HEDEF



- Fiziksel etmenlerin mikroorganizmalar üzerine etkisini
- Sterilizasyon, Dezenfeksiyon , Antisepsi kavramlarını
- Sterilizasyon yöntemlerini,
- Dezenfektanların kullanım alanlarını,
- Dezenfektanların etki mekanizmalarını açıklayabilmek.

1. pH

- H iyonu konsantrasyonudur. M.o ların pH istekleri farklı olmakla birlikte genellikle pH:6-8 arasında iyi ürerler. pH isteklerine göre;
  - *Asidofilikler: 1-5*
  - *Nötrofilikler: 6-8*
  - *Bazofilikler: 8.5-12*

olmak üzere 3' e ayrılırlar. Bakteriler genellikle nötrofilik, fungusların çoğu asidofilik karakter taşır.

2. Oksijen

1. Aerobik mikroorganizmalar
2. Anaerobik mikroorganizmalar
   a. Zorunlu anaerob
   b. Fakültatif anaerob
   c. Mikroaerofiler (% 2-10 O_2 ihtiyacı)
   d. Aerotolerant: O_2 varlığında ürer ancak O_2 kullanmaz.

3- Isı: Her mikroorganizma türü için enzim çalışmasına bağlı olarak üremenin ancak olabildiği bir en düşük, (minumum), bir en yüksek (maksimum) ve bir de üremenin en iyi olabildiği uygun (optimum) ısı sınırı vardır. Ayrıca optimum üreme derecelerine göre mikroorganizmalar psikrofil, mezofil ve termofil'ler



	üreme	ölme
■ Psikrofil bakteriler =>	-8 - +15 °C	30 - 35 °C
■ Mezofil bakteriler =>	20 - 45 °C	70 °C
■ Termofil bakteriler =>	50 - 70 °C	100 - 110 °C

- A- Yüksek ısı : Üreme ve karakter değişimine etkisi vardır.

  Bacillus anthracis 42°C de bir kaç pasajla spor yapma yeteneğini kaybeder.

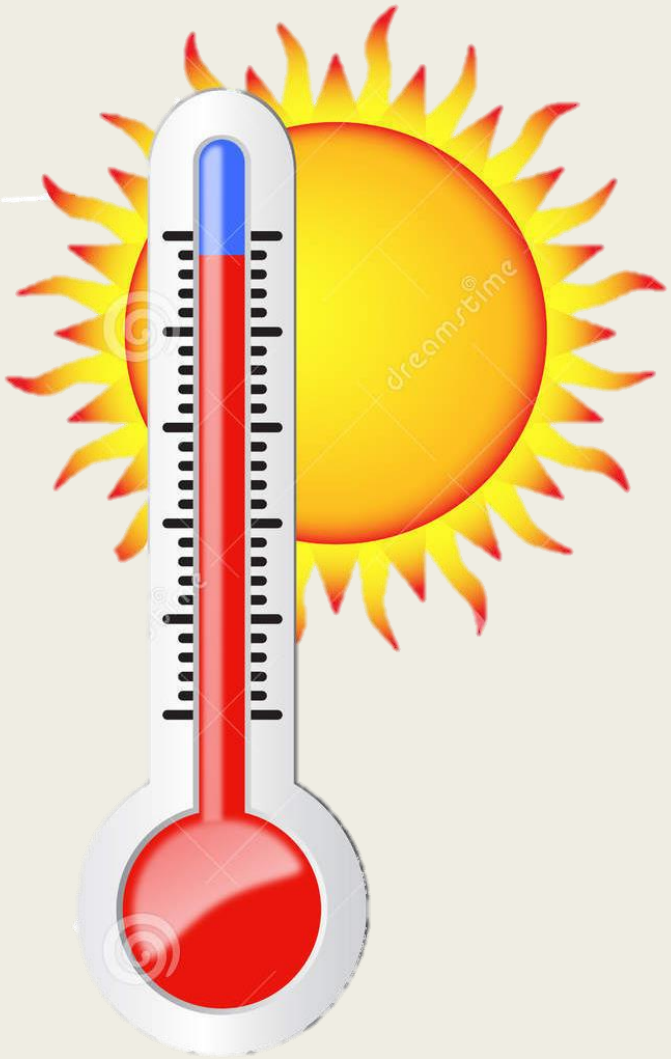
Bakterilerin ısıya dayanma derecesi:

-Isının etki süresine,

-Bakterilerin cinsine,

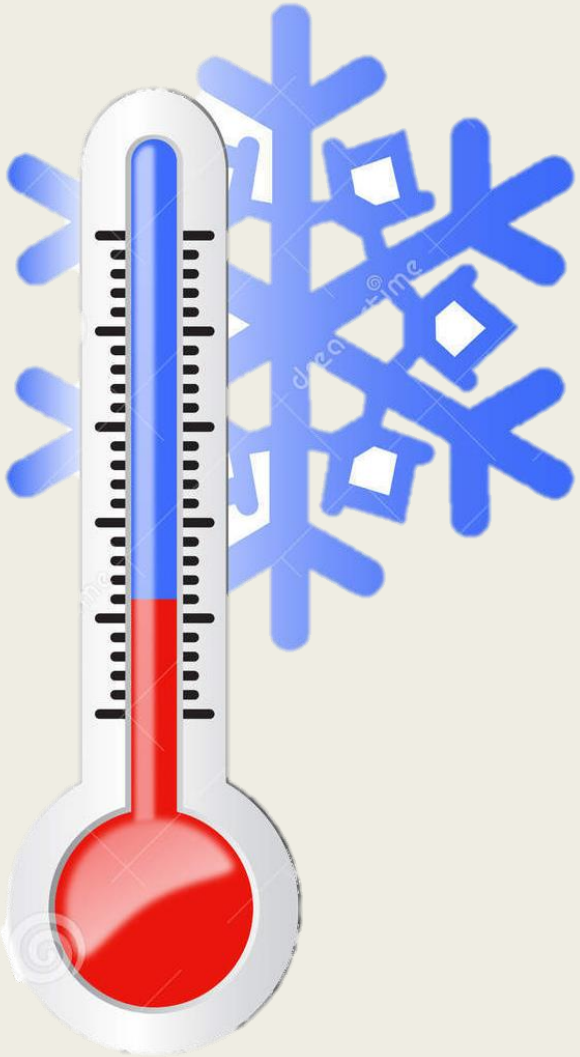
-Üreme dönemine,

-Ortamdaki çeşitli etmenlere bağlıdır.



B- Düşük ısı: Soğuk

- Mikroorganizmalar soğuk ve aşırı soğuğa oldukça direnç gösterir. Minimal sınırı geçince üremeleri dursa bile ölmezler. Bazıları -80/-190°C ye bile dayanabilir. Soğuk etkisiyle hücre metabolizması yavaşlar ve durur, hayatsal işlevlerini yapamaz ve üreyemezler.



Termal ölüm zamanı=> Bilinen bir mikroorganizmanın belli bir ısı derecesinde ölmesi için gerekli zaman (süre).

Termal ölüm noktası=> Bilinen bir mikroorganizmayı belli bir zaman içerisinde öldüren ısı derecesidir.

D değeri (ölüm hızı): (Herhangi bir işlem sonrası; ısıl işlem ışınlama, kimyasal madde vs) Mevcut mikroorganizma sayısının bir logaritmik birim (%90 azalması) azalması için gerekli süredir.

4- Kuruluk

Kuruluğa karşı dayanıklılık;

- Mikroorganizmanın cinsine,
- Bulunduğu biyolojik duruma (spor veya vejetatif),
- Ortamın su açığı derecesine bağlıdır.

*B. anthra*cis ve *M. tuberculosis* dayanıklı iken *V. cholerae* dayanıksızdır.

- Dondurarak kurutma (liyofilizasyon), bir solüsyonun içinden suyun alınarak kuru maddenin ortaya çıkarılmasıdır. Geriye kalan kuru madde solüsyondan çok daha stabildir. Bu şekilde hazırlanan aşı vb. maddeler. Solüsyon içerisindeki su çıkarıldığından yer kaplamadığı gibi artan kuru madde etkinliğini kaybetmez.
- Bu teknikte, solüsyon ilk önce -40 ila -50 °C'ye kadar soğutulur ve vakumlandıktan sonra yavaşça ısıtılarak buzun buhara dönüşerek suyun solüsyondan ayrılması sağlanır.

5- Basınç

Temel olarak dayanıklıdırlar. Uzun süre uygulamada (10.000 atmosfer) protein denaturasyonu sonucu ölürler ama parçalanmazlar.

1- Yüksek basınç

Ani değişikliklerle 500-600 atmosfer basınç birkaç kez tekrarlanarak uygulanırsa hücre şoka dayanamaz ve parçalanıp ölür.

2- Ezme basıncı

3- Ozmotik basınç.

Hücre zarı ve hücre duvarı dış ozmotik basıncı dengede tutar. Bakteriler hücre içi ozmoz ve iyon yoğunluğunu kontrol ederek %0.5-%3 NaCl basınç sınırları arasında yaşamlarını sürdürürler.

-Plazmoliz(artarsa), plazmoptiz (azalırsa).

- Artan dış ozmotik basınçta mikroorganizma su kaybeder plazmoliz olur. Ortam şartları düzelince deplazmoliz meydana gelir.
- Azalan dış ozmotik basınçta; mikroorganizma su alır şişer hücre patlar, plazmoptiz olur.

6- Sonik ve ultrasonik titreşimler

100 - 10.000 titreşim / saniye = sonik

30.000 - 140.000 titreşim / saniye = ultrasonik

Her iki titreşimin etkisiyle de hücreler parçalanır, enzimatik işlevler durur ve proteinler koagüle olur.

7- Işınlar



- Ultraviyole ışınları= 200 - 280 nm. 2537 A° kullanılır.

  -Timin ve sitozin dimerleri oluşturur.

  -Tirosin, sistin ve triptofan sentezine engel olur

  -İyonize ışınlar = (Beta, gamma ve X ışınları)

  *Suyun iyonizasyonu, -OH ve +H

  *Elektron açığa çıkararak + yüklü iyonlar olurlar

- Penetrasyon yeteneğinde ve iyonize etme özelliğindedirler. Tıbbi malzeme ve bazı besinlerin sterilizasyonunda kullanılırlar.

STERİLİZASYON

DEZENFEKSİYON

ANTİSEPSİ



- **Sterilizasyon:** Bir maddenin üzerinde veya içinde bulunan saprofit, patojen tüm mikroorganizmaların (vejetatif - sporlu tüm canlı ve aktif şekillerinin) öldürülmesi, inaktive edilmesi veya ortamdan uzaklaştırılması işlemidir.
- **Dezenfeksiyon:** Cansız ortamda bulunan bakteri endosporları dışında kalan patojen mikroorganizmaların öldürülmesi işlemidir.
- **Antisepsi:** Özellikle vücudun yüzeyel doku ve lezyonlarında bulunan patojen mikroorganizmaların kimyasal maddeler kullanılarak öldürülmesi işlemidir
- **Pastörizasyon:** Patojen mikroorganizmalardan arındırma. yaygın olanı; 12-16 saniye süre ile 72-80°C arasında ısıl işlem, ani soğutma (termal şok).



- Sterilizasyon
  - Isı ile
    - Nemli ısı ile
      - Buharla
        - -Basınçlı
        - -Basınçsız
      - Sıcak su ile
        - -Kaynatma
        - -Tindalizasyon
    - Kuru sıcak hava ile
    - Yakma ve alevden geçirerek
  - Süzme ile
  - Işınlarla
  - Kimyasal maddelerle

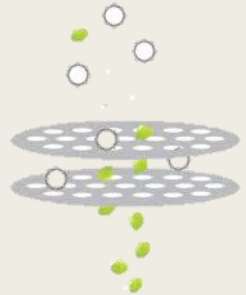


Kontrol:

1-Maksimal termometre
2-Sticker-Browne tüpleri
3-Kağıt şeritler
4-Termokopl (sıcak ölçer)
5-Bakteri sporları







1-ISI ile Sterilizasyon

- Nemli ısı, kuru ısıya oranla mikroorganizmalar üzerine daha fazla öldürücü etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Proteinler, kuru ortamda ısıya daha fazla direnç gösterirler. Kuru ısı uygulaması ile hücreler daha ziyade oksidasyon işlemi sonunda ölürken, nemli ısı uygulamasında proteinlerin yapısal değişimi söz konusudur.
- Isı ile sterilizasyon

en az toksik,

en ekonomik,

en güvenilir

kolay

uygulanabilir olandır.

Nemli ısı ile sterilizasyon- Buharla sterilizasyon



Basınçlı buhar ile sterilizasyon

- Otoklav : Özellikle besiyerleri ve 121°C ye (1 atm., 15 dk) dayanabilen materyallerin sterilizasyonunda kullanılır. (134 °C, 2 atm. 3-4 dk.)
- Hidroliz yoluyla proteinler denatüre edilir.
- Su buharının taşıdığı yüksek enerji kısa sürede proteinleri denatüre eder.

Basınçsız buhar ile sterilizasyon

- (Koch kazanı): 100 C’ de 1 saat, yüksek ısıya dayanamayan şekerli çözeltiler

Nemli ısı- Sıcak su ile sterilizasyon

- Kaynatma
- Tindalizasyon: Tindalizasyonda besiyeri önce 100 °C 'da 30 dakika süre ile tutularak tüm vejetatif hücreler öldürülür. Ancak sporlar halen canlıdır. Ertesi gün besiyeri 85 °C 'da 1 dakika tutularak sporların germinasyonu (vejetatif hale dönüşmesi) teşvik edilir. 2 saat sonra yine 100 °C 'da 30 dakika tutulur. 3. gün aynı işlem tekrarlanır, böylece besiyeri aşamalı olarak sterilize edilmiş olur. Tindalizasyon 12 saat aralıklarla da yapılabilir. Yüksek sıcaklık derecelerinde bozulabilen aşı, serum gibi maddelerin sterilizasyonu amacı ile uygulanan bir metottur.

Isı ile sterilizasyon-Kuru sıcak hava

- Cam, metal gibi yüksek ısıya dayanıklı malzemeler steril edilir. (Pastör fırını)
- 140 ^{o}C’ de 4 saat 160-165 ^{o}C’ de 2 saat,

170-175 ^{o}C’ de 1 saat ,*180 ^{o}C’ de 30 dk. yeterlidir.*

- Yüksek ısı uzun sürede cerrahi aletlere zarar verdiğinden ve ortamdaki ısı homojen dağılmadığından kuru ısı kullanımı önerilmemektedir



Isı ile sterilizasyon- Yakma ve alevden geçirme

Kızıl Dereceye Kadar Isıtma ve Yakma

Genellikle iğne ve öze denilen mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan ekim aletlerinin sterilizasyonunda kullanılan bir yöntemdir.

Alevden geçirme

Cam kapların ağızları veya cam aletler alevden geçirmek suretiyle üzerlerinde bulunan mikroorganizmalardan arındırılırlar.

2- Süzme (Filtrasyon) ile sterilizasyon





Filtre türleri

Adsorbsiyon filtreler: Filtre + yüklü olup - yüklü m.o yı tutar.

1. Diatome toprağından Berkefeld filtresi

2. Sırsız porselenden Pasteur ve Chamberland.

3. Sıkıştırılmış asbestten Seitz filtresi

4. Sıkıştırılmış cam tozundan yapılmış filtreler



5. Ultra filtreler: Membran filtreler. Kollodyon (sellüloz nitrat veya sellüloz asetat)'dan yapılır. Açıklıkları 0.005- 1 mikron . Mekanik süzme yapar.

0.22 – 0.45 mikron = bakteri tutan filtreler

0.01 mikron = Küçük virusları bile tutan filtreler

- Sadece bazı vitaminler, aminoasitler, şekerler gibi ısıl işlem ile sterilize edilemeyen besiyeri bileşenleri, ayrıca buharları otoklava zarar vereceği için asitler de membran filtrasyon yolu ile sterilize edilirler.

3- Işınlarla Sterilizasyon

UV

- Camdan geçmez, penetran değil, sadece doğrudan temas ettiği yüzeye etkilidir.
- Oda dezenfeksiyonunda kullanılır. DNA' da kırık ve mutasyona neden olur.
- 253.7 nm dalga boyu kullanılır.
- Lab tezgahlarının sterilizasyonunda kullanılır.
- Lamba ömrü önemli. (Değişmekle birlikte genel olarak 9000 saat)

X ve Gama ışınları

- Güçlü germisidaldır. Penetrandır, ambalaj içindeki maddelere de etkilidir. (Kobalt 60-Sezyum 137 kullanılır.

Gama ışını ile sterilize edilen tıbbi malzemeler

- Tıbbi bakımda kullanılan malzemeler: hava filtreleri, yüz maskeleri, galoşlar, fırçalar, aşı taşıyıcıları, petri plakları, idrar analiz tüpleri, test tüpleri vs.
- Cerrahi işlemde kullanılan ya da hastayla direkt temasta bulunan malzemeler: Eldivenler, drenler, enjektörler, cerrahi setler, hemodiyaliz setleri vs.
- Geçici veya kalıcı implantlar ve cihazlar: periton diyaliz setleri, kalp kapakçıkları, dental implantlar, yapay göz kapağı, eklem protezleri vs.

- En yaygın kullanım alanı plastik enjektör, iğneler, eldivenler ve cerrahi iplikler

4- Kimyasal maddelerle sterilizasyonKimyasal maddeler değişik mekanizmalarla (hücre zarlarını bozarak, proteinlerini pıhtılaştırarak, enzimlerini ve çekirdek asitlerini tahrip ederek…) mikropları etkilerler.

- Kimyasal bileşikler etki spektrumlarına göre gruplandırılabilirler. Buna göre

  1- **kimyasal sterilizasyon** için kullanılanlar (etilen oksit, formaldehit, klor dioksit, hidrojen peroksit gaz plazma…),

  2- **yüksek düzey dezenfektanlar** (glutaraldehit, ortofitalaldehit, perasetik asit, hidrojen peroksit…),

  3- **orta düzey dezenfektanlar** (alkoller, iyot bileşikleri, klor bileşikleri, fenol bileşikleri, klorhekzidin…) ve

  4- **düşük düzey dezenfektanlar** (dört değerli amonyum bileşikleri…) ayrılabilirler.

4- Kimyasal maddelerle sterilizasyon

Gazlarla:

- Etilen oksit (C_2H_4O) ile sterilizasyon:

  10.8°C nin altında sıvı haldedir.

  Saf halde çok toksik, irritan ve patlayıcıdır. CO_2 ile karışımları kullanılır.

  - Karboksit . %10+%90
  - Oksifum . %20+%80



Etilen Oksit sterilizasyonun dezavantajları

- Sterilizasyon ve havalandırma süresi uzundur
- Sıvılar steril edilemez
- Paketleme materyali olarak kumaş kullanılamaz
- Çevre, hasta ve sağlık çalışanları için güvenlik sorunu yaratabilir.

  1. sınıf kanserojendir

  Toksik artık bırakabilir
- Buhar sterilizasyon yöntemine göre pahalıdır

Plazma Gaz Sterilizasyonu

- Gaz moleküllerine (H_2O_2) vakum altında verilen enerji ile oluşan serbest radikaller, elektronlar ve uyarılmış gaz moleküllerinin bulunduğu reaktif bir karışım.
- Hidrojen peroksit (%59) cihaz içinde buharlaştırılır ve sonra mikrodalga ya da radyo frekansı enerjisi ile reaktif serbest radikaller oluşturulur.

Hidrojen peroksit Gaz Plazma

- Isıya ve neme duyarlı malzemeler için etkin bir yöntem
- Hızlı sterilizasyon (45 – 72 dakika) yapılıyor
- Koroziv etkisi yok, toksik kalıntı bırakmıyor.
- Güvenli
- Takibi kolay

- Perasetik asit = Hemen kullanılacak aletler için uygundur.
- Tymol = Konsantre hazırlanan besi yerlerine ilave edilerek kullanılır.
- Formaldehit = Odaların sterilizasyonunda, karsinojenik olması nedeniyle kısıtlanmıştır
- Ozon= Kuvvetli bakterisidal ve sporosidal etkisi ile birlikte çevreye zararlı değildir. Suda hızlı çözünür, stabilitesi kısa, yüksek oksidatif bir moleküldür.

Sterilizasyonun kontrolü

Steril ürünler ancak belirlenmiş koşulların sağlanmasıyla elde edilebilir ve işlem bittiğinde bu şartların uygunluğu kanıtlanmalıdır. Bunun için cihazın fizik parametreleri (basınç, ısı, nem, işlem süresi, buhar kalitesi… gibi) ile kimyasal ve biyolojik indikatörlerden yararlanılır.

Otoklav kontrolü

- **Fizik parametreler**: Cihazın uygun çalıştığını
- **Otoklav bandı/etiketi**: Paketin işlem gördüğünü
- **Çok parametreli indikatörler**: Sterilizasyon koşullarının gerçekleştiğini
- **Bowie-Dick testi**: Havanın yeterli boşaldığını
- **Biyolojik indikatörler**: Biyolojik ölümü gösterir.





DEZENFEKTANLAR VE ETKİ MEKANİZMALARI

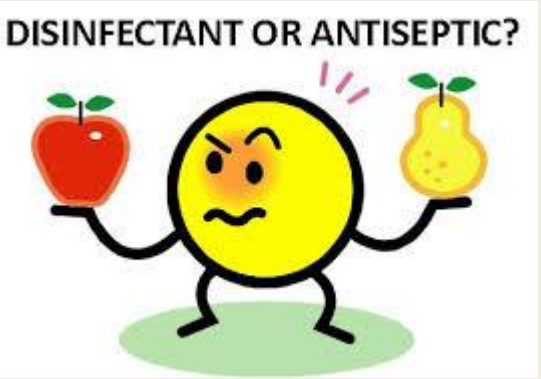


Sterilizasyon, Dezenfeksiyon, Antisepsi, Pastörizasyon





- **Dezenfeksiyon:** Cansız ortamda bulunan bakteri endosporları dışında kalan patojen mikroorganizmaların öldürülmesi işlemidir.
- **Antisepsi:** Vücudun yüzeyel doku ve lezyonlarının patojen mikroorganizmalardan arındırlması işlemidir.
- Dezenfektanlar ve antiseptikler patojen mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılan antimikrobiyal ajanlardır.



İdeal bir dezenfektanda bulunması gereken özellikler

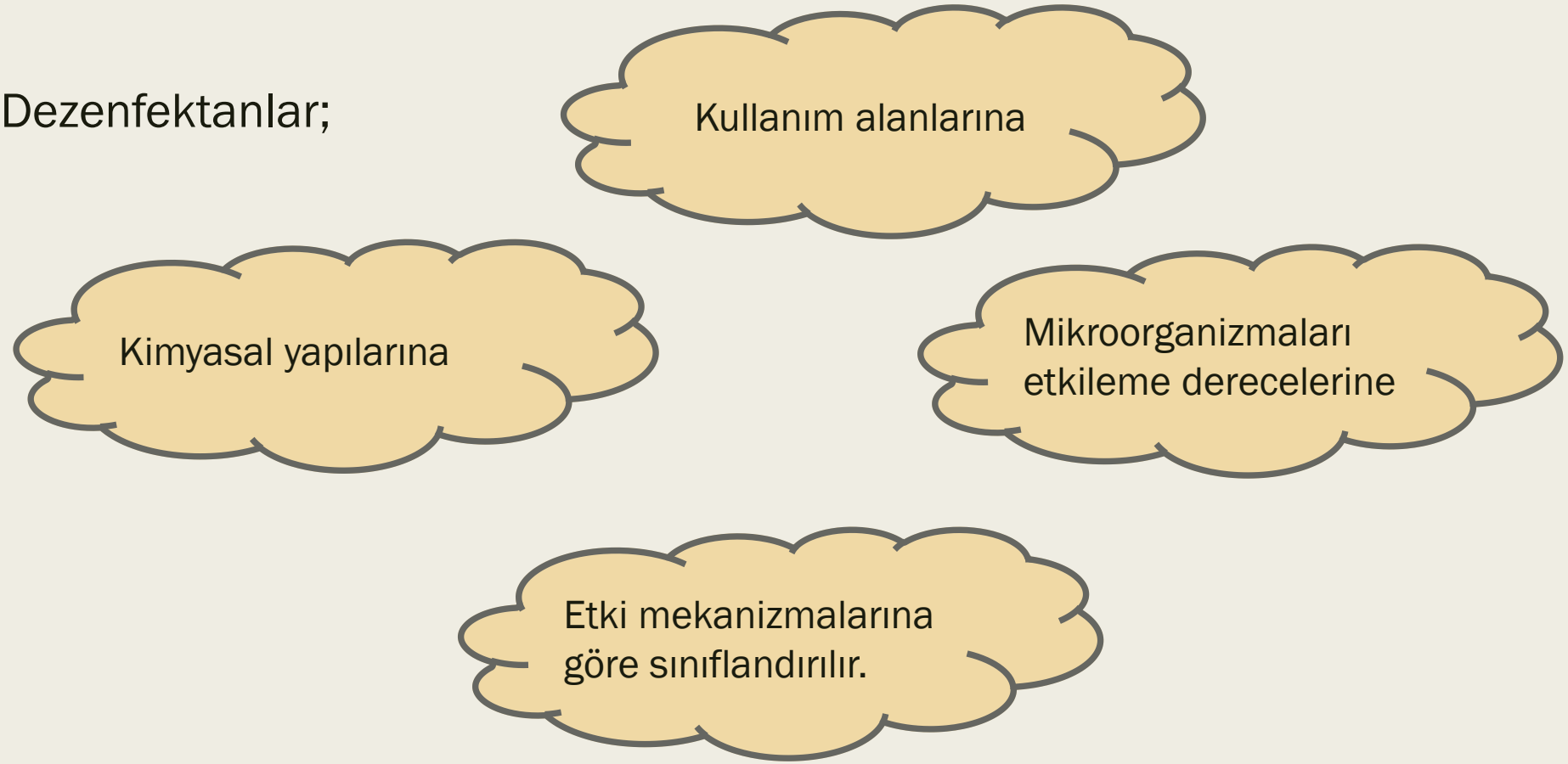
- Hızlı etkli olması ✔
- Toksik olmaması ✔
- Koroziv etkili ve temizlik araçları ile geçimsiz olmaması ✔
- Organik maddelerle inaktive edilmemesi ✔
- Ucuz olması ✔
- Çevreye zarar vermemesi ✔

Dezenfeksiyona Etki Eden Faktörler

- Maddenin işlem öncesi temizliği
- Kan, püy gibi organik maddelerin varlığı ve miktarı
- Mikroorganizmanın yapısı
- Dezenfeksiyona tabi nesnenin biçimi
- Dezenfektanın konsantrasyonu
- Dezenfektana maruz kalma süresi
- Dezenfeksiyon işlemini uygulayan elemanın bu konudaki eğitim düzeyi

Dezenfektanların Sınıflandırılması

Dezenfektanlar;



1-Kullanım Alanlarına Göre Dezenfektanlar



Alet Dezenfektanları

- ***Kritik malzemeler:*** Vücudun steril kısımlarına veya damar sistemine giren malzemelerdir. Cerrahi materyaller, kardiyak ve üriner kateterler, implantlar, steril vücut boşluklarında kullanılan ultrason propları kritik malzemelerdir. Etilen oksit, hidrojen peroksit, gluteraldehit
- ***Yarı kritik malzemeler:*** Deri ve mukoza altına temas etmeyen, steril dokulara temas etmeyen, mukozalar ve bütünlüğü bozulmuş ciltle temas eden malzemelerdir.
- ***Kritik olmayan malzemeler:*** Sadece sağlam ciltle temas eden malzemelerdir.

- Kritik malzemeler için ⇒ steril olmalı
- yarı kritikler için ⇒ steril olması tercih edilir ama yüksek düzey dezenfeksiyon
- kritik olmayanlar için ise, ⇒ düşük düzeyde dezenfeksiyon yapılmalıdır.

- Genelde yüksek ve orta düzeyde kullanılan dezenfektan maddeler benzerlik gösterir.
- Yüksek düzeyde dezenfeksiyonda uygulanma süreleri diğerine göre daha uzundur.
- Etilen oksit sadece yüksek düzeyli dezenfeksiyon veya sterilizasyon amacıyla kullanılabilir,
- Düşük düzeyde dezenfeksiyon işleminde ise alkol çözeltileri, %0.5-3 fenol çözeltileri, iyot çözeltileri, amonyum bileşikleri gibi dezenfektanlar 10 dakika gibi kısa süreyle uygulanır.

- **Yüzey dezenfektanları:**

  Klorin ve klorin bileşikleri: hipoklorit

  Alkol çözeltileri: etil alkol (%70), izopropil alkol

  Kuaterner amonyum bileşikleri, (katyonik deterjan özelliği gösterir)

  Fenolikler:

- **Antiseptikler**

  Sabunlar

  İyodoforlar: povidon iyot

  Alkol çözeltileri: Alkollerin %50 -80 lik dülüsyonları kullanılır.

***Saf alkol, %70 konsantrasyondaki alkole göre daha zayıf etki gösterir. Bunun nedeni saf alkolün hücre duvarındaki proteinleri bloke ederek hücre içine nüfuz edememesidir.

2- Kimyasal Yapılarına Göre Dezenfektanlar

İnorganik Bileşikler

- **Asitler ve Alkaliler**
- **Ağır metaller ve tuzları**: Bakır, gümüş, civa tuzları: Bunlar çeşitli konsantrasyonlarda, proteinleri pıhtılaştırarak ve enzimleri bozarak etkili olur. Göz enfeksiyonlarında, dermatofitlerde, parazitik deri enfeksiyonlarının tedavisinde sınırlı da olsa civalı merhemler kullanılır. Kozmetiklerde ve göz için kullanılan çözeltilerde koruyucu olarak organik civa bileşikleri kullanılır.

❖ Gümüş nitratın % 1'lik eriyiği yeni doğanlarda gonokok enfeksiyonlarından korunmak amacı ile göze damlatılır.

Oksidan maddeler: Klor, iyot, hidrojen peroksit.

- Genellikle içme suları ve yüzme havuzlarının, sebze ve meyvelerin dezenfeksiyonunda klor kullanılır. Klora ilave olarak hipoklorit, kloraminler gibi klor bileşikleri de kullanılır. Bu amaçla en çok kullanılan etken maddesi sodyum hipoklorit olan çamaşır suyudur. Ayrıca kalsiyum hipoklorit veya kireç kaymağı da dezenfeksiyon amacı ile kullanılır.

- Klor suların dezenfeksiyonunda kullanılan önemli bir kimyasal maddedir. İyot bileşikleri yara ve deri antiseptiği olarak ve termometreler ile ameliyat aletlerinin dezenfeksiyonunda sık kullanılır.

- Hidrojen peroksit oksijenli su olarak da bilinir. Hafif antiseptik özelliğe sahiptir. Yara ve deri ile ağız yıkanmasında antiseptik olarak, kontakt lenslerin, cerrahi implantların, plastik aletlerin dezenfeksiyonunda dezenfektan olarak kullanılır.

Organik Bileşikler

- Organik metal bileşikler
- Fenol ve Fenol Bileşikleri: hem bakteriyostatik hem de bakterisit etkiye sahiptir. Hücre membranının yarı geçirgen özelliğini bozarak etki gösterir.
- Organik çözücüler
- Alkilen maddeler: Formaldehit, Gluteraldehit, etilen Oksit, Betapropiolakton
- Boyalar
- Deterjanlar: Katyonik deterjanlar, Anyonik deterjanlar, Non iyonik deterjanlar

Katyonik deterjanlar;

Kimyasal olarak pozitif elektrik yüklü olan deterjanlardır. Pozitif elektrik yükü sayesinde, bakterinin membranında toplanmış olan negatif elektrik yüklü kısımlar ile birleşir, bakteri yüzeyini tahrip eder ve içeri girer. Bu durumda bakterinin yarı geçirgenlik özelliği bozularak bakteri ölür. Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerine etkilidir. Bu grupta zefiran, cetavlon, phemerol, laurodin gibi deterjanlar yer alır.

Anyonik deterjanlar

Suda iyonize olduklarında negatif elektrik yüklü iyonlar açığa çıkaran deterjanlardır. Yüzey gerilimini düşürerek suyun ıslatma kabiliyetini artırır. Hücre çeperindeki lipid yapıyı eritir. Etkileri genellikle Gram pozitif bakteriler üzerinedir. Gram negatiflere zayıf etkilidir. Bu grupta sabunlar, sodyum lauryl sulfat ve alkil benzen sulfonat bulunur.

Noniyonik deterjanlar

(İyonik olmayan deterjanlar) bu grupta yer alan deterjanların antiseptik ve dezenfektan etkileri oldukça zayıftır. Derideki bakterileri saponifikasyonla (mikroorganizmaların içine girerek lipid maddeyi saponifize ederek) etkisiz hale getirir. Bu sayede ellerin sabunla yıkanması mikroorganizmaların suyla akmasına yol açar. Bu grupta polieter ve poligliserol esterler yer alır.

3- Mikroorganizmaları Etkileme Derecelerine Göre Dezenfektanlar



Mikroorganizmaları Etkileme Derecelerine Göre Dezenfektanlar -1

- **Yüksek düzey dezenfeksiyon;** Sterilizasyon yöntemlerine dayanıklı olmayan ve invazif işlemlerde kullanılan malzemeler (otoklavlanamayan plastik ve diğer bileşenleri olan cerrahi aletler) için kullanılır. Çok dirençli bir kısım bakteri sporları dışında tüm mikroorganizmaları inaktive eder.
- Gluteraldehit, hidrojen peroksit, perasetik asit ve klor bileşikleri

Yüksek düzey dezenfeksiyon-yarı kritik gereçler

Dezanfektan	Konsantrasyon
Gluteraldehit	% >2.0
Orto-fitalaldehit (OPA)	% 0.55
Hidrojen peroksit*	% 7.5
Hidrojen peroksit + perasetik asit*	%1.0 / %0.08
Hidrojen peroksit + perasetik asit *	% 7.5 / %0.23
Hipoklorit (serbest klorin)*	650-675 ppm
Gluteraldehit + fenol/fenat**	%1.21 / %1.93
* Kozmetik ve fonksiyonel hasar yapabilir ** Etkinlik doğrulanmamıştır	

Glutaraldehit:

- Yüksek seviye dezenfektan olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Alkali glutaraldehit % 2 yoğunlukta vejetatif bakterileri 2 dakikada, mikobakterileri 20 dakikada, sporlu bakterileri ise ancak 3 saatte tam olarak öldürmektedir.
- Yüksek seviye dezenfeksiyon için oda ısısında 20 dakika temas süresi yeterli olmaktadır.
- Aletlere zarar vermemesi ve ucuz olması nedeniyle tercih edilmektedir.
- Toksik ve iritan olduğundan ancak iyi havalanan bir yerde ve kapalı kaplar içinde kullanılmalıdır. Çözeltileri 14-28 gün süre ile kullanılabilir.

Ortofitalaldehit (OPA):

- Toksisitesi glutaraldehitten daha az, mikobakterilere daha hızlı etkili bir bileşiktir.
- Glutaraldehitten pahalıdır. Ancak her ikisi de proteini fiske edici özellik gösterir. Bu nedenle temiz olmayan şartlarda asla kullanılmamaları gerekir.
- Ortofitalaldehitle 10 dakika temas süresi yüksek seviye dezenfeksiyon için yeterlidir. Sterilizasyon için en az 6 saat gereklidir.

Hidrojen peroksit(H_2O_2):

- Sporisit özelliğe sahip, fakat toksisitesi olmayan bir bileşiktir.
- Stabilize formları uzun süre dayanıklıdır. Hidrojen peroksit % 6-25 yoğunluklarda sterilizan olarak kullanılabilmektedir.
- Hidrojen peroksit endoskopların, kontak lensler gibi tıbbi malzemelerin, hemodiyalizerlerin, su sistemlerinin, yer ve yüzeylerin dezenfeksiyonunda kullanılabilmektedir.
- Dezenfektan özelliği yanında ayrıca organik kirlerin, biyofilm tabakasının uzaklaştırılmasını kolaylaştırdığından tıbbi aletlerin ön temizliğinde, özellikle ultrasonik banyolarda kullanımı uygun bir bileşiktir. Genel temizlik ve dezenfeksiyon için % 1-3 yoğunluklarda kullanılır.

Klor dioksit (ClO_2):

- Yüksek derecede okside edici bir madde olup 10 dakika gibi kısa sürede sporlu bakterileri öldürebilmektedir. Yüksek seviye dezenfeksiyon için 5 dk yeterli olmaktadır.

- Dayanıksız olduğundan kullanım yerinde hazırlanması gerekmektedir. Koroziv ve tahriş edici özellikleri bulunmaktadır. Ayrıca organik maddelerden ve ışıktan etkilenir.

Mikroorganizmaları Etkileme Derecelerine Göre Dezenfektanlar-2

- **Orta düzey dezenfeksiyon;** bakteri sporlarına etki göstermeyen , fakat mikobakterileri, zarfsız virüs ve diğer mikroorganizmalara etkili olan dezenfeksiyon seviyesidir. Bakteri sporları ve yüksek dirençli diğer organizmalarla kontaminasyon olasılığı olmayan yüzeylerde veya aletlerde kullanılır. Bunlar yarı-kritik araç ve gereç olarak bilinir. Esnek fiberoptik endoksoplar, laringoskoplar, vajinal spekulumlar vb...
- Alkoller, iyodofor bileşikleri, fenollü bileşikler

Orta düzey dezenfeksiyon - yarı kritik gereçler

Dezenfektan	Konsantrasyon
Etil veya izopropil alkol	% 60-95 (70)
Fenol ve fenol bileşikleri	% 0.4-5
İyodoforlar	30-50 ppm serbest iyot
Glikoprotamine	%4

Mikroorganizmaları Etkileme Derecelerine Göre Dezenfektanlar -3

- **Düşük düzey dezenfeksiyon;** bakteri sporu, mikobakteri ve zarfsız virüslere etkisiz olan ancak bir kısım vejetatif mikroorganizmaları etkileyebilen dezenfeksiyon seviyesidir. Kan basıncı ölçüm cihazı, Elektrokardiyogram elektrotları, steteskoplar gibi kritik olmayan araç ve gereçler için kullanılır.
- Kuaterner amonyum bileşikleri

%

Düşük düzey dezenfeksiyon
Kritik olmayan gereçler ve yüzeyler

Dezenfektan	Konsantrasyon*
Etil veya isopropil alkol	% < 50
Fenol ve fenol bileşikleri İyodoforlar Sodyum hipoklorit Kuaterner amonyum bileşikleri *Temas süresi >1 dakika	0.4-5 30-50 ppm serbest iyot 100 ppm serbest klor % 0.4-1.6

4- Etki Mekanizmalarına Göre Dezenfektanlar

- ❖Hücre zarının fonksiyonunu bozanlar
- ❖Hücre proteinlerini denatüre edenler
- ❖Nükleik asit üzerine etki edenler
- ❖Mikroorganizma enzimlerinin işlevini bozarak etki edenler
- ❖Bakteri sporlarına etki edenler

1-Hücre Zarının Fonksiyonunu Bozanlar

Zarın yarı geçirgenliğini, aktif transportunu, enerji metabolizmasını bozarak etkili olurlar.

Yüzey aktif dezenfektanlar: Bu maddeler iyonlaşma özelliklerine göre katyonik, anyonik ve noniyonik olmak üzere ayrılırlar. Katyonik dezenfektanlar grubunda örnek olarak benzalkoniyum klorürü verebiliriz. Anyonik grupta sabunlar ve yağ asitleri yer alır.

Fenol ve Türevleri: Sitoplazmik membrana yapışıp oksidaz ve dehidrogenaz enzimlerini irreversibl inaktive ederler. Diğer etkileri ise hücre proteinlerini denature etmektir. Örn: Fenol, metil fenol, lizol, rezorsinol, heksa-klorofen, klorheksidin.

% 3 – 5 'lik fenol dezenfeksiyonda, % 0.5 'lik fenol aşı ve serumlarda koruyucu olarak kullanılır.

Organik Çözücüler: Hücre zarının lipid yapısını bozar ve ayrıca hücre proteinlerini denature ederler. Örn: Alkoller, kloroform, eter, toluen.

2- Hücre Proteinlerini Denatüre Ederek Etki Gösterenler

- Bu maddeler proteinlerin üç boyutlu yapısını bozarak ve polipeptid zincirinin rastgele halkalanması ve helezonlaşmasına yol açarak etkili olurlar.

- Alkol, aseton, organik çözücüler

3- Nükleik asit üzerine etki edenler

- Bu grupta çoğu mikrobiyolojide de kullanılan boyalar yer alır. Bu boyaların başlıcaları kristal viyole, malaşit yeşili, brillant yeşili, fuksin, metilen mavisi ve akridindir. Bu boyalar nükleik asitlerle bileşikler yaparak, onların aktivitelerini bozmak suretiyle dezenfektan etki gösterirler. Metilen mavisi, akridin boyaları mukozalar üzerine dezenfektan olarak kullanılır.

4- Mikroorganizma enzimlerinin işlevlerini bozarak etki gösteren dezenfektanlar

- **Ağır metal tuzları:** Civa, gümüş, bakır tuzları Bunların etkileri enzimlerin sülfidril grupları ile birleşerek ortaya çıkar. Civa bileşikleri bugün önemli yan etkileri ve antiseptik olarak etkisinin azlığı nedeniyle pek kullanılmaz. Merthiolate ve mercurochrome deri dezenfektanı olarak kullanılır. Gümüş nitratın %1 lik çözeltisi ise çeşitli amaçlarla özellikle yeni doğan bebeklerde göz antiseptiği olarak kullanılmaktadır.

- **Okside edici maddeler:** Hidrojen peroksit, potasyum permanganat, ozon, oksitleyici etkileriyle enzim aktivitesini bozarlar. Halojenlerden klor ve klor vericiler (sodyum hipoklorit, kloraminler), brom ve iyot bileşikleri kuvvetli oksitleyici etkileri olan dezenfektanlardır. Klor ve ozon, suların dezenfeksiyonunda kullanılır.

- **Alkilleyici maddeler:** Bu grupta formalin, etilen oksit ve betapropiolakton yer alır. Formalin (formaldehitin %37-40' lık eriyiği) yüksek konsantrasyonda bütün mikroorganizmalar üzerine öldürücü̈ etkisi vardır. Kadavra ve dokuların saklanmasında kullanılır.

- **Etilen oksit;** Sterilizasyonda çok kullanılan bir maddedir. 10.8 ^{0}C'nin altında sıvı, üzerinde ise gaz halindedir. Yanıcı olması nedeni ile % 90 oranında CO_2 ile karışım halinde kullanılır. Etilen oksit gazının hem proteinler üzerine, hem de DNA üzerine etkisi vardır. Tüm bakteriler üzerine ve sporlara, virüslere, mantarlara etkilidir. Plastik ambalajları geçerek içindeki maddeleri steril etme yeteneği vardır.

5- Bakteri Sporlarına Etki Edenler

- Dezenfeksiyon maddeleri ile sporlu bakterilerin vegetatif şekilleri öldürülerek bunların tekrar spor yapmaları önlenir.
- Kuarterner amonyum bileşenleri, germinasyon aşamasında etkilidir. Fenol, sporun oluşum aşamasına etki eder. Gluteraldehid, formaldehid, hipoklorit, iyot, hidrojen peroksit ve etilen oksit olgun spor aşamasında etkilidir.

Sağlık Alanında Sık Kullanılan Antiseptikler

Alkoller:

- Antiseptik ve dezenfektan olarak sıklıkla etil alkol (etanol) ve izopropil alkol (izopropanol) kullanılmaktadır. Geniş etki spektrumları vardır. Ancak sporlara etkisizdirler. Alkol preparatları sporlarla kontamine olabileceğinden sağlık alanında kullanılan alkollerin bakteri geçirmeyen filtrelerden (0.22 mikron çaplı) süzülmesi gerekir.
- Alkol %60-90 yoğunlukta (optimal %70) etkili olup %50'nin altında aktivitesini büyük ölçüde kaybeder. Alkoller hızlı etki gösterirler. Hızla buharlaşırlar ve kalıcı etkileri yoktur. Uygulandıkları yüzeylerde hiçbir artık bırakmazlar.

- Alkoller etkilerini proteinleri pıhtılaştırarak ve lipitleri eriterek gösterir. Protein denatürasyonu bir miktar su gerektirdiğinden mutlak alkolün (%100) antimikrobik etkisi zayıftır.
- Alkollerin penetrasyon gücü zayıf olduğundan kir ve organik maddeler etkinliği ortadan kaldırır. Ayrıca alkoller fiksatif olduğundan organik kirleri yüzeylere yapıştırırlar. Bu nedenle ancak temiz şartlarda kullanılmalıdırlar.

Sağlık Alanında Sık Kullanılan Antiseptikler-2

İyot bileşikleri:

- Hücre yapılarını ve enzim sistemlerini tahrip ederek mikroorganizmaları öldürürler. Geniş etki spektrumu gösterirler. Ancak normal kullanım yoğunluğunda sporisit değildirler.
- Cilt, mukoza ve yara antiseptiği olarak kullanılırlar. İyot suda çözünmeyen bir bileşiktir. Ancak iyotun polivinil pirolidon (povidon) gibi polimerlerle oluşturduğu kompleks bileşikler (iyodoforlar) suda çözünürler ve yavaş şekilde iyot serbestleşmesine neden olurlar.

- İyot başlıca 2 formda (alkoldeki iyot çözeltisi ve iyodofor şeklinde) kullanılmaktadır. İyodun alkol çözeltisi (iyot tentürü) güçlü bir dezenfektandır. Ancak tahriş edici, boyayıcı ve kötü koku gibi istenmeyen özelliklere sahiptir. İyodoforlarda bütün bu özellikler ortadan kalkmıştır. Ancak iyotun yavaş salınımı nedeniyle etkileri daha geç oluşur. Kan gibi organik maddeler etkilerini azaltır.

DEZENFEKSİYONUN KLİNİK UYGULAMALARI

El antisepsisi

- Günlük hayatta 15 saniye sabunlamak ellerin dezenfeksiyonu için yeterlidir.
- Doğrudan hastalarla ilişkisi olan sağlık personelinin el yıkamasında %3 hekzaklorefenli veya %5 krezonlu sabunlar kullanması daha etkili olmaktadır.





- Birbirlerini nötralize etmeleri nedeniyle benzalkoniyum klorür ile sabun bir arada kesinlikle kullanılmamalıdır.

- Hastayla ilişkili kişilerin herhangi bir işlem ya da yaklaşım öncesi ve sonrasında ellerini sabunlaması gerekir.
- Cerrahi girişimlerden önceki temizlik ayrı kurallar gerektirir.

Yer, duvar ve eşyanın dezenfeksiyonu

- %3-5 fenol, %5 krezol eriyikleri ile silinir.

Oda dezenfeksiyonu

- Bu amaçla %10 formalin kullanılabilir. Formol gazı her yere nüfuz edebilir, sporlar dahil ortamdaki bütün mikroorganizmaları öldürür.
- Kullanım güçlüğü nedeniyle ancak özel durumlarda başvurulur.
- Ortamdaki bütün bakterilerin ölmesi isteniyorsa oda 24 saat kapalı tutulmalıdır. Daha sonra oda havalandırılarak amonyak uygulaması ile formol gazının etkisi ortadan kaldırılır. Oda daha sonra kullanılabilir.

Deri antisepsisi ve yara temizliği

- Deri antisepsisi için iyot tentürü (%2 iyot, %2.4 sodyum iyodür, %50 alkol) kullanılır. İritasyonu azaltmak için ise alkol ile temizlenir. Toz, toprak ile kirlenmiş yaralardan öncelikle yabancı cisimler ayıklanır. Daha sonra sabunlu su veya %1 bezalkonyum klorür ve %3 hidrojen peroksit ile yıkanır. Ayrıca iyot tentürü, %0.1 mertiolate veya alkol ile silinir.

Laboratuvar dezenfeksiyonu

- %5 fenol, %5 krezol, %3 lizol ile temizlenmelidir. Kullanılan pipetler ve lamlar hipoklorit içeren kaplara konmalıdır.

Sağlık alanında kullanılan dezenfektan ve antiseptikler

Dezenfektan ve antiseptikler	Kullanım Alanları
Fenol	Laboratuvar bençleri, kullanılan pipetler, swaplar, operasyon salonlarının dezenfeksiyonu
Formalin	Eşya ve odaların dezenfeksiyonu, dokuların ve kadavraların muhafazası
Alkol	Deri ve yara antisepsisi, bazı malzemelerin dezenfeksiyonu
Hidrojen peroksit	Deri ve yara antisepsisi, bazı malzemelerin dezenfeksiyonu
Glutelaldehit	Eşya ve oda dezenfeksiyonu, cerrahi malzemelerin dezenfeksiyonu
Heksaklorofen	Deri antisepsisi
Sodyum hipoklorit	Çeşitli eşyaların, çamaşırların ve ortamın dezenfeksiyonu, suların dezenfeksiyonu.
İyot bileşikleri	Deri antisepsisi ve çeşitli malzemelerin dezenfeksiyonu.
Sülfirik asit	Su borusu dezenfeksiyonu

Sağlık alanında kullanılan dezenfektan ve antiseptikler -2

Dezenfektan ve antiseptikler	**Kullanım Alanları**
Borik asit	Göz antisepsisi
Kloroform	Sıvı ortamda bakteri ve mantar kontrolü
Kreozol	Yüzeylerin dezenfeksiyonu.
Lizol	Deri antisepsisi, hastane ortamı dezenfeksiyonu.
Lugol	Deri ve mukoza antisepsisi.
Klor	Kirli suların dezenfeksiyonu.
Potasyum permanganat	Deri antisepsisi.
Sönmemiş kireç	Kadavra , septik çukur ve hasta çıkartılmasının dezenfeksiyonu.
Etilen oksit	Kimyasal sterilizasyon ve dezenfeksiyon
Sabun ve deterjanlar	Mekanik temizleme
Süblime	lastik, deri, eşya, duvar, mobilya, hasta atıkları dezenfeksiyonu
Mertiolat	Yara ve deri antisepsisi, koruyucu ve muhafaza edici.
Gümüş nitrat	Göz antisepsisi.

Etkinlik testleri

- Dezenfektanların etkinliğini belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Türkiye'de TSE

Etkinlik ölçümünde kullanılan testler;

Test organizmalarına göre;

- Antibakteriyel
- Antifungal
- Antiviral olarak sınıflandırılır.

Test yapısına göre;

İn-vitro testler

- Süspansiyon testleri

* Kalitatif süspansiyon testleri (pasajda üreme olması veya olmaması)

*Kantitatif süspansiyon testleri (İlk inokulumdaki bilinen sayıdaki mikroorganizma ile, dezenfektanla temas ettikten sonra canlı kalan mikroorganizma sayısının kıyaslanmasına dayanan bir testtir).

* Fenol Katsayısı Testi (Rideal-Walker): Fenol ile karşılaştırılarak dezenfektan etkinliğinin ölçülmesine dayanan kalitatif bir yöntemdir.

- **Kapasite testleri:** Bu gruptaki en gelişmiş test **Kelsey Sykes** testidir. Dezenfektana birkaç kez bakteri eklenerek, dezenfektanın bakterileri öldürme kapasitesi gözlenir. Bu amaçla dezenfektana kontamine edilmiş bir materyal veya cihaz atılır. Artan mikroorganizma fazlalığı karşısında dezenfektanın aktivitesini koruması, kapasitesinin göstergesidir.

- **Taşıyıcı testler:** Enstrüman dezenfeksiyonu için tasarlanan preperatların değerlendirilmesinde önemli bir testtir. Metal, katater gibi parçalar yapay olarak kontamine edilip kullanılan dezenfektan dilüsyonuna daldırılır. Belirli temas süresi sonrası bakterilerin ölüp ölmediği test edilir.

- **Uygulama testleri:** Uygulamalı testler gerçek yaşam koşullarında yapılan ikinci safha testleridir. Bazı ülkelerde bu test, alet ve yüzeyler, oda köşeleri, hava, balgam, dışkı, el ve deri, yüzme havuzunu kapsayacak şekilde her uygulama alanı için uygulanmaktadır.

- Tüm etkinlik testlerinde genel prensip, denenecek dezenfektan maddenin sulandırımlarının belirli mikroorganizmalarla karşılaştırılmasıdır. Temas süreleri sonunda m.o' ların canlı kalması, ne kadarının öldüğü, hangi yoğunlukta etki gösterdiği belirlenir. Uygulanan tüm testler "Seyreltme-Nötralleştirme Yöntemi ile yapılır".

Seyreltme-Nötralleştirme Yönteminin Prensibi

- Bozucu madde, bakteri süspansiyonu ile karıştırılır.
- Dezenfektan eklenir.
- Temas sürelerinin sonunda nötralleştirici madde ile karıştırılır.
- Nötralleştirme süresinden sonra örnekler katı besiyerine inoküle edilir.
- İnkübasyon süresi sonunda bakteriler sayılır.
- Kontrol olarak; bakteri süspansiyonu, bozucu madde, seyreltici sıvıların tek başına etkinlikleri denenmelidir.

- Dezenfektan etkinin kabul edilebilirliği Redüksiyon Faktörü (RF) değeri ile ilişkilidir.
- Redüksiyon Faktörü (RF), dezenfektan maruziyeti öncesindeki mikroorganizma sayısının logaritması – dezenfektanla muamele sonrasındaki canlı kalan mikroorganizma sayısının logaritması arasındaki farktır.
- Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı 10^9/ml veya üzerinde olmalıdır.
- Genellikle 1 dakikalık temas sonrası 5 log RF lik bir azalma olması gerekmektedir.

Antibakteriyel aktivite testi

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442
- *Escherichia coli* ATCC 10536
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- *Enterococcus hirae* ATCC 10541
- *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 suşları önerilmektedir.

Fungisidal aktivite testi

- *Candida albicans* ***ATCC 10231,***
- *Aspergillus niger* ***ATCC 16404*** Malt Ekstrakt Agar (MEA)
- *C.albicans*'ın vegetatif hücreleri *A.nigerin* ise sporları
- 60 dakikada 10^4 veya daha fazla canlılıkta azalma

- Deneyler her mikroorganizma için ayrı ayrı yapılır.
- 1, 5, 15, 30, 45 veya 60 dakikalık süreler için denenir.
- Kontrolleri de yapılmalıdır.
- Deney başlangıcındaki mikroorganizma sayısı mutlaka belirlenir ve esas test sonrası azalan mikroorganizma oranı değerlendirilir.