereç | 20 |
| 3.1.1. Besiyerleri | 20 |
| 3.1.1.1. Tryptone Soya Agar | 20 |
| 3.1.1.2. Tryptone Soya Broth | 20 |
| 3.1.2. Sulandırma Çözeltisi | 20 |
| 3.1.3. Sert Su | 21 |
| 3.1.4. Taşıyıcı | 21 |
| 3.1.5. Organik Madde | 21 |
| 3.1.5.1. Temiz koşullar için | 21 |
| 3.1.5.2. Kirli koşullar için | 21 |
| 3.1.6. Nötralizan Maddeler | 21 |
| 3.1.7. Bakteri Suşları | 22 |
| 3.1.8. Kullanılan Dezenfektanlar | 22 |
| 3.1.8.1. Sumatox® | 22 |
| 3.1.8.2. Surfalyse® | 22 |
| 3.1.8.3. 50FF® | 22 |
| 3.1.9. Kullanılan Diğer Alet ve Cihazlar | 23 |
| 3.2. Yöntem | 23 |
| 3.2.1. Bakteri Süspansiyonunun Hazırlanması | 23 |
| 3.2.2. Nötralizan Karışımının İşlevinin Test Edilmesi | 23 |
| 3.2.3. Test Yöntemleri | 24 |
| 3.2.3.1. Modifiye Kelsey-Sykes Yöntemi | 24 |
| 3.2.3.2. "European Suspension Test" Yöntemi | 26 |
| 3.2.3.3. "Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie" Kantitatif Germ Taşıyıcı Test Yöntemi | 27 |
| 3.2.4. İstatistiksel Analiz | 27 |

| | |
|--|-----------|
| 4. BULGULAR | 28 |
| 4.1. Nötralizan Karışımı İşlevinin Test Sonuçlar | 28 |
| 4.2. Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi test sonuçlar | 28 |
| 4.3. EST ve DGHM germ taşıyıcı yöntemi deney sonuçlar | 30 |
| 4.3.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın kullanıldığı deney sonuçları | 30 |
| 4.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> 'nin kullanıldığı deney sonuçları | 31 |
| 5. TARTIŞMA | 34 |
| 6. ÖNERİLER | 38 |
| 7. KAYNAKLAR | 40 |



KISALTMALAR

| | |
|-------------|---|
| DGHM | : “Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie” germ taşıyıcı testi |
| EST | : “European Suspension Test” |
| BSI | : “British Standard Institution” |
| KOB | : Koloni oluşturan birim |
| ME | : Mikrobiyosidal etki |
| TSE | : Türk Standardları Enstitüsü |
| CEN | : “European Committee for Standardization” |
| AOAC | : “Association of Analytical Chemists” |
| TSA | : “Tryptone Soya Agar” |
| TSB | : “Tryptone Soya Broth” |



TABLO LİSTESİ

- Tablo 1** : Sık kullanılan bazı dezenfektanların antimikrobiyal etkinliklerinin karşılaştırılması
- Tablo 2** : Sık kullanılan bazı dezenfektanların fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması
- Tablo 3** : Modifiye Kelsey-Sykes işlem tablosu
- Tablo 4** : Modifiye Kelsey-Sykes yönteminde yapılan değişiklikler.
- Tablo 5** : Nötralizan karışımının test edilen dezenfektanlara karşı etkinliklerini değerlendirmek için yapılan testin sonuçları.
- Tablo 6** : *Pseudomonas aeruginosa* ile yapılan Modifiye Kelsey-Sykes yönteminin sonuçları.
- Tablo 7** : *Staphylococcus aureus* ile yapılan Modifiye Kelsey-Sykes yönteminin sonuçları
- Tablo 8** : *Pseudomonas aeruginosa* ile temiz koşullarda çalışılan EST ve DGHM yöntemlerinin sonuçları
- Tablo 9** : Kirli koşullarda *Pseudomonas aeruginosa* ile çalışılan EST ve DGHM yöntemlerinin sonuçları
- Tablo 10** : *Staphylococcus aureus* ile temiz koşullarda çalışılan EST ve DGHM yöntemlerinin sonuçları
- Tablo 11** : *Staphylococcus aureus* ile kirli koşullarda çalışılan EST ve DGHM yöntemlerinin sonuçları

ÖZET

Anahtar Sözcükler : Dezenfektan, bakteri, test yöntemleri

Bir çok araştırmada, dezenfektan etkinliğinin belirlenmesinde kullanılan kapasite, taşıyıcı ve süspansiyon yöntemlerinin sonuçları arasında bir uyumun bulunmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, sodyum dikloroizosiyanurat, aldehit ve dideçil dimetil amonyum klorür içeren 3 ayrı dezenfektanın etkinliği; yukarıdaki yöntemleri temsil eden Modifiye Kelsey-Sykes, DGHM ve EST ile belirlenmiştir. Tüm deneylerde; test bakteri kökenleri, organik madde ve nötralizan karışım parametreleri standardize edilerek, sonuçlar arasındaki uyumsuzluğun nedenleri irdelenmeye çalışılmıştır.

Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi, sonuçlarının kalitatif olması nedeniyle istatistiksel karşılaştırmaya alınmamış ve ayrı incelenmiştir. Modifiye Kelsey-Sykes yönteminin yeterince kontrol içermemesi, kullanılan malzeme miktarının fazla olması ve yoğun işgücü gerektirmesi nedeniyle rutin çalışmalar için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Kantitatif sonuç veren DGHM ve EST yöntemleri ile elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Kullanılan dezenfektana ve bakteri türüne bağlı olarak, her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasındaki uyumun değişebildiği gözlenmiştir. Ayrıca, bakterilerin soğukta saklanmaları sırasında dezenfektanlara olan duyarlılıklarında değişme olduğunu düşündüren veriler elde edilmiş ve bunun sonuçların yinelenebilirliği açısından önemi tartışılmıştır. Uygulama kolaylığı açısından, denenen yöntemler arasında en uygun olanın EST olduğu görülmüştür.

SUMMARY

Comparative evaluation of capacity, carrier and suspension methods for testing the bactericidal activity of surface disinfectants

Key Words: Disinfectants, bacteria, test methods

A series of investigations have shown that capacity, carrier and suspension methods for testing disinfectant activity give discrepant results. In this study, the bactericidal activity of 3 different disinfectants containing sodium dichloroisocyanurate, aldehydes and didecyl dimethyl ammonium chloride was evaluated using Modified Kelsey-Sykes, DGHM germ carrier and EST methods. The reasons for discrepant results were sought by keeping the bacteria, organic material and neutralization solution parameters constant in all experiments. As being a qualitative test, the results of Modified Kelsey-Sykes method were not compared with those of other two and therefore, evaluated separately. Due to inadequate performance control inherited in the method and being labor-intensive and time consuming, Modified Kelsey-Sykes method was found unsuitable for routine purposes. Mann-Whitney U test was used for the statistical analysis of the results obtained with DGHM and EST methods, both of which are quantitative assays. It was observed that the relationship between the results of these two methods could vary depending on the disinfectant and bacteria used in the tests. It was also observed that keeping the bacterial stocks at cold temperatures might cause changes in the susceptibilities of microorganisms to disinfectants which in turn, may affect the reproducibility of the test results. EST was found to be the most suitable method among the ones evaluated, for practical use in the laboratory.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dezenfektanların etkinliklerinin değerlendirilmesine ilişkin çalışmalar bundan 150 yıl öncesine dayanmaktadır (1). O tarihten bugüne dek geliştirilen çok sayıdaki test yöntemi kapasite, taşıyıcı ve süspansiyon temeline dayanan üç ana grupta toplanabilir. Kapasite testleri bir dezenfektanın artan mikroorganizma ve kir karşısındaki değişen dezenfeksiyon kapasitesini ölçmeyi hedefler. Taşıyıcı ve süspansiyon testlerinde ise bir dezenfektanın etkinliği; o dezenfektan ile mikroorganizmaların bir yüzeyde yada süspansiyon içinde karşılaştırılmasından sonra, canlı kalan mikroorganizma sayısına göre belirlenmektedir. Yapılan çalışmalarda, bu üç grup yöntemle alınan sonuçların birbirleri ile uyumlu olmadığı gösterilmiştir (2-8).

Ülkemizde dezenfektanlar üzerine yapılmış çalışmalarda, genellikle çeşitli dezenfektanların standard ve yerel mikroorganizma kökenlerine karşı etkinlikleri değerlendirilmiş (9-15), Ergin ve ark.(8) ise farklı yöntemleri birbirleri ile karşılaştırmışlardır.

Bu çalışmanın amacı, tüm deneylerde; test bakteri kökenleri, organik madde ve nötralizan karışım parametrelerini standardize ederek, test gruplarını temsil eden Modifiye Kelsey-Sykes (16), "Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie"(17) ve "European Suspension Test"(18) yöntemlerinin sonuçları arasındaki farklılığın nedenlerini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kullanılan Terimlerin Tanımlanması

Temizlik, su ile birlikte deterjan veya enzimatik ürünler kullanılarak, organik madde ve kir gibi yabancı nesnelere ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemlerinden önce temizlik işleminin yapılması gereklidir. Yalnızca mekanik temizlik yapılması ile, endoskopların üzerinde bulunan mikroorganizma sayısında yaklaşık olarak 5-log oranında bir azalma sağlanabilmektedir (19).

Sterilizasyon, mikroorganizmaların tüm yaşam biçimlerinin fiziksel yada kimyasal ajanların kullanılması ile tamamen yok edilme işlemidir (20,21). Basıncılı buhar, kuru sıcak hava, etilen oksit gazı ve glüteraldehit gibi sıvı kimyasal maddeler hastanelerde sterilizasyon amacıyla en sık kullanılan ajanlardır (19).

Dezenfeksiyon, cansız nesnelere üzerinde bulunan patojen mikroorganizmaların spor dışındaki vejetatif şekillerinin sayılarının azaltılması yada tamamen yok edilmesidir (20,22). Ancak, yanlış olmakla birlikte yara dezenfeksiyonu, deri ve el dezenfeksiyonu gibi vücut üzerinde yapılan uygulamalar için de yaygın bir alışkanlıkla dezenfeksiyon terimi kullanılmaktadır (23).

Sterilizasyon, sporisidal özelliğinin bulunması ile dezenfeksiyondan ayrılır. Ancak, sporisidal etki bazı dezenfektanların 6-10 saat gibi uzun süre uygulanmaları durumunda da gözlenebilmektedir. Bu özelliği taşıyan dezenfektanlara **kimyasal sterilizanlar** adı verilir. Bir kimyasal sterilizan önerilen kullanma konsantrasyonunda 30 dakikadan daha kısa süre uygulandığında bakteri sporları dışındaki tüm mikroorganizmaları öldürebiliyorsa **yüksek derecede etkili dezenfektan** adını alır. Mikobakteriler de dahil vejetatif bakterilerinin tamamını, virus ve mantar türlerinin ise çoğunu 10 dakika içerisinde öldürebilenlere **orta derecede etkili dezenfektanlar** adı verilir. Bakterilerin vejetatif şekillerinin büyük bir bölümünü, virus ve mantar türlerinin bazılarını 10 dakika içerisinde öldürebilenlere ise **düşük derecede etkili dezenfektanlar** denir (19).

Antiseptik maddeler vücut doku ve yüzeylerine zarar vermeksizin uygulanabilen, ancak infeksiyonların sistemik tedavisi için uygun olmayan

antimikrobiyal maddelerdir. Antiseptik maddelerle mikroorganizmaların canlı dokularda yok edilmeleri veya çoğalmalarının önlenmesi için yapılan işleme de **antisepsi** adı verilir (24).

Germisit, özellikle patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırmak amacıyla hem canlı dokulara hem de cansız cisimlere uygulanabilen kimyasal ajanlara verilen addır. Germisit tanımı sporisidal etkiyi içermemesine karşın, sporları öldüren maddeler için de bu terim yaygın olarak kullanılmaktadır (20).

2.2. Dezenfektanların Sınıflandırılmaları ve Etki Mekanizmaları

2.2.1. Alkoller :

Dezenfektan yada antiseptik olarak tek başlarına kullanılabilirdikleri gibi, alkoller birçok dezenfektan karışımının içinde de yer alırlar. Vejetatif bakterilere karşı hızlı bakterisidal etki gösteren etil ve isopropil alkol hastanelerde en sık kullanılan iki alkol bileşiğidir (20). Alkollerin mikobakterisidal ve fungusidal etkilerinin bulunmasına karşın, sporisidal etkileri yoktur (19). Etil alkol hem lipofilik hem de hidrofilik virüslere karşı, isopropil alkol ise özellikle lipofilik virüslere karşı etkilidir (20).

Alkoller sitoplazma membranındaki hidrokarbonlarla etkileşerek lipid yapıyı, dolayısıyla da geçirgenliği bozmalarına karşın; temel antimikrobiyal etkilerini proteinleri denatüre ederek gösterirler (20,24,25).

Sulu ortamlarda proteinlerin daha kolay denatüre olduğundan, sulandırılmış alkol mutlak alkole göre mikroorganizmalara karşı daha etkilidir (26). Bakterisidal etkinlik açısından en uygun alkol konsantrasyonu %60-%90 arasındadır. Alkol konsantrasyonu %50'nin altına düştüğünde, bu etki belirgin biçimde azalır (19).

Hastanelerde sıklıkla antiseptik olarak kullanılan alkol, oral ve rektal termometre, steteskop, ventilatör gibi aygıtların ve laboratuvarlarda yüzeylerin dezenfeksiyonunda da kullanılmaktadır. Sporisidal etkilerinin bulunmaması ve proteinden zengin maddelere penetre olamamaları nedeniyle, alkollerin medikal ve cerrahi aygıtların sterilizasyonunda kullanılmaları uygun değildir. Bunun yanısıra, alkollerin uçucu ve yanıcı özellikleri olduğundan ve yineliyen

kullanımlarında plastik malzemelerde sertleşmeye yol açtıklarından dikkatli kullanılmaları gereklidir (19).

2.2.2. Halojenler :

Halojen grubunun içinde bromin, klor, flor ve iyot bulunmaktadır (20). Bunlar arasından yaygın olarak kullanılan yalnızca klor ve iyottur (22). Etkili bir dezenfektan olmasına karşın brominin kullanımı kısıtlıdır (27).

2.2.2.1. Klor ve Klor Bileşikleri :

Aktif klor bileşikleri bakterisidal, fungisidal, mikobakterisidal, sporisidal ve virusidal etkilidirler (19). Geniş etki spektrumlarının yanı sıra, hızlı etki göstermeleri ve ucuz olmaları nedeniyle klor ve klor bileşikleri en çok kullanılan dezenfektanlar arasında yer alırlar (22,27)

Klorun antimikrobiyal etkisi serbest klorun su içinde çözülmesiyle açığa çıkan hipoklorik aside bağlıdır. Hipoklorik asit daha sonra hidroklorik asit ve hücre elemanlarına karşı güçlü oksitleyici etki gösteren atomik oksijene dönüşür. Ayrıca, klorun hücre proteinlerine bağlanarak, bunların biyolojik etkinliklerini bozduğu düşünülmektedir (22).

Ortam pH'nın alkaliye kaymasıyla birlikte klorun antimikrobiyal etkisi azalır. Bunun nedeni, hipoklorik asidin alkali pH'da dezenfektan etkinliği daha az olan hipoklorit iyonlarına dönüşmesidir (19).

Organik madde varlığında klor antimikrobiyal etkisini büyük oranda yitirmektedir (24). Bu nedenle, klor ile dezenfeksiyon yapmadan önce temizlik yapılarak organik maddenin ortamdan uzaklaştırılması önerilmektedir (20). Klorun antimikrobiyal etkisinin sürdürülebilmesi için ağzı kapalı bir kaptaki karanlıkta, nemsiz ve serin bir yerde saklanması gereklidir (28). Saklama koşullarının özelliği ve aşındırıcı etkisinin bulunması klorun hastanelerde kullanılmasını sınırlandıran öğelerdir (19).

Hipoklorit, klor içeren dezenfektanlar arasında en geniş kullanımı olan kimyasal biçimdir. Klor dioksit ve kloramin-T hastanelerde kullanılan diğer iki klor bileşiğidir. Bu iki klorlu bileşiğinin hipoklorite olan üstünlükleri aktif klorun salımını yavaşlatarak daha uzun süre bakterisidal etki gösterebilmeleridir (27).

Diğer bir klor bileşiği olan sodyum dikloroizosiyanuratın en önemli özelliği ise katı formda olması ve saklanma sırasında stabilitesini sodyum hipoklorite göre daha uzun süre koruyabilmesidir. Sodyum dikloroizosiyanurat tabletleri ile hazırlanmış çözeltiler aynı klor miktarını içermelerine karşın sodyum hipoklorit çözeltilerine göre daha güçlü antimikrobiyal etkiye sahiptirler. Bunun iki nedeni vardır. İlki, sodyum dikloroizosiyanurat içeren çözeltide total klor miktarının sadece %50'sinin serbest, dolayısı ile kullanılabilir olması, geride kalan bağlı kısmın ise elektrolit dengesinin korunması aşamasında daha sonradan serbestleşmesidir. İkincisi, sodyum dikloroizosiyanurat çözeltilerinin asit; sodyum hipoklorit çözeltilerinin ise alkali olması nedeniyle, sodyum dikloroizosiyanurat çözeltilisinin hipoklorik asidi daha yüksek oranda içermesidir (19).

Klor gazı uzun yıllardan beri su dezenfeksiyonu için kullanılmaktadır. Bu gaz çok toksik olması ve organik maddeler ile reaksiyona girdiğinde çevreye zarar veren klorohidrokarbonları açığa çıkarması nedeniyle dikkatli kullanılmalıdır (19).

Yukarıda adı geçenler dışında simklosen, triklosen sodyum, diklorodimetilhidantoin gibi bir çok aktif klor bileşikleri bulunmaktadır. Antimikrobiyal etkinlikleri çözünebilirliklerine ve içerdikleri etkin klor miktarına göre değişen bu maddeler, tek başlarına yada deterjan ve fosfat silikat gibi ek maddelerle bir arada kullanılabilirler (27).

2.2.2.2. İyot ve İyot Bileşikleri :

İyot bilinen en eski ve etkili mikrobiyosidal ajanlardan biridir. Saf iyot, suda zor, alkolde kolayca eriyebilen; boyama, iritan ve toksik etkileri olan bir bileşiktir (22). İyodofor ise iyot ve polivinilpirrolidon (povidon) gibi yüzey aktif bir organik taşıyıcı molekülün bileşiminden oluşur. Taşıyıcı madde serbest iyodun ortama yavaş salınmasını dolayısıyla antimikrobiyal etkinliğin uzun süreli olmasını ve iyodun suda kolayca eriyebilmesini sağlar. İyodoforlar, iyot ile benzer antimikrobiyal etkinlikte olmalarına karşın, iyotun istenmeyen etkilerini göstermezler (19).

İyot ve iyot bileşiklerinin güçlü oksidizan etkisi ve tirozine olan afinitesi mikroorganizmaların enzim ve diğer proteinlerinin inaktivasyonuna yol açmaktadır (22). Ortamda organik maddenin bulunması, sözü edilen dezenfektanların

etkinliğini önemli ölçüde azaltırken, pH'daki değişikliklerden aynı oranda etkilenmezler (26). Bununla birlikte, en iyi bakterisidal etki 6'nın altındaki pH değerlerinde gözlenmektedir (24).

Iyodoforlar bakterisidal, mikobakterisidal ve virüsidal etkiye sahiptirler, ancak poliovirus, rotavirus gibi lipid yapı içermeyen virüslere karşı etkisizdirler. Bu bileşiklerin mikroorganizma ile karşılaşma süreleri uzatılırsa, bazı mantarları ve bakteri sporlarını da öldürebilirler (20).

En önemli kullanım alanı antisepsi olan iyot ve iyot bileşikleri, kan kültür şişeleri, termometre ve endoskop gibi tıbbi aygıtların dezenfeksiyonu amacıyla da kullanılmaktadır (19). Antiseptik olarak hazırlanmış iyodofor çözeltileri daha az oranda serbest iyot içerdikleri için dezenfektan olarak kullanılmaları uygun değildir (20).

2.2.3. Formaldehit :

Hem gaz hem de sıvı şekilleri bulunan formaldehit bakterisidal, mikobakterisidal, fungusidal, virusidal ve sporosidal etkileri olan güçlü bir dezenfektan ve sterilizandır. Piyasada %37 konsantrasyonda suyla hazırlanmış formalin şekliyle satılan formaldehit, etkisini mikroorganizma proteinlerinin amino ve sülfidril gruplarını ve pürin bazlarının azot atomlarını alkilleyerek göstermektedir (19).

Bu dezenfektanın iritan ve kanserojen etkilerinden dolayı dezenfektan olarak kullanımı sınırlıdır (19). Formaldehit, virüslerin inaktivasyonunda ve aşıların hazırlanmasında formalin; oda ve aletlerin dezenfeksiyonunda ise gaz şekliyle yıllardan beri kullanılmaktadır (24).

2.2.4. Glutaraldehit :

Satüre edilmiş bir dialdehit olan glutaraldehit yüksek düzeyde dezenfektan ve kimyasal sterilizan olarak kabul edilmektedir. Glutaraldehitler, mikroorganizmaların sülfhidril, hidroksil, karboksi ve amino gruplarını alkilleyerek, RNA, DNA, ve protein sentezini bozarlar. Ortamın alkali olması durumunda %2 çözeltilerinin bakterisidal, sporisidal, fungusidal, virüsidal ve karşılaşma süreleri arttırıldığında ise mikobakterisidal etkileri vardır (20). Glutaraldehitler asit ortamda

sporoidal etkinliklerini kaybetmektedirler. Sporoidal etki gösterebilmeleri için ortam pH'nın 7.5 ile 8.5 arası, diğer bir deyişle alkali olması gereklidir (19).

Glutaraldehit molekülleri alkali ortamda polimerize olmakta ve biyosidal etkiyi sağlayan aldehit grupları bu özelliklerini yitirmektedirler. Bu nedenle, aktive edilen glutaraldehit ürünlerinin en geç 14 gün içinde kullanılması gereklidir. Ancak, son yıllarda kullanılmaya başlanan glutaraldehit-fenol-sodyumfenat, güçlendirilmiş asit glutaraldehit, glutaraldehit-fenil-fenol-amilfenol gibi yeni kimyasal bileşikler mikrobiyosidal etkilerini otuzuncu güne kadar koruyabilmektedirler (19).

Organik madde varlığında bile çok iyi biyosidal etki göstermeleri, tıbbi cihazları aşındırıcı ve proteinli maddeleri koagüle edici özelliklerinin bulunmaması nedeni ile glutaraldehitli dezenfektan karışımları hastanelerde sıkça kullanılmaktadır. Glutaraldehit hastanelerde genellikle endoskop, anestezi ve solunum yolu aygıtları gibi dezenfektan karışımının içinde bir süre kalabilecek malzemenin dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır (19). İrritan ve toksik bir buhar çıkardıkları için glutaraldehitlerin yüzey dezenfektanı olarak kullanılması ise önerilmemektedir (20).

2.2.5. Fenoller :

Diğer bir adı karbolik asit olan fenol, antiseptik olarak kullanılan ilk kimyasal ajanlardan biridir. Fenolün %5'lik çözeltisi sporlar dışındaki vejetatif mikroorganizmaları hızla öldürür. Ancak, fenol kötü kokulu, toksik, kanserojen ve aşındırıcı bir madde olması nedeniyle antiseptik ve dezenfektan olarak artık kullanılmamaktadır (24). Günümüzde, fenolün aromatik halkasındaki bir hidrojen atomu yerine kloro, bromo, alkil, benzil, fenil, amil gibi fonksiyonel grupların getirilmesi ile oluşan fenol türevleri dezenfektan olarak kullanılmaktadır. Fenol türevlerinde antimikrobiyal etki arttırılmış, iritasyon ve deriden emilimi dışında istenmeyen birçok etki azaltılmıştır. Bu türevler arasında hastane dezenfektanı olarak en yaygın kullanılan iki örnek ortofenil fenol, orto-benzil-para-klorofenoldür (20).

Fenol ve fenol türevleri mikroorganizmalara sitoplazmik membranın geçirgenliğini bozarak ve hücre proteinlerini denatüre ederek etkili olurlar (24).

Sözü edilen bileşikler bakterisidal, fungusidal, virüsidal ve mikobakterisidal etki gösterirken, sporlara karşı etkisizdirler (20). Fenol ve fenol türevleri, hastanelerde yüzey dezenfektanı olarak kullanılmaktadır. Dezenfeksiyon sonrası bu bileşikler ortamdaki tam olarak uzaklaştırmadığı, dolayısıyla doku irritasyonuna yol açtıkları için mukoza yada açık yara ile temas edebilecek yerlerde ve yenidoğan servislerinde kullanılmaları uygun değildir (19).

2.2.6. Kuaterner Amonyum Bileşikleri :

Katyonik yüzey aktif deterjan yapısında olan kuaterner amonyum bileşikleri merkezde bir nitrojen atomuna bağlanmış karbon içeren 4 organik grup ve brom, klor gibi negatif yüklü bir iyondan oluşur (22). Kuaterner amonyum bileşikleri bakteri ile karşılaştıklarında pozitif yüklü grupları membran fosfolipidlerinin fosfat grupları ile ilişkiye girerken, polar olmayan yapıları membranın hidrofobik bölümüne geçerler. Bunun sonucunda, membranın geçirgenliği bozularak nitrojen ve fosfor içeren bileşikler hücre dışına sızar. Ayrıca, kuaterner amonyum bileşikleri hücre içine girerek proteinlerin denatürasyonuna yol açmaktadırlar (24).

Kuaterner amonyum bileşikleri yüzey aktif yapıları nedeniyle lipofilik virüslere karşı orta derecede etkiliyken, hidrofilik virüslere karşı etkileri zayıftır (20). Bu bileşikler orta ve yüksek konsantrasyonlarda özellikle Gram pozitif türlere bakterisidal etki gösterirken, sulandırılmış çözeltilerinde Gram negatif basiller üreyebilmektedir. Kuaterner amonyum bileşiklerinin mikobakterilere karşı etkileri değişken sporlara karşı ise etkisizdirler (22).

Kuaterner amonyum bileşikleri kokusuz olmaları, boyama ve aşındırma etkilerinin bulunmaması, ucuz ve toksisitelerinin düşük olmasına karşın, anyonik deterjan, sert su ve organik madde varlığında etkinlikleri azalır (20,27). Bu grupta yer alan dezenfektanların yapısındaki aktif maddeler pamuk ve gazlı bez tarafından emildiğinden bu yol ile uygulanmamalı ve ortamın alkalik olmasına dikkat etmelidir (19,24).

Hastanelerde kullanılmakta olan bazı kuaterner amonyum türevlerine alkil dimetil benzil amonyum klorit ve dialkil dimetil amonyum klorit örnek verilebilir. Bu grubun yakın zamanda geliştirilen dideçil dimetil amonyum klorür gibi üyeleri hem sert suda etkinliklerini koruyabilmekte, hemde anyonik kalıntılara karşı daha iyi bir tolerans göstermektedirler. Bu bileşiklere ikiz zincirli yada dialkil kuaternerler adı

verilmektedir. Kuaterner amonyum bileşiklerinin hastanelerde yüzey, mobilya ve duvar temizliğinde kullanılması önerilmektedir (24).

2.2.7. Peroksijen bileşikleri :

Hidrojen peroksit ve perasetik asit bakterisidal, virüsidal, sporisidal ve fungusidal etkili, mikobakterilere karşı olan etkileri ise henüz açıklığa kavuşmamış olan peroksijen bileşikleridir. Hidrojen peroksit, mikroorganizmaları metabolizmalarında oksidasyona yol açan hidroksil radikalleri oluşturarak öldürmektedir. Perasetik asidin etki mekanizması ise kesin olarak açıklanamamakla birlikte, hidrojen peroksit gibi etkilediği düşünülmektedir (20).

Spektrumlarının geniş, etkilerinin hızlı, toksisitelerinin düşük olmasına karşın, peroksijen bileşiklerinin deri ve metallere karşı aşındırıcı etkilerinin bulunması ve organik madde karşısında inaktive olmaları nedeniyle kullanım alanları sınırlıdır (27). Hidrojen peroksit zayıf bir antiseptik olmasına karşın, cansız nesnelere üzerinde stabil ve etkili bir dezenfektandır (19,24). Bu oksidan madde tıpta kontak lens ve ventilatörlerin dezenfeksiyonunda, antiseptik olarak da yara temizliğinde kullanılmaktadır. Organik madde karşısında tolerans ve aşındırıcı etki açısından hidrojen peroksit'e göre daha iyi olan perasetik asit ise hemodiyaliz aygıtlarının dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır (19).

2.2.8. Ağır metaller :

Civa, gümüş, arsenik ve diğer ağır metaller sistein artıkları ile merkaptidler oluşturarak enzimlerin yapılarını bozarlar (24). Civa gibi ağır metaller toksik olmaları ve çevreye zarar vermeleri nedeniyle dezenfektan olarak artık kullanılmamaktadırlar (20).

Sık kullanılan bazı dezenfektanların antimikrobiyal etkinlikleri ve fiziksel özellikleri Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilmiştir (21).

Tablo 1.: Sık kullanılan bazı dezenfektanların antimikrobiyal etkinliklerinin karşılaştırılması (21).

| Dezenfektanlar | Antimikrobiyal Etkinlik | | | | |
|---|-------------------------|---------------------------|------------------|-----------------|------------------|
| | Sporlar | Mikobakteri-ler | Diğer Bakteriler | Zarflı Virüsler | Zarfsız Virüsler |
| Glutaraldehit %2(5dak-3saat) | lyi 3saat | lyi ^a 20dak | lyi 5-10dak | lyi 5-10dak | lyi 5-10dak |
| Perasetik asit %0.2-0.35(5-10dak) | lyi | lyi | lyi | lyi | lyi |
| Alkol %60-70 (Etanol veya İsoopropanol)(1-10dak) | Yok | lyi | lyi | lyi | Orta derecede |
| Peroksijen bileşikleri %3-6(20dak) | Değişken | Değişken | lyi | lyi | Değişken |
| Klor açığa çıkaran bileşikler. 5-1.0 klorlu (10-60dak) | lyi | lyi | lyi | lyi | lyi |
| Berrak, çözünür fenol bileşikleri %0.1-0.5 ^b | Yok | lyi-orta derecede | lyi | Orta derecede | Zayıf |
| Kuaterner amonyum bileşikleri %0.1-0.5 ^c | Yok | Değişken | Orta derecede | Orta derecede | Zayıf |

a: M.avium intracellulare üzerine etkisi daha az.

b: Potansiyel olarak toksik olduğundan yenidoğan servislerinde kullanılmamalı.

c: Sulandırılmış çözeltiler Gram negatif basillerin üremelerine yol açabilir.

Tablo 2: Sık kullanılan bazı dezenfektanların fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması (21)

| Dezenfektan | Diğer Özellikler | | | |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| | Stabilite | Organik Madde İnaktivasyonu | Aşındırıcı/Zararlı Etki | Tahriş edici, Duyarlılık geliştirici |
| Glutaraldehit | Orta derecede (14-28) | Yok (fiksatif) ^a | Yok | Var ^b |
| Perasetik asit | Yok (<1 gün) | Yok | Hafif | Hafif |
| Alkol ^c | Var (Kapalı kap içinde) | Var (fiksatif) ^a | Hafif (mercek üzerine) | Yok |
| Peroksijen bileşikler | Orta derecede (7 gün) | Var | Hafif | Yok |
| Klor açığa çıkaran bileşikler | Yok (<1 gün) | Var | Var | Var ^d |
| Berrak, çözünür fenol bileşikleri | Var | Yok | Hafif | Var |
| Kuaterner amonyum bileşikleri | Var | Var | Yok | Yok |

a: Zayıf penetrasyon

b: Sadece iyi havalandırılan odalarda kullanılmalı

c: Parlayıcı

d: Yüksek konsantrasyonlarda

2.3. Dezenfektan Test Yöntemlerini Tarihsel Gelişimi

Dezenfektan ve antiseptik maddelerin deneme yöntemleri üzerine yapılmış ilk yayın 1750'de Sir John Pringle'in, çiğ etin kokuşmasını önlemek için kullanılan bazı maddelerle yaptığı çalışma üzerinedir. Dezenfektanlar üzerine ilk geniş çalışmayı ise Robert Koch 1881 yılında yayınlamıştır. Koch geliştirdiği yöntemde, *Bacillus anthracis* sporları ile kontamine edilmiş ipek iplikleri değişik dezenfektanlar içine batırdıktan sonra sporların canlılıklarını in vitro yada hayvan deneyleri ile in vivo olarak belirlemiştir. Koch'un bu yöntemi daha sonra Delepine tarafından 1907 yılında dezenfektanların *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* gibi sporsuz bakterilere karşı germisit etkilerini denemek için kullanılmıştır (1).

1897 yılında Krönig ve Paul, *Bacillus anthracis* sporlarını ipek iplik yerine laltaşı üzerine sürerek Koch'un deneyini yinelemiştir. Krönig ve Paul, bu

çalışmalarının sonunda dezenfektanların bakterileri bir anda öldürmeyip, ölçülebilen ve sabit bir hızla inaktive ettikleri sonucuna varmışlardır. Aynı araştırmacılar ortam ısı ve dezenfektan yoğunluğunun deney sonuçları üzerine önemli etkileri olduğunu göstermişlerdir (1).

Aynı yıllarda Geppert(2), dezenfektan test yöntemlerine iki yenilik daha getirmiştir. Bu araştırmacı, bakterileri taşıyıcılar üzerinde kurutmak yerine süspansiyonlarını hazırlıyarak dezenfektanla karşılaştırmıştır. Böylece, değişik konsantrasyonlarda ve farklı karşılaşma sürelerinde dezenfektanların etkinliğini değerlendirebilme olanağı doğmuştur. Antimikrobiyal etkinin inaktivasyonu için nötralizan maddenin kullanılması Geppert'in getirdiği diğer bir yeniliktir.

1903 yılında Rideal ve Walker dezenfektan testlerinde sonuçların yinelenebilir olması için deney koşullarının standartlaştırılması gerektiğini savunmuşlardır. Bu amaçla, incelenen dezenfektanın etkinliğini referans dezenfektan olarak kabul edilen %5 konsantrasyondaki fenol ile karşılaştırmışlar ve sonuçları fenol katsayısı olarak tanımlamışlardır (1,29).

Rideal ve Walker'ın geliştirdikleri yöntem dezenfektan etkinliğinin ölçüldüğü testlerin standardizasyonu açısından önemli bir katkı sağlamış olmasına karşın bazı yönleri ile eleştirilmiştir. Bunlar arasında en önemlisi, etkin molekülü dolayısıyla da etki biçimi fenolden farklı olan dezenfektanların etkinliklerinin fenolle karşılaştırılarak tanımlanması ve dezenfektan konsantrasyonunun oynadığı rolün tümüyle gözardı edilmesidir. Yöntemin eleştirilen diğer bir yönü, dezenfektan etkinliğinin nötralizasyonu amacıyla yapılan sulandırma işleminin bazı dezenfektanların etkilerini ortadan kaldıramaması ile ilişkilidir. Örneğin, kuaterner amonyum bileşiklerinin ileri sulandırımalarında bile bakteriyostatik etkilerini yitirmedikleri ve dolayısıyla, bu bileşiklerin etkilerinin belirlenmesinde fenol katsayısı yönteminin uygun bir seçenek olmadığı gösterilmiştir. Kuaterner amonyum bileşiklerinin dezenfektan etkinliğini ölçmek amacıyla 1960 yılında BSI tarafından BS:3286 kodlu standard yayınlanmıştır. Süspansiyon temeline dayalı bu yöntem DGHM'nin 1972 yılında, "Dutch Committee on Phytopharmacy" ve "Française de Normalisation" nun 1974 yılında tanımladıkları kantitatif süspansiyon testlerinin geliştirilmesine kaynaklık etmiştir. Bunların yanısıra, Rideal ve Walker yönteminde test organizması olarak *Salmonella typhi*'nin kullanılması ve kullanılan suyun sertliği ve organik madde

varlığı gibi dezenfektan etkinliğini azaltabilecek değişkenlerin gözardı edilmesi de eleştirilmiştir (29).

1908 yılında Lister Enstitüsü'nden Chick ve Martin adlı iki araştırmacı, Rideal-Walker yöntemini organik madde varlığında uygulayarak dezenfektan testlerine yeni bir boyut kazandırmışlardır. Chick ve Martin'in geliştirdikleri yöntem en son 1986 yılında modifiye edilerek, BS:808 kod numarasıyla BSI tarafından yayınlanmıştır (30).

Staphylococcus aureus ve *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin hastane enfeksiyonlarındaki rollerinin anlaşılması üzerine ilk kez 1961 yılında dezenfektan testlerinde kullanılmışlardır (29).

Kelsey ve Sykes, 1969 yılında dezenfektanların gerçek kullanım koşullarındaki etkinliklerini ölçebilmek amacıyla bir süspansiyon testi geliştirmişlerdir. Dezenfektan içeren bir kovaya paspasın her daldırılışında nasıl kir ve mikroorganizma taşınıyorsa, bu yöntemde de dezenfektan çözeltisi içine belirli aralıklarla bakteri süspansiyonu eklenerek dezenfektanın gittikçe azalan etki kapasitesinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır (2). Yöntemin değiştirilmiş son biçimi BSI tarafından BS:6905 kod numarası ile yayınlanmıştır (16).

Robert Koch'un 1881 yılında *Bacillus anthracis* sporları ile bulaştırılmış ipek ipliklerin taşıyıcı olarak kullanıldığı çalışma taşıyıcı tipte tasarlanmış ilk testtir. Daha sonraları, çok sayıda taşıyıcı tipte yöntem tanımlanmıştır. Bunlardan biri taşıyıcı olarak metal halkaların kullanıldığı "Association of Official Analytical Chemists"nin yayınladığı "Use-Dilution" yöntemidir. Bu yöntemde, bakteri ile bulaştırılmış metal halkalar dezenfektan ile karşılaştırılmakta ve taşıyıcıların nötralizan içeren bir ortama aktarılmasının ardından, taşıyıcılar üzerinde canlı bakteri kalıp kalmadığı araştırılmaktadır. Benzer yöntemler daha sonraki yıllarda Hollanda, Amerika Bileşik Devletleri, Belçika, Fransa, Almanya'da geliştirilmiştir (7,29).

Birçok ülkede dezenfektanların etkilerini değerlendirmek için değişik yöntemler geliştirilmiş olmasına karşın, bu yöntemler arasında bir standardizasyonun sağlanamaması nedeniyle, çalışma sonuçlarını karşılaştırma olanağı yoktur. Bu durum hem üretici hemde tüketiciler için büyük sorunlar oluşturmaktadır.

Dezenfektan üreticileri her ülkede farklı düzenlemeler ve farklı isteklerle karşı karşıya kalmakta ve yeni bir ürünü piyasaya sürmeden önce, her ülkede ayrı ayrı test ettirmesi gerekmektedir. Bu testlerin yapılmasıyla da üretim maliyeti artmaktadır (2).

Tüketiciler için ise durum daha karışıktır. Tüketici, farklı ülkelerde ve farklı yöntemlerle yapılmış test sonuçları ile karşı karşıya kalmakta, ancak bu test sonuçlarını karşılaştıramamaktadır. Yapılan araştırmalar, yöntemlerden birisi ile çalışılarak alınmış olumlu bir raporun diğer bir yöntemle kolayca çürütülebileceğini göstermektedir (2). Kullandığı ürünün etkinliğini hakkında farklı raporlarla karşılaşan tüketici ise dezenfektanlara olan güvenini yitirmektedir (5,6).

Ülkemizde ise Türk Standardları Enstitüsü, dezenfektanların sporisit, fungusit ve bakterisit etkinliklerini saptamak üzere süspansiyon temeline dayanan 3 ayrı test yöntemi yayınlamıştır (31-33). Ancak, ülkemizde dezenfektanların virüsidal etkilerini ve el dezenfektanlarının etkinliğini değerlendirebilecek resmi makamlarca onaylanmış testler halen bulunmamaktadır.

Uzun bir süre dezenfektanların test edilmemesi denilince akla gelen mikroorganizma bakteri olmuştur. Ancak, "Human Immunodeficiency Virus" epidemilerinin ortaya çıkışı, hastane enfeksiyonlarına yol açan virüslerin öneminin anlaşılması ve ısı ile sterilize edilemeyen aygıtların kullanıma girmesiyle birlikte, son on yılda dezenfektanların virüsidal etkinliklerinin değerlendirilmesinin önemi artmıştır. Dezenfektanların virüsidal etkinliğini ölçen yöntemleri süspansiyon ve taşıyıcı testler olarak iki ana grupta toplayabiliriz. Virüsidal etkinliği ölçmek amacıyla Almanya ve Fransa gibi Avrupa ülkeleri süspansiyon, Amerika Bileşik Devletleri ise taşıyıcı temele dayanan testler kullanmaktadır. Virüsidal etkinin belirlenmesinde taşıyıcı yada süspansiyon testlerinin her ikisinde de benzer teknik zorluklarla karşılaşmaktadır. Her şeyden önce, oldukça fazla miktarda virüse gereksinim duyulmakta ve dezenfektanların hücre kültürleri üzerinde toksik etkileri görülmektedir. Dezenfektanın ortamdaki uzaklaştırılmasında da teknik güçlükler bulunmaktadır. Bu testlerde, hangi virüsün kullanılacağı, organik madde olarak neyin seçileceği, logaritmik azalmanın ne oranda olması gerektiği ve nötralizasyon işleminin hangi yöntemle yapılacağı konularındaki tartışmalar halen sürmektedir. Bunların dışında, aygıt ve

el dezenfeksiyonlarındaki virüsidal etkinliği ölçebilen yöntemler halen tartışılmakta ve henüz kabul edilmiş standardize bir yöntem bulunmamaktadır (34).

Dezenfektanların etkilerini ölçen testler, ideal laboratuvar koşullarında, standard kültürlerle ve steril bir ortamda gerçekleştirilmektedir. Ancak, farklı mikroorganizmaların doğada bir arada ve değişik ortamlarda dezenfektanlarla etkileşebilecek çok değişik maddelerle içiçe yaşadıkları düşünüldüğünde bugün kullanılan yöntemlerin geçerliği tartışılır hale gelmektedir (35). Bir grup araştırmacı (36,37), yaptıkları çalışmalarda dezenfektanların etkilerini gerçek kullanım koşullarında değerlendirmeyi hedeflemişlerdir. Ancak, bu testlerin pahalı olması ve yoğun işgücü gerektirmesi en önemli dezavantajlarıdır (4).

Best ve ark. ise (38), dezenfekte edilecek nesnelere üzerinde birden fazla mikroorganizma türünün bulunduğunu ve dezenfeksiyon işlemi sırasında hangi mikroorganizma türlerinin varolduğunun bilinmeyeceğini öne sürmüşlerdir. Yazarlar bu koşulları göz önüne alarak, *Mycobacterium bovis*, *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Bacillus stearothermophilus*, Sabin poliovirüs tip 1'in tümünün bir arada çalışıldığı taşıyıcı tipte bir test yöntemi önermişlerdir.

Günümüzde, geçerli yüzey dezenfektanı test yöntemlerinde yer almayan bir konuya dikkat çeken Walder ve ark. (39), dezenfeksiyon işlemi sırasında mikroorganizmalar üzerinde uygulanan mekanik etkinin ve dezenfektanın deterjan etkisinin ölçülmesi gerektiğini vurgulamış ve bu etkileri ölçebilen bir yöntem geliştirmişlerdir.

Ayliffe ise (5), dezenfektanları yalnızca mikroorganizmaları öldürme güçleri açısından değerlendirmenin yeterli olmadığını; bunların toksik, koroziv etkilerinin ve stabilitelelerinin de test edilmesinin gerektiği görüşündedir.

Avrupa'da yüzey dezenfektanları test yöntemlerinin standardizasyonu ile ilgili çalışmaları bugün "European Committee for Standardization (CEN)"nin görevlendirdiği "Technical Committee TC 216" yürütmektedir. CEN'e üye ülkeler, ortak bir Avrupa standardı kabul edilinceye kadar, kendi ülkelerinde yeni bir standard yayınlamıyacaklarına ilişkin ortak karar almışlardır (2). Yapılan çalışmaların sonucunda, 1990 yılından sonra dezenfektanların kantitatif değerlendirilmesinin yalnızca süspansiyon testleri ile değil taşıyıcı testlerle de

yapılması gerektiği anlaşılmıştır. Avrupa Yüzey Testi adı verilen bir yöntemin çok merkezli çalışmaları halen sürdürülmektedir (7)

2.4. Dezenfektan Test Yöntemlerinin Esasları

2.4.1. Mikroorganizmalar :

Uygulamadaki zorluklar ve maddi sorunlar dezenfektanların çok sayıda mikroorganizma kökeni ile test edilmelerini olanaksız kılmaktadır. Bu nedenle, testlerde basiller ve koklar yada Gram pozitif ve Gram negatif gibi ana bakteri gruplarını temsil eden kökenler kullanılmaktadır. Bunun yanısıra, bazı yöntemlerde mikobakteriler ve mantarlar da test mikroorganizması olarak yer almaktadırlar. Yöntemlerde genellikle *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecium* kökenlerinin kullanılması önerilmektedir (16-18). Ancak, *Serratia spp.*, *Klebsiella spp.* ve *Enterobacter spp.* gibi hastane enfeksiyonlarına yol açan mikroorganizmaların da dezenfektanlara karşı duyarlılıklarının değerlendirilmesi gerektiği öne sürülmektedir (29)

2.4.2. Besiyeri ve Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması :

Kullanılacak besiyerinin bakteri kültürlerinin üreyebilmesi için gerekli tüm maddeleri içermesi gereklidir. Tanımlanmış uygun bir besiyeri bulunamadığında, ampirik olarak seçilen bir besiyeri kullanılabilir. Ancak, bu besiyerinin içeriği, özellikle de pepton kaynakları, ayrıntılı olarak açıklanmalıdır. Dezenfektan ile karşılaştıktan sonra canlı kalabilmiş mikroorganizmaların varlığını göstermek için zengin bir besiyeri kullanılmalıdır (29).

Bakteri süspansiyonları genellikle 18-24 saatlik kültürlerden hazırlanmaktadırlar. Bazı yöntemlerde ise logaritmik çoğalma dönemindeki kültürlerin kullanılması yeğlenmektedir. Bu amaçla, bakterilerin dezenfektanla karşılaştırılmadan önce, iki yada üç kez aynı besiyerinde pasajlarının yapılması önerilmektedir (29).

Test ortamına eklenecek mikroorganizma miktarının sonuç üzerinde tartışmasız büyük etkisi vardır. Bu miktarın, işlem sonucunda canlı kalan

mikroorganizmaların anlamlı bir istatistiksel sonuca ulaşmasını sağlayacak sayıda olması gerekmektedir. Birçok yöntemde testin mililitrede en az 10^5 mikroorganizma ile yapılması önerilmektedir (29).

2.4.3. Mikroorganizmalarla dezenfektanın karşılaşma koşulları :

Mikroorganizmalarla dezenfektanın karşılaşması süspansiyon yöntemleri ile taşıyıcı kullanılan yöntemlerde farklı şekillerde gerçekleşmektedir. Taşıyıcı kullanan yöntemlerde önce taşıyıcı mikroorganizma ile bulaştırılmakta, daha sonra da kurutulmaktadır. Kurutma işlemi sona erdikten sonra, dezenfeksiyon işlemi incelenen dezenfektanın kontamine alanın üzerini bütünüyle örtecek şekilde yayılması ile yapılmaktadır. Süspansiyon yöntemlerinde ise mikroorganizmaların dezenfektan ile karşılaşmaları sıvı faz içinde gerçekleştirilmektedir (29).

2.4.4. Mikroorganizma Süspansiyonu ve Dezenfektanların hacimleri :

Ortama eklenen mikroorganizma süspansiyonu ve dezenfektan hacimlerinin birbirlerine oranları bir teknikten diğerine değişiklik göstermektedir. Taşıyıcı kullanan yöntemler dışında, mikroorganizma süspansiyonunun hacmi genelde dezenfektan hacminden daha azdır (29).

2.4.5. Isının Etkisi :

Bir dezenfektanın etkinliği arttıkça, ısı değişikliklerine olan duyarlılığı da artmaktadır. Mikroorganizmaların dezenfektanla karşılaştığı sırada ortam ısısının genellikle $+20^{\circ}\text{C}$ olması önerilmektedir (29).

2.4.6. Dezenfektanların Konsantrasyon ve Süre İlişkisi :

Watson'un 1908 yılında ortaya koyduğu gibi, dezenfektanın etkinliği dezenfektanın konsantrasyonu ve mikroorganizma ile karşılaşma süresine göre değişmektedir:

$$C^n \cdot t = k$$

Yukarıdaki formülde k =sabit, C =konsantrasyon, n =konsantrasyon sabiti, t =öldürücü etki için gereken zamandır.

Bir dezenfektanın dilusyon oranı arttırıldığında aynı etkinin elde edilebilmesi için mikroorganizma ile karşılaşma süresinin de arttırılması gerekmektedir. Dezenfeksiyon uygulamasının kısa sürede bitirilmesi gerektiği yerlerde dezenfektanın öldürücü etkisinin hızlı olması beklenir. Bu nedenle, birçok süspansiyon yönteminde karşılaşma süresi 5 ile 10 dakika olarak belirlenmiştir. Taşıyıcı kullanan yöntemlerde ise bu süre 5 ile 360 dakika arasında değişmektedir (29).

2.4.7. Etkileşen maddeler :

Elektrolitler bazı koşullarda dezenfektanlar ile çözünmeyen tuzlar yada inaktif karışımlar oluşturabilmektedir. Bu nedenle, suyun sertliğindeki artışa koşut olarak dezenfektanların kullanım konsantrasyonları da arttırılmalıdır (29).

Organik maddelerin varlığında dezenfektanların etkinliği azalmaktadır. Testlerin çoğunda organik madde olarak maya özeti, hayvan yada insan serumu kullanılmaktadır. Maliyetinin daha yüksek olmasına karşın, sığır albumini gibi standardize maddelerin kullanılması testlerden yinelenebilir sonuç alma olasılığını arttırmaktadır (29).

Polivinilpirrolidon gibi polimerlerin ve surfaktanların dezenfektanları inaktive edebildiği bilinmektedir. Temizlik yapıldıktan sonra yüzeyde kalan deterjan artıklarının dezenfektan test yöntemlerinin sonuçlarını etkileyebileceği unutulmamalıdır (29).

2.4.8. Artık dezenfektan etkinliğinin durdurulması :

Dezenfektan ile karşılaştıktan sonra canlı kalan mikroorganizmaların belirlenmesi amacıyla, örnek alınması sırasında bakteri ile birlikte bir miktar dezenfektan da canlandırma besiyerine taşınmakta ve mikrobiyostatik yada mikrobiyosidal etki devam etmektedir. Bu nedenle dezenfektanın etkisinin belirlenen sürede durdurulmasının büyük önemi vardır.

Teknik olarak bu amaca üç şekilde ulaşılabilir:

- Sulandırma
- Nötralizasyon
- Yıkama

Sulandırma, tek başına antimikrobiyal etkinliğin durdurulmasında yeterli değildir. Örneğin, kuarterner amonyum bileşikleri ve ağır metal tuzlarının yüksek sulandırımalarında bile bakteriyostatik etkinlikleri sürebilmektedir (29).

Bir dezenfektanın antimikrobiyal etkinliğini önleyen maddelere inaktivatör, nötralizan ajan yada antidot adı verilmektedir. Uygun bir nötralizanda bulunması gereken özellikler şunlardır:

1-Mikroorganizmalar üzerinde inhibitör bir etkisi olmamalıdır.

2-Dezenfektanların antimikrobiyal etkisini kısa sürede ve tamamen sona erdirmelidir.

3-Nötralizan madde ile dezenfektanın tepkimesi sonunda ortaya çıkan son ürünün mikroorganizmalara karşı toksik etkisi bulunmamalıdır.

Değişik yöntemlerde önerilen inaktivatör maddeler, genellikle lesitin gibi fosfolipidlerden veya polioksietilen, yağ alkoller ve polisorbitat'lar gibi iyonik olmayan sürfaktanlardan oluşmaktadırlar. Bu moleküllerdeki polar olmayan grupların genellikle lipofilik yapıdaki antiseptik ve dezenfektanları bağladıkları düşünülmektedir. Tam olarak gerçekleşme de ideal olan, inaktivatör maddelerin antimikrobiyal etkinliğinin hiç bulunmamasıdır (29).

Yıkama yönteminin temeli, mikroorganizmalarla dezenfektanların birbirlerinden mekanik olarak ayrıştırılmasına dayanır. Bu yöntem, santrifüjleme yada membran filtrasyonu yoluyla uygulanabilmektedir. Santrifüjlemede dikkat edilmesi gereken nokta, dezenfeksiyon işleminden sonra incinmiş hücrelerin canlılıklarının etkilenmemesidir. Membran filtrasyonu daha kolay bir yöntem olmasına karşın, filtrelerin kontrol edilmesi büyük önem taşır. Yukarıda açıklanan yöntemler nötralizasyon için tek başlarına kullanılabildikleri gibi birkaçı bir arada da kullanılabilmektedirler (29).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Besiyerleri :

3.1.1.1. Tryptone Soya Agar (Oxoid®)(TSA)

| | |
|--------------|---------|
| Tryptone | 15gr/lt |
| Soya peptone | 5gr/lt |
| NaCl | 5gr/lt |
| Agar | 15gr/lt |

40 gram besiyeri 1 litre distile suda çözüldükten ve pH 7,3 olacak şekilde ayarlandıktan sonra otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi ve steril petri kaplarına dağıtıldı.

3.1.1.2. Tryptone Soya Broth (Oxoid®)(TSA)

| | |
|---------------------------------|----------|
| Pancreatic digest of casein | 17gr/lt |
| Papaic digest of soybean meal | 3gr/lt |
| NaCl | 5gr/lt |
| K ₂ HPO ₄ | 2,5gr/lt |
| Glucose | 2,5gr/lt |

30 gram besiyeri 1 litre distile suda çözüldükten ve pH 7,3 olacak şekilde ayarlandıktan sonra tüplere dağıtıldı ve otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi.

3.1.2. Sulandırma Çözeltisi :

| | |
|------------|--------|
| Pepton | 1gr |
| NaCl | 8,5gr |
| Distile su | 1000ml |

Hazırlanan bu solüsyon otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi.

3.1.3. Sert Su :

| | |
|--------------------------------------|---------|
| CaCl ₂ | 0,305gr |
| MgCl ₂ .6H ₂ O | 0,139gr |
| Distile su | 1000ml |

Hazırlanan bu solüsyon otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi (16).

3.1.4. Taşıyıcı :

5x5 büyüklüğünde kesilmiş seramik parçaları

Seramik parçaları Pasteur fırınında 170°C'da 2 saat tutularak sterilize edildi.

3.1.5. Organik Madde :

3.1.5.1. Temiz koşullar için

| | |
|-------------------------|--------|
| Bovine Albumin (Sigma®) | 0.3gr |
| Distile su | 1000ml |

3.1.5.2. Kirli koşullar için

| | |
|-------------------------|--------|
| Bovine Albumin (Sigma®) | 10gr |
| Distile su | 1000ml |

Hazırlanan bu çözeltiler 0,45µm por açıklığı bulunan filtreden geçirilerek sterilize edildi (18).

3.1.6. Nötralizan Maddeler :

| | |
|----------------------|-------|
| Saponin (Sigma®) | % 3 |
| L-Histidine (Sigma®) | % 0,1 |
| L-Cystein (Merck®) | % 0,1 |
| Tween 80 (Merck®) | % 3 |

Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi için TSB besiyeri ile yukarıdaki konsantrasyonlarda, DGHM yöntemleri için TSA besiyeri ile yine aynı konsantrasyonlarda, EST yöntemi için ise yukarıdaki açıklanan konsantrasyonların iki katı olacak şekilde distile su ile hazırlandılar ve otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildiler (16-18).

3.1.7. Bakteri Kökenleri :

Staphylococcus aureus ATCC 6538

Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442

Bakteri kökenleri İstanbul Tıp Fakültesi Mikroorganizma Kültür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi'den liyofilize şekilde sağlandı. Steril koşullarda liyofilize bakteri içeren ampulün ağzı kırılarak içine 0.2 ml TSB eklendi. Buradan TSB besiyerine ve TSA besiyerlerine azaltma yöntemi ile ekim yapıldı.

3.1.8. Kullanılan Dezenfektanlar :

3.1.8.1. Sumatox® (Lever)

| | |
|------------------------|--------------------------------|
| İçindeki | %98,7 Sodyum dikloroizosiyanat |
| Ambalaj | 2,8gr ağırlığında 300 tablet |
| Önerilen Konsantrasyon | 1000 ppm |

3.1.8.2. Surfalyse® (Péters)

| | |
|------------------------|---|
| İçindekiler | Formaldehit Gluteraldehit Glyoksal Kuaterner amonyum İyonik olmayan yüzey aktif maddeler Anti korozyon inhibitör madde Parfüm |
| Ambalaj | 20ml'lik poşetlerde |
| Önerilen Konsantrasyon | %0,25 |

3.1.8.3. 50FF® (Deconex)

| | |
|------------------------|--|
| İçindekiler | Etandiol Pentandiol Dideçildimetilamonyumklorür İyonik olmayan yüzey aktif maddeler |
| Ambalaj | 5lt |
| Önerilen Konsantrasyon | %0,5 |

Dezenfektanlar Modifiye Kelsey-Sykes ve DGHM yöntemleri için önerilen konsantrasyonlarda, EST yöntemi için önerilen konsantrasyonların iki katı olacak şekilde sert su ile hazırlandılar (16-18).

3.1.9. Kullanılan Diğer Alet ve Cihazlar :

Filtre kağıdı, cam tüpler, pipet uçları, petri kapları, 20,100,1000 μ l çekebilen otomatik pipetler, hassas tartı, otoklav, vorteks, etüv.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bakteri Süspansiyonunun Hazırlanması :

Stok kültürlerinden içinde 10 ml TSB bulunan tüplere ekim yapıldı, ve 24 saat $37\pm 1^\circ\text{C}$ 'da enkübe edildiler. Bu işlem dezenfektanları test etmeden önce en az beş kez yinelendi. *Pseudomonas aeruginosa* içeren süspansiyonlar steril filtre kağıtlarından süzüldü.

Ortama eklenecek bakteri miktarının standardizasyonu amacıyla yapılan ön deneylerde, mililitrede $1-3\times 10^8$ kob/ml bakteri içeren *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* süspansiyonlarının 630nm dalga boyunda TSB besiyerine karşı sırasıyla 0.110-0.130 ve 0.080-0.110 absorbans verdiği belirlendi. Daha sonraki deneylerde, bakteri süspansiyonları TSB ile $1-3\times 10^8$ kob/ml bakteriye karşılık gelen absorbans değerlerine seyreltilerek kullanıldı.

Bakteri süspansiyonu EST yönteminde doğrudan kullanılırken; Modifiye Kelsey-Sykes ve DGHM yöntemleri için besiyerlerine temiz ve kirli koşullara uygun oranda sığır albumini eklendi (bkz. 3.1.5.).

3.2.2. Nötralizan Karışımının İşlevinin Test Edilmesi :

Nötralizasyon işleminden sonra dezenfektan etkinliğinin sürüp sürmediği EST için önerilen yöntemle araştırılmıştır (18). Yöntemin ayrıntıları aşağıda sunulmuştur.

Birer tüp içine temiz ve kirli koşullar için uygun oranda sığır albumini içeren organik madde çözeltilerinden 4'er mililitre kondu. Üzerlerine sırası ile 1'er mililitre

bakteri süspansiyonu ve 5'er mililitre sert su eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında enkübe edildi (A karışımı). Enkübasyon süresinin bitiminden hemen önce, kullanım konsantrasyonuna uygun olarak hazırlanmış 1'er mililitre dezenfektan ile 9'ar mililitre nötralizasyon çözeltisi iki ayrı tüp içinde karıştırıldı (B karışımı). Enkübasyon süresi sonunda, B karışımı içeren tüplere A karışımından 1'er mililitre eklendi. Ortamın test mikroorganizmaları üzerlerine olan etkisi dezenfektan yerine aynı miktarda sert su kullanılarak kontrol edildi. Oda sıcaklığında 5 ± 1 dakikalık enkübasyondan sonra tüplerdeki canlı bakteri miktarı plağa yayma yöntemiyle belirlendi.

Dezenfektan ile yapılan testlerde saptanan bakteri miktarının, kontrollerin yarısından fazla olması durumunda nötralizanın o dezenfektanı inaktive edebilmek için uygun olduğu kabul edildi (18).

3.2.3. Test Yöntemleri :

Bu çalışmada, Modifiye Kelsey-Sykes, DGHM germ taşıyıcı testi, EST ve yöntemleri kullanılmıştır (16-18). Her 3 yöntem, üçer kez farklı günlerde çalışılmıştır. Bir dezenfektan için yapılan deney sonuçlarının çelişmesi durumunda, EST'de yer alan kurala bağlı kalınarak, o dezenfektanın etkinliği, uyumlu iki deneyin sonucuna göre belirlenmiştir (18).

3.2.3.1. Modifiye Kelsey-Sykes Yöntemi

Bir tüp içine 3 ml dezenfektan ve 1 ml bakteri süspansiyonu pipetlendikten sonra karışım oda sıcaklığında 8 dakika enkübe edildi. Enkübasyon süresinin sonunda, herbirinde 10'ar mililitre TSB bulunan 5 ayrı tüpe (1 numaralı tüpler) bu karışımdan 20'şer mikrolitre dağıtıldı. On dakika sonra bu karışıma 1ml bakteri süspansiyonu daha eklendi. İkinci bir 8 dakikalık enkübasyonun ardından, içlerinde 10'ar mililitre TSB bulunan 5 ayrı tüpe (2 numaralı tüpler) bu karışımdan 20'şer mikrolitre dağıtıldı. 1 ve 2 numaralı tüpler $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'da 48 saat enkübe edildiler. Testler, aynı bakteri süspansiyonu ve her 3 dezenfektan ile tablo 3'deki sürelerle uygun olarak gerçekleştirildi.

Enkübasyon süresinin sonunda tüplerde bulanıklık görülmesi bakteri üremesinin kanıtı olarak değerlendirildi ve bulanıklık görülen tüplerin sayısı kaydedildi. Test edilen dezenfektanın başarılı kabul edilmesi için, her iki tüp

dizisinden en az 2 tüpte üreme olmaması koşulu arandı. Bu test; iki ayrı bakteri ve üç ayrı dezenfektan için kirli ve temiz koşullarda yinelendi (16).

Tablo 3: Modifiye Kelsey-Sykes işlem tablosu

| A Dezenfektanı | | B Dezenfektanı | | C Dezenfektanı | |
|----------------|---|----------------|---|----------------|---|
| Süre | İşlem | Süre | İşlem | Süre | İşlem |
| 0 | 1ml bakteri süsp. A tüpü içine eklendi. | 1 | 1ml bakteri süsp. B tüpü içine eklendi. | 5 | 1ml bakteri süsp. C tüpü içine eklendi. |
| 8 | A1 tüplerine 20µl dağıtıldı. | 9 | B1 tüplerine 20µl dağıtıldı. | 13 | C1 tüplerine 20µl dağıtıldı. |
| 10 | 1ml bakteri süsp. A tüpü içine eklendi. | 11 | 1ml bakteri süsp. A tüpü içine eklendi. | 15 | 1ml bakteri süsp. C tüpü içine eklendi. |
| 18 | A2 tüplerine 20µl dağıtıldı. | 19 | B2 tüplerine 20µl dağıtıldı. | 23 | C1 tüplerine 20µl dağıtıldı. |

Bu çalışmanın amacına uygun olarak, canlandırma ve çoğaltma besiyeri ile nötralizan ve organik maddeler, Modifiye Kelsey-Sykes yönteminde önerilenden farklı biçimde kullanılmıştır. Yapılan değişikliklerin ayrıntıları Tablo 4’de gösterilmiştir.

Tablo 4: Modifiye Kelsey-Sykes yönteminde yapılan değişiklikler.

| Özellik | Modifiye Kelsey-Sykes | Bu çalışma |
|----------------------|-----------------------|--|
| Canlandırma besiyeri | “Nutrient No.2 Broth” | TSB |
| Nötralizan madde | Tween 80 | Saponin, L-Histidin, L-Sistein, Tween 80 |
| Çoğaltma besiyeri | “Synthetic Broth” | TSB |
| Organik madde | Maya çözeltisi | Sığır albumini |

3.2.3.2. “European Suspension Test“ Yöntemi

Bir tüp içine 4ml temiz yada kirli koşullar için hazırlanmış sığır albumini çözeltisinden ve 1ml bakteri süspansiyonu konduktan sonra, karışım homojenize edilerek oda sıcaklığında 2 dakika enkübe edildi. Enkübasyon süresinin sonunda bu karışıma 2 kat konsantrasyonda hazırlanmış dezenfektan solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakika yeniden enkübe edildi. Sürenin bitiminde bu karışımdan 1ml alınarak içinde 9ml nötralizan çözeltisi bulunan bir tüpe pipetlendi. İnaktivasyon için tanınan 5 dakikalık süre sonunda, içinde 15ml TSA bulunan iki plağa inaktivasyon tüpünden 0,1ml ekim yapıldı. Ayrıca, inaktivasyon tüpünden alınan 1ml örnek 9ml pepton çözeltisi içinde karıştırılarak karışımın 10 kat sulandırımı elde edildi ve iki ayrı TSA plağına daha 0,1ml ekim yapıldı. Ekim yapılan plaklar $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'da 48 saat enkübe edildiler.

Kontrol çalışmasında dezenfektan solüsyonu yerine sert su kullanılarak, yukarıda açıklanan yöntemle test gerçekleştirildi. Nötralizasyon aşamasından sonra karışımın 10^4 ve 10^5 kat sulandırımı yapılarak, 2'şer TSA plağına 0,1ml ekim yapıldı.

Enkübasyon süresinin sonunda tüm plaklardaki koloniler sayılarak aşağıdaki ağırlıklı ortalama formülü ile canlı bakteri sayıları belirlendi (19).

$$\frac{\sum n}{fa \cdot (fb+1) \cdot 0.1} \cdot d$$

$\sum n$ = Toplam koloni sayısı

fa = En düşük sulandırım için kullanılan plak sayısı

fb = En düşükten bir önceki sulandırım için kullanılan plak sayısı

d = $10 \times$ (en düşük sulandırma oranı)

Mikrobiyosidal etki (ME) aşağıdaki formüle göre belirlendi.

ME = $\log S_k - \log S_d$

S_k = Kontrol çalışmasında belirlenen mililitredeki koloni sayısı.

S_d = Dezenfektan ile yapılan çalışmada belirlenen mililitredeki koloni sayısı.

Kontrol çalışması ile karşılaştırıldığında bakteri sayısında 5-log oranında bir azalma sağlayan dezenfektanın testte başarılı olduğu kabul edildi. Bu test iki bakteri üç ayrı dezenfektan için kirli ve temiz koşullarda yinelendi (18).

3.2.3.3. “Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie”

Kantitatif Germ Taşıyıcı Test Yöntemi

5 cm x 5 cm'lik steril bir fayans parçasının 3 cm x 3 cm'lik alanı 0,1 ml bakteri süspansiyonu ile bulaştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 90 dakika tutularak kurutuldu. Kurutma işleminin ardından 0,2 ml dezenfektan solüsyonu fayansın üzerini tamamen kaplayacak şekilde yayıldı. Fayans parçası oda sıcaklığında 30 dakika enkübe edildikten sonra, içinde 15ml TSA bulunan plağın üzerine kapatıldı. Fayansın üzerine 200 gramlık bir ağırlık konarak 2 dakika beklendi. Bu sürenin sonunda fayans ikişer dakika süreyle iki ayrı TSA plak besiyerine daha bastırılarak işlem yinelendi.

Kontrol olarak, aynı işlem 10^3 kob/ml bakteri süspansiyonu ve dezenfektan yerine sert su kullanılarak gerçekleştirildi.

Plakların $37 \pm 1^\circ \text{C}$ 'da 48 saat enkübe edilmesinden sonra 3 plaktaki toplam koloni sayısı belirlendi. Kontrol çalışması ile karşılaştırıldığında bakteri sayısında 5-log oranında bir azalma sağlayan dezenfektan, yapılan testte başarılı olarak kabul edildi. Bu test, iki ayrı bakteri, üç ayrı dezenfektan için kirli ve temiz koşullarda yinelendi (17).

3.2.4. İstatistiksel Analiz :

Bu çalışmada, Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi ile elde edilen sonuçlar kalitatif nitelikte olmamaları nedeniyle, istatistiksel karşılaştırmaya alınmamış ve ayrı incelenmişlerdir. Kantitatif sonuç veren DGHM ve EST yöntemleri ile elde edilen ME değerlerinin istatistiksel analizi Mann-Whitney U testi ile her dezenfektan ve bakteri için temiz ve kirli koşullarda ayrı ayrı yapılmıştır (40). Analizler, $\alpha=0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Nötralizan Karışımı İşlevinin Test Sonuçları:

Dezenfektanların etkinliklerinin kullanılan nötralizan karışımı ile karşılaşma sonrası devam edip etmediği EST'de yer alan yöntemle araştırılmıştır (18). Her üç dezenfektanla yapılan deney sonuçlarında (Tablo 5), koloni oluşturan birim sayısının kontrol grubunda saptanan sayının yarısından fazla olduğu belirlenmiş ve nötralizan karışımının test edildikten sonra dezenfektanları inaktive ettiği kabul edilmiştir.

Tablo 5: Nötralizan karışımının test edilen dezenfektanlara karşı etkinliklerini değerlendirmek için yapılan testin sonuçları.

| Ortam | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | <i>Staphylococcus aureus</i> | |
|------------|-------------------------------|-------------------|------------------------------|-------------------|
| | Temiz | Kirli | Temiz | Kirli |
| Kontrol | 1.2×10^8 | 1.1×10^8 | 1.5×10^8 | 1.6×10^8 |
| Sumatox® | 9.0×10^7 | 8.0×10^7 | 1.1×10^8 | 1.2×10^8 |
| Surfalyse® | 1.0×10^8 | 1.0×10^8 | 1.2×10^8 | 1.2×10^8 |
| 50FF® | 9.0×10^7 | 1.0×10^8 | 1.0×10^8 | 1.3×10^8 |

4.2.Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi test sonuçları:

Test bakterisi olarak *Pseudomonas aeruginosa*'nın kullanıldığı Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi test sonuçları incelendiğinde; temiz ve kirli koşullarda Sumatox® ile çalışılan tüplerin hiç birinde üreme görülmezken, Surfalyse® ve 50FF® ile yapılan deneylerde tüplerin tümünde üreme görülmüştür. Bu sonuçlara göre Sumatox® temiz ve kirli koşullarda *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili, Surfalyse® ve 50FF® ise etkisiz bulunmuşlardır (Tablo 6).

Tablo 6: *Pseudomonas aeruginosa* ile yapılan Modifiye Kelsey-Sykes yönteminin sonuçları. (K:Kaldı, G:Geçti, "-":Üreme yok).

| Çalışma No | Temiz Koşulda | | | | | | | | | Kirli Koşulda | | | | | | | | |
|------------|---------------|----|---|---|----|---|---|----|---|---------------|----|---|---|----|---|---|----|---|
| | 1 | | | 2 | | | 3 | | | 1 | | | 2 | | | 3 | | |
| | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S |
| Sumatox® | - | - | G | - | - | G | - | - | G | - | - | G | - | 1 | G | - | 1 | G |
| Surfalysé® | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K |
| 50FF® | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K | 5 | 5 | K |

Temiz ve kirli koşullarda Sumatox® ile yapılan ve *Staphylococcus aureus*'un kullanıldığı her 3 çalışmanın 8. dakikasında en fazla 1 tüpte üreme görülürken; 18. dakikada ilk iki çalışmadaki tüplerin tümünde ve son çalışmada 3 tüpte üreme görülmüştür. Surfalysé® ve 50FF® adlı dezenfektanlarla *Staphylococcus aureus*'un kullanıldığı tüm çalışmalarda 8. ve 18. dakikalarda 3 veya 3'den az tüpte üreme görülmüştür. Bu sonuçlara göre, temiz ve kirli koşullarda *Staphylococcus aureus*'a karşı Sumatox® etkisiz; Surfalysé® ve 50FF® ise etkili bulunmuşlardır (Tablo 7).

Tablo 7: *Staphylococcus aureus* ile yapılan Modifiye Kelsey-Sykes yönteminin sonuçları (K:Kaldı, G:Geçti, "-":Üreme yok).

| Çalışma No | Temiz Koşulda | | | | | | | | | Kirli Koşulda | | | | | | | | |
|------------|---------------|----|---|---|----|---|---|----|---|---------------|----|---|---|----|---|---|----|---|
| | 1 | | | 2 | | | 3 | | | 1 | | | 2 | | | 3 | | |
| | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S | 8 | 18 | S |
| Sumatox® | 1 | 5 | K | - | 5 | K | - | 3 | G | - | 5 | K | 1 | 5 | K | - | 3 | G |
| Surfalysé® | 1 | 3 | G | 1 | 2 | G | - | 2 | G | 1 | - | G | 2 | 1 | G | 1 | 1 | G |
| 50FF® | - | 3 | G | - | 1 | G | - | 2 | G | 1 | 3 | G | 1 | 2 | G | 2 | 2 | G |

4.3. EST ve DGHM germ taşıyıcı yöntemi deney sonuçları:

4.3.1. *Pseudomonas aeruginosa*'nın kullanıldığı deney sonuçları:

Temiz koşullarda EST ve DGHM yöntemleri ile çalışılan deney sonuçlarına göre; Sumatox® ve 50FF® her iki yöntemde *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili; Surfalyisé® ise EST'de etkisiz, DGHM'de etkili bulunmuştur (Tablo 8). Ancak, her 2 yöntemle Sumatox® için elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak bir fark olmamasına karşın ($p>0.05$), Surfalyisé® ve 50FF® için anlamlı bir farklılık söz konusudur ($p<0.05$).

Tablo 8: *Pseudomonas aeruginosa* ile temiz koşullarda çalışılan EST ve DGHM yöntemlerinin sonuçları (S:Sonuç K:Kaldı, G:Geçti)

| | EST YÖNTEMİ | | | | DGHM YÖNTEMİ | | | | p |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------------|---|-----------------------|------------------|----------------------------------|---|--------|
| | Kontrol KOB Sayısı | Örnek KOB Sayısı | ME ₅ ^{20a,b} | S | Kontrol KOB sayısı | Örnek KOB Sayısı | ME ₅ ^{20a,b} | S | |
| Sumatox® | | | | | | | | | p>0.05 |
| 1.Çalışma | 1.2 x 10 ⁸ | 0 | 8.1 | G | 2.8 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 2. Çalışma | 4.7 x 10 ⁷ | 0 | 7.8 | G | 9.8 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.Çalışma | 1.0 x 10 ⁸ | 0 | 8.0 | G | 9.0 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| Surfalyisé® | | | | | | | | | p<0.05 |
| 1.Çalışma | 1.2 x 10 ⁸ | 3.4 x 10 ³ | 4.6 | K | 2.8 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 2. Çalışma | 4.7 x 10 ⁷ | 3.2 x 10 ³ | 4.3 | K | 9.8 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.Çalışma | 1.0 x 10 ⁸ | 7.2 x 10 ³ | 4.2 | K | 9.0 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 50FF® | | | | | | | | | p<0.05 |
| 1.Çalışma | 1.2 x 10 ⁸ | 9.0 x 10 ² | 5.1 | G | 2.8 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 2. Çalışma | 4.7 x 10 ⁷ | 4.0 x 10 ² | 5.2 | G | 9.8 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.Çalışma | 1.0 x 10 ⁸ | 3.0 x 10 ² | 5.5 | G | 9.0 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |

a : ME₅²⁰ : 20°C'da, 5 dakika dezenfektan ile etkileşim sonucu elde edilen mikrobiyosidal etki

b : ME₅²⁰ : ≥ 5.0 = Etkili

EST ve DGHM yöntemleri ile kirli koşullarda çalışılan deneylerde; her iki yöntem ile Sumatox® *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili, Surfalyisé® etkisiz; 50FF® ise EST'de etkisiz, DGHM'de etkili bulunmuştur (Tablo 9). Her 2 yöntemle Sumatox® için elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak bir fark

bulunmamıştır ($p>0.05$). Buna karşın, Surfalyse® ve 50FF® için anlamlı bir farklılık söz konusudur ($p<0.05$).

Tablo 9: Kirli koşullarda *Pseudomonas aeruginosa* ile çalışılan EST ve DGHM yöntemlerinin sonuçları (S:Sonuç K:Kaldı, G:Geçti)

| | EST YÖNTEMİ | | | | DGHM YÖNTEMİ | | | | p |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------------|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------------------|---|------------------|
| | Kontrol KOB Sayısı | Örnek KOB Sayısı | ME ₅ ^{20a,b} | S | Kontrol KOB sayısı | Örnek KOB Sayısı | ME ₃₀ ^{20a,b} | S | |
| Sumatox® | | | | | | | | | p>0.05 |
| 1.Çalışma | 2.3 x 10 ⁸ | 0 | 8.4 | G | 3.2 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 2. Çalışma | 8.0 x 10 ⁷ | 0 | 7.9 | G | 1.4 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.Çalışma | 1.5 x 10 ⁸ | 0 | 8.2 | G | 9.6 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| Surfalyse® | | | | | | | | | p<0.05 |
| 1.Çalışma | 2.3 x 10 ⁸ | 3.1 x 10 ⁶ | 1.9 | K | 3.2 x 10 ⁶ | 3.2 x 10 | 5.0 | G | |
| 2. Çalışma | 8.0 x 10 ⁷ | 2.3 x 10 ⁶ | 1.2 | K | 1.4 x 10 ⁷ | 3.0 x 10 ² | 4.6 | K | |
| 3.Çalışma | 1.5 x 10 ⁸ | 1.7 x 10 ⁶ | 2.0 | K | 9.6 x 10 ⁶ | 1.5 x 10 ² | 4.9 | K | |
| 50FF® | | | | | | | | | p<0.05 |
| 1.Çalışma | 2.3 x 10 ⁸ | 5.1 x 10 ⁶ | 1.7 | K | 3.2 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |
| 2. Çalışma | 8.0 x 10 ⁷ | 3.1 x 10 ⁶ | 1.4 | K | 1.4 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.Çalışma | 1.5 x 10 ⁸ | 2.2 x 10 ⁶ | 1.9 | K | 9.6 x 10 ⁶ | 0 | 8.0 | G | |

a : ME₅²⁰ : 20° C'da, 5 dakika dezenfektan ile etkileşim sonucu elde edilen mikrobiyosidal etki

b : ME₅²⁰ : ≥ 5.0 = Etkili

4.3.2. *Staphylococcus aureus*'nin kullanıldığı deney sonuçları:

Her 3 dezenfektan, *Staphylococcus aureus*'a karşı temiz ve kirli koşullarda EST ve DGHM yöntemleri ile etkili bulunmuşlardır (Tablo 10, ve Tablo 11). Ancak, bu bakteriye karşı kirli koşullarda DGHM yöntemi ile yapılan deneylerde ilk iki ve 3. çalışma sonuçları arasında 2-log oranında bir fark oluşmuştur. Bu sonuçlara göre, yöntemler arasında temiz ve kirli koşullarda her 3 dezenfektanın etkinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 10: *Staphylococcus aureus* ile temiz koşullarda çalışılan EST ve DGHM yöntemlerinin sonuçları (S:Sonuç K:Kaldı, G:Geçti)

| | EST YÖNTEMİ | | | | DGHM YÖNTEMİ | | | | p |
|-------------------|-----------------------|------------------|----------------------------------|---|-----------------------|------------------|----------------------------------|---|--------|
| | Kontrol KOB Sayısı | Örnek KOB Sayısı | ME ₅ ^{20A,B} | S | Kontrol KOB sayısı | Örnek KOB Sayısı | ME ₅ ^{20A,B} | S | |
| Sumatox® | | | | | | | | | p>0.05 |
| 1.Çalışma | 1.3 x 10 ⁸ | 0 | 8.1 | G | 1.7 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 2.Çalışma | 1.1 x 10 ⁸ | 0 | 8.0 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.Çalışma | 1.0 x 10 ⁸ | 0 | 8.0 | G | 1.6 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| Surfalysé® | | | | | | | | | p>0.05 |
| 1.Çalışma | 1.3 x 10 ⁸ | 0 | 8.1 | G | 1.7 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 2.Çalışma | 1.1 x 10 ⁸ | 0 | 8.0 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.Çalışma | 1.0 x 10 ⁸ | 0 | 8.0 | G | 1.6 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 50FF® | | | | | | | | | p>0.05 |
| 1.Çalışma | 1.3 x 10 ⁸ | 0 | 8.1 | G | 1.7 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 2.Çalışma | 1.1 x 10 ⁸ | 0 | 8.0 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.Çalışma | 1.0 x 10 ⁸ | 0 | 8.0 | G | 1.6 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |

a : ME₅²⁰ : 20°C'da, 5 dakika dezenfektan ile etkileşim sonucu elde edilen mikrobiyosidal etki

b : ME₅²⁰ : ≥ 5.0 = Etkili

Tablo 11: *Staphylococcus aureus* ile kirli koşullarda çalışılan EST ve DGHM yöntemlerinin sonuçları (S:Sonuç K:Kaldı, G:Geçti)

| | EST YÖNTEMİ | | | | DGHM YÖNTEMİ | | | | p |
|-------------------|-----------------------|------------------|---|---|-----------------------|------------------|---|---|--------|
| | Kontrol KOB Sayısı | rnek KOB Sayısı | ME ₅ ^{20^{a,b}} | S | Kontrol KOB sayısı | rnek KOB Sayısı | ME ₅ ^{20^{a,b}} | S | |
| Sumatox® | | | | | | | | | p>0.05 |
| 1.çalışma | 9.2 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 2.alıřma | 8.0 x 10 ⁷ | 0 | 7.9 | G | 2.0 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.alıřma | 1.5 x 10 ⁸ | 0 | 8.2 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| Surfalysé® | | | | | | | | | p>0.05 |
| 1.çalışma | 9.2 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 2.alıřma | 8.0 x 10 ⁷ | 0 | 7.9 | G | 2.0 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.alıřma | 1.5 x 10 ⁸ | 0 | 8.2 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 10 | 6.3 | G | |
| 50FF® | | | | | | | | | p>0.05 |
| 1.çalışma | 9.2 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 2.alıřma | 8.0 x 10 ⁷ | 0 | 7.9 | G | 2.0 x 10 ⁷ | 0 | 8.0 | G | |
| 3.alıřma | 1.5 x 10 ⁸ | 0 | 8.2 | G | 1.8 x 10 ⁷ | 5 | 6.4 | G | |

a : ME₅²⁰ : 20°C'da, 5 dakika dezenfektan ile etkileşim sonucu elde edilen mikrobiyosidal etki

b : ME₅²⁰ : ≥ 5.0 = Etkili

5.TARTIŞMA

Dezenfektan etkinliğini değerlendiren testler süspansiyon, taşıyıcı ve kapasite testleri olarak üç ana grupta incelenebilirler. Bu çalışmada söz konusu grupları temsilen EST, DGHM germ taşıyıcı ve Kelsey-Sykes yöntemleri kullanılmıştır. Süspansiyon ve taşıyıcı testler arasındaki temel farklılık mikroorganizmalarla dezenfektanın süspansiyon testlerinde sulu ortamda; taşıyıcı testlerde ise bir yüzeyde karşılaşmasıdır. Bir kapasite testi olan Kelsey-Sykes bu açıdan süspansiyon testlerine benzemekle birlikte, ortamdaki artan mikroorganizma miktarı karşısında dezenfektanın etkinlik kapasitesini sınamasıyla diğer 2 yöntemden ayrılır. Ayrıca, yöntemler arasında mikroorganizma, organik madde ve nötralizanların kullanımları açısından da farklılıklar söz konusudur.

Birçok çalışmada farklı temellere dayanan yöntemlerin sonuçları arasında uyumsuzluk olduğu gösterilmiştir. Reybrouck ve arkadaşlarının yaptığı bir dizi çalışmada (3,4,17,41,42) 33 ayrı ticari dezenfektan ürünü 12 ayrı yöntemle çalışılmış ve sonuçların birbirleri ile uyumlu olmadıkları gösterilmiştir (4). Çok merkezli bir başka çalışmada, henüz taslak halinde bulunan Avrupa Yüzey Testi ile EST sonuçları karşılaştırılmış ve aralarında bir ilişki olmadığı saptanmıştır (7).

Bu ve benzeri çalışmalar incelendiğinde; mikroorganizma, organik madde ve nötralizanların kullanım parametrelerinin deney sonuçları üzerindeki etkisinin sorgulanmadığı görülmektedir. Bu çalışmada, söz konusu parametreler standardize edilerek farklı temellere dayanan yöntemlerin sonuçları arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir.

Farklı yöntemlerin karşılaştırıldığı çalışmalarda yaşanan diğer bir sorun kalitatif ve kantitatif sonuç veren yöntemlerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasıdır. Bu çalışmada uygulanan Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi kalitatif, DGHM ve EST yöntemleri ise kantitatif sonuç vermektedir. Bu nedenle, Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi istatistiksel karşılaştırmaya alınmamış ve ayrı değerlendirilmiştir.

Modifiye Kelsey-Sykes yöntemi ile elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde; sodyum dikloroizosiyanürat içeren Sumatox® adlı dezenfektanın, daha dirençli

olarak bilinen *Pseudomonas aeruginosa* yerine *Staphylococcus aureus*'a karşı etkisiz bulunması dikkati çekmektedir. Bu sonuç, Bloomfield'ın bir çalışmasında belirttiği gibi (43), *Staphylococcus aureus*'un *Pseudomonas aeruginosa*'ya göre hipoklorit çözeltisi ile dezenfeksiyona daha dirençli olması ile açıklanabilir. Bunun yanısıra, Sumatox®'un temiz ve kirli koşullarda 8'inci dakikada etkili, 18'inci dakikada etkisiz bulunması klor bileşiklerinin artan organik madde karşısında kolayca inaktive olmasına bağlanabilir.

Modifiye Kelsey-Sykes yönteminin önemli bir eksikliği, testin uygun bir biçimde çalışıp çalışmadığını kontrol eden bir mekanizmanın bulunmamasıdır. Ayrıca, Ergin ve arkadaşlarının belirttiği gibi (8), kullanılan malzeme miktarı ve yoğun işgücü nedeniyle bu yöntemin pahalı olduğu gözlenmiştir.

Hem EST hem de DGHM yönteminde sonuçların logaritmik azalma faktörü ile belirtilmesi nedeniyle, çalışmamızda bu iki yöntem arasında istatistiksel bir ilişki araştırılabilmıştır. Klinger (7), EST ile Avrupa Yüzey Testi sonuçlarını karşılaştırdığı çalışmasında; yöntemler arasındaki ilişkinin her bir dezenfektan için ayrı değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Benzer biçimde, bu çalışmada, genel olarak uyumsuz olan sonuçların her bir dezenfektan için ayrı ayrı karşılaştırıldığında değişebildiği gözlenmiştir. Bu bulgu, test edilen dezenfektanın kimyasal yapısı, değişik ortamlardaki stabilitesi ve etki biçiminin sonuçlar üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Test mikroorganizması olarak *Staphylococcus aureus* kullanılan deneylerde, incelenen tüm dezenfektanlar ile uyumlu sonuç alınırken; *Pseudomonas aeruginosa* kullanılan deneylerde ise yalnızca Sumatox® ile alınan sonuçların uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular, yöntemler arası karşılaştırmalarda, yalnızca dezenfektanın değil aynı zamanda test edilen mikroorganizmanın da gözönüne alınması gerektiğini düşündürmektedir.

Sodyum diklorozosiyanat içeren Sumatox® adlı dezenfektanın üretici firmanın önermiş olduğu 1000 ppm'lik klor konsantrasyonu ile elde edilen sonuçları incelendiğinde; dezenfektanın her iki bakteri ve yöntemle yapılan tüm testlerde mikroorganizma sayısında 5-log'dan daha fazla oranda bir azalma sağladığı görülmektedir. Ortamda %20 konsantrasyonda plazma varlığında sodyum diklorozosiyanat için önerilen klor konsantrasyonunun 2500 ppm olmasına karşın (43,44), bu çalışmada 1000 ppm'lik çözeltinin kirli koşullarda

etkili bulunması deneylerde plazma yerine sığır albumini kullanılmasına bağlı olabilir.

50FF® adlı dezenfektan, bir kuarterner amonyum bileşiği olan dideçil dimetil amonyum klorür; Surfalyse® ise aldehit grubu içermesi nedeniyle çalışmamıza alınmışlardır. Her iki dezenfektan ile yapılan ve *Staphylococcus aureus*'un kullanıldığı çalışma sonuçları incelendiğinde, hem EST hemde DGHM yönteminde mikroorganizma sayısında 5-log'dan daha fazla oranda bir azalma sağlandığı ve yöntemler arasında sonuçlar açısından anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* ile yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde ise hem temiz hem de kirli koşullarda EST ve DGHM yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa*'nın kuru ortamlarda canlılığını kısa sürede yitirdiği bilinmektedir. Dolayısıyla bu bulgu, yöntemle ilgili olarak, kullanılan bakteri türünün kuruluğa dirençlilik gibi bazı biyolojik özelliklerinin sonuçları etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, DGHM ve Kelsey-Sykes yöntemleri ile yinelenabilir sonuçların elde edilmesinde sorunların olduğu görülmektedir. Örneğin, kirli koşullarda *Staphylococcus aureus* ile çalışılan DGHM yöntemi sonuçları incelendiğinde, Surfalyse® ve 50FF® adlı dezenfektanların tüm çalışmalarda etkili bulunmalarına karşın, çalışmalar arasında ME değerinde 2-log'luk bir fark bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, *Staphylococcus aureus* ile Kelsey-Sykes yöntemi sonuçlarında Sumatox® adlı dezenfektan kirli koşullarda iki çalışmada etkisiz, bir çalışmada etkili bulunmuştur. Bu konuda literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde; Mattila'nın Kelsey-Sykes, Reybrouck'un ise AOAC yöntemleri için sonuçların yinelenebilir olmadığını vurguladıkları görülmektedir (2,45). Ayrıca, Bloomfield ve ark. nın yapmış oldukları bir çalışmada (46), EST testi farklı laboratuvarlarda, deneyimli yada deneyimsiz kişilerce, beş ayrı günde, üçer kez çalışılmış ve sonuçlardaki değişkenlikler saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, laboratuvarlar arasında ve her laboratuvarın kendi içinde farklı sonuçların alınabildiği belirtilmiştir. Yazarlar, sonuçlardaki bu değişkenliğin testi çalışanların yada laboratuvarın farklılığından değil; testlerde kullanılan bakteri kökenlerinin zaman içinde dezenfektanlara karşı duyarlılığında değişiklikler

olmasından kaynaklandığını öne sürmüşlerdir. Benzer biçimde, Bansemir ve ark. (47), soğukta saklanan bir stok kültürden farklı zamanlarda çoğaltılan bakteriler ile yaptıkları deneylerde, dezenfektanlara olan duyarlılığın 3-log oranında değişebildiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda *Staphylococcus aureus* ile elde edilen sonuçların yinelenebilir olmaması, bakterinin saklanması sırasında değişen duyarlılığına bağlı olabilir. Tablo 11’de görülebileceği gibi, ilk 2 çalışmada uyumlu olan sonuçların, üçüncü çalışmada yinelenememesi bu savı destekler niteliktedir.

Bu araştırmada yer alan EST ve DGHM yöntemlerinde, bir dezenfektanın etkinliği mikroorganizma sayısında 5-log oranında bir azalma sağlayıp sağlamadığına göre belirlenmektedir (17,18). Ancak, sonuçların değerlendirilmesinde Hollanda’da kullanılan “Quantitative Carrier Test” ve Belçika’da kullanılan “Quantitative Surface Disinfection Test”lerinde geçerli olan 3-log’luk azalma sınırı kabul edilseydi; DGHM yöntemi ile Surfalyse® kirli koşullarda, EST yöntemi ile Surfalyse® temiz ve 50FF® kirli koşullarda etkili bulunacaklardı (7). Ayliffe (5), EST yönteminde aranan 5-log’luk azalma koşulunun keyfi olarak belirlendiği ve 3 log’luk bir sınır değerinin dezenfektanların birçok kullanım alanı için yeterli olacağı görüşündedir. Klingeren ise (7), Avrupa Yüzey Testinde 5 log’luk bir azalma aranmasının ağır, gereksiz bir koşul olduğu ve aşırı bir dezenfektan tüketimine yol açtığı düşüncesindedir.

Dezenfektan etkinliğinin sınındığı deneylerde standard kökenlerin kullanılması yinelenebilirlik açısından gereklidir. Ancak, Yüce ve ark. (10), standard ve yerel bakteri kökenlerini tek bir yöntemle ve aynı dezenfektanlarla test ettikleri çalışmalarında, yerel kökenlerin standard kökenlere kıyasla daha dirençli olabildiklerini göstermişlerdir. Yüce ve ark. (9), *Mycobacterium tuberculosis* ve *Candida albicans*’la yaptıkları diğer bir çalışmada da yine benzer bir sonuç elde etmişlerdir. Bu sonuçlara dayanarak yazarlar, dezenfektanların etkinliklerinin değerlendirilmesinde standard kökenlerin yanında belirli aralıklarla yerel kökenlerin de kullanılması gerektiğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada, temel olarak metodolojik sorunlar irdelendiğinden, standard ve yerel kökenlerin dezenfektanlara olan duyarlılıkları karşılaştırılmamıştır. Mikroorganizmaların dezenfektanlara duyarlılık paternleri ülkeden ülkeye ve hatta hastaneden hastaneye değişebildiğinden (35,48,49), testlerde standard yanısıra yerel

kökenlerin de kullanılmasının, uygulamada karşılaşılabilecek sorunların öngörülebilmesi açısından yararlı olacağı açıktır.

6.ÖNERİLER

Önümüzdeki yıllarda, "European Committee for Standardization"na üye ülkeler CEN TC 216'nın ortaya çıkartacağı test yöntemlerini kendi standartları olarak kabul edeceklerdir. Büyük bir olasılıkla, Türkiye de bu ülkeler arasındaki yerini alacak ve yürürlükteki standartlar değişecektir.

Standardizasyon kadar önemli bir konu da testlerin kimler tarafından ve hangi koşullarda yapılacağıdır. Testlerden yinelenebilir sonuçların alınmasındaki güçlükler testlerin konularında deneyimli kişilerce çalışılmasını gerektirmektedir. Ayliffe ve Bloomfield (5,46), hastane laboratuvarlarının bu çalışmalar için yeterli zaman ve deneyime sahip olamayacaklarını öne sürmüş ve çözüm olarak, testlerin mali desteği ilgili firmalarca karşılanacak bağımsız bir laboratuvarca yürütülmesini önermişlerdir. Ülkemiz koşulları açısından, bu tür çalışmaların uzmanlaşmış bir merkezde yürütülmesi uygun bir çözüm olabilir.

Dezenfektan test yöntemlerinin standardizasyonuna ilişkin çalışmalar sona erinceye ve alt yapısı uygun bir merkez oluşturulana kadar, hastanelerimizde dezenfektan seçimine yönelik olarak aşağıdaki öneriler yol gösterici olabilir :

1- Kimyasal dezenfektan seçiminde öncelikle; yok edilmek istenen mikroorganizmanın türü, dezenfekte edilecek yüzeyin veya aletin yapısı, ortamın temizlik koşulları ve öngörülen maliyet sınırları belirlenmelidir.

2- İstenen özellikleri taşıyan ürünler, laboratuvarın altyapısına, deneyimine ve dezenfektanın kullanım amacına uygun bir test yöntemi ile test edilmelidir. Bu çalışmada, süspansiyon testlerinin maliyet ve kullanım kolaylığı açısından diğer yöntemlere üstün olduğunu düşündüren veriler elde edilmiştir.

3-Laboratuvarın testler için öngörülen koşulları sağlayamaması durumunda, bu konuda yetkinliğini kanıtlamış merkezlerden yararlanılmalıdır.



7.KAYNAKLAR

1. Özdemir N. Dezenfektan ve antiseptikleri in vitro tayin yöntemi. Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon İşlemleri ve Hastanede Uygulanışları, Ed: E. T. Çetin, İstanbul Tıp Fakültesi Yayını, Sanal Matbaacılık, İstanbul, 1982: 69-82
2. Ayliffe G. A. J. Standardization of disinfectant testing. J Hosp Infect, 1989;13: 211-216
3. Reybrouck G. The assessment of the bactericidal activity of surface disinfectants. III. Practical tests for surface disinfection. Zbl. Hyg. 1990; 190: 500-510
4. Gurevich I., Yannelli B., Cunha BA. The disinfectant dilemma revisited. Infect Control Hosp Epidemiol. 1990; 11: 96-100
5. Reybrouck G. International standardization of disinfectant testing: is it possible? J Hosp Infect 1991; 18 (Suppl. A): 280-288
6. Reybrouck G. The assessment of the bactericidal activity of surface disinfectants. V. Correlation of the tests with practice. Zbl. Hyg. 1992; 192: 438-446
7. Klinger B van. Disinfectant testing on surfaces. J Hosp Infect 1995; 30 (Suppl.): 397-408
8. Ergin Ü., Artukal S., Gülen D., Bozok-Johansson C. Comparison of methods for measuring activities of disinfectants. The International Symposium and Workshop on Hospital Hygiene and Hospital Infection Control. 7-11 October 1996 Abstracts of free papers, Publication of the Turkish Microbiological Society No: 29, İzmir, 1996: 35
9. Yüce A., Charckhi R.H., Okuyan M. Çeşitli yüzey dezenfektan ve antiseptiklerin *Mycobacterium tuberculosis* ve *Candida albicans* üzerine etkileri. Infek. Derg. 1989; 3: 399-408
10. Yüce A., Okuyan M., Abedi M. Çeşitli dezenfektanların ve antiseptiklerin *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerine etkileri. Infek. Derg. 1989; 3: 93-101
11. Yüce A., Yücesoy M., Okuyan M. PVC yer döşemelerinin dezenfeksiyonunda bazı dezenfektanların etkisi. ANKEM Derg. 1990; 4: 281

12. Yüce A. The effects of various disinfectants and antiseptics on *Candida albicans* strains. *Candida and Candidamycolosis*. Eds: E. Tümbay *et al.* Plenum Press, New York. 1991: 247-250
13. Mustafa M. Y. Türkiye’de bulunan dezenfektan ve antiseptik maddelerin hastane enfeksiyonu oluşturan suşlara karşı aktivitelerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D. 1992
14. Koşan E., Kocabeyoğlu Ö., Lokman N. S., Birinci İ., Fidan A., Kanmaz M. Etkin maddesi sodyum diklorisosiyanyurat olan bir dezenfektanın (Presept) hastane ortamından izole edilen bakterilere etkinliği. *ANKEM Derg.* 1994; 8: 115
15. Yüce A., Yücesoy M., Yuluğ N. The effect of various disinfectants and antiseptics on *Candida albicans*. *İnfek. Derg.* 1996; 10: 361-363
16. British Standards Institution. Estimation of concentration of disinfectants used in “dirty” conditions in hospitals by modified Kelsey-Sykes test. *British Standard* 1987: 6905.
17. Reybrouck G. The assessment of the bactericidal activity of surface disinfectants. I. A comparison of three practical tests. *Zbl. Hyg.* 1990; 190: 479-491
18. British Standards Institution. Method of test for the antimicrobial activity of disinfectants in food hygiene. *British Standard* 1988: DD 177
19. Rutala W. A. Antisepsis, disinfection, and sterilization in hospitals and related institutions. *Manual of Clinical Microbiology*. Eds:Murray P.R., Baran E. J., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover F. C., Tenover F. C., Yolken R. H. 6th edition. ASM Press, Washington D.C. 1995: 227-245
20. Marsık F. J., Denys G. A. Sterilization, decontamination, and disinfection procedures for the microbiology laboratory. *Manual of Clinical Microbiology*. Eds:Murray P.R., Baran E. J., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover F. C., Tenover F. C., Yolken R. H. 6th edition. ASM Press, Washington D.C. 1995: 86-98
21. Ayliffe G. A., Hambraeus A. Araç gereç ve ortamın dekontaminasyonu. *İnfeksiyon Kontrolü için Eğitim Programı Temel Kavramlar ve Uygulamalar*. Türk Mikrobiyoloji Yayını No: 30, İ.Ü.Basımevi ve Film Merkezi İstanbul. 1997: 7-13

22. Pelczar M. J., Chan E. C. S., Krieg N. R. Control of microorganisms: Chemical agents. Microbiology Concepts and Applications. McGraw-Hill. 1993: 221-240
23. Bilgehan H. Dış ortamın mikroorganizmalar üzerine etkisi. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi Şafak Matbaacılık, Ankara. 1993: 177-214
24. Willeett H. P. Sterilization and Disinfection. Zinsser Microbiology. Eds: Joklik W. K., Willeett H. P., Amos B. D., Wilfert C. M. 20th edition. Orenttice-Hall Int. Inc. New Jersey. 1992: 188-200
25. Kayaalp O. Antiseptikler ve dezenfektanlar. Rasyonel tedavi yönünden, Tıbbi Farmakoloji Cilt:1. 6. Baskı Feryal Matbaacılık Ankara. 1991: 961-977
26. Eraksoy H. Antiseptik maddeler. Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon İşlemleri ve Hastanede Uygulanışları, Ed: E. T. Çetin. İstanbul Tıp Faküktesi Yayını, Sanal Matbaacılık, İstanbul. 1982: 53-68
27. British Standards Institution. Guide to choice of chemical disinfectants. British Standard 1991: 7152.
28. Sağduyu H. Dezenfektan Maddelerin Genel Kullanım Özellikleri. Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon İşlemleri ve Hastanede Uygulanışları. Ed: E. T. Çetin. İstanbul Tıp Faküktesi Yayını, Sanal Matbaacılık, İstanbul. 1982: 42-52
29. Cremieux A., Fleurette J. Methods of testing disinfectants, Disinfection, Sterilization and Preservation. Ed: Block S. S. 4th edition. Lea & Febiger, Philadelphia. 1991: 1009-1027
30. British Standards Institution. Assessing the efficacy of disinfectants by the modified Chick-Martin test. British Standard 1986: 808.
31. Türk Standardları Enstitüsü. Antiseptik ve dezenfektanlar Bölüm 5: Sporisit aktivite tayini. Türk Standardları 1989: 6776
32. Türk Standardları Enstitüsü. Antiseptik ve dezenfektanlar Bölüm 5: Fungisit aktivite tayini. Türk Standardları 1989: 6777
33. Türk Standardları Enstitüsü. Antiseptik ve dezenfektanlar Bölüm 5: Bakterisit aktivite tayini. Türk Standardları 1989: 6775
34. Bellamy K. A review of the methods used to establish virucidal activity. J Hosp Infect. 1995; 30 (Suppl.): 389-396

35. Nicoletti G., Boghossian V., Gurevitch F., Borland R., Morgenroth P. Antimicrobial activity in vitro of chlorhexidine, a mixture of isothiazolinones ("Kathon CG) and cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB). *J Hosp Infect* 1993; 23: 87-111
36. Andenmatten R., Reber H. Methode zur Prüfung von Flachendesinfektionsverfahren unter Anwendungsbedingungen. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B*, 1984; 179: 340-364
37. Scott E., Bloomfield S. F., Barlow C. B. Evaluation of disinfectants in the domestic environment under "in use" conditions. *J. Hyg. Camb.* 1984;92: 193-203
38. Best M., Springthorpe V. S., Sattar S. A. Feasibility of a combined carrier test for disinfectants: Studies with a mixture of five types of microorganisms, *Am J Infect Contr*, 1994; 22: 152-162
39. Walder M., Myrback K. E., Nilsson B. A method to evaluate the cleaning and disinfectant action of surface disinfectants. *J Hosp Infect* 1989; 13: 149-159
40. Dawson B., Trapp R. G. Estimating and comparing means. Prentice-Hall Int. Inc. New Jersey. 1994: 99-124
41. Reybrouck G. The assessment of the bactericidal activity of surface disinfectants. II. Two other practical tests *Zbl. Hyg.* 1990; 190: 492-499
42. Reybrouck G. The assessment of the bactericidal activity of surface disinfectants. IV. The AOAC use-dilution method and the Kelsey-Sykes test. *Zbl. Hyg.*, 1992; 192: 432-437
43. Bloomfield S. F., Uso E.E. The antibacterial properties of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate as hospital disinfectants. *J Hosp Infect* 1985; 6: 20-30
44. Bloomfield S. F., Miller E. A. A comparison of hypochlorite and phenolic disinfectants for disinfection of clean and soiled surfaces and blood spillages. *J Hosp Infect* 1989; 13: 231-239
45. Mattila T. A modified Kelsey-Sykes method for testing disinfectants with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride reduction as an indicator of bacterial growth. *J Appl. Bact.* 1987; 62: 551-554

46. Bloomfield S., looney E. Evaluation of the repeatability and reproducibility of European suspension test methods for antimicrobial activity of disinfectants and antiseptics. *J Appl. Bact.* 1992; 73: 87-93
47. Bansemir K. P., Kaupp S. Der Einfluss der Vorkultur auf die Desinfektionsmittelprüfung. *Zbl. Hyg.* 1991; 192: 94-98
48. Nagai I., Ogase H. Absence of role for plasmids in resistance to multiple disinfectants in three strains of bacteria *J Hosp Infect* 1990; 15: 149-155
49. Russell A.D., Hammond S.A., Morgan J.R. Bacterial resistance to antiseptics and disinfectants *J Hosp Infect* 1986; 7: 213-225

