T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMASÖTİK ENDÜSTRİDE SINIFLI ALANLARDA KULLANILAN BAZI DEZENFEKTANLARIN STANDART MİKROORGANİZMA SUŞLARI ÜZERİNDEKİ ETKİNLİĞİ

TUĞBA AKBAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burhan ŞEN

EDİRNE-2017

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Murat YURTCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Burhan ŞEN
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Prof. Dr. Ahmet ASAN	
Doç. Dr. Burhan ŞEN	
Yrd. Doç. Dr. İskender KARALTI	

Tarih: 08/09/2017

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

16/08/2017

Tuğba AKBAL

Yüksek Lisans Tezi
Farmasötik Endüstride Sınıflı Alanlarda Kullanılan Bazı Dezenfektanların Standart Mikroorganizma Suşları Üzerindeki Etkinliği
T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışma da, steril ilaç üretimi gerçekleştiren bir fabrika da düzenli periyotlarla kullanılan dezenfektanların etkinliği tespit edilmek istenmiştir. Seçilen dezenfektanların sınıflı alanlar için uygun dezenfektanlar olup olmadığı, yüzey veya el fark etmeksizin günlük kullanımda sürekli tekrarlanan dezenfeksiyon işleminin geçerliliği ve etkisi belirlenmesi hedeflenmiştir. Yapılan çalışma da, ilaç endüstrisinde temiz alan sınıflarında yaygın olarak kullanılan X dezenfektanı, Y dezenfektanı, Z dezenfektanı, T dezenfektanı, P dezenfektanı, Q dezenfektanı ve W dezenfektanlarının, 6 standart suşu olan *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Candida albicans, Aspergillus brasiliensis* ve çevreden izole edilmiş olan *Micrococcus sp.* üzerinde ki etkisi tespit edilmiştir. Bu işlem için üretim tesislerini oluşturan yüzeylerden alınan kesitler kullanılmıştır. (Yer, duvar, paslanmaz çelik, cam, tavan, LAF perdesi ve steril eldiven yüzeyi).Kullanılacak dezenfektanların öncelikli olarak uygun temas süreleri belirlemek amacı ile membran filtrasyon yöntemi uygulanmıştır. Etkili temas sürelerinin belirlenmesinin ardından bu süreler ele alınarak, kullanım alanına göre dezenfektan solüsyonları hazırlanmış veya direk olarak dezenfektanın uygulamasına geçilmiştir. Dezenfektanların haricinde yüzey temizleyicisi olarak kullanılan A marka deterjan da analize alınmıştır. İşlemler sonunda yüzeyden rodak TSA ve SDA besiyerleri ile numune alınmıştır. Alınan numuneler TSA besiyeri 5 gün 30-35^{o}C inkübatör de, SDA besiyerleri 20-25^{o}C inkübatör de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda Q dezenfektanı, T dezenfektanı ve Z dezenfektanının her yüzeyde etkili dezenfeksiyon sağladığı tespit edilmiştir. Yüzey temizleyici deterjanın ise dezenfeksiyona katkıda bulunmadığı, yalnızca fiziksel harekete bağlı

olarak mikroorganizmaların uzaklaştırılması konusunda etkili olduğu görülmüştür. Elde edilen tüm sonuçlar detaylı olarak dezenfektanların etkisini göstermekte ve deterjan ile dezenfektan arasında ki farkı da ortaya koymaktadır.

Yıl : 2017
Sayfa Sayısı : 54
Anahtar Kelimeler : dezenfektan etkinlik, farmasötik endüstri, temiz alanlar, sınıflı alanlar

Master's Thesis

The Effects on Standard Microorganisms Strains by Activities of Some of the Disinfectant Used in the Pharmaceutical Industry in Classified Areas

Trakya University Institute of Natural Sciences

Biology

ABSTRACT

In this study, it is desired to determine the activity of the disinfectants used in the periods. The validity and effect of the repeated disinfection process will be determined when there are appropriate disinfectants for the appropriate disinfectant class of disposal, when they are present at the surface or at different discharges. X disinfectant, Y disinfectant, Z disinfectant, T disinfectant, P disinfectant, Q disinfectant, W disinfectants, 6 standard ATCC strains *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Candida albicans, Aspergillus brasiliensis* and isolated *Micrococcus sp.* done. For this process, the sections taken from the surfaces of the plants are used. (Ground, wall, stainless steel, glass, ceiling, LAF pad and sterile glove surface). Membrane filtration method has been applied to the disinfectants to determine appropriate contact time first. Following the determination of the effective contact times, the disinfectant solutions were prepared according to the application area or directly disinfected. Apart from disinfectants, A brand detergent used without surface treatment was also analyzed. At the end of the processor, samples were taken from the surface with rodak TSA and SDA media. Acquired samples were incubated in TSA medium for 5 days at 30-35 ° C incubator, SDA medium at 20-25 ° C incubator for 7 days. As a result of the incubation, Q disinfectants, T disinfectants and Z disinfectants. The surface cleaning detergent did not contribute to the disinfection and was effective in eliminating the microorganisms that were carried out. All the results obtained show the effect of disinfectants in detail and to be aware of the difference between detergent and disinfectant.

Year : 2017
Number of Pages : 54
Keywords : Disinfectant efficacy, pharmaceutical industry, clean areas, class areas

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince sorunlara beraber çözüm bulduğum ve desteğini üzerimden hiç esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Burhan ŞEN'e (Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü),

Gerek deneysel aşama da gerekse bilgi ve tecrübesiyle her zaman yanımda olan değerli arkadaşım Gökay ERDİ ÇİÇEK' e ,

Deney materyallerinin sağlanması, zaman ve çalışmaların gerçekleştirilmesi konusunda gerekli şartların sağlanmasında yardımcı olan Rompharm İlaç Sanayi Kalite Kontrol Müdürü sayın Hande PAMUK İŞÇEN'e ,

Hayatımın her aşamasında büyük bir özveri ile desteklerini üzerimden hiç esirgemeyen, moral ve motivasyon kaynağım olan çok değerli aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Tuğba AKBAL

İÇİNDEKİLER

DOĞRULUK BEYANI ..... **I**
ÖZET ..... **II**
ABSTRACT ..... **IV**
TEŞEKKÜR ..... **VI**
İÇİNDEKİLER VII
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **IX**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **X**
TABLO LİSTESİ ..... **XI**
BÖLÜM 1
GİRİŞ ..... **I**
BÖLÜM 2
GENEL BİLGİLER 3
2.1. Kimyasal Yapılarına Göre Dezenfektanlar 7
2.2. Dezenfektanların Etkisini Azaltan Faktörler 12
2.3. İlaç Üretim Ortamında Kullanılan Dezenfektanın Seçimi 13
2.3.1. İlaç Üretim Alanında Dezenfekte Edilebilecek Tipik Yüzeyler 15
2.3.2. Farmasötik Endüstri de Kontaminasyon 16
2.4. Dezenfektanlarla İlgili İşletmelerin Teknik ve Hijyenik Yönden Kontrolü 16
2.4.1. İlaç Sektöründe En Yaygın Kontaminasyon Kaynakları 17
BÖLÜM 3
MATERYAL VE METOD 19
3.1. Materyal 19
3.2. Metod 20
3.2.1. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması 20
3.2.2. Dezenfektanların Optimum Temas Sürelerinin Belirlenmesi 22
3.2.3. Yüzey Etkinlik Testi 25
3.2.4. Dezenfektanın Uygulanması 26
BÖLÜM 4
SONUÇLAR 27
BÖLÜM 5
TARTIŞMA 35

KAYNAKLAR 38
ÖZGEÇMİŞ 41

SİMGELER VE KISALTMALAR

TSA: Tryptic Soy Agar

SDA: Sabouraud Dextrose Agar

cfu: Colony forming unit (koloni oluşturan birim)

LAF: Laminar Air Flow

mL: Mililitre

µL: Mikrolitre

ATCC: American Type Culture Collection

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Süspansiyon test aşamaları……..…..9

Şekil 2. Taşıyıcı (carrier) test uygulama aşamaları…….……11

Şekil 3.Yüzey dezenfektan test aşamaları…….....…12

Şekil4. Dezenfektan kaynaklı gözde ve deride meydana gelebilecek hasarlar….....……14

Şekil 5. Personel koruyucu kıyafet örneği……..…….18

Şekil 6. Mikroorganizma suşları. ……...……21

Şekil 7. Kwickstick m.organizma swab yapısı. ……..……21

Şekil 8. Besiyerine ekim…….…….……21

Şekil 9. Temas süresi etkinlik filtreler……...……...…24

Şekil 10. Temas süresi etkinlik testinde filtrasyon…….…….……24

Şekil 11. Filtrasyon işlemi sonrası filtrenin transferi. ……...……25

Şekil 12. Rodak petrilerin inkübasyonu…….……25

Şekil 13. Mikroorganizmanın yaydırılması…….……25

Şekil 14. Rodak petri ile numune alımı……...26

Şekil 15. İnkübatöre kaldırılan petriler……...……26

Şekil 16. X marka yer temizleyici deterjan……...……..26

Şekil 17 .Yüzey etkinlik testi sonuç örneği. *A.brasiliensis*…….……34

Şekil 18. A yüzey temizleyicisi *E.coli* sonuç örneği..…….……34

Şekil 19. A yüzey temizleyicisi sonucu *A.brasiliensis* sonuç örneği……..……34

Şekil 20. X dezenfektanı sonuç örneği..……34

Şekil 21. Genel temizlik işlemi…….……..……37

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Temiz alan sınıflarının partikül oranları..……...……...4

Tablo 2. Bazı önemli klinik mikroorganizmaların kimyasal dezenfektanlara direnç gösteren örnekleri……..5

Tablo 3. Dezenfektanların adlandırılması……...…….....6

Tablo 4. Bazı dezenfektanların genel özellikleri……...…….....7

Tablo 5. Test yapısına göre testlerin sınıflandırılması……..…….....9

Tablo 6. Yüzeyler ve kullanım alanları……...……...16

Tablo 7. Araştırma da kullanılan biyolojik materyal listesi……..….19

Tablo 8. Çalışma da kullanılan malzeme listesi……..…..…….....20

Tablo 9. Dezenfektanların konsantrasyonları……...…….23

Tablo 10. Test edilecek temas süreleri……..……..24

Tablo 11. Temas süresi SDA sonuçları……...…….27

Tablo 12. Temas süresi analizi TSA sonuçları .....…….....28

Tablo 13. Yüzey etkinlik testi 1.çalışma sonuçları…….29

Tablo 14. Yüzey etkinlik testi 2.çalışma sonuçları…….31

Tablo 15. Yüzey etkinlik testi 3.çalışma sonuçları…….33

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Besiyerinde ki tüm canlı organizmaların öldürülmesi veya ortadan kaldırılması olarak tanımlanan sterilizasyon işlemi ile mikrobiyal üreme tamamen ortadan kaldırılabilir. Örneğin, bakterileri öldüren veya yok eden maddeler bakteriyosidal olarak isimlendirilir. Bununla beraber, sterilizasyon çoğu zaman uygulanamaz, ancak inhibisyon adı verilen bir işlem ile üremelerini engelleyerek yine de etkili bir şekilde mikroorganizmalar kontrol edilebilir. Bakteriyal üremeyi inhibe eden - durduran maddelere bakteriyostatik maddeler denir.

Mikrobiyal gelişimi hızlı bir şekilde inhibe eden metotlar arasında dekontaminasyon ve dezenfeksiyon yer almaktadır. Dekontaminasyon, yüzeyin veya objelerin kullanımlarının güvenli olması için yapılan uygulamadır. Örneğin, yemekten sonra masanın basitçe silinmesi kontaminasyona sebep olan mikroorganizmaları ve bunların potansiyel besinlerini ortadan kaldırır. Bunun aksine, dezenfeksiyon, her ne kadar tüm mikroorganizmaları ortadan kaldırmasa da direkt olarak patojenleri hedef alır. Dezenfektan olarak isimlendirilen özel bir takım kimyasal veya fiziksel maddeler mikroorganizmaları öldürebilir veya mikrobiyal üremeyi engelleyebilir. Örneğin, seyreltilmiş beyazlatıcı (sodyum hipoklorit) solüsyonları gıdaların hazırlandığı alanları temizlemek için rutin bir şekilde kullanılmaktadır [1].

Dezenfeksiyon, potansiyel patojenlerin elimine edilmesini sağlayan fakat çoğu zaman endosporları yok etmede başarısız bir eylemdir. İngiliz Standartları Enstitüsü'ne göre dezenfeksiyon; tüm mikroorganizmaları öldürmeyen ancak belirli amaca yönelik kabul edilebilecek (sağlığa ve kolay bozulabilen eşyaların kalitesine zarar vermeyecek) düzeye indirgeyen işlemdir [2].

Patojen mikroorganizmaların bulunduğu, geliştiği ortama septik; bunun aksine aseptik; ortamda patojen ve tehlikeli mikroorganizmaların bulunmaması asepsi denir. Patojen mikroorganizmaları öldürmek veya gelişmelerini önlemek için vücut yüzeyine lokal olarak kimyasal maddelerin uygulanması antisepsi denir.

Mikroorganizmaların üremesini durduran, yüksek konsantrasyon da olduğunda ve uzun süre temasta bırakıldığında onları öldüren ve özellikle canlı dokulara uygulanabilen maddelere antiseptik denir [3].

Dezenfektan ve antiseptikler, standart hijyen şartlarının devam ettirilmesinde ve enfeksiyona neden olabilecek patojen mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılan antimikrobiyal kimyasallardır. Dezenfeksiyon işleminde, uygulanacak dezenfektanın tercih edilmesinde birçok faktör etkilidir. Mikroorganizma türü, dezenfektanın uygulanacağı ortamın kirlilik durumu, dezenfekte edilecek yüzey ve ekipmanın yapısı, dezenfektanın yapısı ve maliyet göz önüne alınarak bu seçim yapılır. Tercih edilen dezenfektanın da devamlı kullanımı dirençli mikroorganizmaların gelişmesine neden olabileceğinden belli aralıklarla etkinlik değerlendirmesi yapılmalıdır [4].

İstenilen sonucun elde edilebilmesi için dezenfektanların karıştırılarak birlikte kullanılması gerekebilir. Birbiri ile kimyasal, fiziksel ve farmakolojik geçimsizlik olmayan dezenfektan maddeler karışım halinde uygulanarak istenilen sonuç elde edilir. Dezenfektanlar, uygun konsantrasyon halinde bulunmalıdır. Yoğun konsantrasyon da bulunan dezenfektanlar; kısa sürede reaksiyon göstermez; ekipmanlar üzerinde aşındırıcı etkiye sebep olur ve içme suyu kaynaklarına karışarak çevreye toksik etki yapabilir. Düşük konsantrasyonlar da ki dezenfektanların, maksimum seviyede antimikrobiyal etki sağlayabilmesi için kullanım talimatlarına önem verilmelidir [5]. Böylece uygun konsantrasyonlarda, uygun yüzeylerde maddi kayıp yaşanmadan etkili dezenfeksiyon işlemi sağlanabilir.

Bu çalışmada amaç; bazı dezenfektanların standart ATCC suşları üzerindeki etkinliğini tespit etmektir. Yaygın olarak kullanılan etkili dezenfektanların, etkinlik yüzeyleri ve temas süreleri tespit edilerek uygun konsantrasyonlarda en yüksek performansı elde etmek ve böylece hem maddi hem de zaman ve yüzey dezenfeksiyonu açısından üstün koruma elde etmek amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

Teknoloji ile birlikte temiz sahalarda çalışma ihtiyacı doğmuş ve böylece temiz oda kavramı ortaya çıkmıştır. Temiz oda kavramı Ashrae'ye göre [6]. "Temiz oda, özel olarak oluşturulmuş, partikül, sıcaklık, nem, basınç, hava akışı yönü, titreşim, gürültü, canlı organizmalar ve ışığın kontrol edildiği kapalı alanlardır." Temiz odaların kullanım amaçları farklı uygulamaları beraberinde getirir. Örneğin, hastane ve ilaç fabrikası gibi ortamlarda bulunan partiküllerin bazıları canlıdır ve bunların bir kısmı zararlı mikroorganizmalardan oluştuğu için partikül izlemesi gerekmektedir [7]. Temiz odada, hava kalitesini etkileyen faktörlere sınırlama getirilerek steril çalışma ortamları oluşturulabilir. Hava kalitesini olumsuz yönde etkileyen en önemli faktör , hava içinde bulunan canlı ve cansız partiküllerdir. Bu faktörlerde ki sınırlar, partikül sayısının azaltılmasını sağlayarak, daha düşük temiz oda sınıflarını oluşturarak, daha kaliteli temiz odaların meydana gelmesini sağlar. Üretim alanları için genellikle dört temiz oda snıfı bulunur. Bunun yanında bazı ilaç fabrikalarının kendi belirlediği klaslarda vardır [8].

Klas A: Sterilitenin en yüksek derecede olmasını gerektiren bölgeler; örnek olarak, ürün ile açıkça temas halde olan aseptik bölgeler. Bu alanlara havanın 0,45 m/s +/- %20 laminar olarak basılması gereklidir.

Klas B: Klas A sınıf alanını kapsayan steril alanlar.

Klas C ve D: Kir oranı az olan temiz alanlardır, örnek olarak; ekipman yıkama, imalat alanları verilebilir [9].

Tablo1. Temiz alan sınıflarının partikül oranları [9].

Maksimum Partikül Sayısı (b)						Maksimum Mikroorganizma sayısı (d)		
		Çalışma zamanı dışında		Çalışma ortamında				
Temizlik Sınıfı	ISO 14644	=>0,5 µm	=>5 µm	=>0,5 µm	=>5 µm	Aktif Hava Testi	Açık Petri Testi	Yüzey Örnklm. Testi
A	5	3500	0	3500	0	< 1	< 1	< 1
B (a)	5	3500	0	350000	2000	10	5	5
C (a)	7	350000	2000	3500000	20000	100	50	25
D (a)	8	3500000	20000	belirlenmedi (c)	belirlenmedi (c)	200	100	50

(a) Temizlik alan sınıfı B, C, ve D'ye geçebilmek için hava akışı değişim katsayısı, odanın hacmi ve personel sayısı ile orantılı olmalıdır. A, B ve C sınıfları için temiz alan oluşumunda sisteminde HEPA filtre kullanılmalıdır. (HEPA filtreler havada bulunan partikülleri tutma görevi gören filtrelerdir [10]).

(b) ISO 14644-1'e göre belirlenen partikül değerleri kabul edilir.

(c) Bu alanlar için belirlenecek limit değerler odanın kullanım amacına bağlıdır.

(d) İmalat sırasında kullanılabilecek ekipmanların limit değerlere uygun çıkması yeterlidir [9].

Farmakopeli ürünlerin imalatında kullanılan kontrollü ortamlar için bu ürünlerin mikrobiyal kontaminasyonunu önlemek için sağlam bir temizlik ve sanitizasyon programı gereklidir. Steril ilaç ürünleri, farmasötik bileşenler, işlem suyu, paketleme bileşenleri, üretim ortamı, işleme ekipmanı ve imalat operatörleri vasıtasıyla kontamine olabilir.

Dezenfektanlar imalat ortamında kullanıldığında, dezenfektanların kendine has toksisitesi nedeniyle ilaç ürününün kimyasal dezenfektanlarla kontamine olmasını önlemeye özen gösterilmelidir. Pürüzsüz ve gözeneksiz yüzeylere sahip kolayca temizlenebilir zeminler, duvarlar ve tavanlarda aseptik işleme gereksinimleri; Parçacık, sıcaklık, nem kontrolleri; Ve temizleme ve dezenfekte etme prosesi aseptik koşullar üretmeye ve sürdürmeye devam eder. Temizlik ve sanitasyon programı belirtilen temizlik standartlarını sağlamalı, ürünlerin mikrobiyal kontaminasyonunu kontrol etmeli ve farmasötik bileşenler, ürün temas yüzeyleri ve / veya ekipman, ambalaj malzemeleri ve nihayetinde ilaç ürünlerinde kimyasal kontaminasyonu önleyecek şekilde tasarlanmalıdır.

Mikroorganizmalar, dezenfekte ajanlarına karşı direnç bakımından büyük farklılıklar gösterirler. Klinik olarak önemli mikroorganizmaların kimyasal dezenfektanlara en çok direnç gösterme sırası sırası Tablo 2'de listelenmiştir [11].

Tablo 2. Bazı önemli klinik mikroorganizmaların kimyasal dezenfektanlara direnç gösteren örnekleri.

Mikroorganizma Tipi	Örnekler
Bakteri sporları	*Bacillus subtilis* ve *Clostridium sporogenes*
Mikobakter	*Mycobacterium tuberculosis*
Yağ içermeyen virüsler	Poliovirüs ve Rinovirüs
Fungal sporlar ve vejetatif küf maya	*Trichophyton, Cryptococcus* ve *Candida* sp.
Vegetatif bakteri	*Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* ve *Salmonella* spp.
Lipit içeren virüsler	Herpes simplex, Hepatit B ve insan bağışıklık eksikliği virüsü

Mikrobiyal gelişimin önlenmesi veya kontrolü, özellikle sağlık, gıda işleme ve hazırlama ile materyallerin korunması gibi birçok uygulama alanında gereklidir. Gelişimin kontrolü, mikroorganizmaları öldüren ya da daha fazla gelişmesini inhibe eden fiziksel ve kimyasal ajanlar kullanılarak sağlanabilir. Mikroorganizmaları öldüren ajanlar "-sit", öldürmeden gelişimlerini inhibe eden ajanlar ise "-statik" olarak adlandırılır. Organizma gruplarını etkileyen bazı ajanlar; örneğin, bakterileri öldüren bakterisit, bakteri hücrelerinin büyümesini önleyenler ise bakteriyostatik anlamına gelmektedir (Tablo 3). Sterilizasyon, sporlar dahil tüm canlı organizmaları tamamen ortadan kaldıran veya öldüren bir işlemdir. Bu yöntem ısı, radyasyon, kimyasallar veya hücrelerin fiziksel olarak uzaklaştırılması ile uygulanabilmektedir.

Mikroorganizmalar ölümcül bir ajana maruz kaldığında anında ölmezler. Organizma populasyonu, sabit miktar ile sabit aralıklarla logaritmik olarak azalır. Ve antimikrobiyal uygulamasının etkinliğini çeşitli faktörler de etkilemektedir.

Bunlar;

1. Populasyon Büyüklüğü: Daha yüksek miktarda canlı içeren mikrobiyal populasyonda bulunan mikroorganizmaların tümünün ölmesi için daha uzun süreye ihtiyaç vardır;

2. Populasyon Kompozisyonu: Farklı mikroorganizmaların spesifik öldürücü ajanlara duyarlılığı farklıdır ve etkinliği, mikroorganizmaların yaşı, morfolojisi ve fizyolojik durumuna göre değişebilir;
3. Antimikrobiyal Ajanın Konsantrasyonu veya Uygulama Sıklığı: Daha yüksek konsantrasyonlar da veya daha sık uygulanması genellikle daha verimlidir, fakat birbiri ile olan ilişkisi nadiren doğrusal(lineer) olur;
4. Öldürü Ajana Maruz Kalma Süresi: Daha yüksek maruz kalma süresinde, ölen organizma sayısı daha yüksek olur;
5. Sıcaklık: Genellikle daha yüksek bir sıcaklık ajanın etkinliğini arttırır;
6. pH: Besiyeri viskozitesi ve organik materyallerin konsantrasyonu gibi çevresel koşullarının, öldürücü ajanların birçoğunun etkinlikleri üzerine önemli etkileri vardır [12].

Tablo 3. Dezenfektanların adlandırılması.

Bakteriyostatik	**Bakterisidal**
Tüberkülostatik	**Tüberkülosidal**
Sporstatik	**Sporisidal**
Fungustatik	**Fungusidal**
Virustatik	**Virusidal**

Antiseptik:Cilt, ağız boşlukları ve açık yaralar dahil olmak üzere canlı dokuda mikroorganizmaları inhibe eden veya yok eden bir madde.

Kimyasal Dezenfektan : Cansız yüzeylerde ve nesnelerde, bulaşıcı mantarları, virüsleri ve bakterileri yok etmek için kullanılan kimyasal bir maddedir, ancak mutlaka sporları için değil.

Temizlik Maddesi :Tesisten uzaklaştırılmasına yönelik bir madde ve sanitasyon maddelerini veya hareketsiz mikroorganizmaları etkisizleştirebilen ürün artıkları ekipman yüzeyleri.

Dekontaminasyon :Dezenfeksiyon veya sterilizasyon ile mikroorganizmaların uzaklaştırılması.

Dezenfektan:Bir yüzeye uygulandığında zararlı mikroorganizmaların vejetatif formlarını yok eden veya çıkaran kimyasal veya fiziksel bir madde

Sanitizasyon Ajanı:Cansız yüzeylerde mantar, virüs ve bakteri de dahil olmak üzere tüm

mikrobik yaşam formlarının sayısını azaltmak için bir madde. Sporisidal Ajan: Belirli bir temas süresi için yeterli konsantrasyonda kullanıldıklarında bakteri ve mantar sporlarını yok eden bir ajandır.

2.1. Kimyasal Yapılarına Göre Dezenfektanlar

a.Fenol ve fenol türevleri: Krezol, lizol, hekzaklorofen.

b.Klor ve klor türevleri: Hipoklorit

c.İyot ve iyot türevleri: İyodoforlar, povidon iyot.

d.Aldehidler: Formaldehid, gluteraldehid.

e.Alkoller: Etil alkol, isopropil alkol.

f.Kuarterner amonyum bileşikleri: Benzalkolyum klorür(zefiran)

g.Amonyum komponentleri ve diguanidler: Klorheksidin, setrimit.

h.Hidrojen peroksit

i.Etilen oksit [13]

Tablo 4. Bazı dezenfektanların genel özellikleri[14]

Etken madde	Sulandırma	Etkinlik	Bakteriler	Virüsler	M.tuberculosis	Mantarlar	Sporlar	Korozyon etkisi
İsopropil alkol	%60-95	Orta	+	-	+	+	-	+(-)
Hidrojen peroksit	%3-25	Yük.	+	+	+	+	+(-)	-
Formaldehit	%3-8	Yük. /Ort.	+	+	+	+	+(-)	-
Kuaterner amonyum bileşikleri	%0.4-1.6	Zayıf	+	-	+(-)	+(-)	-	-
Fenol bileşikleri	%0.4-5	Ort. /Zyf.	+	+(-)	+(-)	+(-)	-	-
Klor bileşikleri	100-1000 ppm	Yük. /Zyf.	+	+	+	+	+(-)	+
İyodoforlar	30-50 ppm	Orta	+	+		+(-)	-	+(-)
Gluteraldehit	%2	Yük.	+	+		+	+	-

Kullanıma uygun dezenfektanın seçimi birden fazla faktöre bağlıdır. Bunlar:

- Mikroorganizma türü,
- Alanın temizlik durumu,
- Yüzeylerin ve ekipmanların yapısı,
- Kullanılacak dezenfektanın kimyasal yapısı
- Maliyet

Uygulama esnasında temas süresinin verimliliğini etkileyen faktörler;

- Mikroorganizmanın latelitesi,
- Ölüm oranı,
- Dezenfektanın hangi yoğunlukta etkili olduğudur.

Dezenfektanların etkinliğini belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Uluslararası farklı kurumlar benzer standartları benimsemiştir. American Association of Official Analytical Chemist (AOAC) , German Society for Hygien and Microbiology (DEutche Gesellschaft für Hygiene und Microbiologie, DGHM) , Association French of Normalisation (AFNOR), British Standards Institution (BSI), European Free Trade Association (EFTA), Comite Europee de Normalisation (CEN) ve Türk Standartları Enstitüsü'nün (TSE) ele aldığı yöntemler uygulanmaktadır. Bütün yöntemlerde ki ele alınan kriter, uygulanacak dezenfektanın sulandırımlarının, belirli mikroorganizmalarla kıyaslanmasıdır.

Belirli temas süreleri sonunda mikroorganizmaların canlılık durumu, ölüm oranı, dezenfektanın etkili olduğu yoğunluk, testin sonucunu etkiler. Analizlerdeki dezenfektanlar, seçilen mikroorganizma suşları ve yoğunlukları, temas süreleri, ortamdaki bozucu ve organik maddeler tercih edilen metoda göre değişiklik gösterse de sonuçlar benzer şekilde değerlendirilir.

Dezenfektan etkinliğinin kabul kriteri *Redüksiyon Faktörü (RF)* değeri ile bağlantılıdır.

***Redüksiyon Faktörü (RF)*,** dezenfektan uygulmasının öncesindeki mikroorganizma miktarının log değer ile dezenfektan uygulandıktan sonra ortamda canlı kalan mikroorganizma sayının logaritması arasındaki farkı şeklinde belirlenir.

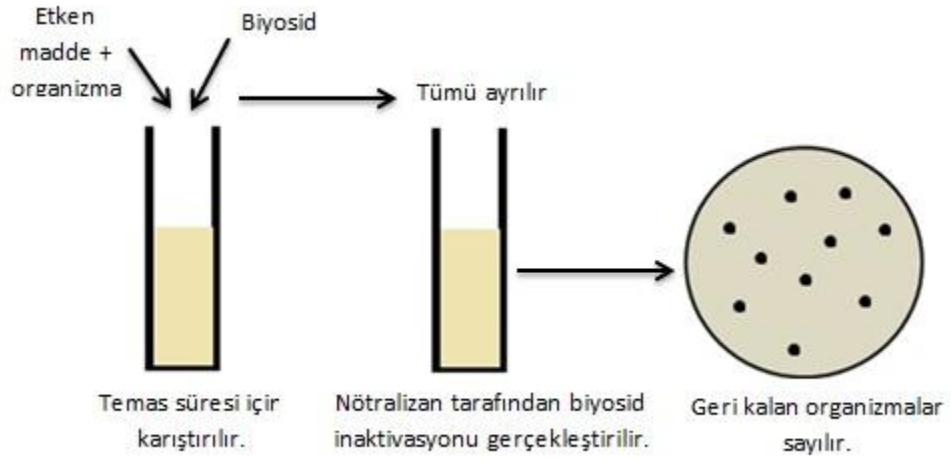
İlk aşamadaki mikroorganizma sayısı 10^8/mL veya üzerinde olmalıdır. Genellikle 1 dakikalık temas süresi sonunda 5 log redüksiyonluk bir azalma olmalıdır. Fakat biyofilm oluşturan bakterilerde 3 log'luk bir azalma da kabul edilebilmektedir [15].

Tablo 5. Test yapısına göre testlerin sınıflandırılması [4].

Test Yapısına Göre Sınıflandırma	
In-vitro Testler	Süspansiyon Testleri
	Kapasite Testleri
	Taşıyıcı Testler
Pratik Testler	Yüzeyin, ekipmanın, elin, derinin dezenfeksiyonunun uygunluk testleri

Süspansiyon testler; Temas süresi, sıcaklık, mikroorganizma türleri, bozucu maddeler gibi aynı anda birçok değişken incelenebilir.

Uygun mikroorganizma konsantrasyonu, inokulum miktarı, test edilecek dezenfektan yoğunluğu, temas süresi ve bakterinin hayatta kalma durumunun test edilebilmesini kapsar. Kalitatif (pasajda üreme olması veya olmaması) veya kantitatif (direk direk pasaj oranına göre canlı kalan bakteri sayısı tespiti) olacak şekilde uygulanabilr. Bu test yöntemi kolaylıkla genişletilerek, farklı yoğunluklar da, farklı temas sürelerinde uygulanabilir (Şekil 1)[4].



Şekil 1. Süspansiyon test aşamaları [16].

a) **Kalitatif Süspansiyon Testler:** Sabit bir temas süresinin sonunda dezenfektan ve bakteri süspansiyonundan örnek alınıp pasajlanır. Pasajda üreme gözlenmesi dezenfektanın uygun olmadığunu gösterir. Alman test klavuzuna göre bu uygulama, *S.aureus* ATCC 6538, *E.coli* 11229, *P.mirabilis* 14153, *K.pneumoniae* 4352 ve *P.aeuroginosa* 15442 bakterilerini kullanarak yapılmalıdır.

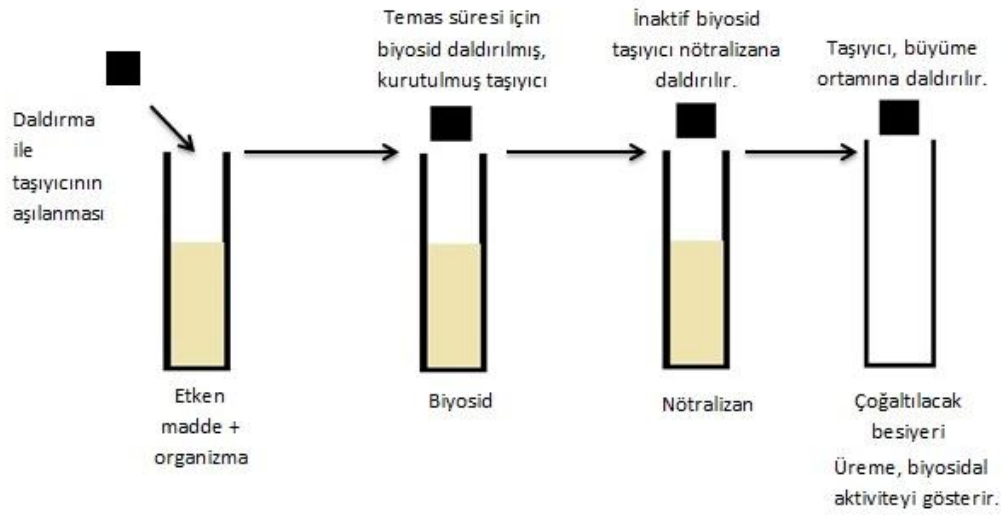
b) **Kantitatif Süspansiyon Testler:** Dezenfektana maruz bırakıldıktan sonra hayatta kalan mikroorganizmalar direk ya da membran filtrasyon yöntemi ile sayılır. Direk kültür yönteminde dezenfektana maruz bırakılan süspansiyondan örnek alınarak agar besiyerine pasaj geçilir. Üreyen koloni sayısı, ilk aşamada üreyen kontrol mikroorganizma sayısı ile karşılaştırılır. "Germisidal Etki" (GE), onluk azalma oranları $GE=\log N_c - \log N_D$ formülüne göre hesaplanır. N_c, kontrol grubundaki dezenfektana maruz kaldıktan sonra koloni oluşturan birim, N_D ise, deney grubunda dezenfektana maruziyeti sonucunda oluşan koloni sayısıdır.

Bazı ülkelerde membran filtrasyon tekniği tercih edilmektedir. Filtrasyondan sonra, selüloz membran filtre, besiyeri yüzeyine konur ve oluşan koloni sayısı sayılır. Filtre, dezenfektandan artırılmak için bol sodyum klorür pepton ile yıkanır [4].

Alet (Enstrüman) Dezenfeksiyon Testleri: Test mikroorganizmaları broth besiyerinde süspanse edilir ve sığır kanı ile % 20 oranında karıştırılır. Dezenfektan ise su ile sulandırılır ve buna % 0.5 oranında sığır albümini ilave edilir. Standart yapıdaki ve boyutları belli lastik hortumlar süspansiyona 1 dakika boyunca muamele edilir ve 37^oC'de 4 saat kurutulur. Dezenfektan solüsyonu 15, 30, 45 ve 60 dakika uygulanır. Temas sürelerinin ardından nötralizanlı broth besiyeri ile yıkanır ve başka bir broth besiyerine pasajlanarak 7 gün inoküle edilir. Bu uygulama ile etkili yoğunluğun en düşük limiti tespit edilir.

Taşıyıcı (Carrier) Testleri: Ekipman dezenfeksiyonu için tasarlanan preparatların değerlendirilmesinde kullanılan testlerdir. Metal parçalar yapay olarak kontamine edilerek hazırlanan dezenfektan solüsyonuna maruz bırakılarak mikroroganizmaların ölüm oranları tespit edilir. Uygulanan bu testler, bir taşıyıcının dezenfekte edilmesi, porselen gibi normalde sık kullanılmayan objelerler uygulanır. Bu sebepten dolayı bu testler in vitro testler olarak nitelendirilir. Testin uygulanması kolaydır. Taşıyıcı,

dezenfektan süspansiyonuna aktarılır. Belirlenmiş temas süresi sonrasında broth besiyerine pasaj geçilir. (Şekil 2) [4].



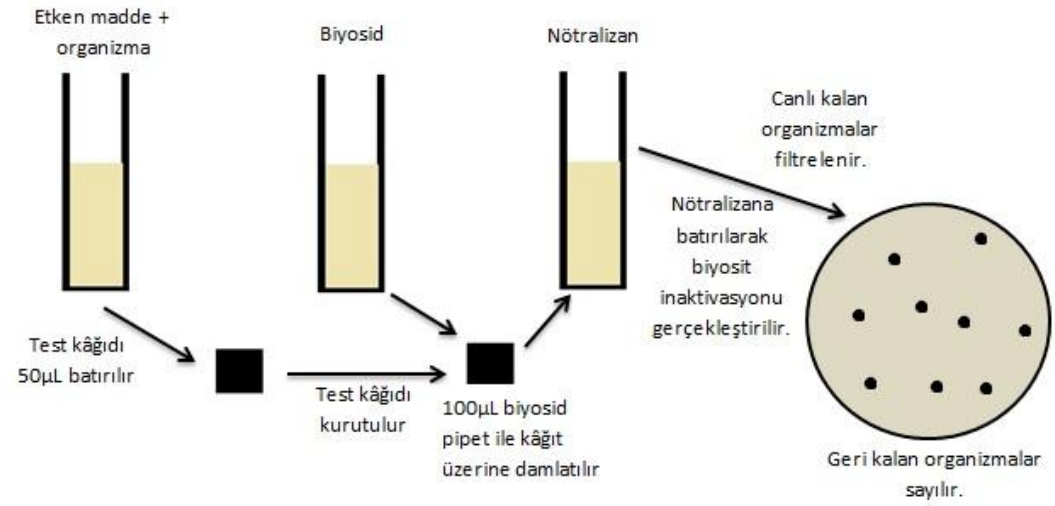
Şekil 2. Taşıyıcı (carrier) test uygulama aşamaları[4].

Yüzey Dezenfeksiyonu için Testler: Yüzey dezenfeksiyon testleri bazı ülkelerde in-vitro testler olarak kabul görür.

- Hollanda'da Standart Süspansiyon Testi
- İngiltere'de KS Testi
- Amerikan Uygulama Testi
- Almanya'da yüzey dezenfeksiyonu uygulama koşuları altında yapılır.

Uygulanacak odanın yer yüzeyleri, PVC taban, sentetik materyal kapları test mikroorganizması ile kontamine edilir. Standart ısı ve nem koşullarında belirli süre kurutulduktan sonra dezenfektan solüsyonu taşıyıcılar üzerine püskürtülür. Hızlı sonuç alınması için 30 – 45 – 60 - 90 dakika veya uzun etki için 1 – 2 - 3 ve 4 saat temas süresi sonucunda canlı kalan mikroorganizma sayısı tespit edilir.

Deney sırasında, dezenfeksiyondan sonra yıkama suyundan bir örnek alınır. 10 kat sulandırılarak nötralizan ilave edilir ve plaklara 5-10 damla olarak ekilir. Membran filtrasyon tekniği de kullanılabilir.(Şekil 3) [15].



Şekil 3.Yüzey dezenfektan test aşamaları[16].

Bir dezenfektanın etkinliği, kendine has biyosidal etkinliğe, dezenfektanın konsantrasyonuna, temas süresine, dezenfekte edilen yüzeyin niteliğine, dezenfektanın seyreltilmesi için kullanılan suyun sertliğine, yüzeyde bulunan organik maddeler ve mevcut mikroorganizmaların türü ve sayısına bağlıdır.

2.2. Dezenfektanların Etkisini Azaltan Faktörler

Dezenfektanların yanlış kullanımı; suşların direnç kazanmasına, toksik etkileri nedeni ile insan ve çevre sağlığı üzerine zarara ve maliyet artışına sebep olur.

Dezenfektanların etkisini azaltan faktörler aşağıda verilmiştir.

- **Konsantrasyon:** Kullanılan dezenfektanların birçoğu konsatre halde bulunur. Uygun bir dilüsyon sağlamak için üretici firmanın talimatlarına sadık kalınarak uygulanmalıdır. Dilüsyon için kullanılacak suyun sertlik derecesi, dezenfekte edilecek maddenin ıslak olup olmaması, dezenfektanın konsantrasyonunu etkiler. Ayrıca solüsyonlar, sulandırım sonrası bulundukları kapta uzun süre bekletilmesi durumunda patojen mikroorganizmalar için uygun besiyeri haline gelir. Bu nedenle günlük tüketim kadar dilüsyon yapılmalı ve 24 saat sonunda yeniden hazırlanmalıdır.
- **Fiziksel ve Kimyasal Etkiler:** Isı, pH, nem ve suyun sertliği dezenfektanların verimini etkiler. Örneğin; ısı arttıkça birçok dezenfektanın etkisi artar. Bu yüzden solüsyonlar sıcak su ile sulandırılmalıdır. Kullanılacak solüsyonun

antiseptik ve dezenfektan oranları iyi bilinmeli, biri diğerinin yerine asla kullanılmamalıdır. pH düzeyindeki artış bazı dezenfektanların aktivasyonunu arttırırken bazılarının aktivasyonunu azaltır. Nem özellikle gaz dezenfektanların etkisini bozar.

- **Organik ve İnorganik Maddeler:** Çoğunlukla antimikrobiyal ve organik madde arasında kimyasal reaksiyon oluşur. Böylece mikroorganizmalarla mücadele için ortamda daha az aktif madde kalır. Bu durumu engellemek için dezenfeksiyon işleminden önce aletler mutlaka yıkanmalıdır.
- **Temas Süresi:** Dezenfeksiyonun gerçekleşmesi için maddelerin belirgin minimal temas zamanı vardır. Bu neden ile dezenfektanların minimal temas süresine uyulmalıdır.

Mikroorganizmalara Bağlı Etkiler: Mikroorganizmanın cins ve türleri ile bulunduğu yaşam evresi dezenfektan maddenin gücünü etkiler. Örneğin; bakteri sporları vejetatif formlarına göre dezenfektan maddelere karşı oldukça dirençlidir [17].

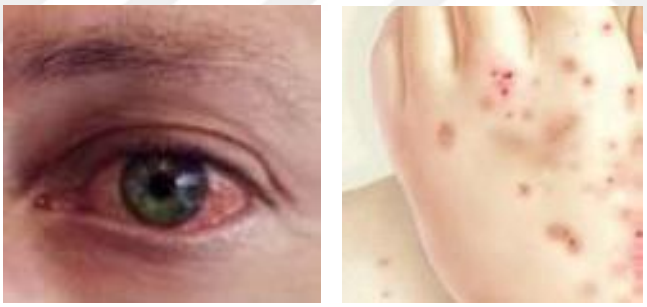
2.3. İlaç Üretim Ortamında Kullanılan Dezenfektanın Seçimi

Bir farmasötik imalat alanında kullanılmak üzere bir dezenfektan seçilirken, aşağıdaki noktalar göz önünde bulundurulmalıdır:

- Kontrol edilecek mikroorganizmaların sayısı ve türleri;
- Piyasada bulunan dezenfektanların etkinlik yelpazesi;
- Dezenfektanın konsantrasyonu, uygulama yöntemi ve temas süresi;
- Dezenfekte edilecek yüzey maddesinin doğası ve dezenfektan ile uyumluluğu;
- Bir dezenfektanın etkisiz hale getirebileceği yüzeydeki organik bileşiklerin miktarı; Dezenfektanın yüzey üzerinde kalıcı bir bakterisidal aktivitesinin muhafaza edilmesi olasılığı;
- Dezenfeksiyon maddesinin tekrarlanan uygulama ile korozifliği;
- Dezenfektanı uygulayan operatörler için güvenlik hususları;
- Dezenfektanın temizlik maddeleri ve diğer dezenfektanlarla uyumluluğu;
- Planlanan dezenfektan rotasyonu; bir dezenfektanla farmasötik ürünlerin kirlenmesini önlemek için atılması gereken adımlar.

Kullanılan dezenfektanların insan ve çevre için toksik etkileri olması nedeniyle kontrollü kullanılması gerekir. Dezenfektan maddelerin ortaya çıkardığı bazı sağlık sorunları:

- Kuarterner amonyum bileşikleri; astım, alerjik reaksiyonlar ve deride hassasiyete neden olabilir.
- Fenoller; deride ve gözde irritasyona neden olabilir.
- Klorin; gözde, deride, burunda ve mukoz membranda korrosiv etki, kalp ve kronik solunum yolu problemi olanlarda tehlike yaratır. Yoğun konsantrasyonda uzun süreli kullanımda akciğerlerde irritasyona neden olabilir.
- Alkoller; etil ve propil alkol deriden absorbe olur ve deride, gözde (Şekil 2), üst solunum yollarında, trakeada irritasyona neden olur. Santral sinir sistemini depreşe ettiğinden baş ağrısı, nabız ve kan basıncıdında düşme, bulantı ve kollaps yapabilir. Ayrıca yanıcı bir maddedir.
- Hidrojen peroksit; %50'nin üstündeki konsantrasyonlarda deride korrosiv etki ve irreversible göz hasarına neden olabilir (Şekil 4) [15].



Şekil 4. Dezenfektan kaynaklı gözde ve deride meydana gelebilecek hasarlar.

Dezenfektanlara ek olarak, antiseptikler insan derisini ve maruz kalmış dokuyu kirletmek için kullanılır ve imalat alanına girmeden önce personel tarafından kullanılabilir. Kimyasal sterilanlar imalat ve sterilite testi alanlarında yüzeylerin arındırılması için kullanılabilir. Ayrıca, farmakopeal maddelerin sterilize edilmesi için sterilanlar kullanılabilir ve UV ışınlaması bir yüzey sterilizatörü olarak kullanılabilir [18].

Bir dezenfektanın farmasötik üretim ortamı içindeki etkinliğini göstermek için, aşağıdaki testleri yapmak gerekli görülmektedir:

(1) Seyreltme testleri (çeşitli konsantrasyonlarda ve temas sürelerinde çok çeşitli standart test organizmalarına karşı etkinlik derecesi bakımından dezenfektanların taranması ve çevresel izolatlar);
(2) Yüzey maruz kalma testleri (tipik çevresel izolatlar olan standart test mikroorganizmaları ve mikroorganizmaları kullanarak belirli bir temas süresiyle seçilen kullanım konsantrasyonun da yüzeylere dezenfektan temini ve mikroorganizmaların log redüksiyonunun belirlenmesi);
(3) İzolasyon sıklığı ile yeni bir dezenfektanın uygulanmasından önce ve sonra uygulanan mikroorganizma sayılarının istatistiksel bir karşılaştırması.

Nötralizatörlerin etkinliği ve inoküle mikroorganizmaları materyalden kurtarma kabiliyeti, seyreltme veya yüzey zorlama çalışmaları sırasında gösterilmelidir. Hatırlanması gereken hususlar, dezenfektanların, laboratuar meydan okuma testlerinde kullanılan mikroorganizmalara göre daha az etkilidir Temiz odalarda bulunan sayılara karşı; laboratuvar deneylerinde tipik olarak kullanılan günlük büyüme evresinden gelen inokül, statik faz sırasında oluşan sporlar haricinde, ortamdaki stresli veya ölen bir kültürden veya stresli organizmalardan daha dirençlidir; ve üretim alanındaki gerçek dezenfektan uygulaması sırasında mikroorganizmaların fiziksel olarak uzaklaştırılabileceğini belirtir [11].

2.3.1. İlaç Üretim Alanında Dezenfekte Edilebilecek Tipik Yüzeyler

Temiz odalar ve diğer kontrollü alanlarda geniş bir yelpazede farklı yapı malzemeleri kullanıldığından, her bir maddenin belirli bir dezenfektanın etkinliğini doğrulamak için ayrı değerlendirilmesi gerekir. Tablo 6, Temiz oda yapımında kullanılan ortak malzemelerin bir listesini içermektedir. Dezenfeksiyonla ilgili personel, mikrobiyoloji eğitimi, temizlik ve sanitizasyon için sanayi uygulamaları, konsantre dezenfekte maddelerinin güvenli kullanımı, dezenfektanların hazırlanması ve bertaraf edilmesi ve uygun uygulama yöntemleri gerektirir [11].

Tablo 6. Yüzeyler ve kullanım alanları [11].

Materyal	Uygulama
Paslanmaz çelik	Çalışma yüzeyleri, doldurma teçhizatı ve tanklar
Plastik, vinil	Pencereler ve kaplar
Plastik, polikarbon	İzolasyon kaplaması
Plastik cam	Kalkanlar
Epoksi	Duvarlar ve tavanlar
Fayans	Yerler

Etkili bir dezenfektanın sporik bir madde ile rotasyonu teşvik edilir. Bakterisidal bir dezenfektanın gündelik kullanımını haftalık (veya aylık) bir günlük kullanımla artırmak akıllıca olacaktır. Sporisidal madde; sporsal ilaçların günlük uygulanması, ekipmanın paslanmaya maruz kalma eğilimi ve kronik operatör maruziyeti ile potansiyel güvenlik sorunları nedeniyle genelde tercih edilmez. Diğer dezenfeksiyon rotasyon planları, tarihi çevresel izleme verilerinin gözden geçirilmesi temel alınarak desteklenebilir [11].

2.3.2. Farmasötik Endüstri de Kontaminasyon

Mikroorganizmaların doğada yayılmasında iki önemli etken bulunmaktadır. Bunlardan birisi, gelişme ve sporlanmayı etkileyen **çevre koşulları**, diğeri ise taşıyıcı olarak rol oynayan **hava, su, hayvan** ve **insan** gibi etmenlerdir. Hava hareketi, normal koşullarda mikroorganizma hücresi veya sporlarını taşır. Mikroorganizmaların hayvanlarla yayılması sonucunda ise hayvan patojeni mikroorganizmaların hızla yayılması söz konusudur.

Günümüzde mikroorganizmaların yeni yerlere yayılmasında ve yerleşmesinde en büyük kontaminasyon kaynağı insandır [19].

2.4. Dezenfektanlarla İlgili İşletmelerin Teknik ve Hijyenik Yönden Kontrolü

Dezenfektanlarla ilgili işletmelerin; tesisat, malzeme, alet ve ekipmanın onarımı, boya, badana ve periyodik bakımları aksatılmadan yapılmalıdır.
İşyeri gerekli teknik donanıma sahip olmalıdır. Üretim yerinde;

- Değişik dezenfektan ve başlangıç maddelerinin karışması riskini asgariye indirecek,
- Ambalaj malzemelerinin birbiriyle karışmasını önleyebilecek ve herhangi bir imalat ve kontrol kademesinin atlanması riskini asgariye indirecek,
- Malzemenin muntazam yerleştirilmesine imkân verecek yeterli çalışma sahasının bulunması gerekir.

Binalar dışarıdan hayvan ve haşerelerin girişini önleyecek şekilde planlanmış ve kurulmuş ve duvarlar, taban ve tavanlar çatlaksız olmalıdır. Aydınlatma, ısıtma ve havalandırma sistemi imalat ve depolama sırasında ürünü ve çalışanları olumsuz yönde etkilemeyecek şekilde olmalıdır.

Üretim de GMP *(Good Manifacturing Practice)* standartlarının uygulanması ile kontaminasyonun da önüne geçilmesi amaçlanır. Çünkü GMP standartlarında bir üretim için, uygun üretim tesisleri, eğitimli ve bilinçli personel, her serinin önceden belirlenmiş standartlara uygun şekilde üretilmesi ve üretim süresince tüm parametrelerin kontrol edilmesi söz konusudur [17].

2.3.1 İlaç Sektöründe En Yaygın Kontaminasyon Kaynakları:

- Hammadde
- Personel
- Ekipman
- Çalışma methodları
- Ambalajlar
- Yanlış ve etkisiz dezenfeksiyon teknikleri
- Temizlik ve dezenfeksiyon maddelerine uygun olmayan çalışma yüzeyi olarak sıralanabilir.

Kontaminasyon Problemi 3 Yol ile Önlenebilir

1. **Koruma:** *Üretim personelinin kendini koruması* ve *eğitim* ve *validasyonların sürekliliğini* koruması ile sağlanabilir. Personel hijyeni ve temizliğinde yüksek standartlar mutlaka gereklidir. Steril ürünlerin üretiminde rol alan personele, kontaminasyon sayısında ve tipinde anormal yayılmalara yol açabilecek her

türlü durumu rapor etmeleri hususunda talimat verilmelidir. Bu nedenle personelin, standart koruyucu kıyafetleri bulunmalıdır.

Kıyafetler ve kıyafetlerin kalitesi, proses ve çalışma alanlarına uygun olmalı ve ürünü kontaminasyondan koruyacak şekilde giyilmelidir(Şekil 5).



Şekil 5. Personel koruyucu kıyafet örneği [20].

Temizlik ve dezenfeksiyon prosedürlerini uygulayan personel, el hijyeni, giyinme, temizlenme ve dezenfektasyon prosedürleri konusunda eğitimli olmalıdır. Destek personel, rutin olarak el hijyeni, giyinme ve kabul edilebilir temizlik ve dezenfektasyon işlemleri konusunda uzmanlarca test edilmelidir [20].

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Bu araştırma da kullanılan biyolojik materyalleri oluşturan standart suşlar Tablo 7'de verilmiştir:

Tablo 7. Araştırma da kullanılan biyolojik materyal listesi.

Mikroorganizma	ATCC No	Besiyeri	İnkübasyon
Staphylococcus aureus	ATCC 6538	TSA	30-35 ºC
Bacillus subtilis	ATCC 6633	TSA	20-25 ºC
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027	TSA	30-35 ºC
Escherichia coli	ATCC 8739	TSA	30-35 ºC
Micrococcus sp	-	TSA	30-35 ºC
Candida albicans	ATCC 10231	SDA	20-25 ºC
Aspergillus brasiliensis	ATCC 16404	SDA	20-25 ºC

Kullanılan materyaller; vorteks, MacFarland cihazı (densimat), 10 mL steril cam deney tüpleri (50 adetten az olmayacak kadar), 100 µL mikropipet, 1000 µL mikropipet, laminar hava akışlı biyogüvenlik kabini (Laminar Air Flow=LAF), inkübatör (30-35ºC), inkübatör (20-25ºC).

Optimum etkinlik süresi ve dezenfektan yüzey etkinlik testlerinde kullanılan diğer malzeme, besiyeri ve reaktif listesi:

Tablo 8. Çalışma da kullanılan malzeme listesi.

10mL steril tüpler	Steril tek kullanımlık drigalski özesi
100µL steril pipet ucu	0,45 mikron filtre
1000µL steril pipet ucu	Steril tek kullanımlık funnel (huni)
Örnek Tavan Yüzeyi	Manifold
Örnek Yer Yüzeyi	Lecithin
Örnek Duvar Yüzeyi	Buffered sodium chloride peptone solüsyonu
Örnek Paslanmaz Çelik Yüzey	Tryptic Soy Agar (Kontak Petri)
Örnek Laf Perdesi Yüzeyi	Sabouraud Dextrose Agar (Kontak Petr)
Örnek Cam Yüzey	X dezenfektanı (WFI)
Z dezenfektanı	%96 Ethanol
T dezenfektanı	Q dezenfektanı
Y dezenfektanı	Klercide Sporicidal Low Residue Peroxide 5 L
Steril eldiven	X Marka Yüzey Temizleyicisi

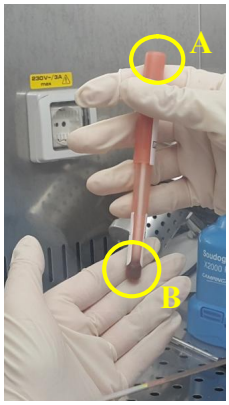
3.2. Metod

3.2.1. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması

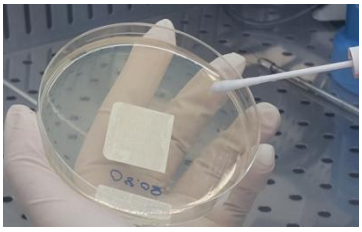
Standart mikroorganizma suşları, 10^8 log konsantrasyonda swab formunda hazır olarak temin edilir (Şekil 6 ve Şekil 7). Çalışmalar esnasında taze kültür kullanılacağından, analizlere başlamadan 24 saat öncesinde mikroorganizmalar swabtan ilgili besiyerlerine (TSA ve SDA) pasaj geçilmelidir (Şekil 8). Bu işlem, mikroorganizma paketinin açılması ile başlar. Çıkan swab içerisinde dip kısımda liyofilize mikroorganizma pelleti (Şekil 7), üst kısmında cam içinde sulandırma sıvısı bulunmaktadır (Şekil 7). Swab A bölgesinden bastırılarak cam kapsül kırılır ve pellete doğru sıvı akar. B bölgesinden bastırılarak pelletin iyice parçalanması sağlanır. Dip kısımda ki mikroorganizma solüsyonu swab çubuğuna iyice bulaştırıldıktan sonra besiyerine ekim yapılır.TSA besiyerleri 3 gün 30-35^{o}C de , SDA besiyerleri 20-25^0 C 5 gün süre ile inkübasyona bırakılır.



Şekil 6. Mikroorganizma suşları.



Şekil 7. Kwickstick m.organizma swab yapısı. (A) Sulandırma sıvısının bulunduğu bölüm. (B) M.organizma pelletinin bulunduğu kısım.



Şekil 8. Besiyerine ekim.

Gerçekleştirilen ilk deney grubu dezenfektanın optimum temas süresinin belirlenmesi deneyidir.

İnkübasyon süresinin ardından, test edilecek her mikroorganizma ve temas süresi için, içinde 10 mL dezenfektan bulunan deney tüpleri hazırlanır. LAF kabini içinde, verimli üreme gözlenen petriden öze yardımı ile mikroorganizma kolonilerinden özenin ucu ile koloni numunesi alınarak solüsyon hazırlama işlemine başlanır.

1. Kullanılacak mikroorganizma süspansiyonları hazırlanır. Bakteriler için sodyum klorür pepton buffer içerisine $1{,}5x10^8$ cfu/mL (McFarland 0,5) olacak şekilde çözeltisi hazırlanırken, *A. brasiliensis* için sodyum klorür pepton buffer ve polysorbat 0,5 g/l içerisine $6x10^8$ cfu/mL (McFarland 2) çözeltisi hazırlanır. Süspansiyon konsantrasyonları densimat kullanılarak okunur.
2. 5mL $1{,}5x10^8$ cfu /mL bakteri süspansiyonuna 2.5 mL sodyum klorür pepton buffer eklenerek süspansiyon 10^8 cfu / mL yoğunluğa seyreltilmiş olur.
3. 0.1 mL 10^8 cfu /mL bakteri süspansiyonuna 9.9 mL sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^6 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.
4. 0.1 ml 10^6 cfu /mL bakteri süspansiyonuna 9.9 mL sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^4 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.

5. 1 mL 10^4 cfu / mL süspansiyonuna 9 ml sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^3 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.
6. 1 mL 10^3 cfu / mL süspansiyonuna 9 ml sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^2 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.

Mantar süspansiyonları ise;

1. 5 ml mantar süspansiyonu ($2x10^7$ cfu /mL) ile 5 mL sodyum klorür pepton buffer eklenerek süspansiyon 10^7 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.
2. 1 mL 10^7 cfu /mL süspansiyonuna 9 mL sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^6 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.
3. 1 mL 10^6 cfu /mL süspansiyonuna 9 mL sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^5 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.
4. 1 mL 10^5 cfu /mL süspansiyonuna 9 mL sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^4 cfu /ml yoğunluğa seyreltilir.
5. 1 mL 10^4 cfu /mL süspansiyonuna 9 mL/sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^3 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.
6. 1 mL 10^3 cfu /mL süspansiyonuna 9 ml sodyum klorür pepton buffer eklenerek solüsyon 10^2 cfu /mL yoğunluğa seyreltilir.

Hazırlanan test solüsyonlarından uygun besiyerlerine (bakteriler TSA besiyerine, mantarlar SDA besiyerine) 1 mL ekim yapılır.

Hazırlanan solüsyonların kullanım süresi maksimum 24 saattir.

3.2.2. Dezenfektanların Optimum Temas Sürelerinin Belirlenmesi

Kullanılan dezenfektanlar ve içerikleri aşağıda belirtilmiştir:

- **X dezenfektanı (WFI)** : Kullanıma hazır, %70 isopropil alkol içeren 0,2 µm filtre edilmiş steril dezenfektan.
- **Y dezenfektanı** : Kullanıma hazır, %6 hidrojen peroksit içeren, 0,2 µm filtre edilmiş steril dezenfektan.
- **Z dezenfektanı** : Aktif oksijen bazlı, kolloid gümüş ile stabilize edilmiş hidrojen peroksit içeren konsantre dezenfektan.
- **T dezenfektanı** : Alkol bazlı (fenoksietanol, benzalkonyum klorür içeren) konsantre dezenfektan.

- **P dezenfektanı** : Alkol bazlı (Ethanol ve Propan-1-ol içeren) kullanıma hazır dezenfektan.
- **Q dezenfektanı :** Aktif klor ve sodium hipoklorit içeren kullanıma hazır steril dezenfektan.
- **W dezenfektanı :** Etanol içeren kullanıma hazır el dezenfektanı.

Test edilecek her mikroorganizma ve temas süresi için deney tüplerine 10 mL dezenfektan doldurulur (Dezenfektanlar kullanım talimatlarına uygun olacak şekilde hazırlanır.)(Tablo 9).

Z dezenfektanı %4 konsanstrasyon, T dezenfektanı %1 ve Q dezenfektanı 17 g/L olacak şekilde seyreltilir.

Tablo 9. Dezenfektanların konsantrasyonları.

Dezenfektan	Tavsiye Edilen Kullanım Miktarı	30 cm^2'de Kullanılacak Miktar	Kullanılan Konsantrasyonlar
X dezenfektanı (WFI)	40 mL / m^2	1.2 mL / 30 cm^2	%100
Y dezenfektanı	40 mL / m^2	1.2 mL / 30 cm^2	%100
Z dezenfektanı	40 mL / m^2	1.2 mL / 30 cm^2	%4
T dezenfektanı	40 mL / m^2	1.2 mL / 30 cm^2	%1
P dezenfektanı	50 mL / m^2	1.5 mL / 30 cm^2	%100
Q dezenfektanı	40 mL / m^2	1.2 mL / 30 cm^2	%100
W dezenfektanı	3 mL / 100cm^2	0.9 mL / 30 cm^2	%100

3.2.1.'e göre mikroorganizma süspansiyonları hazırlanır. 10^8 cfu/mL (bakteriler için), 2 x 10^5 cfu/mL (mantarlar için) mikroorganizma içerek süspansiyonlardan 0,1 mL alınarak 10 mL dezenfektan bulunan tüpe aktarılır. Tüpte ki final konsantrasyonu bakteriler için 10^6 , mantarlar için 2 x 10^5 cfu/ mL olur.

Yapılan inokulumun doğrulanması için süspansiyonlar 100 (10^2) cfu/mL dilüsyona kadar seyreltilir. Bakteriler TSA, küfler SDA besiyerine ekilir.

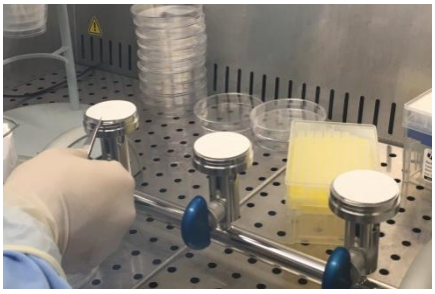
Tablo 10. Test edilecek temas süreleri

Dezenfektan	Test Edilecek Temas Süreleri		
	T_1	T_2	T_3
X dezenfektanı (WFI)	5 dk	15dk	-
Y dezenfektanı	5 dk	15dk	60 dk
Z dezenfektanı	15 dk	30 dk	-
T dezenfektanı	5 dk	15 dk	-
P dezenfektanı	30 sn	1 dk	-
Q dezenfektanı	15 dk	30 dk	-
W dezenfektanı	15 sn	30 sn	-

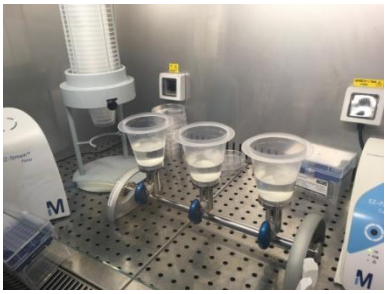
Test edilecek her temas süresi için inoküle edilen her dezenfektandan 1 mL alınarak 0.45µm por çapına sahip membran filtrelerden filtre edilir (Şekil 9).

Dezenfektanın etkinliğinin nötralize edilebilmesi için filtreler 500 mL nötralizanlı buffered sodium chloride pepton solüsyonu ile (pH 7.0) yıkanır. Dezenfektanın etkinliğinin nötralize edildiğinin ispatlanması için 1mL inoküle edilmemiş dezenfektan filtre edilir. 500 ml nötrazlizanlı buffered sodium chloride pepton solüsyonu(pH 7.0) ile yıkanır (Şekil 10). Her test mikroorganizmasından 100 cfu/ mL eklenir. Her süzüm çift petri çalışılır. Her çalışmada kullanılan filtreler bakteriler için tryptic soy agara (TSA), mantarlar için sabouraud dextrose agara (SDA) ekilir (Şekil 11). Bu besiyerleri bakteriler için 30-35ºC de 3 gün, mantarlar için 20-25ºC'de 5 gün inkübe edilir (Şekil 12).

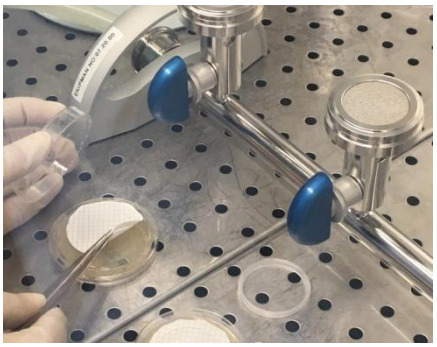
Ekimde kullanılan koloni sayısı ile test sonucunda elde edilen koloni sayısı arasındaki logaritma hesaplanır.

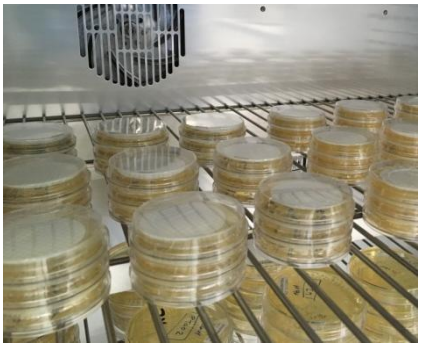


Şekil 9. Temas süresi etkinlik filtreler.



Şekil 10. Temas süresi etkinlik testinde filtrasyon.



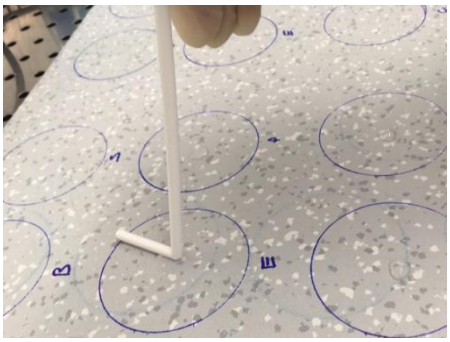


Şekil 11. Filtrasyon işlemi sonrası filtrenin transferi. **Şekil 12.** Rodak petrilerin inkübasyonu.

3.2.3. Yüzey Etkinlik Testi

Öncelikle test edilecek yüzeyler, rodak petri alanı olan 30 cm^2 çapında işaretlenir. Sonrasında yüzeyler A sınıfı LAF kabini altına alınarak yaklaşık 20 dk UV ışığa maruz bırakılır.

UV işleminin ardından 10^4 cfu/ mL olacak şekilde hazırlanmış mikroorganizma solüsyonundan mikropipet ile 1 mL alınarak 30 cm^2'lik işaretlenmiş alana bırakılır ve tek kullanımlık drigalski özesi ile hızlıca yaydırılır (Şekil 13). Bu işlem; her tip yüzey ilgili temas süresi ve dezenfektan dikkate alınarak 3 defa tekrar edilir.

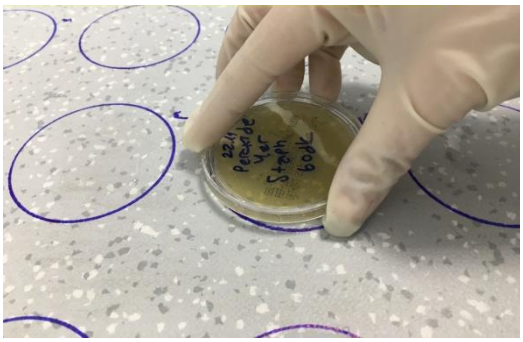


Şekil 13. Mikroorganizmanın yaydırılması.

3.2.4. Dezenfektanın Uygulanması

Üreticinin belirlediği konsantrasyona girecek şekilde hazırlanmış dezenfektanlar uygun mL seviyesinde (Tablo 9), mikroorganizma ile taranmış alanlara uygulanır. Temas süreleri boyunca bekletilir. Ardından mikroorganizmanın türüne göre uygun olan rodak petri, işaretlenmiş alanın yüzeyine yapıştırılır. Yaklaşık 30 saniye - 1 dk sürenin sonunda yüzeyden alınarak kapağı kapatılır (Şekil 14) ve TSA besiyerleri 5 gün süre ile

30-35°C inkübatöre, SDA besiyerleri 7 gün süre ile 20-25°C inkübatöre kaldırılır (Şekil 15). Negatif kontrol amaçlı olarak hiç açılmamış TSA ve SDA inkübasyona kaldırılır.



Şekil 14. Rodak petri ile numune alımı.



Şekil 15. İnkübatöre kaldırılan petriler.

Dezenfektanlardan bağımsız olarak, laboratuvar yer yüzeyinin temizliğinde yaygın olarak kullanılan A marka temizleyici hazırlanır. Üreticinin önerdiği şekilde 1000 ml suya 200 ml deterjan orantısı kullanılarak 40 mL su için 0.8 mL deterjan solüsyonu hazırlanır(Şekil 16). Örnek yer yüzeyine tüm dezenfektanlarda olduğu gibi mikroorganizma solüsyonları damlatılır. Genel süre olarak "t" zamanı 15 dk olarak seçilir ve aynı işlemler yüzey temizleyicisi için de uygulanır.



Şekil 16. A marka yer temizleyici deterjan.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

Öncelikle gerçekleştirilmiş olan dezenfektan etkinlik süresi analizinde dezenfektanların, mikroorganizmalar baz alınarak optimum etkinlik süreleri tespit edilmiştir. Membran filtrasyon yönetiminin uygulandığı bu analizde SDA sonuçları Tablo 11' de ve TSA sonuçları Tablo 12' de belirtilmiştir.

Tablo 11. Temas süresi SDA sonuçları

Dezenfektan	**Test edilen temas süreleri**	**M.organizma**	**Sonuç cfu/m^2**
X dezenfektanı	5 dk	*A.brasiliensis*	11
	15 dk	*A.brasiliensis*	1
Y dezenfektanı	5 dk	*A.brasiliensis*	1
	15 dk	*A.brasiliensis*	1
	60 dk	-	0
Z dezenfektanı	15 dk	*A.brasiliensis*	1
	30 dk	-	0
T dezenfektanı	5 dk	*A.brasiliensis*	9
	15 dk	*A.brasiliensis*	1
P dezenfektanı	30 sn	*A.brasiliensis*	2
	1 dk	*A.brasiliensis*	1
Q dezenfektanı	15 dk	-	0
	30 dk	-	0
W dezenfektanı	15 sn	*A.brasiliensis*	3
	30 sn	*A.brasiliensis*	5

Tablo 12. Temas süresi analizi TSA sonuçları

Dezenfektan	Test edilen temas süreleri	M.organizma	Sonuç cfu/m^2
X dezenfektanı	5 dk	-	0
	15 dk	-	0
Y dezenfektanı	5 dk	*E.coli*	61
		S.aureus	16
	15 dk	-	0
	60 dk	-	0
Z dezenfektanı	15 dk	*E.coli*	1
		S.aureus	251
	30 dk	-	0
T dezenfektanı	5 dk	-	0
	15 dk	-	0
P dezenfektanı	30 sn	-	0
	1 dk	-	0
Q dezenfektanı	15 dk	-	0
	30 dk	-	0
W dezenfektanı	15 sn	-	0
	30 sn	-	0

Temas sürelerinden etkili olan süreler seçilerek yapılan 3 paralel çalışma şeklinde ki yüzey etkinlik testi sonuçları aşağıda belirtilmiştir. Çalışmanın sonuçları Tablo 13 , 2.çalışmanın sonuçları Tablo 14 ve 3.çalışmanın sonuçları Tablo 15' te gösterilmiştir.

Tablo 13. Yüzey etkinlik testi 1. çalışma sonuçları.

Dezenfektan	**Yüzey**	*S.aureus* (cfu/cm^2)	*B.subtilis* (cfu/cm^2)	*P.aeruginosa* (cfu/cm^2)	*E.coli* (cfu/cm^2)	*Micrococcus sp* (cfu/cm^2)	*C.albicans* (cfu/cm^2)	*A.brasiliensis* (cfu/cm^2)
Y dezenfektanı (60 dk)	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	1	0	0	0	0
	Paslanmaz Çelik Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Laf Perdesi Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
X dezenfektanı (15dk)	Paslanmaz Çelik Yüzey	0	0	1	0	0	0	3
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Laf Perdesi Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Steril eldiven	0	0	0	0	0	0	0
T dezenfektanı (15dk)	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
Q	Yer	0	0	0	0	0	0	0

dezenfektanı (30 dk)	Yüzeyi							
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
P dezenfektanı (1 dk)	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	1
	Duvar Yüzeyi	7	0	0	0	0	0	1
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
Z dezenfektanı (30 dk)	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
Q dezenfektanı	Eldiven	5	0	0	0	0	0	0
Yüzey Temizleyicisi (15 dk)	Yer Yüzeyi	8	1	7	78	31	10	13

Tablo 14. Yüzey etkinlik testi 2. çalışma sonuçları

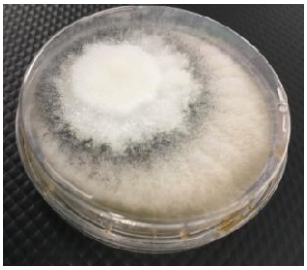
Dezenfektan	**Yüzey**	*S.aureus* (cfu/cm^2)	*B.subtilis* (cfu/cm^2)	*P.aeruginosa* (cfu/cm^2)	*E.coli* (cfu/cm^2)	*Micrococcus sp* (cfu/cm^2)	*C.albicans* (cfu/cm^2)	*A.brasiliensis* (cfu/cm^2)
Y dezenfektanı (60 dk)	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	1	0	0	0	0
	Paslanmaz Çelik Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Laf Perdesi Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
X dezenfektanı (15dk)	Paslanmaz Çelik Yüzey	0	0	1	0	0	0	3
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Laf Perdesi Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Steril eldiven	0	0	0	0	0	0	0
T dezenfektanı (15dk)	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
Q dezenfektanı (30 dk)	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam	0	0	0	0	0	0	0

	Yüzey							
P dezenfektanı (1 dk)	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	1
	Duvar Yüzeyi	7	0	0	0	0	0	2
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
Z dezenfektanı (30 dk)	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
Q dezenfektanı	Eldiven	6	0	0	0	0	0	1
Yüzey Temizleyicisi (15 dk)	Yer Yüzeyi	12	3	6	88	31	7	19

Tablo 15. Yüzey etkinlik testi 3. çalışma sonuçları

Dezenfektan	**Yüzey**	*S.aureus* (cfu/cm^2)	*B.subtilis* (cfu/cm^2)	*P.aeruginosa* (cfu/cm^2)	*E.coli* (cfu/cm^2)	*Micrococcus sp*	*C.albicans* (cfu/cm^2)	*A.brasiliensis* (cfu/cm^2)
Y dezenfektanı (60 dk)	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	1	0	0	0	0	0	0
	Paslanmaz Çelik Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Laf Perdesi Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
X dezenfektanı (15dk)	Paslanmaz Çelik Yüzey	0	0	1	0	0	0	1
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Laf Perdesi Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Steril eldiven	0	0	0	0	0	0	0
T dezenfektanı (15dk)	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
Q dezenfektanı (30 dk)	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam	0	0	0	0	0	0	0

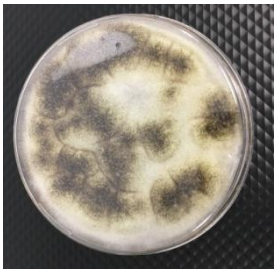
	Yüzey							
P dezenfektanı (1 dk)	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	3
	Duvar Yüzeyi	2	2	0	0	0	0	2
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
Z dezenfektanı (30 dk)	Tavan Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Yer Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Duvar Yüzeyi	0	0	0	0	0	0	0
	Cam Yüzey	0	0	0	0	0	0	0
Q dezenfektanı	Eldiven	5	0	0	0	0	0	2
Yüzey Temizleyicisi (15 dk)	Yer Yüzeyi	16	2	2	71	33	3	14



Şekil 17 .Yüzey etkinlik testi sonuç örneği. *A.brasiliensis.* .



Şekil 18. A yüzey temizleyicisi*E.coli* sonuç örneği.



Şekil 19. A yüzey temizleyicisi sonucu *A.brasiliensis* sonuç örneği.



Şekil 20. X dezenfektanı sonuç örneği.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Öncelikli olarak temas süresi deney sonuçları incelendiğinde; SDA sonuçlarında *Aspergillus brasiliensis* 'in Q dezenfektanı dışında ki tüm dezenfektan temas sürelerinde üreme gösterdiği görülmüştür (Tablo 11 ve Tablo 12). Bu durum; ortam koşullarında rastlanabilecek *Aspergillus brasiliensis* kontaminasyonu olması durumun da, ortam dezenfeksiyonunun ne kadar zor olacağını göstermektedir. TSA sonuçları incelendiğinde ise; *E.coli* ve *S.aureus*'un direnç gösterdiği görülmektedir (Tablo 11 ve Tablo 12). Ancak hangi dezenfektan olursa olsun 15 dk sonrasında bile her iki mikroorganizmanın da üreme göstermediği tespit edilmiştir (Tablo 11 ve Tablo 12). Bu sonuç 15 dk temas süresinin etkin bir dezenfeksiyon için kesin bir süre olduğunu göstermiştir.

Şaşırtıcı sonuçlardan biri ise; el dezenfeksiyonunda kullanılan Q dezenfektanı'ın Tablo 11 ve Tablo 12' de görüldüğü üzere, 30 sn gibi kısa bir sürede yoğun etki göstererek üremeye rastlanmaması olmuştur. Q dezenfektanı'ın 30 sn de mikrobiyal üremeyi engellemesi, iş ortamında anlık dezenfeksiyonlar için sık sık kullanıldığı durumlarda istenen etkiyi yarattığının bir göstergesi niteliği taşımaktadır.

Yüzey etkinlik deneylerinde, sonuçların uygun kabul edilebilmesi için; dezenfektan etkinlik testinin gerçekçi kabul kriterleri pratikte, en az 2 log (bakteriyel sporlar için) ve 3 log (vejetatif bakteriler için) azalma göstermesi yeterlidir [10]. Genel olarak sonuçlara bakıldığında logaritmik limitlerin sağlandığı görülmektedir (Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15). 10^4 cfu/mL olacak şekilde hazırlanmış ve yüzeylere uygulanmış mikroorganizma solüsyonlarının ardından elde edilebilecek en kötü sonuç 10^2 cfu/mL iken dezenfektanlar kapsamında sonuçlar <10 cfu/mL şeklinde elde edilmiştir (Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15). Tasarlanan deneylerde uygulanan parametreler (yüzeyler, mikroorganizmalar, uygulanan dezenfektanlar) açısından kontrol grubu uygulanmasına gerek görülmemiştir. Bunun yerine aynı ortam koşullarının sağlandığı, aynı materyallerin, aynı metod ile uygulandığı 3 paralel çalışma gerçekleştirilmiştir. Esas alınan kriter ise, gerçekleştirilen 3 çalışmada da birbiri ile yakın sonuçlar elde etmektir. Elde edilen sonuçlar da Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15'te görüldüğü gibi paralellik göstermektedir.

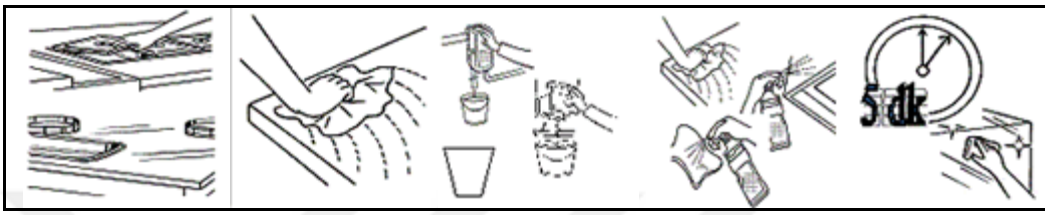
P dezenfektanı ‘nın yer ve duvar olan geniş yüzeylerde başarısının cam yüzeye kıyasla düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15). Bunun nedeni P dezenfektanı alkol bazlı bir dezenfektan olduğundan diğer kimyasal içerikli dezenfektanlara kıyasla uçucu olma özelliği göstermesinden ileri gelmektedir. Özellikle yer ve duvar gibi geniş yüzeylerde uçucu olmayan dezenfektanların kullanılması, dezenfeksiyon işleminin yapıldığı sırada kaybedilen zamanda dezenfektan kaybının yaşanmasını engelleyen bir faktör olarak nitelendirilebilir.

T dezenfektanı, Q dezenfektanı ve Z dezenfektanınn yüzey etkinlik sonuçlarının tüm yüzeylerde negatif çıkması, güçlü kimyasallardan oluşan dezenfektanların diğerlerine göre çok daha etkili olduğuna işaret etmektedir. Bu dezenfektanların ortak özellikleri aktif kimyasal içeren konsantre dezenfektanlar olmalarıdır. Konsantre dezenfektanların etkili olmalarının yanı sıra olumsuz yönleri de mevcuttur. Dezenfektanlar ile ilgili en büyük güvenlik kaygıları, konsantre dezenfektanları ve uyumsuz dezenfektanları karıştırmaktır. Örneğin, konsantre sodyum hipoklorit çözeltileri (% 5’ten daha fazla konsantrasyonda) kuvvetli oksidanlar olup, ısıtma, asitlerle temas halinde olma ve ışığın etkisi altında ayrışarak klor içeren zehirli ve aşındırıcı gazlar üretirler. Buna karşın, seyreltik çözeltiler (% 0.5’den daha düşük bir konsantrasyonda) tehlikeli olarak kabul edilmez. Hiçbir koşulda farklı konsantrasyonlarda bulunan dezenfektanlar karıştırılmamalıdır. Bir imalatta kullanılan tüm dezenfektanlar için Malzeme Güvenlik Bilgi Formları Bu ajanlarla çalışan personelin alanı bulunmalıdır. Dezenfektan preparatını idare eden personele yüz kalkanları, emniyet gözlükleri, eldivenler ve üniformalar gibi uygun emniyet ekipmanlarının verilmesi gerekir ve personel bu ekipmanın doğru kullanımı konusunda eğitilmelidir. Güvenlik duşları ve göz yıkama istasyonları, dezenfektan solüsyonlarının hazırlandığı çalışma alanına yerleştirilmelidir [10].

Sonuç olarak, üretim sahalarında imalatın ve dolum işlemlerinin yapıldığı sınıflı alanlarda, özellikle tavan, yer, duvar ve cam yüzeylerde etken maddeli ya da konsantrasyonu yüksek bu dezenfektanların kullanımı uygun bulunmuştur.

Genel yüzey temizliğinde kullanılan A yüzey temizleyicisinin sonuçları ise dezenfektan ile deterjan teriminin farkını açıkça ortaya koymaktadır. (Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15). Yapılan analizler sonucunda etkisi en düşük çıkan kimyasal A adlı yüzey temizleyicisi olmuştur. Bunun nedeni A yüzey temizleyicisinin dezenfektan

özellik göstermeyen yalnızca "temizlik" amaçlı kullanılan bir deterjan olmasından ileri gelmektedir. Çünkü temizlik ve dezenfeksiyon terimleri birbirine her ne kadar benzer gibi olsa da pratikte büyük farkları vardır. Temizlik; ürün ile temas halinde bulunan alet, ekipmanlarda veya çeşitli yüzeylerdeki kir ve ürün artıklarının ortamdan uzaklaştırılması ve bu alanların mikroorganizmaların üreyebileceği uygun ortamın sağlanmaması için kirin uzaklaştırılması işlemidir. Bu işlem ile birlikte kirin yanında mikroorganizmaların da büyük ölçü de uzaklaştırılması mümkündür (Şekil 21)[21].



Şekil 21. Genel temizlik işlemi [21]

Çalışmanın kapsamında kullanılmış olan dezenfektanlar düşünüldüğün de ne kadar etkili olursa olsunlar, dezenfektanların kullanımı işletmeler için maddi bir yük teşkil etmektedir. Alternatif dezenfeksiyon yöntemlerinin direk ya da kimyasal olarak maksimum düzeyde kombine edilmesi durumunda maliyetler konusunda tasarrufa gidilebilir. Örneğin, buna alternatif olarak düşük bütçeli %70'lik etil alkol ve UV'nin aynı anda kullanılması olabilir. Ancak söz konusu UV olduğunda yüksek koruma ve bilinçli personel yetiştirilmesi de göze alınmalıdır. Tasarrufa gidilmesi gereken durumlarda hem ürünü hem de personeli tehlikeye atmayacak alternatif uygulamalar hakkında konusunda uzman bir kişi veya kuruluştan yardım alınması etkili olacaktır.

Bu çalışmada fabrikaların üretim tesislerinde ki sınıfları oluşturan yüzeylerde, dezenfeksiyon işlemi için kullanılan dezenfektanların etkinliğinin test edilmesi amaçlanmıştır. Yapılan deneyler sonucunda özelikle konsantrasyonu yüksek dezenfektanların geniş yüzeylerin dezenfeksiyonunda T dezenfektanı, Q dezenfektanı ve Z dezenfektanının A , B ve C sınıf alanlarda kullanımına uygunluğunun kesin, Y dezenfektanı ve X dezenfektanı'nın, sprey yapı da olmalarından dolayı etki alanları ve fiziksel olarak yayılma kapasiteleri düşük olduğundan geniş yüzeyler için çok tercih edilmemekle beraber sınıflı alanlarda kullanıma uygun olduğu belirlenmiştir. Q dezenfektanı'nın değerlendirilmesinde ise, üretim ve laboratuar koşullarında el dezenfeksiyonunun son derece önemli olduğu ilaç sektöründe kullanımında bir sakınca olmadığı belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

[1] MADIGAN, MARTINKO JM. ***Mikroorganizmaların Biyolojisi.*** Palme Yayıncılık. Ankara (2010).

[2] ERYILMAZ M, AKIN A. ***Dezenfeksiyon ve Antisepsi.*** Eczacılık *Ankara* Fakültesi Dergisi. 37: 312. (2008).
Erişim adresi: http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/24/1712/18304.pdf (22.11.2016)

[3] ÖTÜK G. ***Antiseptik ve Dezenfektan Maddeler.*** Sayfa: 17-27. Erişim adresi: http://www.e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/eczaciodasiyayinlari/antibiyotkler/4.pdf (16.10.2014)

[4] ABBASOĞLU U. **Farmasötik Mikrobiyoloji.**Ankara: Efil Yayınevi. (2011).

[5] ***Çevre Sağlığı. Dezenfektanlar.*** Ankara: Milli Eğitim Bakanlığı. (2011).

[6] ASHRAE, ***ASHRAE handbook-Applications***, *chapter 15*, American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc., Atlanta. 2003.

[7] ÖZKAYNAK F. T. ***Temiz Odalarda Klima Sistemleri***, Tesisat Dergisi, 71, 68-72. 2001.

[8] KENTER M. H. ***Steril ve Temiz Üretim Alanlarının Tasarımında***, Tesisat Mühendisi Açısından Dikkat Edilmesi Gereken Konular, VI. Uluslararası Yapıda Tesisat Teknolojisi Sempozyumu, İstanbul. S. 169-184. 2004.

[9] KENTER M.H. ***Temiz Steril Üretim Alanları Planlama Kriterleri***. VI. Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi ve Sergisi. 2003.

[10] SARI A.***Temiz Oda Sınıfına Giren Alanlarda Havalandırma ve Kontrolü*** *(*http://www.asm.gov.tr/UploadGenelDosyalar/SubeDosyalari/Dosyalar/09_03_2012_13_34_46.pdf) (01.07.2017)

[11] USP 1072 (http://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_c1072.html)

[12] WAITES M.J. , MORGAN N.L., ROCKEY J.S., HIGTON G. *Endüstriyel* ***Mikrobiyolojiye Giriş.*** Palme Yayıncılık. Ankara 2015.

[13] ABBASOĞLU U. ***Dezenfektanlar: Sınıflama ve Amaca Uygun Kullanım Alanları*** (ss 109-111), 6.Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, (2009). Erişim adresi: http://www.das.org.tr/kitaplar/kitap2009/pdf/109-120%20Ufuk%20Abbasoglu.pdf (16.11.2016)

[14] BİLİCİ S, IRMAK H, BUZGAN T. ***Sağlık Personeline Yönelik El Yıkama ve El Dezenfeksiyonu Rehberi.***. Klasmat Matbaacılık. Ankara . (2008) .

[15] Abbasoğlu U. ***Dezenfektan Aktivite Testleri***. Ankara: Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Erişim adresi: http://www.das.org.tr/kitaplar/kitap2007/sunu/ufuk.abbasoglu-das-2007-sunu.pdf (10.02.2017)

[16] ***İlaç Endüstrisinde En Son Regülasyonlara Göre kontaminasyon Kontrolü, En İyi Uygulama Teknikleri ve Validasyon Semineri.*** Ecolab Temizleme Sistemleri Şti. (16.09.2014)

[17] ***Çevre Sağlığı. Dezenfektanlar***. Milli Eğitim Bakanlığı. Ankara (2011).

[18] Ascenzi, J.M., Ed. ***Handbook of Disinfectants and Antiseptics*****,** 5th ed.; Marcel Dekker: New York, 1995; Block, S.S., Ed. *Disinfection, Sterilization, and Preservation,* 5th ed.; Lippincott Williams & Wilkins Publishers: Philadelphia, 2000. Russell, A.D.; Hugo, W.B.; Ayliffe, G.A.J., Eds. *Principles and Practices of Disinfection, Preservation and Sterilization,* 3rd ed.; Blackwell Science Inc.: London, 1999

[19] GÜVEN S, DEMİREL ZORBA NN. ***Genel Mikrobiyoloji ve Laboratuvar Kılavuzu.*** Ankara: Nobel Yayınevi. (2013).

[20] ***Farmasötik BileşimlerSteril Preperatlar***.
Erişim adresi: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/2008-07-18_USP_31_2S_Commentary_Chapter_797.pdf (10.12.2016)

[21] TAYAR M.***Gıda Endüstrisinde Temizlik ve Dezenfeksiyon***
(http://mtayar.uludag.edu.tr/GIDA%20TEMZ%20DEZ.htm) (10.07.2017)

ÖZGEÇMİŞ

01.01.1992 tarihinde Bakırköy / İSTANBUL'da doğdum. 2007 yılında Yeşilyuva İlköğretim Okulu'nda ilköğretimimi, 2010 yılında Nahit Menteşe Anadolu Meslek Lisesi Web Tasarım ve Programlama bölümünü tamamladım. 2015 yılında Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimimi tamamlamanın ardından 2015 Eylül ayında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'ında Yüksek Lisans programına başladım.