ANTİSEPTİKLER VE DEZENFEKTANLAR

Dr.Öğr.Üyesi Emel Mataracı Kara

- Genel anlamda biyosidler olarak adlandırılan antiseptik ve dezenfektan maddeler dezenfeksiyon, sterilizasyon ve sanitasyon amacıyla kullanılan inorganik ya da organik sentetik moleküllerdir.
- Cansız eşyaya uygulanan maddeler dezenfektan olarak adlandırılırken, canlı dokuya uygulanabilen bileşiklere genel olarak antiseptik denilmektedir.

Dezenfektan madde

- Patojen mikroorganizmaları öldüren, virusları inaktive eden kimyasal maddeler olarak tanımlanırlar.
- Bakterilerin vejetatif şekillerini öldüren ancak bazılarının spor şekillerini etkilemeyen maddelerdir.
- Dezenfektanın uygun kullanımı, uygulama amacına veya bulunduğu düşünülen infeksiyöz etkene bağlıdır.
- Dezenfektan maddenin öldürücü etkisi **bakterisit, fungusit, virusit ya da sporosit** olarak isimlendirilirken; üremeyi önleyici etkisi ise **bakteriyostatik, fungustatik** olarak adlandırılır.

Dezenfektanın etkisi birçok faktörle değişir ve şu terimlerle ifade edilir:

İnhibisyon katsayısı (Inhibition coefficient: IC) Dezenfektan maddenin buyyon gibi bir besiyerinde üremeyi tamamen durduran en düşük konsantrasyonudur.

İnferior letal katsayı (ILC)

Sporsuz bakterileri öldürmek için gerekli temas süresi ve dezenfektan konsantrasyonudur.

Süperior letal katsayı (SLC)

Sporlu bakterileri öldürmek için gerekli temas süresi ve dezenfektan konsantrasyonudur.

Fenol katsayısı (PC)

Dezenfektan maddenin İnferior letal katsayısının fenolünküne oranıdır

Dezenfektan ve antiseptik maddeler

Anorganik bileşikler

- Asit ve alkaliler
- Ağır metaller ve tuzlar
- Oksidan maddeler
- Kireçli maddeler

Organik bileşikler

- Organik metal bileşikleri
- Fenoller ve alkoller
- Deterjanlar
- Gaz dezenfektanlar
- Boyalar

Dezenfektanların Etki Şekilleri

Mikroorganizmanın sitoplazma zarı işlevlerine etki eden dezenfektanlar

Hücrenin sitoplazma zarının yapısal düzenini değiştirerek zarın yarı geçirgenliğini, hücrenin aktif transportunu ve enerji metabolizmasını bozarlar.

- Yüzey aktif maddeler (Örn: Deterjanlar)
- Fenoller ve organik çözücüler (Örn: Krezoller)

Mikroorganizma hücresi proteinlerini denatüre eden dezenfektanlar

Protein moleküllerinin normal işlevlerini görebilmeleri için bulunmaları gereken uygun uzay konumunu değiştirerek protein zincirlerinin düzensiz ve rastgele bir şekilde halkalaşma ve helezonlaşmalarına yol açarak bakterisit etki gösteren dezenfektanlardır.

* Asit ve alkaliler
* Alkoller
* Aseton ve diğer organik çözücüler

Mikroorganizma enzimlerinin işlevsel gruplarını bozan veya değiştiren dezenfektanlar

Enzimin işlevsel gruplarıyla tepkimeye girerek etkilerini gösteren dezenfektanlardır.

* Ağır metaller (Örn: Civa,arsenik ve gümüş gibi elementler)
* Bazı katyonik ve anyonik deterjanlar
* Okside edici maddeler
* Bazı boyalar
* Formaldehit ve ve etilen oksit gibi alkilleyici maddeler

Antimikrobiyal ajanlarla ilişkili faktörler

- Bir dezenfektanın etkin olabilmesi için, geri dönüşümü olmayan letal etkiye sahip olması gerekir.
- Bazıları oldukça hızlı etki yapabilirken, bazıları saatler süren bir temas gerektirebilir.
- Dezenfektana ait formülasyonda çok sayıda antimikrobiyal ajan varsa, biyolojik etkinlik her ajanın sebep olduğu ayrı ayrı etkilerin bir sonucudur.
- Antimikrobiyal ajan başka türden bileşenlerle kombine edildiğinde sinerjik ya da antagonist etki oluşturabilirler

Mikroorganizmalarla ilgili faktörler

Mikroorganizmaların yapısı

- Neredeyse bütün dezenfektanların bir bakterisit etkileri vardır.
- Çoğu dezenfektan maddenin mayalar üzerinde fungusit etkileri mevcut iken küflerin bazıları üzerine etkilidirler.

- Az sayıda dezenfektanın sporosit etkiye sahip olduğu bilinmektedir.
- Genel olarak baktığımızda dezenfektanlara en dirençli yapılar prionlar, koksidya, spor, mikobakteri, kist, küçük zarfsız viruslar, trofozoitler, Pseudomonas ve providenciae gibi Gram negatif bakteriler ile mantarlar, büyük zarfsız viruslar, Gram pozitif bakteriler ve zarflı viruslar olarak sıralanmaktadır

Mikroorganizmaların fizyolojik durumu

- Mikroorganizmalarda, log fazındaki genç hücreler, durağan fazdaki hücrelere kıyasla, antimikrobiyal ajanlara karşı daha duyarlıdır
- Hücre yaşının yanısıra üreme ısısı, besiyeri ortamının osmotik basıncı ya da oksijen yüzdesi gibi bazı faktörler hücrenin kimyasal yapısını ya da düzenini değişikliğe uğratabilir.

Mikroorganizmaların içerisinde bulunduğu çevresel faktörler

* Konsantrasyon
* Sıcaklık
* Organik madde varlığı
* Elektrolitler
* Katkı maddeleri ve bileşenler

Mikroorganizmaların içerisinde bulunduğu çevresel faktörler

Konsantrasyon

Antimikrobiyal ajanın molekül sayısı konsantrasyonuna bağlıdır. Bu sayı antimikrobiyal etki için belirleyici olmaktadır.

Sıcaklık

Genel olarak, ısı mikrobisidal etkiyi arttırır. Bu faktörün etkisi aktif bir bileşenden diğerine oldukça büyük değişkenlikler gösterir. Yapılan çalışmalar aynı ürün için sıcaklık katsayısının mikroorganizmaya bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur.

Organik madde varlığı

Organik maddelerin engelleyici özellikleri; ya aktif ürünü tüketen gerçek bir kimyasal reaksiyonla (oksidasyon ya da redüksiyon) ya da antimikrobiyal ajanın mikroorganizmaya ulaşmasını azaltacak yüzey adsorbsiyonu ile olmaktadır.

Örn: Oksitleyici ürünlerle (hipokloritler) kimyasal olarak reaktif ürünler (fenoller, asitler) özellikle proteinlerin varlığında inhibe olurlar.

Elektrolitler

Bu iyonlar bir yandan şelatlaştırma ajanları olarak aktif bileşiklerle çözünmeyen ya da aktif olmayan kompleksler oluştururken, diğer taraftan da hücre membranından ilaç emilimini sınırlandırırlar.

Bu yüzden etilendiamin-tetraasetik asit (EDTA) gibi şelatlaştırma ajanları, sert suyun engelleyici etkisini azaltmak ve özellikle Gram negatif bakterilere karşı istenilen bakterisidal aktivitenin sağlanması için sıklıkla ürün formülasyonlarına ilave edilir.

Katkı maddeleri ve bileşenler

Özellikle **polivinil pirolidin**, **polyester glikoller** veya **polioksialkilenler** gibi değişik makromoleküllerin antimikrobiyal ajanların aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. Bu bileşikler çoğunlukla planlanan kullanım için uygun vizkozitenin sağlanmasında formülasyonun akışkanlığını azaltabilen katkı maddeleridir.

Aynı anda hem temizlik hem de dezenfeksiyon sağlayabilen deterjan-dezenfektan ürünler formüle edildiğinde değişik sürfaktanlar ortama sunulmaktadır. Bunların bazıları antibakteriyal özelliklere sahip iken bir kısmıda antimikrobiyal aktivite inhibitörleri olup sıklıkla testlerde nötralizan madde olarak kullanılırlar.

Mikrobiyal flora ve biyofilmler

Doğal hallerinde mikroorganizmalar homojen ya da heterojen topluluklar halinde bulunurlar. Biyofilm, organik polimerler matriksi içinde oldukça düzensiz dağılım gösteren ölü ya da canlı mikroorganizma agregatlarının birikmesi olarak tanımlanır.

Yüzeye yapışan bu yapı organik ve inorganik tortularla komplike haldedir

Biyofilm varlığında antimikrobiyal etki genel olarak azalır. Ortamda polisakkarit veya protein ekzopolimerlerinin varlığı ve hücrelerin fizyolojik halleri ve fiziki ve kimyasal şartlar (pH, redoks, vb. gibi) biyofilm oluşum düzeyinde değişkenliklere yol açabilir.

Ortamda heterojen popülasyonların varlığı da dezenfeksiyonda yine önemli sorunlara neden olabilmektedir.

Doğal ve kazanılmış direnç!!!!!!!!!!!!

Dezenfektanların in vitro duyarlılığını belirleyen testler

Dezenfektan aktivite testlerinde ürünün letal (Öldürücü) etkisinin değerlendirilmesi önemlidir.

Letal etkinin saptanması için ortamdaki canlı mikroorganizmaların tespiti gereklidir.

Testlerde genel olarak, dezenfektanın bilinen dilüsyonları standardize edilmiş belirli hacimdeki inokulum ile karıştırılır.

Belirli bir temas süresini takiben uygun besiyerlerine sub kültürleri yapılarak, canlı kalanlar kalitatif ya da kantitatif olarak tespit edilir.

Bu testlerde nötralizasyon işlemi önemlidir.

Bu işlem ile sub kültür öncesi biyosidal aktivite durdurulur.

- Kalitatif süspansiyon testlerinde sonuç, etkili-etkisiz;
- Kantitatif süspansiyon testlerinde ise başlangıçtaki inokulum yoğunluğu dikkate alınarak işlem sonrasında saptanan canlı mikrorganizmaların sayımı gerçekleştirilir ve gözlenen logaritmik azalma ile dezenfektanın etkinliği yorumlanır.

Antimikrobiyal etkinliğin değerlendirilmesinde sonucu etkileyen faktörler

Test Suşlarının Seçimi

Kullanılacak test suşunun tanımlanması önemlidir.

- Aktivitenin belirlenmesinde normal florayı temsil eden suşların seçilmesi ve kullanılan suşların inokulum hazırlamada güvenilirlikleri açısından laboratuvarda saklanmaları gereklidir.
- Bakterilere karşı etkinin incelenmesinde bir ya da daha fazla sayıda Gram-pozitif bakteri ile Gram-negatif bakteri
- Mikobakteriler için

  - Çoğu antimikrobiyal ajana direnç gösterdiği bilinen avium-intrasellulare grubuna ait mikobakterilerin kullanılması tercih edilir.

Etkinlik kriterlerinin belirlenmesi

- Değerlendirmede süspansiyon testleri ve uygulama testlerinde etkinlik için kabul gören kriter, test işlemine alınan organizmanın yoğunluğunda işlem sonrası kabul edilebilir düzeyde bir azalmanın saptanmasıdır.

Değerlendirmelerde,

Bakterisidal etkinlik kriteri, 4-6 log arasında değişmekle birlikte en çok kabul edilen azalma 5 log,

Fungisidal etkinlik için 4 log,

Virusidal etkinlik için 4 log,

Mikobakterisidal etkinlik için 1 log,

Sporosidal etkinlik için 5 log

Dezenfektanın aktivitesinde önemli parametreler

Isı

- Genellikle oda sıcaklığı (20ºC ile 25ºC arası)
- Gıda sektörüyle ilgili bazı uygulamalarda 4ºC-10ºC arasındaki ısılarda gerçekleştirilir.

Temas süresi

- Güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların alınabilmesi için en az 3 dakika, Standart olarak 5-15 dakika arasında değişen süreler (Zorunlu test süresi olarak) tavsiye edilmektedir.

Test yöntemine ait kritik aşamalar

İnokulum hazırlanması:

- Test organizmasına uygun besiyerlerinde ideal inkübasyon süresi ve ısısına bağlı kalarak üretilmiş suşlardan hazırlanmalıdır.
- İnokulumun titresi, test yöntemine ve değerlendirme için beklenen log azalma oranına göre sabitlenmelidir.
- Ürünün bakterisit etkinliğinin belirlenmesinde, önerilen 5 log luk bir azalma sağlayabilmek için başlangıç inokulum yoğunluğu ona göre ayarlanmalıdır

Nötralizasyon veya membran filtrasyonla yıkama işlemi:

- Seçilen prosedür her ne olursa olsun mikroorganizmaya zarar vermemeli
- Nötralizan maddenin toksisitesi uygun kontrollerle denetlenmelidir.

Canlı kalanların tespiti ve sayımı:

- Hayatta kalanların tespiti ve sayımının güvenilir ve tekrarlanabilir olması
- Kantitatif sayım için örnekleme
- Canlı kalanların araştırılması için uygun örneklemenin yapılması
- Örnekleme miktarı
- Canlı kalanların miktarının tespit edilebileceği büyüklükte bir miktar alınmalıdır.

Subkultür ve canlandırma

- Dilüentlerin bileşimleri:

Bakterilerin üretilmelerinde toksik olabileceği düşünülebileceğinden steril su yada tuzlu su yerine peptonlu su yada nutrient broth kullanılmalıdır.

- Üreme ortamının bileşimi:

Aktif karbon ile divers katyonlar, fenol ile muamele edilmiş bakterilerin üremesini destekler.

- İnkübasyon yöntemleri:

Optimal üreme ısısı ve koloni sayımı için uygun inkübasyon süresi sağlanmalıdır.

Dezenfektan testlerinin Sınıflandırılması

Amaca dayalı sınıflandırma

Uygulanacak metod ile dezenfektanın, sporosidal, fungusidal, bakterisidal veya virusidal potansiyel gibi özelliklerin ortaya konulmasında kullanıma uygun ideal koşulların (etkin konsantrasyon, temas süresi ve ortam ısısı) belirlenmesi hedeflenir.

Kullanılacak yöntemin özelliklerine göre sınıflandırma

- Süspansiyon testleri (kalitatif ve kantitatif testler)
- Uygulama testleri (Kapasite testler, taşıyıcı testler, yüzey ve alet dezenfeksiyon testleri)
- Kullanım etkinliği testleri
- Biyofilm testleri

Süspansiyon testleri

- **Laboratuvar koşullarında biyosidal ürünlerin geliştirilmesi doğrulanması ve tescilinde yaygın olarak kullanılmaktadır**
- Basittir,
- Özel uygulama ve maliyet gerektirmez,
- Özel ekipmana gereksinim göstermez,
- Bu testle mikroorganizma türü, temas süresi, dezenfektan konsantrasyonu, inokulum miktarı, ortam ısısı, engelleyici maddeler gibi) aynı anda incelenebilir.
- Bu testlerle, dezenfektan ürünün biyosidal etkisi araştırılırken, çalışma ortamına ilave edilen organik (kan,serum vb) ve inorganik (ağır metaller, sert su vb.) maddeler gibi potansiyel inhibitör maddelerin etkiside ortaya konulabilmektedir.

- Uygulama testleri

Bu grup testler için alet ve yüzeyler, oda köşeleri, hava, Balgam, dışkı, el ve deri, yüzme havuzu vb. uygulama alanları kullanılmaktadır.

Bu testlerle dezenfektanların farklı yüzeylerdeki etkileri incelenmektedir.

- Kullanım etkinliği testleri

Bu testlerin amacı, bir dezenfektana ait gerçek uygulamada kullanılan ve önceden tanımlanmış uygulama prosedürünün etkinliğinin değerlendirilmesidir.

- Biyofilm testleri

Biyofilmler üzerinde dezenfektan etkinliği için hazırlanmış testlerdir. Biyofilmlerdeki farklılıklara göre değişiklik göstermektedir.

Mikroorganizmanın yapısına göre sınıflandırma

Bakterisidal aktivite testleri:

Bu testler bakterisidal aktiviteyi belirlemek amacıyla Gram negatif ve Gram pozitif bakterileri kapsayacak şekilde gerçekleştirilir. Bakterisidal etkinlikte 5 dakika içinde 5-log luk azalma gereklidir.

Mikobakterisidal aktivite testleri:

Mikobakterilere karşı dezenfektan etkinliği değerlendirilirken özel dikkat gerekir. Hidrofobik yapıları nedeniyle homojen süspansiyonlarını hazırlamak güçtür. Çok yavaş üredikleri nden testte özellikle hızlı üreyenler test organizması olarak seçilir.

Bakterilerin tümünü öldüren dilüsyon, maksimum güvenli konsantrasyon olarak belirlenir.

Sporosidal aktivite testleri:

Bakteri sporları kimyasal maddelere karşı oldukça dirençli olduklarından spor oluşturan patojenlerce bir kontaminasyon riski tanımlanmadıkça dezenfektanlardan sporosidal aktivite zorunluluğu beklenmez. Sporosidal etkinlikte en az 1 log azalma beklenir.

Fungusidal aktivite testleri:

Test edilen organizmalar mayalar ya da küflerdir. Kantitatif testlerde, fungusidal etkinlik için kriter, başlangıçtaki mevcut organizma sayısının 15 dakika içinde 4 log ya da daha fazla azalmasıdır.

Virusidal aktivite testleri:

- Yapay besiyerlerinde üretilemediklerinden dezenfektan aktivite testleri için doku kültürleri, embriyonlu yumurta ve deney hayvanları kullanılır. Virusidal aktivitenin test edilmesinde poliovirus, herpesvirus, rotavirus gibi sınırlı sayıda virus için plak sayım yöntemi kullanılır.
- Bu testlerde 15-60 dakika içinde 4 log luk bir azalmanın beklenir.

Biyosidler ve Direnç

Biyosidler (dezenfektanlar, antiseptikler ve koruma amaçlı kullanılan tüm antimikrobikler) hastanelerde, endüstride ve toplumda ev ortamında uzun süredir yaygın olarak kullanılan maddelerdir.

Evlerde kullanılan yüzey temizleyicileri

- Bulaşık deterjanları
- Sabunlar, diş macunları, kozmetikler
- Plastikler, seramikler
- Klozet kapakları
- Duvar boyaları ve yapı malzemeleri

Yaygın, yoğun ve hatalı antibiyotik kullanımı ile gelişen antibiyotik direnci yanısıra;

yaygın ve yoğun biyosid kullanımının biyosid direncini geliştirip geliştirmeyeceği konusunda farklı görüşler vardır.

Mikroorganizmaların dezenfektanlara karşı iki türlü direnci vardır:

1. İntrinsik direnç

2. Kazanılmış direnç

İntrinsik dirençte, dezenfektanlarla temas olmadan mikroorganizmanın dezenfektana karşı doğal direnci vardır.

Kazanılmış direnç ise; kromozomlardaki mutasyon, plazmit ya da transpozonlar aracılığı ile olur.

Dezenfektanların yaygın ve hatalı kullanımı dezenfektanlara dirençli patojenlerin seçilerek ortaya çıkmasına neden olabilir.

Nitekim laboratuvar koşullarında, kendileri antibiyotiklere dirençli ve ayrıca antibiyotiklere direnci artmış MRSA (metisiline dirençli *S. aureus*) gibi bakterilerin çoğalmasına neden olan dezenfektanlar gösterilmiştir.

Antibiyotiklerin vücut dokularında ulaşabildikleri **konsantrasyon düzeyinin altında ya da üzerinde** kalan **antibiyotik konsantrasyonları** için mikroorganizmalarda **duyarlılık ve dirençten** söz edilebilir.

Biyosidlerde ise durum farklıdır.

1. **Biyosidlerin, bakteri üremesini durduran minumum inhibitör konsantrasyonları (MİK) kullanıldıkları konsantrasyonun çok altındadır. Bu durumda gerçek direnç gelişimi olmaz.**

2. Biyosid direnci nonspesifiktir.

Biyosidler bir mikroorganizmadaki farklı bölgelere bağlanabilir ve farklı hedefleri etkileyebilirler.

Tek bir hedef molekülündeki değişiklik ancak çok kısıtlı bir duyarlılık azalması meydana getirir.

Gerçek bir direnç oluşumu için

- Hücre duvar değişikliği
- Direnç geni transfer etme
- Pompa proteinlerinin aşırı üretimi gibi birden çok direnç mekanizmasının aynı anda çalışması gerekir.

Yaygın biyosid kullanımı antibiyotik çarpraz direncine yol açar mı?…

Biyosidlerin yaygın, yoğun ve uygun olmayan kullanımının klinik açıdan anlamlı bir biçimde antibiyotik direncine yol açıp açmadığı konusunda kesin bir uzlaşma yoktur. Ancak, veriler doğrultusunda çapraz antibiyotik direncinin gelişmeyeceği konusunda bir şey söylemek de doğru değildir.

Yararın zarara dönüşmemesi için biyosid kullanımının,

yararı bilimsel açıdan kanıtlanmış ve kabul görmüş uygulama alanları ile sınırlandırılması, bilinen etkili dozun altındaki dozlarda biyosidlerin kullanılmaması

uygundur