



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ALKOL BAZLI EL ANTİSEPTİKLERİNİN ULUSAL/ULUSLARARASI
STANDARTLAR İLE İN VİVO VE İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Tuncay TOPAÇ

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2013



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ALKOL BAZLI EL ANTİSEPTİKLERİNİN ULUSAL/ULUSLARARASI
STANDARTLAR İLE İN VİVO VE İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Tuncay TOPAÇ

Danışman: Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2013

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iii
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	27
Bulgular.....	47
Tartışma ve Sonuç.....	80
Kaynaklar.....	85
Teşekkür.....	90
Özgeçmiş.....	91

ÖZET

Hastane enfeksiyonlarının önlenmesi ile ilgili en önemli unsurlar arasında el hijyeni yer almaktadır. El hijyeni el yıkama yanı sıra antiseptiklerin ele uygulanması ile de sağlanmaktadır. El hijyenini sağlamak üzere hastanelerde yaygın kullanım alanı bulan alkol bazlı antiseptiklerin etkililiğini değerlendirmeye yönelik çeşitli standartlar bulunmaktadır. EN1500 standardı Avrupa'da kullanılan en yaygın standart olup Türk Standartları Enstitüsü tarafından da aynen kabul edilerek yürürlüğe konmuştur. Çalışmamızda beş adet ticari el antiseptiği ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen el antiseptik formülasyonu-II'nin etkililiği 3 ml x 30 saniye x 1 ve 3 ml x 30 saniye x 2 uygulama şekilleri için EN1500 standardı ile değerlendirilmiştir. 3 ml x 30 saniye x 1 şeklinde uygulandığında test edilen antiseptiklerin hiçbiri standardın gereğini sağlayamamıştır. 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulandıklarında bütün antiseptikler EN1500 standardını sağlamaktadır. Etiketlerinde genellikle 3 ml x 30 saniye x 1 şeklinde uygulanmaları önerilen alkol bazlı el antiseptiklerinin uygulama süreleri uzatılmalı ya da 30 saniyede etkinlik sağlamak isteniyorsa alkol oranı daha yüksek el antiseptikleri kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: EN1500, hijyenik el antisepsisi, DSÖ formülasyonu-II, antimikrobiyal etkililik.

SUMMARY

IN VIVO AND IN VITRO EVALUATION OF ALCOHOL-BASED HAND ANTISEPTICS BY NATIONAL/INTERNATIONAL STANDARDS

Hand hygiene is among the most important measures in preventing hospital acquired infections. Hand hygiene is achieved through hand washing as well as application of antiseptics to hands. There are various standards on the evaluation of the efficacy of alcohol-based antiseptics that are in widespread use in hospitals. The EN1500 standard is the most commonly used standard in this field in Europe and has also been accepted in its entirety and entered into force by the Turkish Standards Institution. In our study, efficacies of five commercially available hand antiseptics as well as that of the hand antiseptic Formulation-II suggested by the World Health Organization have been evaluated with the EN1500 standard for the 3 ml x 30 seconds x 1 and 3 ml x 30 seconds x 2 application patterns. When applied in the 3 ml x 30 seconds x 1 pattern, none of the tested antiseptics has been able to meet the requirements of the standard. When applied in the 3 ml x 30 seconds x 2 pattern, all the tested antiseptics meet the requirements of the EN1500 standard. The application times of the alcohol-based hand antiseptics, which are generally recommended to be applied in a 3 ml x 30 seconds x 1 pattern in product labeling, should be extended, or if achieving efficiency within 30 seconds is desired, hand antiseptics with high alcohol content should be used.

Key Words: EN1500, hygienic hand antiseptics, WHO formulation-II, antimicrobial efficacy.

GİRİŞ

Çok sayıda çalışma mikroorganizmaların hastane ortamına ve hastalara yayılmasında sağlık çalışanlarının ellerinin çok önemli bir araç olduğunu göstermiştir (1). El hijyenine uyum hastane kökenli enfeksiyonların önlenmesinde vazgeçilmez bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Yeterli el hijyeni, standart önlemlerin bir parçası olmasının yanı sıra katater ilişkili dolaşım enfeksiyonları, katater ilişkili idrar yolu enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları, ventilatör ilişkili pnömoni gibi spesifik bölge enfeksiyonlarının önlenmesine yönelik yaklaşımlarda da önemle vurgulanmaktadır (2).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından hazırlanan sağlık hizmetlerinde el hijyeni konulu 2009 yılı kılavuzunda (1) el hijyeninin uygulanması gereken durumlar şu şekilde belirtilmiştir:

- 1) Hastaya direkt temastan önce ve sonra,
- 2) Hasta bakımı için invazif bir araç kullanmadan önce (eldiven kullanılsın ya da kullanılsın),
- 3) Vücut sıvı ve atıkları, müköz membranlar, sağlam olmayan deri ve pansuman malzemelerine dokunduktan sonra,
- 4) Bakım sırasında hastanın kontamine vücut bölgesinden temiz vücut bölgesine geçerken,
- 5) Hastanın hemen yakınındaki cansız yüzeyler ve nesnelere (medikal ekipman dahil) temastan sonra,
- 6) Steril ya da steril olmayan eldivenleri çıkardıktan sonra.

El hijyeni el yıkama şeklinde uygulanabileceği gibi el antiseptikleri ile el ovalama şeklinde de uygulanabilir. “El yıkama” basit ya da antiseptik içeren sabun ve suyla ellerin yıkanması olarak tanımlanırken “antiseptik el ovalama”, suya, sabuna, durulamaya ve havlu ile kurutmaya ihtiyaç duymadan el antiseptiklerinin kullanılarak mikroorganizmaların azaltılması olarak tanımlanmıştır. Antiseptik, canlı dokulardaki mikroorganizmaları

inaktive eden ya da üremelerini inhibe eden antimikrobiyal madde olarak tanımlanır. Dezenfektan terimi ise cansız yüzeyler için kullanılmaktadır. Bununla birlikte bazı ülkelerde “el antiseptikleri” yerine “el dezenfektanları” isimlendirmesi yaygın olarak kullanılmaktadır.

El antisepsisi, hijyenik el antisepsisi ve cerrahi el antisepsisi olarak ikiye ayrılmaktadır. Hijyenik el antisepsisi tanımı ellerdeki geçici floranın, kalıcı florayı etkilemeksizin azaltılması amacıyla uygulanan el yıkama ya da el ovalama işlemleri olarak tanımlanmaktadır. Cerrahi el antisepsisi ise ameliyat öncesi cerrahi ekibin ellerindeki geçici florayı ortadan kaldırmak ve kalıcı florayı azaltmak amacıyla uygulanan işlem olarak tanımlanmıştır. Cerrahi el antisepsisi antiseptikli sabun ve suyla el yıkama şeklinde yapılabileceği gibi el antiseptikleri ile ovalama şeklinde de uygulanabilmektedir. Hijyenik el ovalamadan farklı olarak uygulama süreleri daha uzundur.

DSÖ kılavuzunda yer alan konsensüs raporunda ellerin görünür olarak kirli olduğu, kan ve vücut sıvıları bulaştığı durumlarda, tuvaleti kullandıktan sonra ve *Clostridium difficile* salgınlarında olduğu gibi ispatlanmış ya da muhtemel spor oluşturan patojen maruziyetinde ellerin su ve sabunla yıkanması önerilmekte, bunlar dışında kalan rutin el antisepsisi uygulamalarında ise tercihan alkol bazlı el antiseptikleri ile el ovalama önerilmektedir.

Sağlık çalışanlarının el hijyenine uyumunu azaltan faktörler içerisinde yer alan, uygun yerleşimli ve yeterli sayıda lavabo bulunmaması, kağıt havlu ve sabun teminindeki sıkıntılar el yıkama uygulaması ile ilişkili dezavantajlardır (3). El antiseptiklerinin içerdiği alkolün neden olduğu cilt kuruluğu, ürünlerin içine katılan yumuşatıcı, nemlendirici ajanlarla ortadan kaldırılabilen ya da azaltılabilmektedir. Bu tür ajanlar içeren el antiseptiklerinin sabunla el yıkamaya göre ellerde daha az tahriş ve kurumaya yol açtığı rapor edilmiştir (4,5). Ayrıca el hijyenine uyumu azaltan faktörlerden bir diğeri olan personelin zaman kısıtlılığı ve aşırı iş yükü dikkate alındığında el antiseptiklerinin nispeten kısa uygulama süreleri ve kolay ulaşılabilirliği uygulamanın bir başka avantajıdır.

El yıkama işleminde kullanılan su, sabun ve kağıt havlunun kontaminasyon riski bulunmaktadır. Sartor ve ark. (6) hastanede kullanılan kontamine sıvı sabundan kaynaklanan bir *Serratia marcescens* salgınını rapor etmişlerdir. Çalışmalarında kontamine sabunla el yıkama sonrası sağlık personelinin ellerinin *S marcescens* ile 54 kat fazla kontamine olduğunu göstermişlerdir.

Caetano ve ark. (7) Brezilya'daki bir hastanede analiz ettikleri 55 sıvı sabun dispenserinden 33'ünün *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* ve *Pseudomonas luteola* ile kontamine olduğunu ve dispenserlerin doldurulmasında kullanılan orijinal ambalajındaki bir sabunda da kontaminasyon varlığını göstermişlerdir.

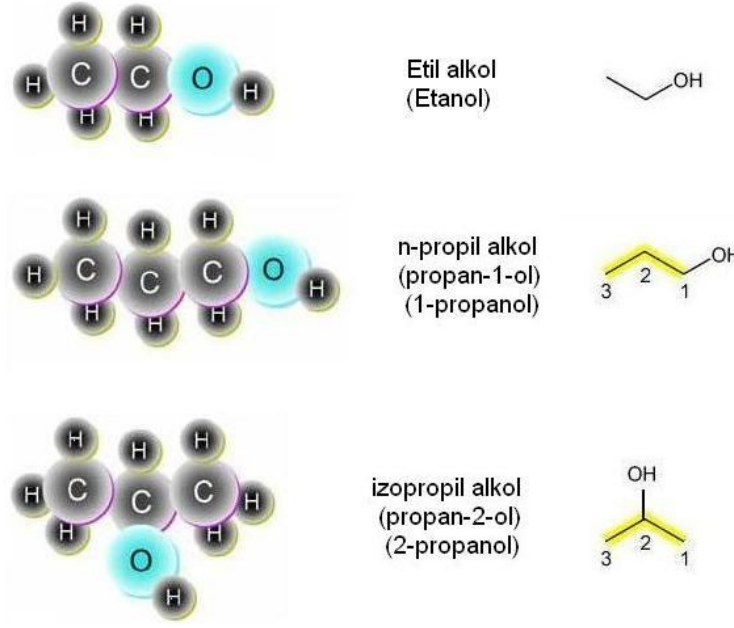
Diğer taraftan alkol bazlı solüsyonların kontaminasyonu da rapor edilmiştir. Hsueh ve ark. (8) içki fabrikasından temin edilen kontamine etanole bağlı nozokomiyal *Bacillus cereus* psödoepidemisini rapor etmişlerdir. Nasser ve ark. (9) bir üniversite hastanesinde 1993-2000 yılları arasında, 361 hastada saptanmış olan *B cepacia*' ya bağlı kan dolaşım enfeksiyonlarını araştırmışlardır. Polimeraz zincir reaksiyonu-restriction fragment length polymorphism yöntemiyle kaynağın katater takılacak hastaların cilt antisepsisini sağlamak için hazırlanan alkolün sulandırılmasında kullanılan musluk suyu olduğunu göstermişlerdir. *Bacillus* gibi bakterilerin sporlarının alkol içeren solüsyonlarda yaşayabildiği bilinmekle birlikte sporsuz bir bakteri olan *B cepacia*'nın bir suşunun %70 alkol içeren kaplarda yaşayabilmesi dikkate değer bir bulgudur.

I. El Antiseptikleri

El antiseptikleri alkoller, diğer antiseptikler ve alkoller ve diğer antiseptiklerin kombinasyonu şeklinde sınıflandırılabilir.

I.1. Alkoller

El antiseptiklerinin çoğunluğu alkol olarak etanol, izopropanol, n-propanol ya da bunların ikili kombinasyonlarını içermektedir (Şekil-1). Ürünlerin içerdiği alkol konsantrasyonları hacim yüzdesi (ml/100 ml, v/v), ağırlık yüzdesi (g/100 g, m/m) ya da ağırlık/hacim yüzdesi (g/100 ml, m/v) şeklinde ifade edilmektedir.



Şekil-1: Antiseptik solüsyonlarda yer alan alkol türleri.

Tablo-1'de etanol, n-propanol ve izopropanolün çeşitli konsantrasyonları hacim ve ağırlık yüzdesi şeklinde karşılaştırılmıştır. Hacim yüzdesi değeri, sıcaklık ve reaksiyon konsantrasyonu gibi değişkenlerden etkilenmekteyken ağırlık yüzdesi değeri bu değişkenlerden etkilenmemektedir. Örneğin ağırlıkça yüzde 70'lik etanol, 15°C'de hazırlandığında hacimce %76,8'a karşılık gelirken, 25°C'de hazırlandığında %80,5'e karşılık gelmektedir (1). Ayrıca, karışımlarda oluşan hacim kontraksiyonu nedeniyle alkol solüsyonlarının üretiminde alkol hacmi yerine ağırlığının esas alınması önerilmektedir (10).

Tablo-1: Aköz etanol, propan-2-ol, ve propan-1-ol'ün ağırlık ve hacim yüzdesi olarak konsantrasyonları (10).

Ağırlık (% g/g)	20°C'de Hacim (% ml/ml)		
	Etanol	Propan-2-ol	Propan-1-ol
40	47,4	47	46,5
50	57,8	57	56,5
60	67,7	67,2	66,2
70	76,9	76,5	76,1
80	85,4	85	84,5
90	93,2	93,8	93,5
95	96,7	97,5	97,2
100	100	100	100
20°C'de Hacim (% ml/ml)	Ağırlık (% g/g)		
	Etanol	Propan-2-ol	Propan-1-ol
40	33,4	33,5	34
50	42,6	43	43,4
60	52,1	53,7	53,9
70	62,6	62,8	63,5
80	73,4	73,5	74,5
90	85,8	86	86
95	92,5	92,8	93
100	100	100	100

Alkollerin antimikrobiyal etki mekanizması tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte en belirgin etkileri protein denatürasyonu ve koagülasyonuna neden olmalarıdır. Protein denatürasyon ve koagülasyonu sonucu bakteriyel hücre duvarı, hücre membranı ve çeşitli enzimatik proteinlerin yapısı bozulmaktadır. Denatürasyon mekanizması absöü etanolün, suyla karıştırılmış etanole göre daha az bakterisidal aktivite göstermesi gözlemi ile desteklenmektedir, çünkü proteinler su varlığında daha hızlı denatüre olmaktadır (10). Alkollerin düşük konsantrasyonlarda gözlenen bakteriyostatik etkisinin hücre bölünmesi için gerekli metabolitlerin üretimini inhibe etmesi sonucu oluştuğu düşünölmektedir.

Alkoller in vitro olarak vejetatif bakterilere karşı belirgin germisidal aktivite göstermektedir. Vankomisin dirençli *Enterococcus* ve metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* gibi çoklu ilaca dirençli bakteriler de dahil olmak üzere gram-pozitif ve gram negatif bakterilere ve tüberküloz basiline etkili olmalarına rağmen bakteriyel sporlara ve protozoon ookistlerine etkili değildirler. Bazı araştırmacılar alkol bazlı el antiseptiklerinin yaygın kullanımının *Clostridium difficile* salgınlarında artışa neden olabileceğini ileri sürmüşlerse de bu iddia şimdiye kadar ispatlanamamıştır (2). Parazitlere karşı etkisizlik, tropikal bölgelerde el yıkama yerine alkol bazlı el antiseptiklerinin kullanımının yaygınlaştırılmasında bir endişe konusudur. Çünkü el yıkamanın en azından kistleri mekanik olarak uzaklaştırma etkisi bulunmaktadır.

Literatürde alkollerin antiviral etkinliği ile ilgili genel bir uzlaşma bulunmamaktadır. Lipofilik, zarflı virüslerin, alkoller ile zarfsız virüslere göre daha kolay inaktive olduğu bilinmektedir (10).

Herpes simplex virus, human immunodeficiency virus (HIV), influenza virus, respiratory sinsitial virus (RSV) gibi çeşitli zarflı (lipofilik) virüslerin alkollere karşı in vitro duyarlılığı gösterilmiştir (11-14). Hepatit B virüsü ve muhtemelen hepatit C virüsü gibi diğer bazı zarflı virüsler ise alkollere karşı daha az duyarlıdır (15). Zarfsız virüsler olan adenovirus, rhinovirus ve rotavirus ile Sattar ve ark. (16)'nın yaptığı in vivo bir çalışmada gönüllülerin parmak uçlarının kontaminasyonu sonrası %60 etanol içeren ticari bir antiseptiğin etkisi test edilmiştir. Üç virüsün enfektivite titrelerinde 3-4 log'luk azalma saptanmıştır. Bununla birlikte alkol konsantrasyonuna, süreye ve viral değişkene bağlı olarak alkoller, hepatit A virüsü ve diğer zarfsız virüslere etkisiz olabilir. Schurman ve Eggers (13), zarfsız virüslerin inaktivasyonunun sıcaklık, dezenfektanın viral hacme oranı ve protein yükünden etkilendiğini belirtmiştir. Blaney ve ark. (17) Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin kuzey-doğu eyaletlerindeki uzun süreli bakım kuruluşlarında Aralık 2006-Mart 2007 döneminde görülen norovirus salgınlarını inceledikleri çalışmalarında alkol bazlı el antiseptiklerini su ve sabuna eşit veya daha fazla kullanan kuruluşlardaki norovirüs oranlarının altı

kat daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Alkol bazlı antiseptiklerin özellikle zarfsız virüslere etkileri ile ilgili daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Alkoller çeşitli dermatofitler ve mayalara karşı da germisidal etkinliğe sahiptir.

Alkoller diğer birçok antiseptikten persistan (rezidüel) etkilerinin olmaması ile ayrılmaktadır. Bununla birlikte cilde uygulandıktan sonra cilt bakterilerinin tekrar üremeleri yavaşlamaktadır. Bu, muhtemelen alkolün bakteriler üzerindeki subletal etkisinden kaynaklanmaktadır (18). Persistan etki sağlanması için alkol bazlı formülasyonlara klorheksidin, kuaterner amonyum bileşikleri, oktenidin veya triklosan eklenmektedir (19). Gaonkar ve ark. (20) nemlendirici olarak oktoksigliserin ve koruyucu içeren alkol bazlı bir antiseptik ürünün sinerjistik etki sonucu geçici patojenlere karşı etkisinin uzadığını raporlamıştır.

Alkol bazlı el antiseptiklerinin etkililiği alkolün türü, konsantrasyonu, temas süresi, hacmi ve alkol uygulanırken ellerin ıslak olup olmaması faktörlerine bağlıdır. Alkol türü ve antimikrobiyal etkililik arasında açık bir ilişki olduğu ortaya konmuştur, buna göre n-propanol en etkili türdür ve bunu izopropanol ve etanol takip etmektedir. Hacimce (v/v) %42 n-propanol, %60 izopropanol ve %77 etanolün cilt üzerinde eşdeğer bakterisidal etkinlik sağladığı kabul edilmiştir (19).

20. yüzyılın başında Harrington ve Walker (21), çeşitli bakteriler içeren nemli ve kurutulmuş ipliklerle yaptıkları deneylerde etanolün farklı konsantrasyonlarının etkililiğini test etmişlerdir. Nemli ipliklerdeki *E coli*, %60-%99 konsantrasyonlarındaki etanol ile 5 dakikadan kısa sürede öldürülmüşken, bakteri uygulandıktan sonra kurutulan ipliklerde sadece %50-60 konsantrasyonlarında öldürülebilmişlerdir. İpliklerde kurutulmuş olan *E coli*, *P aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*, %94-99 konsantrasyonlarındaki etanole 24 saat maruz kalmalarına rağmen öldürülebilmişlerdir. Bu sonuç denatürasyon için su mevcudiyetinin gerekliliğini göstermektedir. Bununla birlikte el antiseptiklerinde en güçlü ve hızlı antimikrobiyal etki n-propanol ve izopropanol için %100

konsantrasyonunda etanol için ise %85-95 konsantrasyonlarında gözlenmektedir. Bunun nedeni ciltteki bakterilerin kuru olmamasıdır. Etanolün en etkili konsantrasyonunun %77 (v/v) olduğu görüşü sadece kuru bakteriler için geçerlidir. Etkili uygulama için alkol konsantrasyonlarının n-propanol için %60, izopropanol için %80 ve etanol için %90'ın altına düşürülmemesi önerilmektedir (10).

Alkol bazlı el antiseptiklerinin etkililiği, kullanım miktarı ve süresi ile de ilişkilidir. Larson ve ark. 1 ml alkolün, 3 ml alkolden anlamlı derecede daha az etkili olduğunu raporlamışlardır (22). Alkol bazlı el antiseptiklerinin ellere uygulanması gereken miktar bilinmemektedir ve muhtemelen ürünün içeriğine göre değişebilir. Genel olarak uygulama sonrası 10-15 saniyeden kısa sürede eller kuruyorsa uygulanan miktar yetersiz kabul edilir.

Alkoller çok iyi temizleyici ajanlar değildirler ve ellerde gözle görünür kir veya proteinli materyallerin varlığında kullanılmaları önerilmemektedir.

I.2. Klorheksidin

Klorheksidin ilk olarak 1950'de İngiltere'de proguanil tip sentetik antimalaryal ajanların araştırılması sırasında sentez edilmiş, yüksek düzey antibakteriyel etkinliği, düşük toksisitesi ve cilt ve müköz membranlara güçlü afinitesi nedeniyle topikal antiseptik olarak kullanılmaya başlanmıştır. Klorheksidin normalde suda çok az çözünürken diglukonat tuzu suda kolayca çözünebilmektedir. Katyonik bir bisbiguanid olan klorheksidin etki mekanizması sitoplazmik membranı bozarak, hücre içeriğinin çökmesine sebep olması ile ilişkilendirilmiştir (23).

Geniş antibakteriyel spektruma sahip olmasına rağmen gram pozitif bakterilere etkisi, gram negatif bakterilerden daha belirgindir. Özellikle bazı *Proteus* ve *Providencia* suşlarının klorheksidine yüksek derecede dirençli olduğu gösterilmiştir (24,25). Klorheksidin sporosidal etkisi bulunmamaktadır. Mikobakterilere yüksek derecede bakteriyostatik etkisi bulunmakla birlikte letal etkisi bulunmamaktadır. Ancak, etanol çözeltileri içinde tüberkülosidal etkisi ve yüksek sıcaklıklarda (98-100°C) sporosidal etkisi mevcuttur (26).

Kan, serum, püvy gibi organik materyaller klorheksidin aktivitesini azaltsa da ciddi bir şekilde etkilemezler. Klorheksidin katyonik doğasından dolayı aktivitesi, doğal sabunlar, çeşitli inorganik anyonlar, non-iyonik sürfaktanlar tarafından azaltılmaktadır (27). Walsh ve ark. (28) klorheksidin içeren deterjanla el yıkama sonrası kullanılan anyonik emülsifiye edici madde içeren el kremlerinin klorheksidin antibakteriyel etkisini azalttığını göstermişlerdir.

İn vitro olarak Herpes simplex virus, cytomegalovirus, influenza ve RSV gibi zarflı virüslere karşı etkili olmasına rağmen, diğer birçok antiseptikler gibi adenovirus, enterovirus gibi zarfsız virüslere karşı belirgin etkisi yoktur. Montefiori ve ark. (29) %4 klorheksidin içeren el yıkama preparatı ve %70'lik izopropil alkoldeki %0,5'lik klorheksidin çözeltisinin 15 saniye temas süresinde hücre kültüründe üretilen HIV tip I'i %100 inaktive ettiğini göstermişlerdir.

Klorheksidin ani antibakteriyel etkisi alkollerden daha yavaşken, povidon-iyot, triklosan, heksaklorofen ve kloroksilenol içeren benzer preparasyonlardan daha hızlıdır. Klorheksidin; heksaklorofen ve triklosan ile kıyaslanabilir rezidüel etkiye ve özellikle gram negatif bakteriler için daha geniş bakterisidal spektruma sahiptir (27).

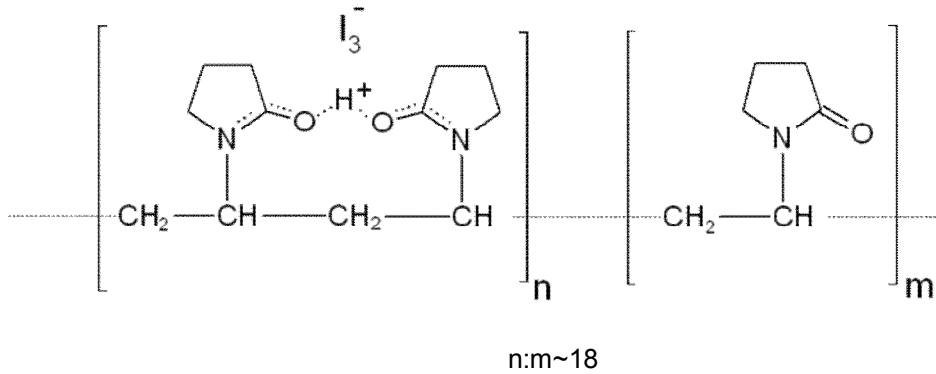
Alkol bazlı antiseptiklere düşük konsantrasyonlarda katılan (%0,5-%1) klorheksidin, tek başına alkol içeren solüsyonlara göre rezidüel aktiviteyi belirgin olarak arttırdığı raporlanmıştır (30). Bununla birlikte Rotter ve ark. (31) tarafından yapılmış olan bir çalışma bu raporu desteklememektedir. European Norm (EN) 12791 standardı (32) baz alınarak yapılan bu çalışmada cerrahi el antisepsisinde kullanılan, birinde ilaveten klorheksidin, diğerinde ilaveten meketryum etilsülfat bulunan üç propanol bazlı ürünün bakteriyel popülasyon kinetiği değerlendirilmiştir. Gönüllüler gruplara ayrılarak ellerini 3 dakika süreyle test edilen ürünlerle ovaladıktan hemen sonra cilt florasını oluşturan bakterilerin sayısındaki logaritmik azalmanın hesaplanması için numuneler alınmıştır. Daha sonra rezidüel aktivitenin belirlenmesi için ellere steril eldiven giydirilmiştir. 6 saat sonra eldivenler çıkarılarak tekrar numune alınmış ve cilt florasındaki bakterilerin

sayısındaki artış saptanmıştır. Bu artış ürünlerin rezidüel aktivitesi ile ters orantılıdır. Çalışma sonucunda ürünler arasında rezidüel aktivite arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Araştırmacılar yeterli ani bakterisit etki sağlayacak konsantrasyondaki alkol bazlı süspansiyonlara rezidüel etkiyi arttırmak amacıyla klorheksidin gibi ajanların katılmasının minör bir yarar sağlayacağını vurgulamışlardır. Klorheksidin içeren ve içermeyen solüsyonların propanol tür ve miktarlarının eş olmaması nedeniyle klorheksidin ilavesinin rezidüel etkiyi arttırmadığını ifade etmek hatalı olabilir.

Önerilen konsantrasyonlarda kullanıldığında klorheksidine bağlı cilt irritasyonu ve aşırı duyarlılık insidansı düşüktür. %1'in üzerindeki konsantrasyonlarda konjunktivit ve ciddi korneal hasara neden olabileceği için gözle temasından kaçınılmalıdır. Birçok çalışma klorheksidinin ciltten son derece az absorbe olduğunu ya da hiç absorbe olmadığını göstermektedir. Ciltten absorbe edilen klorheksidine bağlı toksisiteyi gösteren bir rapor yayınlanmamıştır (27).

1.3. İyot ve iyodoforlar

İyodun antiseptik özelliği 1800'lerden beri bilinmekle birlikte, iritan etkisi ve ciltte renk değişikliğine yol açması nedeniyle günümüzde yerini iyodoforlara bırakmıştır. İyodoforlar taşıyıcı polimerik organik moleküller ve iyottan oluşmuş bir komplekstir. İçerdiği taşıyıcı moleküllerin en az 3 özelliği olması gerekmektedir: (a) iyot çözünürlüğünü arttırmak, (b) iyodun sürekli salınımını sağlayacak bir rezervuar oluşturmak, (c) serbest moleküler iyodun denge konsantrasyonunu azaltmak. Kullanılan taşıyıcılar arasında en iyi bilineni povidon (polivinilpirolidinon)'dur (Şekil-2).



Şekil-2: Katı povidon-iyodun yapısı.

İçerdikleri moleküler iyot (serbest iyot) miktarı iyodoforların antimikrobiyal etkisini belirler. “Mevcut iyot” kavramı, iyodoforun içerdiği toplam iyot miktarına karşılık gelmektedir. %10 povidon-iyot çözeltisinin mevcut iyot içeriği %1 iken, sağladığı serbest iyot konsantrasyonu 1ppm'dir (33). İyodoforlar iyoda göre daha az irritasyon ve dermatite neden olurken, el hijyeninde kullanılan birçok ürüne göre daha çok irritan kontakt dermatite neden olmaktadır (34).

İyodun antimikrobiyal etkisinden temel olarak mikroorganizmaların hücre duvarına hızla penetre olması sorumludur. Hücre ölümüyle sonuçlanan mekanizmalar içinde muhtemelen en önemlisi iyodun sistein aminoasidinin SH gruplarını okside etmesidir. Bu mekanizma protein zincirlerini birbirine bağlayan disülfid (-S-S-) bağlarının kaybı ve protein sentezinde bozulma ile sonuçlanmaktadır. Muhtemel diğer mekanizmalar DNA denatürasyonuna yol açması ve doymamış yağ asitlerine bağlanarak hücre membran yapısını bozmasıdır (33).

Çoğu iyodofor preparasyonu %7,5-10 konsantrasyonlarında povidon iyot içermektedir. Cerrahi hazırlıkta kullanılan ve fırçalama şeklinde uygulanan antimikrobiyal sabunlar bunlar içinde yer almaktadır. Berkelman ve ark.'nın yaptığı çalışmada %10 povidon-iyot içeren preparasyonların 1/100'e kadar çeşitli dilüsyonlarının antibakteriyel etkisi in vitro olarak test edilmiştir. Çalışma sonucunda dilüsyonların bakterisidal etkisinin stok solüsyondan daha hızlı olduğu gözlenmiştir. İyodoforların dilüsyonlarında gözlenen bu atipik davranış, dilüsyonlar arttıkça serbest iyot miktarının da bir noktaya kadar artması ile ilişkilidir (35).

İyot ve iyodoforların gram pozitif ve gram negatif bakterilere, tüberküloz basillerine, mantarlara ve virüslere karşı aktivitesi bulunmaktadır (33). *Bacillus* ve *Clostridium* sporlarına karşı etkili olmakla birlikte bu etki antiseptiklerde kullanılan konsantrasyonlardan belirgin olarak daha yüksek konsantrasyonlar için geçerlidir (19). İyodoforlar, kan ve balgam gibi organik materyallerin varlığında hızla nötralize olurlar (36,37).

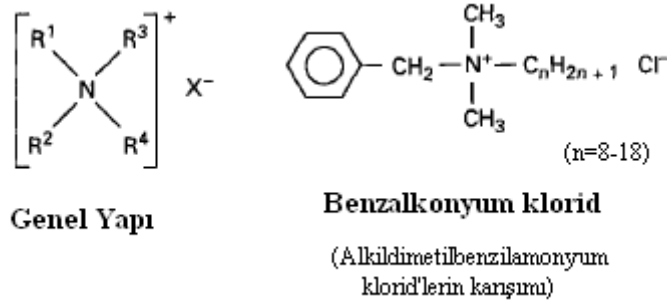
İyodoforların persistan aktivitesi ile ilgili yayınlarda nispeten farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Ellerin iyodoforla yıkanması sonrası persistan aktivite Paulson ve ark. (38) tarafından 6 saat olarak bulunmuşken, diğer bazı araştırmacılar 30-60 dakika olarak raporlamışlardır (39,40).

Gottardi (41), ellere çeşitli iyot solüsyonları uyguladıktan sonra ciltten emilen iyotun geri difüzyonunu fotometrik bir metod ile göstermiştir. Bu metodla 3 ila 5 dakika boyunca povidon-iyot uygulamasını takiben ellerde 0,5 ila 1 saat boyunca absorbe edilen iyotun geri akışını saptayabilmiştir. Araştırmacı, iyotun geri difüzyonu sürdüğü müddetçe cildin derin bölgelerinde aktif bir dezenfeksiyonun meydana geldiğini ve bunun cilt dezenfeksiyonu sahasında kendine özgü bir özellik olduğunu ifade etmektedir.

Povidon-iyot solüsyonlarının üretim koşulları nedeniyle gram negatif bakterilerle kontaminasyonu rapor edilmiştir. Berkelman ve ark. (42) New York'ta altı ay boyunca 52 hastayı etkileyen *B cepacia* psödoepidemisinin %10 povidon iyot solüsyonundan kaynaklandığını raporlamışlardır.

I.4. Kuaterner Amonyum Bileşikleri (Kuatlar)

Kuatlar, genel yapı olarak 4 alkil radikaline (R^1-R^4) bağlı 5 değerli bir nitrojen atomu ile küçük bir anyondan (X^-) oluşan katyonik yüzey aktif maddelerdir. (Şekil-3)



Şekil-3: Kuaterner amonyum bileşiklerinin genel yapısı ve benzalkonyum klorit.

Son yıllarda antimikrobiyal etkinliğe sahip çok sayıda kuat piyasaya sunulmuştur. Bu geniş bileşik grubu içinde antiseptik olarak en yaygın kullanım alanı bulan benzalkonyum klorit'tir. Grup içinde antiseptik olarak

kullanılan diğer bileşikler içerisinde benzetonyum klorit, setrimid ve setilpridinyum klorit yer almaktadır.

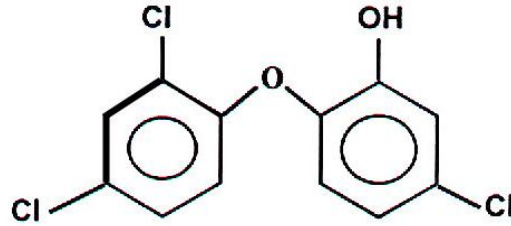
Kuatların antimikrobiyal etki mekanizması muhtemelen hücre membranına bağlanmalarını takiben küçük molekül ağırlıklı sitoplazmik yapıtaşlarının geçişine yol açmalarıyla ilişkilidir. Kuatlar, yüksek konsantrasyonlarda bazı organizmalara karşı mikrobisidal aktivite göstermesine rağmen temel olarak bakteriyostatik ve fungostatik ajanlardır (19). Gram pozitif bakterilere, gram negatif basillerden daha etkilidirler. Mikobakterilere ve mantarlara karşı zayıf aktivite gösterirler. Geçmişte yapılan çalışmalarda çok düşük konsantrasyonlarda bile sporosidal ve tüberkülosidal aktivite gösterdiği rapor edilmiş ve üretici firmalar tarafından bu şekilde tanıtılmış olmalarına rağmen Amerikan Resmi Analitik Kimyacılar Birliği (AOAC) tarafından yapılan çalışmalar bu sonuçları doğrulamamıştır. Geçmişte yapılan testlerde kuatların yetersiz nötralizasyonu nedeniyle hatalı sonuçlara ulaşıldığı düşünülmektedir. (43). Kuatların lipofilik virüslere karşı aktivitesi bulunmakla birlikte hidrofilik virüsleri etkilememektedirler. Antimikrobiyal aktiviteleri, organik materyal varlığından etkilenir ve anyonik deterjanlar ile uyumlu değildirler. Kuatlardan benzalkonyum klorit ve meketryum etilsülfat bazı ticari alkol bazlı el antiseptiklerine de katılmaktadır. Rotter ve ark. (31), alkol bazlı el antiseptiklerine meketryum etilsülfat ilavesinin minör bir yarar sağladığını rapor etmişlerdir. Kuatlar genel olarak iyi tolere edilirler ve düşük allerjenik potansiyele sahiptirler.

Gram negatiflere karşı zayıf etkinliği nedeniyle bu bakterilerle kontamine olma eğilimi gösteren kuatların neden olduğu enfeksiyon ve psödoenfeksiyon salgınları birçok kez raporlanmıştır (44,45). Hatta, mikrobiyoloji laboratuvarları bir kuat olan setrimidi *P aeruginosa* izolasyonu için seçici besiyerlerinde kullanmaktadır (46).

Japonya ve Avrupa'da toplanan *S aureus* izolatlarının %6 ile 42'sinde kuatlara direnci gösteren genler tespit edilmiştir (47).

I.5. Triklosan

Ticari olarak Irgasan DP-300 olarak bilinen triklosan bir bisfenol bileşimidir (Şekil-4). Suda çok az çözünürken, alkollerde ve anyonik sabunlar gibi çeşitli deterjanlarda iyi çözünmektedir. Triklosan, cerrahi ve hijyenik el antiseptisi için deterjanlara (%0,4-%2), alkollere (%0,2 - 0,5) ve bunlar dışında düşük toksisite ve irritasyon profili nedeniyle deodorant, şampuan, losyon, diş macunu gibi çeşitli kişisel bakım ürünlerine katılmaktadır (26).



Triklosan
2,4,4'-trikloro-2'-hidroksidifenill eter

Şekil-4: Triklosanın yapısı.

Triklosanın 10 dakika uygulamada minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) 0,1-10 µg/ml aralığında iken minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) 25-500 µg/ml aralığında olup temel olarak bakteriyostatik etkilidir. Gram pozitifler bakterilere etkisi, gram negatif basillere etkisinden daha fazladır. Özellikle *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkisi zayıf olup, birçok suşun inhibisyonu için 100-1000 µg/ml konsantrasyonları gerekmektedir. *Candida* türlerine karşı iyi fungistatik (10 µg/ml) ve fungisidal (25 µg/ml, 10 dakika) aktivite gösterirken, *Aspergillus* gibi çeşitli küflere karşı zayıf aktivite (MİK: 100 µg/ml) göstermektedir (19). Triklosan nozokomiyal öneme sahip birçok virüse karşı yeterli etkiye sahip değildir.

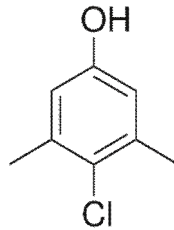
Triklosanın antimikrobiyal özelliği sitoplazmik membrana ve yağ asidi, RNA ve protein sentezi üzerine olan etkileriyle ilişkilendirilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda yağ asidi sentezinde görevli olan enoil asil-taşıyıcı protein redüktaz enzimini spesifik olarak inhibe etmekteyken (48), yüksek

konsantrasyonlarda membran yapısının bozulması ile ilişkili daha genel etkilere neden olmaktadır. Düşük konsantrasyonlarda gözlenen tek hedefe yönelik etkisi, triklosanı birden çok hedefe yönelen diğer birçok antiseptikten ayırmaktadır. Triklosanın inhibe ettiği enzimin benzeri mikobakterilerde mikolik asit sentezinde de yer almakta olup izoniazidin hedefini oluşturmaktadır. Bu nedenle triklosanın aşırı kullanımı sonucu antibiyotiğe dirençli suşların yayılabileceği endişesi raporlanmıştır (49-51). Triklosan ayrıca *P aeruginosa* 'daki çoklu ilaç efflux pompaları için de bir substrattır (52). Laboratuvarında gözlenen triklosan MİK değeri yüksek izolatların klinik önemi bilinmemektedir. Bu bakteriler triklosanın kullanım konsantrasyonlarına duyarlıdır. Bununla birlikte yaygın kullanım alanı bulan triklosanın antibiyotik direnci ile ilişkisini saptamaya yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Triklosanın aktivitesi, organik materyalden önemli derecede etkilenmez. Bazı formülasyonlara katılan polisorbata 80 (Tween 80) gibi bazı etoksilli sürfaktanlar triklosanı misel yapısı içinde hapsederek etkisini engelleyebilirler (19).

1.6. Kloroksilenol

Para-kloro-meta-ksilenol (PCMX) olarak da bilinen kloroksilenol bir klorofenol bileşimidir (Şekil-5). Birçok kozmetik üründe koruyucu olarak ve antimikrobiyal sabun ve el ovalama preparatlarında aktif madde olarak kullanılmaktadır. Suda yeterli derecede çözünürken, alkali solüsyonlar ve organik çözücülerdeki çözünürlüğü daha yüksektir. Sıklıkla uygun sabun çözeltilerinde terpineol ya da çam terebentini ile birlikte çözündürülür. Antimikrobiyal özelliği bakteriyel enzimleri inaktive etmesi ve hücre duvarı değişikliklerine sebep olması ile ilişkilendirilmiştir (19).



Şekil-5: Kloroksilenolün yapısı.

Gram pozitif bakterilere, gram negatiflerden daha etkilidir. Solüsyonlarına etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) eklenmesi özellikle *Pseudomonas* türlerine ve diğer patojenlere karşı etkisini artırır (53). Sporosidal değildir ve tüberküloz basili, bazı mantarlar ve virüslere karşı ortalama etkinliğe sahiptir (54,55).

Genel olarak yüzeylerdeki bakterilerin süspansiyon içindeki bakterilere göre antimikrobiallere daha dirençli olduğu bilinmektedir. Ancak Bloomfield ve ark. (56), kloroksilenolün yüzeydeki *P aeruginosa*'ya süspansiyondakinden daha etkili olduğunu göstermişlerdir. Das ve ark. (57) *S epidermidis* ve *E coli*'nin yüzeyde ve süspansiyonda kloroksilenolden eşit derecede etkilendiğini raporlamışlardır. Kloroksilenolün antimikrobiyal etkisinin organik materyal varlığından etkilendiği (26) bildirildiği gibi, bu etkinin minimal olduğunu bildiren yayınlar da (19) vardır. Son yıllarda yapılmış, sağlık çalışanlarının kullanımına yönelik kloroksilenol preparatları ile ilgili yayın sayısı çok azdır. Bu çalışmalardan da elde edilen sonuçlar bazen çelişkili olmuştur.

I.7. Heksaklorofen

Bir bisfenol bileşiği olan heksaklorofenin %3'lük solüsyonu 1950'ler ve 1960'ların başında el antiseptisinde ve bakımevleri ve hastanelerde bebeklerin rutin banyosunda sık olarak kullanılmıştır. 1970'lerin başında heksaklorofenle yıkanan bebekler ve rutin olarak heksaklorofenle ellerini yıkayan bakım personelinin kanlarında 0.1-0.6 ppm düzeylerinde heksaklorofen saptanmış ve bazı bebeklerde nörotoksisiteye yol açtığı gösterilmiştir (58,59). Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından hazırlanan Geçici Nihai Monograf (60)'ta antiseptik el yıkama ürünlerinde kullanım için heksaklorofenin genel olarak güvenli ve etkili bir antiseptik olmadığı bildirilmiştir. Heksaklorofen günümüzde dünya çapında yasaklanmıştır.

II. El Antiseptiklerinin Antimikrobiyal Etkililiğinin Test Edilmesi

Sağlık kuruluşlarında yaygın kullanım alanı bulan alkol bazlı el antiseptik ürünlerinin seçimi için DSÖ konsensüs raporunda dikkate alınması önerilen faktörlerden biri ürünün rölatif olarak etkili olmasıdır. Etkililik (efficacy) kavramı el hijyeni formülasyonlarının laboratuvarda ya da in vivo olarak test edilen potansiyel etkisine karşılık gelirken, etkinlik (effectiveness) kavramı saha deneylerinde olduğu gibi bir formülasyonun kullanımının patojenlerin geçişinde azalma, çapraz bulaşma hızlarında düşme gibi parametreler dikkate alınarak klinik koşullarda değerlendirilmesi olarak tanımlanmıştır (1).

Antiseptik ve dezenfektanların değerlendirilmeleri için birçok metod denenmiştir. Bunları test organizmasına göre; bakteri, mikobakteri, spor, fungus, virüslere karşı ve etki mekanizmalarına göre; –sidal ve –statik testler olarak sınıflandırmak mümkündür. Ancak uygun nitelikteki laboratuvarlar tarafından tekrar edilebilir ve karşılaştırılabilir sonuçlara ulaşmak için metodların detaylı olarak tanımlandığı standartlara ihtiyaç duyulmuştur. Amerikan Resmi Analitik Kimyacılar Birliği (AOAC), Alman Hijyen ve Mikrobiyoloji Cemiyeti (DGHM), Fransız Standardizasyon Birliği (AFNOR), Alman Veterinerlik Cemiyeti (DVG) ve İngiliz Standardizasyon Enstitüsü (BSI) gibi çeşitli kuruluşlar dezenfektanların test edilmesine yönelik çeşitli metodlar yayınlamışlardır.

Dezenfektan ve antiseptiklerin test edilmesi sahasında en önemli gelişme 1990'da Avrupa Standardizasyon Komitesi (CEN) tarafından "TC216 Kimyasal Dezenfektanlar ve Antiseptikler" isimli teknik komitenin kurulmasıdır. TC216'nın faaliyet alanı "terminoloji ve gerekliliklerin standardizasyonu, kullanım koşulları altındaki potansiyel etkiyi de içeren test metodları, kimyasal dezenfektan ve antiseptiklerin bütün kullanım alanlarındaki kullanılış ve etiketlenme önerileri." olarak belirtilmiştir. TC216'da dezenfektanların kullanıldığı alanlara göre üç çalışma grubu bulunmaktadır. Grup 1 tıp, grup 2 veterinerlik ve grup 3 yiyecek hijyeni ve evsel ve kurumsal kullanım alanları ile ilgilenmektedir (61). Tıp alanında kullanılan antiseptik ve

dezenfektanların test edilmesine yönelik standart test metotları Tablo-2'de gösterilmiştir.

Dezenfektan ve antiseptik ürünlerin değerlendirilmesinde kullanılan test metodları TC216 tarafından 3 faza ayrılmıştır (62):

Faz 1 testleri bir ürünün kullanım amacına özgü şartlar dikkate alınmaksızın bakterisidal, fungisidal veya sporosidal aktivitesinin değerlendirildiği kantitatif süspansiyon testleridir.

Faz 2 testler iki adım içerir:

Faz 2 adım 1 testleri bir ürünün kullanım amacına uygun pratik şartlar simüle edilerek bakterisidal, fungisidal, mikobakterisidal, sporosidal, veya virüsidal aktivitesinin değerlendirildiği kantitatif süspansiyon testleridir.

Faz 2 adım 2 testleri ise bir ürünün gerçek kullanım şartlarındaki bakterisidal, fungisidal, mikobakterisidal, sporosidal veya virüsidal aktivitesinin değerlendirildiği kantitatif testlerdir. Adım 1'den farklı olarak bunlar süspansiyon testi olmayıp, yüzey ve enstrüman dezenfektanları, el yıkama ve el ovalama ajanları ve benzerlerinin test edildiği yüzeylerin, kontamine nesnelere ya da gönüllülerin ellerinin kullanıldığı laboratuvar testleridir.

Faz 3 testleri ise yukarıda tanımlanan "etkinlik" ile ilişkili saha çalışmalarıdır. Bu tür testler için geçerli bir metodoloji henüz bulunmamaktadır.

Tablo-2: CEN, Tıbbi alan – Standart test metotları (62).

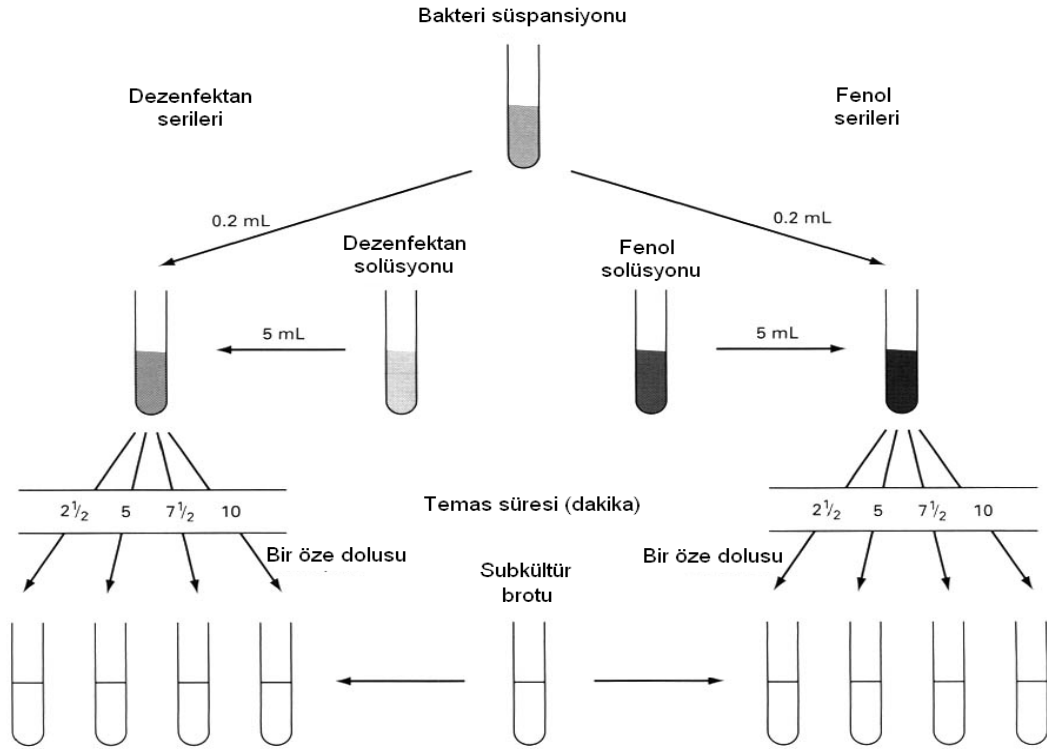
Ürünün tip ve/veya amacı	Faz, adım	Aktivite türü					
		Bakterisidal	Fungisidal	Mikobakterisidal	Virüsidal	Sporisidal	<i>Legionella</i>
Hijyenik el yıkama	2,1	prEN12054	***	***	EN14476	***	
	2,2	EN1499	***	***	***	***	
Hijyenik el ovalama	2,1	prEN12054	***	***	EN14476	***	
	2,2	EN1500	***	***	**	***	
Cerrahi el ovalama ve el yıkama	2,1	prEN12054	***	***	***	***	
Cerrahi el dezenfeksiyonu	2,2	EN12791	***	***	***	***	
Yüzey dezenfeksiyonu	2,1	**	**	EN14348	EN14476	**	
Temiz ve kirli koşullar	2,2	**	**	**	*	**	
Enstrüman dezenfeksiyonu	2,1	EN13727	EN13624	EN14348	EN14476	*	
Temiz ve kirli koşullar	2,2	EN14561	EN14561	prEN14563	*	*	
Su arıtma	2,1	***	***	***	***	***	*

*Çalışma onaylandı. **Henüz onaylanmış çalışma yok, fakat gelecekte ilişkili standartlar ortaya konabilir.

***Bir test geliştirilmesi planlanmıyor.

II.1. İn Vitro Bakterisidal Testler

Süspansiyon testleri belirli hacimdeki bakteri süspansiyonunun test edilecek konsantrasyondaki bir antiseptik içine eklendikten sonra tanımlanmış süreler sonunda karışımdan bir kısım alınarak bakterinin ölüp ölmediğinin belirlenmesi esasına dayanır. Bu testler karışımdan alınan kısımda üreme var ya da yok şeklinde kalitatif olarak değerlendirilebileceği gibi canlı kalan mikroorganizmaların sayısının saptanarak başlangıç bakteri sayısı ile karşılaştırılması yoluyla kantitatif olarak da değerlendirilebilir (61). Kalitatif süspansiyon testlerine örnek olarak dezenfektan aktivitesinin fenol ile karşılaştırıldığı fenol katsayısı testleri verilebilir (Şekil-6).



Şekil-6: Rideal-Walker testi ile fenol katsayısının belirlenmesi (61).

El antiseptiklerinin test edilmesinde kantitatif süspansiyon testleri kullanılmaktadır. Bu testlerde antiseptik maruziyeti sonrası canlı kalan hücrelerin sayılması için iki teknik kullanılmaktadır. Direkt kültür ya da membran filtrasyon tekniği. Direkt kültür tekniğinde test süresi sonunda antiseptik-bakteri karışımından alınan kısım ve/veya dilüsyonları solid besiyerlerine aktarılır. Yayma plak yöntemi ile ekim yapılarak inkübasyon sonrası canlı kalan hücreler sayılır. Başlangıç inokulumundaki bakteri sayısı da uygun dilüsyonlar yapılarak aynı şekilde belirlenir. Yayma plak yerine dökme plak yöntemi de uygulanabilir. Başlangıç ve test süresi sonunda canlı kalan bakteri sayılarının logaritmaları arasındaki fark logaritmik azaltma faktörü veya mikrobisidal ya da germisidal etki olarak tanımlanmaktadır.

Direkt kültür tekniği kullanıldığında belirlenen süre sonunda antiseptik etkiyi durdurmak için uygun nötralizan ya da inaktivatörün kullanılması gerekmektedir. Dilüsyon nötralizasyon yöntemi olarak da bilinen bu yöntemde nötralizasyonun geçerliliğinin ve mikroorganizma üzerinde toksik etkisi olmadığının ayrıca gösterilmesi gerekir. Uygun nötralizanın bulunmadığı durumlarda membran filtrasyon tekniği kullanılabilir. Bu teknikte belirlenen süre sonunda antiseptik-bakteri karışımı bir membrandan filtre edilir ve takiben steril fizyolojik salinle yıkanarak antiseptiğin uzaklaştırılması sağlanır. Membranda kalan bakteriler sayılır. Yöntem duyarlı olmakla birlikte bazı yüzey aktif özellikteki antiseptiklerin uzaklaştırılması problemlili olabilir (61).

Ovalama şeklinde uygulanan el antiseptikleri ve antimikrobiyal el yıkama ürünlerinin değerlendirilmesi için CEN tarafından geliştirilmiş olan kantitatif süspansiyon testi "prEN12054" (Kimyasal dezenfektanlar ve antiseptikler-Tıpta kullanılan hijyenik ve cerrahi el ovalama ve el yıkama ürünlerinin bakterisidal aktivitesinin değerlendirilmesi için kantitatif süspansiyon testi, test metodu ve gereklilikler)'dir (63). Faz 2, adım 1 sınıfında yer alan bu standartta el ovalama ajanları için 1 dakika ve gerekirse 30 saniyelik temas süresi sonunda bakteri sayısında en az 5 log bir azalma olması şart koşulmuştur. Standartta dilüsyon-nötralizasyon ve membran filtrasyon yöntemlerinin prosedürleri ve validasyonları ayrı ayrı

tanımlanmıştır. Test bakterileri *S aureus*, *P aeruginosa*, *E coli* K12 ve *Enterococcus hirae*'nin standart suşlarıdır.

ABD'de el antiseptikleri ile ilgili standart test metotları FDA tarafından hazırlanmakta ve American Society for Testing and Materials (ASTM) standartları olarak isimlendirilmektedir. FDA tarafından yayınlanan Geçici Nihai Monograf'ta (60) el antiseptiklerinin in vitro test edilmesi için zaman-öldürme testi önerilmektedir. prEN12054 metodu ile benzer prensipte olmasına rağmen bu testin temel farkı klinik izolatları da içeren çok sayıda bakteriyel suşun test edilmesidir.

II.2. İn Vivo Bakterisidal Testler

Hijyenik ve cerrahi el antiseptiklerinin test edilmeleri için ayrı in vivo standartlar kullanılmaktadır. Hijyenik el antisepsisinde sağlık çalışanlarının ellerindeki kontaminan bakterilerin uzaklaştırılması hedeflenmektedir ve persistan aktivite önem taşımaz. Cerrahi el antisepsisinde ise kontaminan bakterilere ek olarak kalıcı cilt florasının da mümkün olduğunca azaltılması hedeflenmektedir ve ürünün persistan aktivitesi önem taşımaktadır.

II.2.1. Hijyenik el antiseptiklerine yönelik in vivo standartlar

Hijyenik el yıkama ve el ovalama ürünlerinin değerlendirilmesi için CEN tarafından hazırlanmış olan standartlar sırasıyla; EN1499 (Hijyenik el yıkama-Test metodu ve gereklilikler) ve EN1500 (Hijyenik el ovalama-Test metodu ve gereklilikler)'dir (64,65). Bu standartlar faz 2 adım 2 sınıfında yer alan ve gönüllülerin katılımıyla gerçekleştirilen in vivo testlerdir. EN1499 ve EN1500 standartlarında eldeki kontaminan bakterileri temsilen katılımcıların elleri antiseptik ovalama ya da yıkama maddesinin uygulanmasından önce *E coli* K12 standart suşundan hazırlanan bir süspansiyon ile yapay olarak kontamine edilmektedir. Yapay kontaminasyon sonrası eldeki başlangıç bakteri sayısının belirlenmesi için ilk numuneler alınır. Antiseptik maddenin uygulanmasından sonra elde canlı kalan bakteri sayısının belirlenmesi için son numuneler alınır. Bu standartlarda dilüsyon nötralizasyon metodu kullanılmaktadır.

EN1500 standardı on iki ila on beş gönüllünün katılımıyla gerçekleştirilmektedir. Test edilen ürünün referans antiseptik olan %60 (v/v)

izopropanol ile karşılaştırılması için bütün katılımcılar hem referansı hem de test edilen ürünü denerler. Her bir katılımcıdan referans ve ürün için elde edilen logaritmik azaltma faktörlerinin istatistiksel olarak karşılaştırması yapılır. Katılımcıların sağ ve sol elleri için logaritmik azaltma faktörleri ayrı ayrı hesaplanarak metodun istatistiksel kesinliği arttırılmaktadır. Bir ürünün testi geçebilmesi için etkisinin referanstan anlamlı olarak düşük olmaması gerekmektedir.

Avrupa'da yaygın kullanılan bu standartların yerine ABD'de şu standartlar kullanılmaktadır:

ASTM E1174-13 (Sağlık Personeli El Yıkama Formülasyonlarının Etkliliğini Değerlendirmek İçin Standart Test Metodu),

ASTM E2755-10 (El Arındırıcı [sanitizer] Formülasyonların Bakteri Giderici Etkisinin Erişkinlerin Elleri Kullanılarak Belirlenmesi İçin Standart Test Metodu),

ASTM E2276-10 (Hijyenik El Yıkama ve El Ovalama Ajanlarının Bakteri Giderici Etkisinin Erişkinlerin Parmak Uçları Kullanılarak Belirlenmesi İçin Standart Test Metodu).

El yıkama ajanlarının test edildiği E1174 ve el ovalama ajanlarının test edildiği E2755 standartlarında da EN1500 standardında olduğu gibi ellerin yapay olarak bakteriyel kontaminasyonunu takiben test edilen materyalin uygulanması sonrasında ellerde canlı kalan bakteri sayısının tespiti yapılmakta ve uygulama öncesi değerle karşılaştırılmaktadır. Bu iki standardın EN1500'ten temel farkı logaritmik azaltma faktörü değerlerinin birinci kontaminasyon-antiseptik uygulama siklusundan sonra ve aynı siklus tekrar edilerek onuncu siklustan sonra da belirlenmesidir. Onuncu siklustan sonra elde edilen logaritmik azaltma faktörü test edilen ürünün tekrarlayan kullanımı sonucu oluşacak etkiyi göstermektedir. Bu iki standartta test edilen ürünler bir referans ürünle karşılaştırılmazlar, birinci ve onuncu siklusun sonunda elde edilen logaritmik azaltma faktörlerinin belirlenen değerin altına inmemesi şartı aranmaktadır. E2755'te E1174'ten farklı olarak ellerin kontaminasyonu için uygulanan bakteri süspansiyonunun yoğunluğu arttırılarak hacmi azaltılmıştır. Böylece kontamine edilen ellerin antiseptik el

ovalama ajanı uygulanmadan önce hemen kuruması ve ajanın dilüsyonuna neden olmaması hedeflenmiştir. E2276 metodunda el ovalama ve el yıkama ajanlarının test edilmesi için ellerin bütünü değil sadece parmak uçları kullanılmaktadır. Bakteri süspansiyonu küçük hacimlerde parmak uçlarının pulpa kısmının ortasına pipetle uygulanmaktadır. Çok daha küçük ve belirli bir alanın kontamine edilmesi teste katılan gönüllüler açısından daha az risk taşımaktadır.

II.2.2. Cerrahi El Antiseptiklerine Yönelik İn Vivo Standartlar

Cerrahi el ovalama ve el yıkama ajanlarının test edilmesinde ellerdeki kontaminan bakteriler ve geçici floranın ortadan kaldırılmasına ilaveten kalıcı floranın da makul düzeyde azaltılması gerekmektedir. Cerrahi ajanların test edildiği standartlarda bu nedenle eller yapay olarak kontamine edilmeyip mevcut cilt florasında ajanların uygulanması sonrası ne kadar azalma olduğu değerlendirilmektedir. CEN cerrahi öncesi uygulanan ovalama antiseptiklerinin test edilmesi için EN12791 (Cerrahi el dezenfeksiyonu-test metodu ve gereklilikler) standardını önermektedir (32). Bu standartta test edilen ürün ile belirlenen sürede (en fazla 5 dakika) elde edilen bakterisidal etki, referans süspansiyon olan %60'lık izopropanol ile 3 dakikada elde edilen bakterisidal etkiden anlamlı derecede daha yüksek olmalıdır. Kalıcı floradaki azalma esas alındığı için, referans ve ürünün testleri arasında katılımcıların ellerindeki kalıcı floranın normal düzeye gelmesi için bir hafta beklenir. Standartta opsiyonel olarak 3 saat sonraki persistan aktivite de gösterilebilmektedir. Cerrahi amaçlı fırçalama şeklinde kullanılan ürünlerin test edilmesi için FDA tarafından ASTM E1115 standardı hazırlanmıştır. Ürünün kalıcı flora üzerindeki ani ve persistan aktivitesi değerlendirilmektedir.

El antiseptiklerinin bakterisidal etkileri dışında fungusidal ve virüsidal etkilerinin değerlendirilmesine yönelik standartlar da mevcuttur. Bu standartların özeti Tablo-3'te sunulmuştur.

Tablo-3: El antiseptiklerinin virüsidal ve fungusidal etkilerini değerlendirmeye yönelik standartlar.

Metot	Test Organizması	Temel Prosedür
ASTM E1838 Virüsler için parmak ucu metodu	Adenovirus, rotavirus, rhinovirus ve hepatit A virüsü	10 mikrolitre virüs süspansiyonu her bir parmak ucuna uygulanır. İnokulum kuruduktan sonra 10-30 saniye süre ile 1ml test formülasyonu ya da kontrol uygulanır. Takiben parmak uçlarından canlı virüs sayısının tespiti için numune alınır. Başlangıç virüs titresini, inokulumun kuruması sırasındaki kayıp ve virüsün mekanik uzaklaştırılmasını değerlendirmek için kontroller uygulanır. Metod el ovalama ve el yıkama ürünlerinin değerlendirilmesi için uygundur.
ASTM E2011 Virüsler için "bütün el" metodu	Rotavirus ve rhinovirus	Bu metod, gerektiğinde parmak ucu metodunun (E1838) doğrulanması için tasarlanmıştır. Her iki el virüslerle kontamine edilir ve takiben test formülasyonu uygulanır (el yıkama ya da el ovalama ürünü). Her iki elin bütün yüzeyinden alınan numunede canlı virüs sayısı tespit edilir.
ASTM E2613 Mantarlar için parmak ucu metodu	<i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i>	ASTM E1838'e benzer
EN14476 Virüsler için kantitatif süspansiyon testi	Adenovirus tip 5, Poliovirus tip 1	Ürün süspansiyonu, virüs süspansiyonuna eklenir. İstenen reaksiyon süresi sonunda karışımdan bir kısım alınarak virüsidal aktivitesi nötralize edilerek canlı virüs sayısı tespit edilir. El ovalama ve el yıkama ürünlerinin yanı sıra yüzey ve enstrüman dezenfektanlarının test edilmesi için de uygulanan in vitro bir testtir.

Hijyenik el ovalama ürünlerinin değerlendirilmesine yönelik CEN tarafından hazırlanan bir standart olan EN1500, Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından da aynen kabul edilerek 2001 yılında yürürlüğe konmuştur.

Araştırmalarımızda EN1500 standardı ile ilgili Türkiye’de yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır. Ülkemizde, sağlık kuruluşlarına antiseptik alımı sırasında ihale teknik şartnamelerinde sunulması istenmesine rağmen yukarıda söz edilen standardı test eden merkez bulunmamaktadır.

Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarında, EN1500 standardının önerdiği testlerin, piyasadan temin edilen beş adet antiseptik ürün ve DSÖ tarafından önerilen el ovalama formülasyonu II ile uygulanarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Ürünler öncelikle prEN12054 standardı ile in vitro olarak test edildikten sonra EN1500 standardı ile değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 26 Mart 2013 tarih ve 2013-6/5 sayılı karar ile izin alınmıştır. Çalışmaya katılan gönüllüler laboratuvar personelimiz arasından seçilmiştir. Gönüllülere çalışma hakkında bilgi verilerek, çalışmaya katılmayı kabul edenlerin bilgilendirilmiş gönüllü olur formlarını doldurmaları ve onaylamaları istenmiştir.

I. Kullanılan Bakteriler

prEN12054 metodunda *Escherichia coli* K12 NCTC 10538, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus hirae* ATCC 10541 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032 suşları kullanılmıştır. EN1500 metodunda ise sadece *E coli* K12 NCTC 10538 kullanılmıştır:

II. Test Edilen Antiseptikler

Çalışmamızda piyasadan temin edilen beş adet antiseptik ürün ve DSÖ kılavuzu tarafından önerilmiş olan formülasyon-II (DSÖ-II) test edilmiştir. Piyasadan temin edilen ürünler çalışmamızda markalarından bağımsız, içeriklerine özgü olarak A, B, C, D ve E harfleri ile ifade edilmiştir. Formülasyon-II DSÖ kılavuzunda belirtildiği şekilde laboratuvarda hazırlanmıştır. Test edilen antiseptik ürünlerin içerdiği aktif maddeler Tablo-4'te gösterilmiştir.

Formülasyon-II'nin hazırlanışı: 1000 ml hacimli cam balon içerisine 715,5 ml %99,5 izopropil alkol (Merck, Almanya), 41,7 ml %3 H₂O₂ (Bikar, Türkiye) ve 14,5 ml %99,8 gliserol (Prolabo, Fransa) eklendikten sonra distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlandı. Karıştırıldıktan sonra 1000 ml hacimli ışık geçirmez özellikte kapaklı bir cam şişeye aktarıldı.

EN1500 standardında tanımlanan referans solüsyonun hazırlanışı: Cam bir balona, 600 ml izopropil alkol eklendikten sonra distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlandı. Karıştırıldıktan sonra 1000 ml hacimli ışık geçirmeyen kapaklı bir cam şişeye aktarıldı.

Tablo-4: Test edilen antiseptik ürünlerin içerdiği aktif maddeler.

Antiseptikler	Aktif maddeler
A*	%70 2-propanol.
B	%60 (m/m) 2-propanol, %0,15 (m/m) benzalkonyum klorür, %0,1 (m/m) Undesilenik asit.
DSÖ-II	%75 (v/v) 2-propanol, %0,125 (v/v) Hidrojen Peroksit (%3).
C	%70 (v/v) 2-propanol.
D	%70 (v/v) etil alkol, %10 (v/v) 2-propanol.
E	%63,14 (m/m) 2-propanol.

m/m: Ağırlıkça yüzde, v/v: Hacimce yüzde.
* : Hacim ya da ağırlık yüzdesi belirtilmemiştir.

III. Kullanılan Cihazlar

Derin dondurucu -20°C (Bosch, Almanya)

Etüv (Nüve EN 120, Türkiye)

Otoklav (Nüve OT 4060 V, Türkiye)

Nefelometre cihazı (BD PhoenixSpec, ABD)

Elektronik tartı (Shimadzu AUW220 D, Japonya)

Medikal su arıtma cihazı (RentRO 2000, Kros, Türkiye)
Manyetik karıştırıcı (Boeco MSH 200, Almanya)
Kronometre (Casio, Japonya)

IV. Kullanılan Nötralizan ve Besiyerleri

Tripton soy broth (TSB) besiyerinin hazırlanışı: 15 g Tripton (Oxoid, İngiltere), 5 g bakteriyolojik pepton (Oxoid, İngiltere), 5 g NaCl (Merck, Almanya) bir balona konduktan sonra distile su ile 1000 ml'ye tamamlanarak karıştırıldı. 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. EN1500 standardında tanımlanan kontaminasyon sıvısının hazırlanmasında kullanıldı. İlk değer numunelerini elde etmek için kullanılacak steril plastik petri kutuları içine 10'ar ml ve ilk değer numunelerinin dilüsyonlarını hazırlamak için 1,5 ml'lik ependorf tüpleri içine 900'er µl dağıtıldı.

Tripton soy agar (TSA) besiyerinin hazırlanışı: 15 g Tripton, 5 g bakteriyolojik pepton, 5 g NaCl ve 15 g bakteriyolojik agar (Oxoid, İngiltere) distile su ile 1000 ml'ye tamamlanarak karıştırıldı. Otoklavda sterilize edildi. Besiyeri 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra 9 cm çapında steril plastik petri kutularına 15'er ml hacimde dağıtıldı. Çalışmada kullanılan bütün bakteri suşlarının üretilmesi için kullanıldı. prEN12054 standardında yapılan koloni sayım ekimlerinde kullanmak üzere 15 cm çapındaki petri kutularına 40'ar ml olacak şekilde dağıtıldı.

Sodyum deoksikolatlı tripton soy agar besiyerinin hazırlanışı:

Tripton soya agar karışımının litresine 0,5 g sodyum deoksilat (AppliChem, Almanya) eklenerek otoklavlandı. 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petri kutularına 15'er ml döküldü. EN1500 standardında tanımlandığı şekilde elde edilen ilk değer ve son değer numunelerinin dilüsyonlarından yapılan koloni sayım ekimlerinde kullanıldı.

Dilüentin hazırlanması: 1 g tripton, 8,5 g NaCl ve 1000 ml distile su karıştırılarak otoklavda sterilize edildi. prEN12054 standardında kullanıldı.

Nötralizanlı tripton soy broth (NTSB)'un hazırlanması: Nötralizan olarak yumurta sarısı ve tween 80 (Merck, Almanya) kullanıldı. Çatlağı olmayan 3-4 adet taze yumurta, deterjanla yıkandıktan ve durulandıktan sonra %90 izopropil alkol içeren bir kap içerisine konarak iki saat bekletildi. Steril eldiven giyilerek kaptan çıkarılan yumurtalar bek alevi yakınında birkaç dakika bekletilerek alkolün uçması sağlandı. Steriliteye dikkat ederek kırılan yumurtaların sarısı ayrılıp 100 ml hacimli steril polipropilen bir kaba konuldu. Kısa bir süre karıştırılan yumurta sarısı, steril tel süzgeçten geçirilerek ikinci bir steril kaba aktarıldı. Böylece zarından ayrılmış yumurta sarısı elde edildi.

Kırk gram Tween 80, 15 g tripton, 5 g bakteriyolojik pepton ve 5 g NaCl, distile su ile 950 ml'ye tamamlandı. Karışım otoklavda sterilize edildikten sonra manyetik karıştırıcı ile yaklaşık bir saat karıştırılarak şeffaf ve homojen bir görünüm alması sağlandı. Sıcaklığı yaklaşık 50°C'ye düşünce karışımın içine önceden hazırlanmış olan steril yumurta sarısından 50 ml ilave edilerek manyetik karıştırıcıda bir saat kadar daha karıştırıldı. Elde edilen NTSB'den steril bir cam tüpe 10 ml kadar alınarak sterilite kontrolü için etüve kaldırıldı. Etüvde 24 saat bekletilen numuneden tripton soy agar plaklarına pasajlar yapılarak üreme açısından kontrol edildi. Hazırlanan NTSB steril olduğu doğrulandıktan sonra EN1500 standardında kullanılabilir.

Çalışmada NTSB, son değer numunelerinin elde edileceği steril plastik petri kutuları içine 10'ar ml ve son değer numunelerinin dilüsyonlarını hazırlamak için 1,5 ml'lik ependorf tüpleri içine 900'er µl dağıtıldı.

Nötralizanlı Dilüent (ND)'in hazırlanışı: 40 g Tween 80, 1 g Tripton, 8,5 g NaCl distile su ile 950 ml'ye tamamlandı. Karıştırıldıktan sonra otoklavlanarak sterilize edildi. Sıcaklığı yaklaşık 50°C'ye düşünce karışımın içine önceden hazırlanmış olan steril yumurta sarısından 50 ml ilave edilerek manyetik karıştırıcıda bir saat kadar karıştırıldı. Sterilite kontrolü yapıldıktan sonra prEN12054 standardında kullanıldı.

V. Diğer Malzemeler

Burgulu, kapaklı steril tüp (15 ml) (Becton Dickinson, ABD)
Ependorf tüpü (1.5 ml) (AHN Biotechnologie GmbH, Almanya)
Mikropipet (100, 1000 µL) (Gilson, Amerika Birleşik Devletleri)
Steril petri kutusu (90 mm çapında) (Fıratmed, Türkiye)
Steril petri kutusu (150 mm çapında) (LP Italiana SPA, İtalya)
Steril 100 ml'lik polipropilen idrar kabı (Fıratmed, Türkiye)
Cam balonlar (1000 ve 2000 ml hacminde) (İsolab, Almanya)
Steril Drigalski spatülleri (İsolab, Almanya)

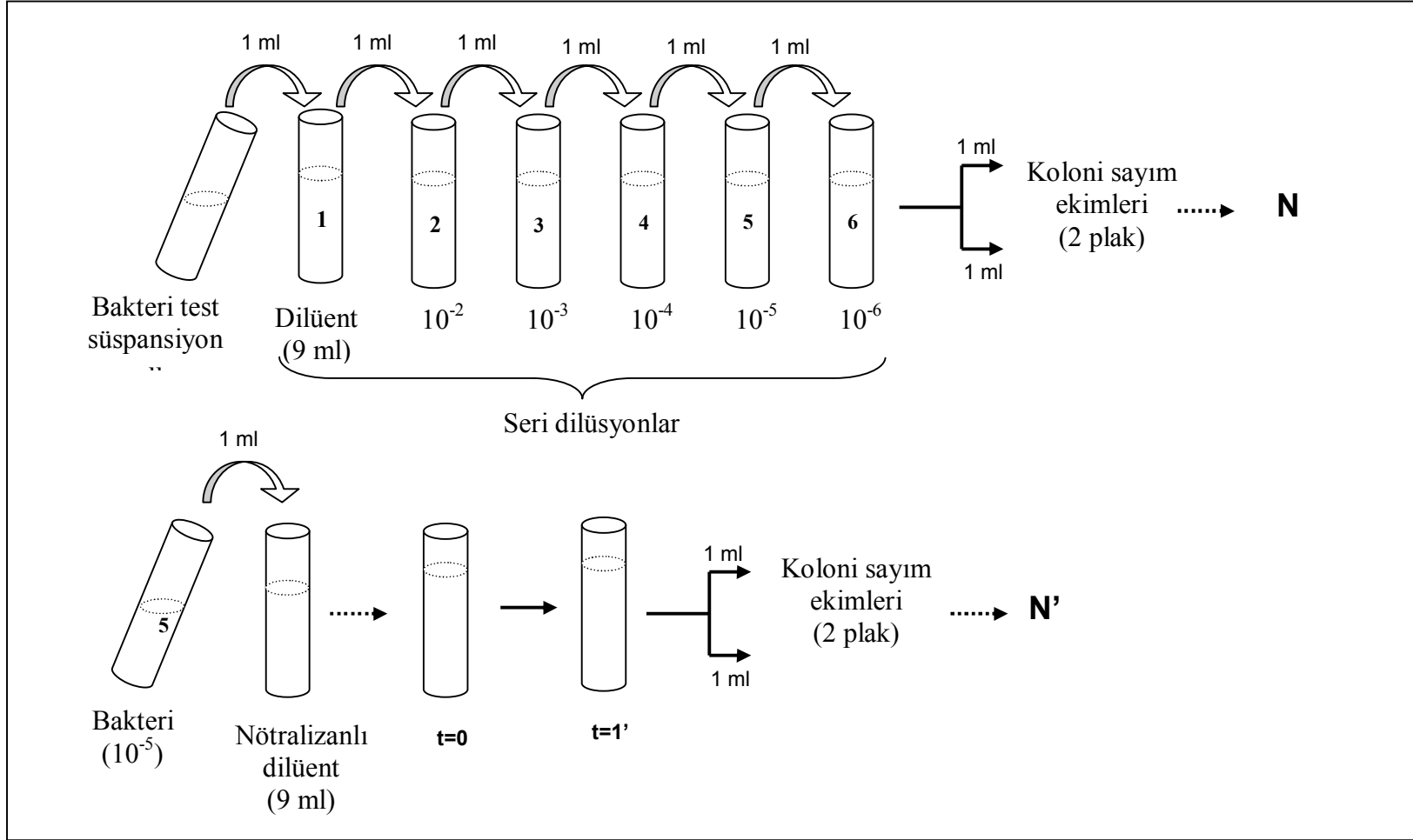
VI. Antiseptiklerin prEN12054 Standardı ile Test Edilmesi

Bütün antiseptikler EN1500 standardı ile test edilmeden önce prEN12054 standardı ile test edilmişlerdir.

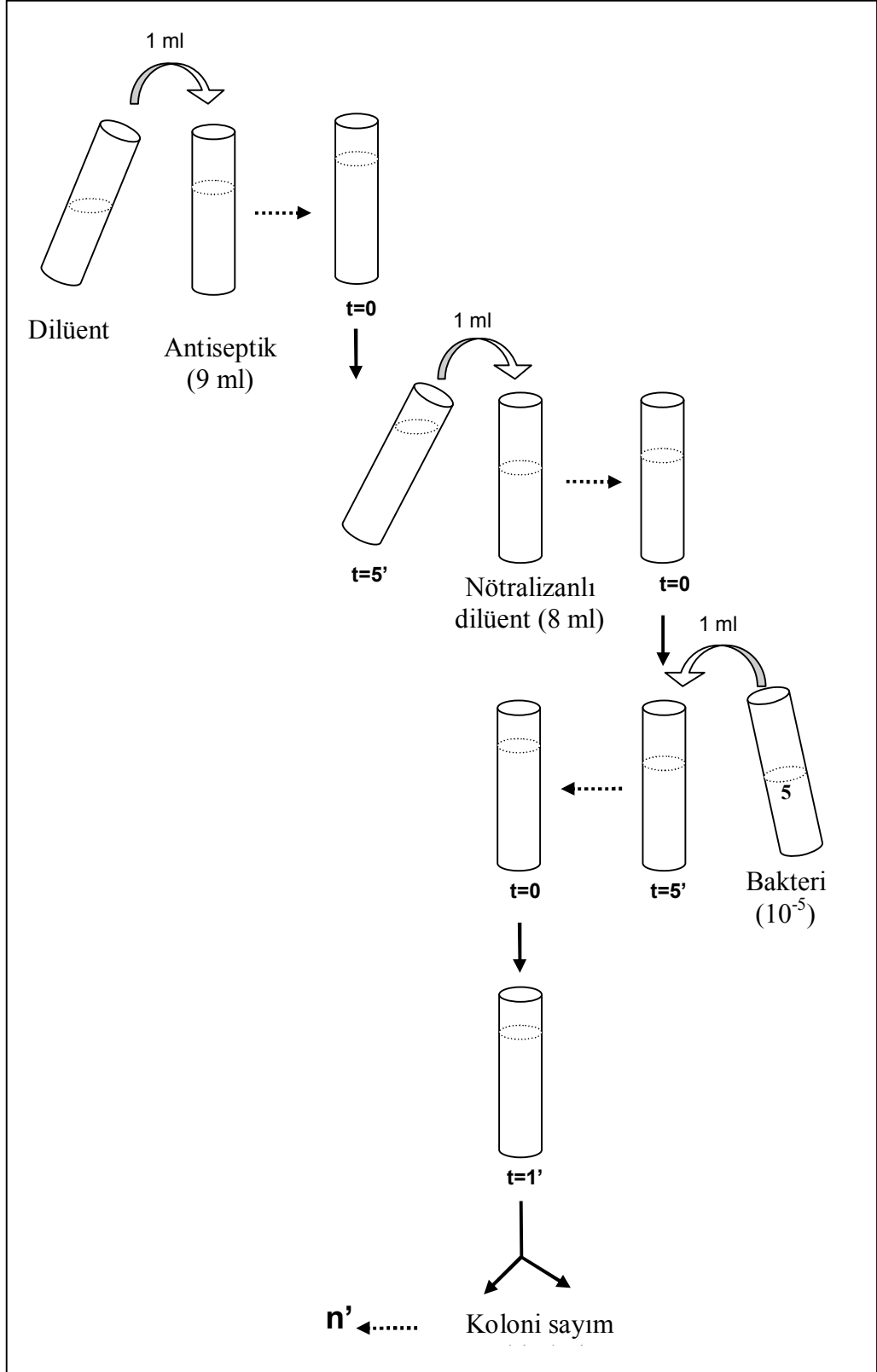
VI.1. Dilüsyon-Nötralizasyon Metodunun Validasyonu

Steril tüpler içinde dilüent kullanılarak bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Vorteksle karıştırıldıktan sonra nefelometre ile bakteri yoğunlukları 0,5 - 0,7 McFarland olacak şekilde ayarlanmıştır. Elde edilen bakteri test süspansiyonlarının, 9'ar ml dilüent içeren steril tüplerde 10^{-6} 'ya kadar dilüsyonları hazırlanmıştır. (Şekil-6). 10^{-6} dilüsyonundan 15 cm çaplı iki adet tripton soya agar (TSA) besiyerine birer ml aktarılarak drigalski spatülleri kullanılıp yayma plak yöntemi ile koloni sayım ekimleri yapılmıştır. Plaklar 24-48 saat 37°C 'de inkübe edildikten sonra koloni sayımları yapıp ortalamaları alınarak koloni oluşturan birim (kob) cinsinden **N değeri** hesaplanmıştır.

9 ml steril nötralizanlı dilüentin içine test edilen bakterinin 10^{-5} dilüsyonundan 1 ml ilave edilerek kronometre başlatılmış ve birkaç saniye vortekslenmiştir. Bir dakikanın dolmasına yakın tekrar vortekslenmiş ve süre sonunda iki adet TSA besiyerine birer ml aktarılmıştır. Yayma plak yöntemi



Şekil-6: prEN12054 standardı, dilüsyon-nötralizasyon metodu validasyonu (N ve N' değerlerinin elde edilmesi).



Şekil-7: prEN12054 standardı, dilüsyon nötralizasyon metodu validasyonu (n' değerinin elde edilmesi).

ile koloni sayım ekimleri yapılan plaklar 24-48 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra koloni sayımları yapıp ortalaması alınarak **N' değeri** (kob) hesaplanmıştır.

Steril bir tüp içindeki 9 ml test antiseptiğinin üzerine 1 ml dilüent ilave edilerek beş dakika bekletilmiştir (Şekil-7). Sürenin hemen başında ve bitimine yakın birkaç saniye vorteksle karıştırılmıştır. Sürenin sonunda karışımdan 1 ml alınarak 8 ml nötralizanlı dilüent içeren tüpe aktarılmış ve beş dakika daha bekletilmiştir. Sürenin hemen başında ve bitimine yakın birkaç saniye vorteksle karıştırılmıştır. Süre sonunda karışımın içine test edilen bakterinin 10^{-5} dilüsyonundan 1 ml ilave edilerek bir dakika bekletilmiştir. Aynı şekilde sürenin başında ve sonuna doğru vortekle karıştırılmıştır. Bir dakikalık sürenin sonunda karışımdan birer ml alınarak iki adet TSA besiyerine aktarılmış ve yayma plak yöntemi ile koloni sayım ekimleri yapılmıştır. Plaklar 24-48 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra koloni sayımları yapıp ortalaması alınarak **n' değeri** (kob) hesaplanmıştır.

Elde edilmiş olan N değeri bakteri test süspansiyonu kontrolü, N' değeri nötralizan kontrolü, n' değeri ise dilüsyon nötralizasyon testi kontrolüdür. N' değeri kullanılan nötralizanın bakteri üzerinde toksik etkisi olup olmadığını, n' değeri ise dilüsyon nötralizasyonun antiseptiği etkili bir şekilde nötralize edip etmediğini göstermektedir. Dilüsyon nötralizasyon metodunun geçerli olabilmesi için aşağıdaki şartların sağlanması gerekmektedir:

a) N ve N' değerlerinin hesaplanacağı plaklardaki koloni sayısı 300'den çok olmamalıdır.

b) N ve N' değerleri 100 ile 300 kob arasında olmalıdır.

c) N' değeri N/2'den küçük olmamalıdır ($N' \geq N / 2$).

d) n' değeri N'/2'den küçük olmamalıdır ($n' \geq N' / 2$).

VI.2. Antiseptiklerin prEN12054 Standardı ile Test Edilmesi

Steril bir tüp içindeki 9 ml test antiseptiğinin üzerine 1 ml bakteri test süspansiyonu eklenmiştir (Şekil-8). Hemen kronometre başlatılarak 30 saniye süre tutulmuştur. Sürenin hemen başında ve sonuna doğru karışım birkaç

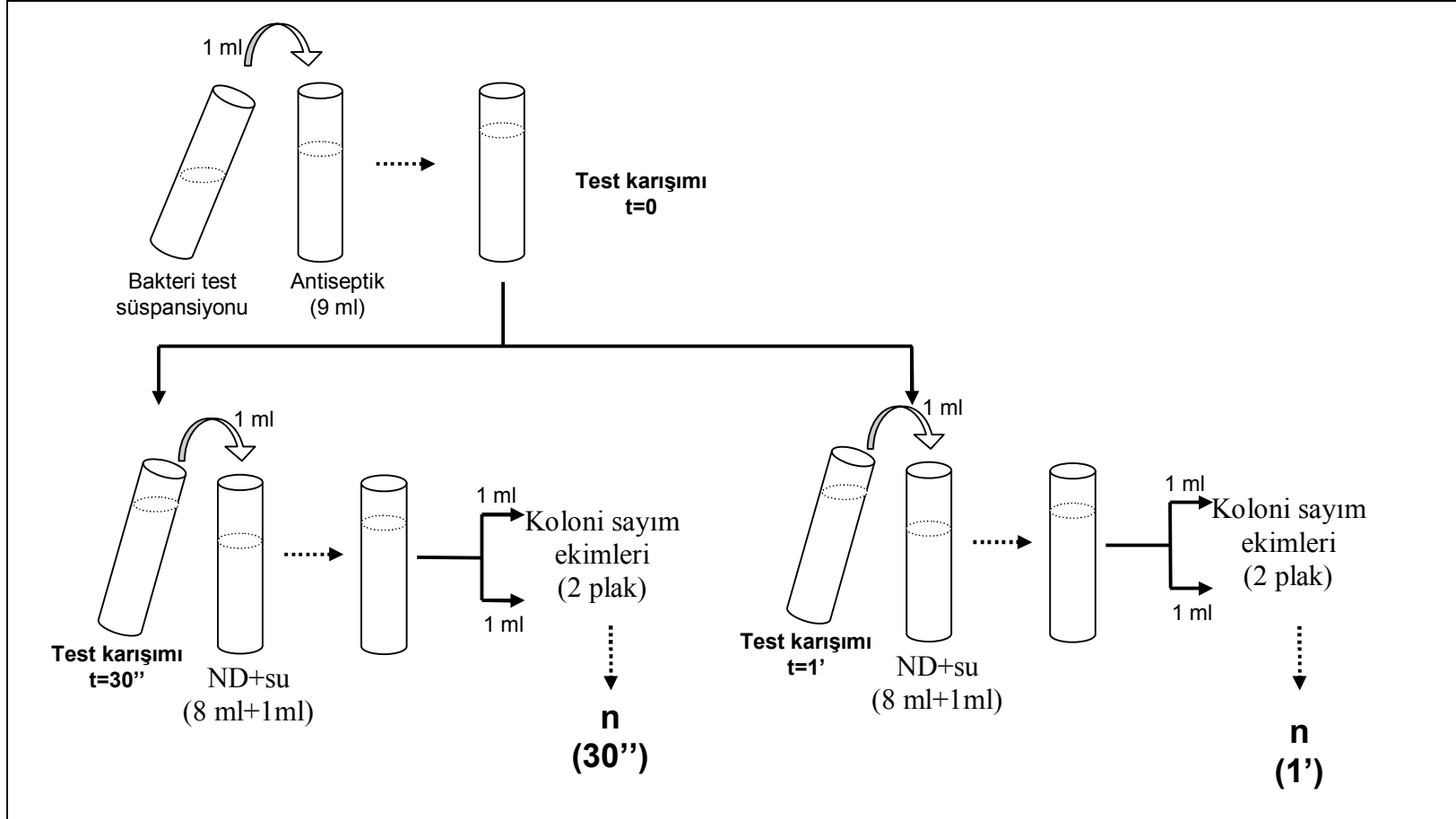
saniye vorteksle karıştırılmıştır. Bir dakika sonunda ($t=1'$), 1 ml karışım 8 ml nötralizanlı dilüent ve 1 ml steril distile su içeren steril bir tüpün içine aktarılmıştır. Karıştırıldıktan sonra birer ml alınarak iki adet TSA besiyerine aktarılıp koloni sayım ekimleri yapılmıştır. Plaklar inkübe edildikten sonra koloni sayımları yapıp ortalaması alınarak **1 dakika için n değeri** hesaplanmıştır.

Yukarıdaki prosedür 30 saniyelik süre için ($t=30''$) ayrıca uygulanarak **30 saniye için n değeri** hesaplanmıştır. n değeri test edilen antiseptiğin test edilen bakteri üzerindeki antibakteriyel etkisini yansıtmaktadır.

Test edilen antiseptik başlangıç bakteri yoğunluğu olan ($t=0$) 1×10^7 - 3×10^7 kob/ml değerini 1 dakika sonunda ($t=1'$) en çok 3×10^2 kob/ml olacak şekilde azaltmalıdır. Bu azalma logaritmik olarak ifade edilirse başlangıç bakteri sayısı 1×10^7 kob/ml için 4,52 log; 3×10^7 kob/ml için 5 log'a karşılık gelir. Bu şart 4 standart bakteri suşu için de sağlanmalıdır. Bu şartı sağlayan hijyenik el ovalama antiseptikleri bir dakikalık sürede prEN12054 standardını karşılamış kabul edilirler. Üretici firma ürünü için 30 saniyelik uygulamanın yeterli olduğunu belirtmişse prosedür 30 saniye için de tekrar edilir. Bu durumda ürünün aynı şartları 30 saniyede sağlaması gerekmektedir.

Test ettiğimiz ürünlerde 30 saniyelik kullanım önerildiği için test prosedürü 30 saniye için de tekrar edilmiştir.

Test edilen A, B, C, D, E ve DSÖ-II antiseptiklerinin her biri 4 standart bakteri suşu ile yukarıda tanımlandığı şekilde ayrı ayrı test edilerek N, N', n ve n' değerleri elde edilmiştir.



ND: Nötralizanlı dilüent

Şekil-8: prEN12054 standardı, test metodu.

VII. Antiseptiklerin EN1500 Standardı ile Test Edilmesi

Antiseptikler EN1500 standardında on beş gönüllünün katılımıyla test edilmiştir.

VII.1. Deney Düzeni

6 adet antiseptik ürün iki farklı uygulama şekli için toplam 4 deney setinde test edilmiştir. Uygulama şekillerinden biri 3 ml antiseptiğin, 30 saniyelik el ovalama süresi ile uygulanması (3 ml x 30 saniye x 1), diğeri ise 3 ml antiseptiğin 30 saniye ovalama süresi ile uygulandıktan sonra aynı işlemin bir kez daha tekrar edilmesidir (3 ml x 30 saniye x 2). Her bir set ayrı bir günde yapılmış ve her bir sette bütün gönüllülere 3 adet antiseptik iki uygulama şeklinden biri ile uygulanmıştır. Bütün setlere aynı gönüllüler katılmış ve her sette test edilen antiseptiklerle birlikte referans solüsyon da uygulanmıştır. Referans solüsyon olan %60 (v/v) izopropil alkol bütün setlerde standartta tanımlandığı gibi (3 ml x 30 saniye x 2) şeklinde uygulanmıştır. Setlerde test edilen antiseptikler ve uygulama şekilleri aşağıda gösterilmiştir:

Set 1: A, B ve DSÖ-II; (3 ml x 30 saniye x 1)

Set 2: A, B ve DSÖ-II; (3 ml x 30 saniye x 2)

Set 3: C, D, E; (3 ml x 30 saniye x 1)

Set 4: C, D, E; (3 ml x 30 saniye x 2)

Her bir sette bütün gönüllülerin 3 adet antiseptiği ve referans solüsyonu (R) kullandıkları bir Latin kare dizaynı uygulanmıştır. Bunun için gönüllüler 4 gruba ayrılmışlardır (4+4+4+3 kişi). Böylece her bir set dört deney yapılarak tamamlanmıştır. Set 1'de uygulanan Latin kare dizaynı Tablo-5'de gösterilmiştir.

Tablo-5: Set 1 çalışmasında uygulanan Latin kare dizaynı.

	Deney 1 →	Deney 2 →	Deney 3 →	Deney 4
Grup 1	A	B	C	R
Grup 2	B	C	R	A
Grup 3	C	R	A	B
Grup 4	R	A	B	C

VII.2. Kontaminasyon Sıvısının Hazırlanması:

2 litre steril tripton soy broth (TSB) içeren bir cam balona *E coli* K 12 NCTC 10538 standart suşundan hazırlanan 5 ml'lik bakteri süspansiyonu ilave edilerek bir gece 37°C'de inkübe edilmiştir. Ertesi gün bakteri yoğunluğu nefelometrik olarak 1 MacFarland olacak şekilde ayarlanmıştır. Elde edilen kontaminasyon sıvısı birer litrelik iki behere eşit olarak bölüştürülmüştür. Bir deney setinde bütün gönüllüler aynı kontaminasyon sıvısını kullandılar.

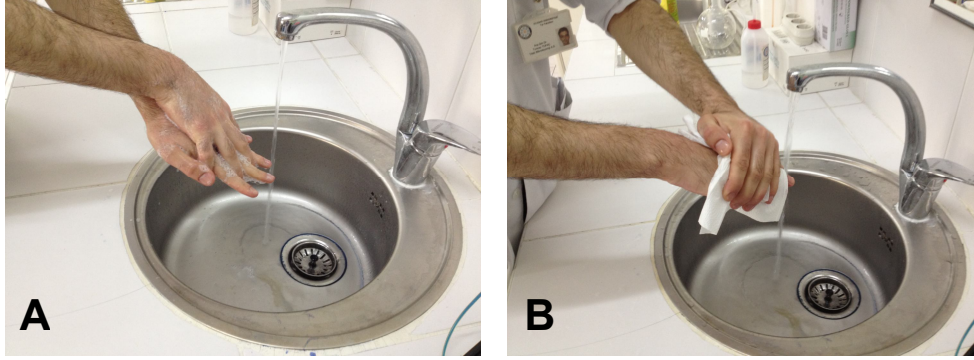
VII.3. EN1500 Test Metodunun Aşamaları

İzlenen aşamalar sırasıyla;

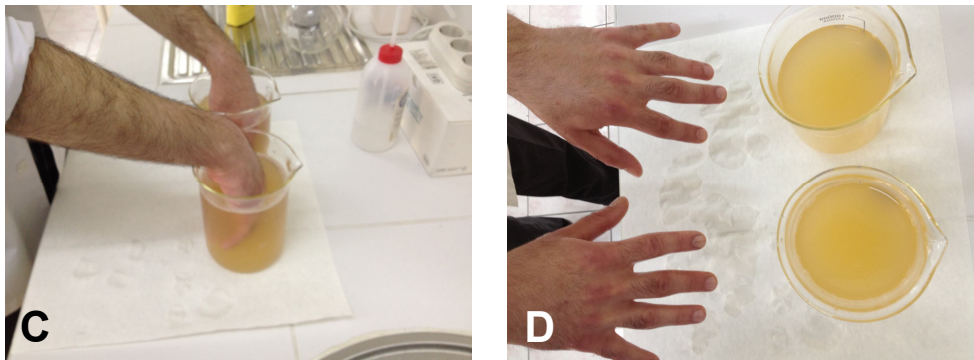
1. Gönüllüler ellerini basit sıvı sabunla 1 dakika boyunca yıkarlar. Böylece ellerdeki geçici flora uzaklaştırılır (şekil-9 A).
2. Kağıt havlu ile kurulamayı takiben, ellerini 5 saniye süreyle kontaminasyon sıvısına midmetakarpal seviyeye kadar daldırırlar (şekil-9 B, C).
3. Kontaminasyon sıvısından çıkarılan eller parmaklar aralık olacak şekilde 3 dakika boyunca havada kurutulur (şekil-9 D).
4. Gönüllüler, içerisinde 10 ml TSB bulunan 9 cm çapındaki steril petri kutularının içine parmak uçlarını daldırarak 1 dakika boyunca ovuşturma hareketi yaparlar. Böylece yapay olarak kontamine edilmiş olan ellerdeki bakteri yoğunluğunu yansıtan ilk değerlerin hesaplanacağı ilk değer numuneleri elde edilmiş olur. Sağ ve sol eller için ayrı petri kutuları kullanılır (şekil-9 E).
5. Takiben gönüllülerin ellerine test edilecek antiseptik ürün (ya da referans solüsyon) uygulanır (şekil-9 F). Ovalama işleme standartta tanımlanan şekilde yapılır (şekil-9 G-L).

6. Uygulama sonrası eller 5 saniye süre ile akan musluk suyu altından geçirilir (Şekil-9 M). Böylece ellerdeki antiseptik uzaklaştırılmaya çalışılır.

7. Takiben gönüllüler ellerini içerisinde 10'ar ml nötralizanlı tripton soya brot (NTSB) içeren petri kutularına daldırarak 1 dakika boyunca parmak uçları ile ovuşturma hareketi yaparlar (Şekil-9 N). Bu aşamada kullanılan nötralizan eldeki antiseptik kalıntılarının etkisini durdurmak için kullanılmaktadır. Böylece antiseptik uygulanması sonrası elde kalan bakterilerin sayısının (son değer) hesaplanmasında kullanılacak son değer numuneleri elde edilmiş olur. Sağ ve sol eller için ayrı petri kutuları kullanılır.



Eller yumuşak sabunla 1 dakika süreyle yıkanır ve kağıt havlu ile kurulanır (A), (B).



Eller kontaminasyon sıvısına 5 saniye süreyle midmetakarpal seviyeye kadar daldırılır (C). Havada 3 dakika süreyle kurutulur (D).

Şekil-9: EN1500 test metodunda uygulanan işlemler.



İlk değer numunelerinin elde edilmesi için 10 ml TSB bulunan petri kutularının içinde parmak uçları ile ovuşturma hareketi yapılır (E). 3 ml antiseptik ürün (ya da referans solüsyon) uygulanır (F).



Standart el ovalama prosedürüne göre avuçların ovalanması (G), sağ el sırtı üzerine sol avuç yerleştirilmiş, parmaklar iç içe geçmiş pozisyonda ovalama ve tam tersi (H).

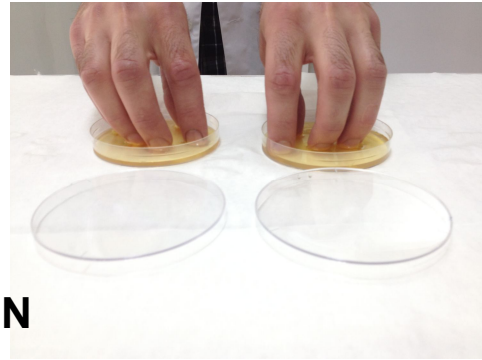


Avuçlar ve iç içe geçmiş olan parmakların ovalanması (I), parmak arkalarının avuç içine sürtünecek şekilde ovalanması (J).

Şekil-9 (devamı): EN1500 test metodunda uygulanan işlemler.



Sağ avuç içinde kavranmış olan sol başparmağın döndürülerek ovuşturulması ve tam tersi (K). Sağ elin parmak uçlarının sol avuç içine bastırılarak döndürme ve ileri geri hareketlerle ovuşturulması ve tam tersi (L).



Antiseptiğin uzaklaştırılması için eller 5 saniye süreyle akan musluk suyu altından geçirilir (M). Son değer numunelerinin elde edilmesi için 10 ml NTSB bulunan petri kutularının içinde parmak uçları ile ovuşturma hareketi yapılır (N).

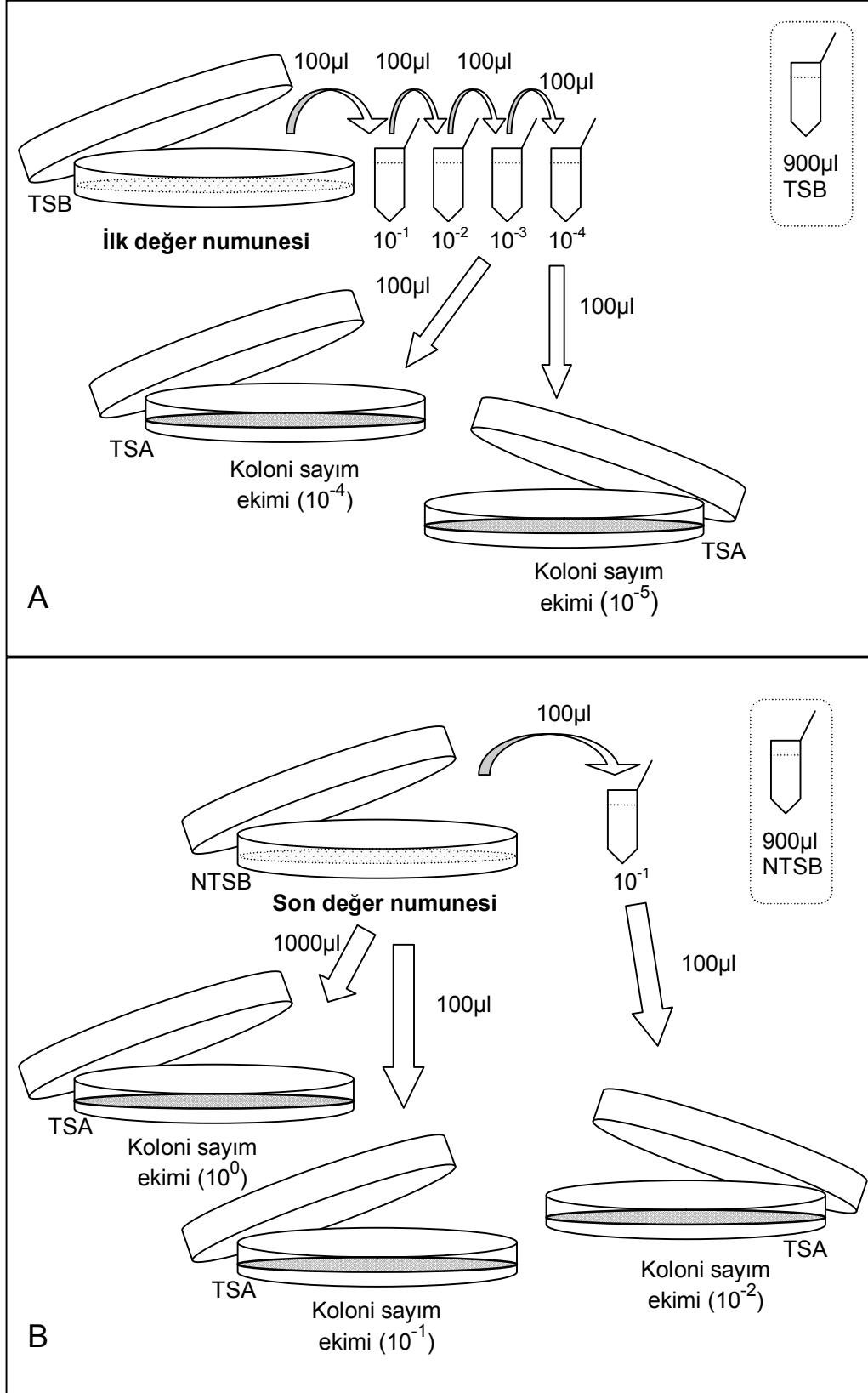
Şekil-9 (devamı): EN1500 test metodunda uygulanan işlemler.

VII.4. İlk Değer ve Son Değerlerin Elde Edilmesi

Elde edilen ilk değer numunelerinin 900'ar µl TSB içeren steril ependorf tüplerinde 10^{-4} 'e kadar dilüsyonları hazırlandı (Şekil-10 A). 10^{-3} ve 10^{-4} dilüsyonlarından 100'er µl TSA plaklarına aktarılarak koloni sayım ekimleri yapıldı. Aktarılan miktar 100 µl olduğu için TSA plakları 10^{-4} ve 10^{-5} dilüsyonlarına karşılık gelmektedir.

Son değer numunelerinin 900 µl NTSB içeren steril ependorf tüpünde 10^{-1} dilüsyonu hazırlandı (Şekil-10 B). Dilüe edilmemiŐ olan son değer numunesinden 1000 µl ve 100 µl; 10^{-1} dilüsyonundan ise 100 µl TSA plaklarına aktarılıp koloni sayım ekimleri yapıldı. Böylece TSA plaklarındaki nihai dilüsyonlar sırasıyla 10^0 , 10^{-1} ve 10^{-2} olmaktadır.

Yukarıda bahsedilen dilüsyon ve ekim işlemleri her bir gönüllünün sağ ve sol elinden ayrı ayrı elde edilen ilk değer ve son değer numuneleri için tekrar edilmiştir. Plaklar nihai dilüsyonlar dikkate alınarak etiketlenip 37°C'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra koloniler sayılmıŐtır.



TSB: Tripton soy broth, NTSB: Nötralizanlı tripton soy broth, TSA: Tripton soy agar

Şekil-10: Elde edilen ilk değer (A) ve son değer (B) numunelerinin dilüsyonlarının hazırlanması ve koloni sayım ekimlerinin yapılması.

VII.5. Logaritmik Azaltma Faktörünün Hesaplanması (log AF)

log AF antiseptiğin etki gücünün bir göstergesidir. Bir deney setinde her bir gönüllünün test edilen üç antiseptik ve referans solüsyon için log AF'leri hesaplanmaktadır. Log AF'nin hesaplanma şekli aşağıda sunulmuştur:

$$\log AF = \log x - \log y$$

$$\log x = \frac{\log_{10}(\text{sağ el ilk değer}) + \log_{10}(\text{sol el ilk değer})}{2}$$

$$\log y = \frac{\log_{10}(\text{sağ el son değer}) + \log_{10}(\text{sol el son değer})}{2}$$

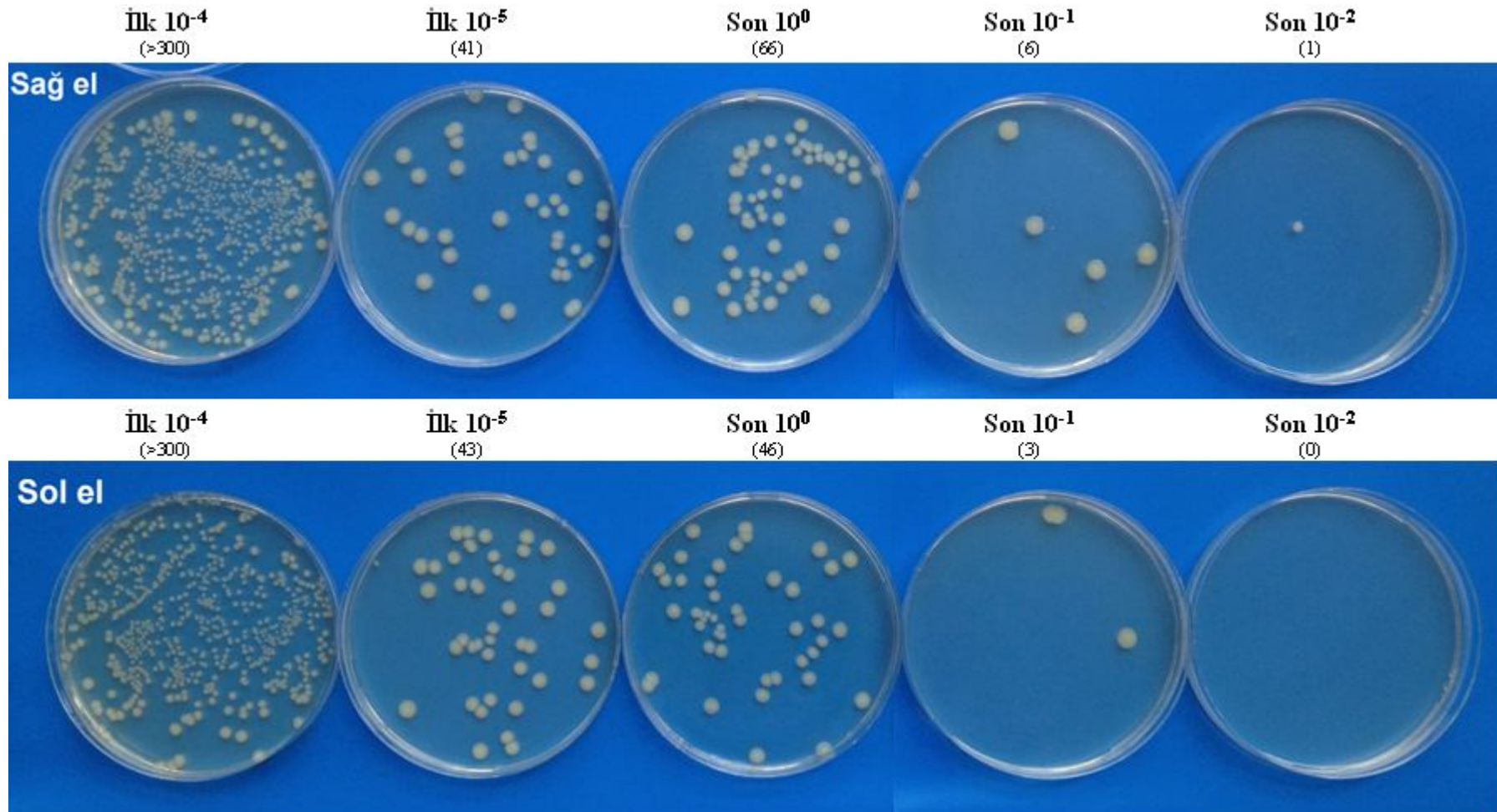
Koloni sayımları yapıldıktan sonra ilk değerlerin elde edilmesi için 10^{-4} ve 10^{-5} plaklarından; son değerlerin elde edilmesi için 10^0 , 10^{-1} ve 10^{-2} plaklarından koloni sayısı 15 ile 300 arasında olan plaklar esas alınır. Antiseptiğin etkisine bağlı olarak son değer plaklarında 15 ve üzerinde koloni bulunan plak yoksa, mevcutlar içinde en çok koloni olan plak esas alınır. Ardışık dilüsyonlarda koloni sayısı 15-300 arasında olan iki plak mevcutsa bunların ağırlıklı aritmetik ortalaması alınmıştır. Ağırlıklı aritmetik ortalamayı hesaplamak için kullanılan formül aşağıdaki gibidir:

$$\text{Ağırlıklı aritmetik ortalama} = T / 1,1 \times k$$

T: İki plaktaki toplam koloni sayısı

k: Ardışık iki dilüsyon içinde daha konsantre olanın oranı.

Şekil-11'de örnek olarak Set 2 çalışmasında 15. kişinin A antiseptiği için sağ ve sol elinden elde edilen ilk değer ve son değer plakları gösterilmiştir. 15 ile 300 arası koloni bulunan sağ ilk 10^{-5} , sağ son 10^0 , sol ilk 10^{-5} ve sol son 10^0 plakları hesaplamalarda kullanılan plaklardır (Sırasıyla: 41, 66, 43 ve 46 kob).



Şekil-11: Set 2 çalışmasında A antiseptiği için 15. kişinin sağ ve sol elinden elde edilen dilüsyonların ekimleri.

Bu değerler aşağıdaki gibi hesaplanarak log AF değeri bulunur.

$$\log x = \frac{\log_{10}(41 / 10^{-5}) + \log_{10}(43 / 10^{-5})}{2} = 6,62$$

$$\log y = \frac{\log_{10}(66 / 10^0) + \log_{10}(46 / 10^0)}{2} = 1,74$$

$$\log AF = 6,62 - 1,74 = 4,88$$

VII.6. EN1500 Standardının İstatistiksel Analizi:

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 20 paket programında yapılmıştır. Her bir deney setinde test edilen antiseptik ürünlerden elde edilen ve referans solüsyondan elde edilen bireysel log AF değerlerinin karşılaştırılması için Wilcoxon testi kullanılmıştır.

BULGULAR

I. prEN12054 Standart Test Metodu Sonuçları

I.1. Dilüsyon Nötralizasyon Metodunun Validasyonu

DSÖ-II formülasyonu için dört standart bakteri ile elde edilen N, N' ve n' değerleri Tablo-6'da gösterilmiştir. Bütün N ve N' değerleri 100-300 kob aralığındadır. Her bir bakteri için elde edilen N' değerleri, N değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu bulgu nötralizanın bakteriler üzerinde toksik etkisi olmadığını göstermektedir. Bütün n' değerleri N' değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu da seçilen nötralizanın DSÖ-II formülasyonu için uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo-6: DSÖ-II formülasyonu için validasyon sonuçları.

Test Bakterisi	Plak başına koloni sayısı (ortalama kob)		
	Bakteri test süspansiyonu	Nötralizasyon validasyonu	
		Kontrol	Test
<i>Staphylococcus aureus</i>	212,233 (N=222,5)	192, 206 (N'=199)	143, 163 (n'=153)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	249,232 (N=240,5)	271,235 (N'=253)	156,178 (n'=167)
<i>Escherichia coli</i>	177,160 (N=168,5)	159,166 (N'=162,5)	83, 112 (n'=97,5)
<i>Enterococcus hirae</i>	148,152 (N=150)	140,158 (N'=149)	151, 130 (n'=140,5)

A antiseptiği için dört standart bakteri ile elde edilen N, N' ve n' değerleri Tablo-7'de gösterilmiştir. Bütün N ve N' değerleri 100-300 kob

aralığındadır. Her bir bakteri için elde edilen N' değerleri, N değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu bulgu nötralizanın bakteriler üzerinde toksik etkisi olmadığını göstermektedir. Bütün n' değerleri N' değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu da seçilen nötralizanın A antiseptiği için uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo-7: A antiseptiği için validasyon sonuçları.

Test Bakterisi	Plak başına koloni sayısı (ortalama kob)		
	Bakteri test süspansiyonu	Nötralizasyon validasyonu	
		Kontrol	Test
<i>Staphylococcus aureus</i>	212,233 (N=222,5)	192, 206 (N'=199)	214, 206 (n'=210)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	148,185 (N=166,5)	154,162 (N'=158)	98,91 (n'=94,5)
<i>Escherichia coli</i>	177,160 (N=168,5)	159,166 (N'=162,5)	177, 150 (n'=163,5)
<i>Enterococcus hirae</i>	148,152 (N=150)	140,158 (N'=149)	151, 130 (n'=140,5)

B antiseptiği için dört standart bakteri ile elde edilen N, N' ve n' değerleri Tablo-8'de gösterilmiştir. Bütün N ve N' değerleri 100-300 kob aralığındadır. Her bir bakteri için elde edilen N' değerleri, N değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu bulgu nötralizanın bakteriler üzerinde toksik etkisi olmadığını göstermektedir. Bütün n' değerleri N' değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu da seçilen nötralizanın B antiseptiği için uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo-8: B antiseptiği için validasyon sonuçları.

Test Bakterisi	Plak başına koloni sayısı (ortalama kob)		
	Bakteri test süspansiyonu	Nötralizasyon validasyonu	
		Kontrol	Test
<i>Staphylococcus aureus</i>	212,233 (N=222,5)	192, 206 (N'=199)	208, 204 (n'=206)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	290,247 (N=268,5)	279,282 (N'=280,5)	139,158 (n'=148,5)
<i>Escherichia coli</i>	177,160 (N=168,5)	159,166 (N'=162,5)	132, 163 (n'=147,5)
<i>Enterococcus hirae</i>	148,152 (N=150)	140,158 (N'=149)	148, 124 (n'=136)

C antiseptiği için dört standart bakteri ile elde edilen N, N' ve n' değerleri Tablo-9'da gösterilmiştir. Bütün N ve N' değerleri 100-300 kob aralığındadır. Her bir bakteri için elde edilen N' değerleri, N değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu bulgu nötralizanın bakteriler üzerinde toksik etkisi olmadığını göstermektedir. Bütün n' değerleri N' değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu da seçilen nötralizanın C antiseptiği için uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo-9: C antiseptiği için validasyon sonuçları.

Test Bakterisi	Plak başına koloni sayısı (ortalama kob)		
	Bakteri test süspansiyonu	Nötralizasyon validasyonu	
		Kontrol	Test
<i>Staphylococcus aureus</i>	205,189 (N=197)	174, 181 (N'=177,5)	184, 166 (n'=175)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	290,247 (N=268,5)	279,282 (N'=280,5)	239,213 (n'=226)
<i>Escherichia coli</i>	161,171 (N=166)	159,166 (N'=162,5)	132, 163 (n'=147,5)
<i>Enterococcus hirae</i>	184,209 (N=196,5)	157,173 (N'=165)	171, 157 (n'=164)

D antiseptiği için dört standart bakteri ile elde edilen N, N' ve n' değerleri Tablo-10'da gösterilmiştir. Bütün N ve N' değerleri 100-300 kob aralığındadır. Her bir bakteri için elde edilen N' değerleri, N değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu bulgu nötralizanın bakteriler üzerinde toksik etkisi olmadığını göstermektedir. Bütün n' değerleri N' değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu da seçilen nötralizanın D antiseptiği için uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo-10: D antiseptiği için validasyon sonuçları.

Test Bakterisi	Plak başına koloni sayısı (ortalama kob)		
	Bakteri test süspansiyonu	Nötralizasyon validasyonu	
		Kontrol	Test
<i>Staphylococcus aureus</i>	205,189 (N=197)	174, 181 (N'=177,5)	172, 163 (n'=167,5)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	148,185 (166,5)	154, 162 (N'=158)	146,132 (n'=139)
<i>Escherichia coli</i>	178,168 (N=173)	143,166 (N'=154,5)	148, 166 (n'=157)
<i>Enterococcus hirae</i>	184,209 (N=196,5)	157,173 (N'=165)	176, 160 (n'=168)

E antiseptiği için dört standart bakteri ile elde edilen N, N' ve n' değerleri Tablo-11'de gösterilmiştir. Bütün N ve N' değerleri 100-300 kob aralığındadır. Her bir bakteri için elde edilen N' değerleri, N değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu bulgu nötralizanın bakteriler üzerinde toksik etkisi olmadığını göstermektedir. Bütün n' değerleri N' değerlerinin yarısından daha büyüktür. Bu da seçilen nötralizanın E antiseptiği için uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo-11: E antiseptiği için validasyon sonuçları.

Test Bakterisi	Plak başına koloni sayısı (ortalama kob)		
	Bakteri test süspansiyonu	Nötralizasyon validasyonu	
		Kontrol	Test
<i>Staphylococcus aureus</i>	205,189 (N=197)	174, 181 (N'=177,5)	187, 159 (n'=173)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	290,247 (268,5)	279, 282 (N'=280,5)	186,200 (n'=193)
<i>Escherichia coli</i>	179,194 (N=186,5)	171, 197 (N'=184)	203, 180 (n'=191,5)
<i>Enterococcus hirae</i>	184,209 (N=196,5)	157,173 (N'=165)	183, 166 (n'=174,5)

Yapılan bütün validasyon deneylerinde seçilen nötralizanın bakteriler üzerinde toksik etkisi olmadığı ve bütün antiseptikleri yeterli şekilde nötralize ettiği görülmüştür.

I.2. Test Sonuçları

Altı antiseptik ürünün prEN12054 standardı ile 1 dakikalık temas süresi için test sonuçları Tablo-12'de sunulmuştur. Aynı bakteri test süspansiyonları ile 30 saniye temas süresi için aynı basamaklar tekrar edilmiştir. Sonuçlar 1 dakikalık temas süresi ile tamamen aynı olduğu için ayrı bir tablo şeklinde gösterilmemiştir. 30 saniye ve 1 dakikalık temas süreleri için bütün antiseptikler bakteri sayısında 6 log'un üzerinde bir azalmaya neden olmuşlar ve standardın gereğini sağlamışlardır.

Tablo-12: Antiseptik ürünlerin prEN12054 standardına göre 1 dakika* için değerlendirme sonuçları.

Test Bakterisi	DSÖ-II formülasyonu				A antiseptiği				B antiseptiği			
	t=1' Plak başına koloni sayıları	kob/ml (test karışımı)		log AF	t=1' Plak başına koloni sayıları	kob/ml (test karışımı)		log AF	t=1' Plak başına koloni sayıları	kob/ml (test karışımı)		log AF
		t=0 (N)	t=1' (n)			t=0 (N)	t=1' (n)			t=0 (N)	t=1' (n)	
<i>S aureus</i>	0, 0	2,22x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,35	0, 0	2,22x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,35	0, 0	2,22x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,35
<i>P aeruginosa</i>	0, 0	2,40x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,38	0, 0	1,66x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,22	0, 0	2,68x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,43
<i>E coli</i>	0, 0	1,68x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,22	0, 0	1,68x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,23	0, 0	1,68x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,23
<i>E hirae</i>	0, 0	1,5x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,18	0, 0	1,5x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,18	0, 0	1,5x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,18
Test Bakterisi	C antiseptiği				D antiseptiği				E antiseptiği			
	t=1' Plak başına koloni sayıları	kob/ml (test karışımı)		log AF	t=1' Plak başına koloni sayıları	kob/ml (test karışımı)		log AF	t=1' Plak başına koloni sayıları	kob/ml (test karışımı)		log AF
		t=0 (N)	t=1' (n)			t=0 (N)	t=1' (n)			t=0 (N)	t=1' (n)	
<i>S aureus</i>	0, 0	1,97 x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,29	0, 0	1,97x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,29	0, 0	1,97x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,29
<i>P aeruginosa</i>	0, 0	2,68x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,43	0, 0	1,66x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,22	0, 0	2,68x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,43
<i>E coli</i>	0, 0	1,66x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,22	0, 0	1,73x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,24	0, 0	1,86x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,27
<i>E hirae</i>	0, 0	1,96x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,29	0, 0	1,96x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,29	0, 0	1,96x10 ⁷	<1x10 ¹	>6,29

*30 saniye için elde edilen değerler tamamen aynı olduğu için ayrıca sunulmamıştır.

II. EN1500 Standart Test Metodu Sonuçları

II.1. Koloni Sayım Sonuçları

II.1.1 Set 1 Çalışması Sonuçları

Set 1 çalışmasında A,B antiseptikleri ve DSÖ-II formülasyonu 30 saniye el ovalama süresi için test edilmişlerdir. Referans solüsyon standartta belirtildiği gibi 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulanmıştır. Elde edilen koloni sayıları Tablo-13, 14, 15 ve 16'da gösterilmiştir.

A antiseptiği testinde onuncu kişinin sağ el ve sol el son değerleri; dördüncü ve 14. kişinin sağ el son değerleri ile beşinci kişinin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-13).

B antiseptiği testinde dördüncü, onuncu, 11. ve 15. kişilerin sağ el ve sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-14).

DSÖ-II testinde dördüncü, altıncı ve onuncu kişilerin sağ el ve sol el son değerleri ile sekizinci, dokuzuncu ve 12. kişilerin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-15).

Referans solüsyon testinde üçüncü ve yedinci kişilerin sağ el ve sol el son değerleri; birinci, ikinci, onuncu ve 11. kişilerin sol el son değerleri ile 14. kişinin sağ el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-16).

Tablo-13: Set 1, A ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik : A
Uygulama : 3 ml x 30 saniye x 1
Süspansiyon : 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	34	>300	>300	67	>300	46	>300	>300	40
2	>300	84	>300	>300	49	>300	105	>300	>300	58
3	>300	85	>300	>300	78	>300	92	>300	>300	118
4	>300	129	>300	139	11	>300	88	>300	174*	15*
5	>300	143	>300	249*	28*	>300	151	>300	>300	51
6	>300	123	>300	>300	104	>300	110	>300	>300	42
7	>300	106	>300	>300	44	>300	72	>300	>300	109
8	>300	88	>300	>300	78	>300	92	>300	>300	132
9	>300	77	>300	>300	51	>300	111	>300	>300	165
10	>300	82	>300	201*	28*	>300	82	>300	255*	21*
11	>300	97	>300	>300	85	>300	105	>300	>300	93
12	>300	103	>300	>300	44	>300	124	>300	>300	109
13	>300	76	>300	63	9	>300	85	>300	30	6
14	>300	55	>300	50	2	>300	57	>300	168*	16*
15	>300	93	>300	105	9	>300	63	>300	75	8

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-14: Set 1, B ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik : B
Uygulama : 3 ml x 30 saniye x 1
Süspansiyon : 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	91	>300	>300	45	>300	91	>300	>300	45
2	>300	82	>300	>300	126	>300	82	>300	>300	126
3	>300	81	>300	>300	102	>300	81	>300	>300	102
4	>300	95	>300	229*	31*	>300	95	>300	229*	31*
5	>300	112	>300	>300	64	>300	112	>300	>300	64
6	>300	107	>300	>300	42	>300	107	>300	>300	42
7	>300	84	>300	>300	55	>300	84	>300	>300	55
8	>300	112	>300	>300	62	>300	112	>300	>300	62
9	>300	76	>300	>300	59	>300	76	>300	>300	59
10	>300	144	>300	279*	45*	>300	144	>300	279*	45*
11	>300	114	>300	272*	39*	>300	114	>300	272*	39*
12	>300	124	>300	>300	51	>300	124	>300	>300	51
13	>300	65	9	0	0	>300	65	9	0	0
14	>300	69	96	8	1	>300	69	96	8	1
15	>300	42	273*	24*	5	>300	42	273*	24*	5

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-15: Set 1, DSÖ-II formülasyonu için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik : DSÖ-II
Uygulama : 3 ml x 30 saniye x 1
Süspansiyon : 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	123	>300	>300	52	>300	105	>300	>300	110
2	>300	114	>300	>300	57	>300	116	>300	>300	53
3	>300	149	>300	>300	34	>300	106	>300	>300	64
4	>300	160	>300	163*	17*	>300	135	>300	184*	19*
5	>300	197	>300	155	11	>300	171	>300	135	12
6	>300	112	>300	198*	22*	>300	120	>300	143*	16*
7	>300	66	>300	>300	42	>300	86	>300	>300	65
8	>300	95	>300	218*	29*	>300	67	>300	>300	103
9	>300	118	>300	284*	27*	>300	112	>300	>300	33
10	>300	109	>300	246*	18*	>300	100	>300	261*	39*
11	>300	118	>300	61	8	>300	60	>300	83	5
12	>300	124	>300	237*	21*	>300	75	>300	>300	32
13	>300	39	>300	>300	64	>300	62	>300	65	7
14	>300	65	>300	49	6	>300	61	>300	77	7
15	>300	61	>300	90	10	>300	49	>300	53	2

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-16: Set 1, referans solüsyon için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik : Referans solüsyon
Uygulama : 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon : 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	94	>300	265*	32*	>300	130	>300	>300	55
2	>300	108	>300	204*	20*	>300	114	>300	>300	44
3	>300	124	>300	207*	22*	>300	94	>300	237*	27*
4	>300	171	>300	40	3	>300	165	>300	66	2
5	>300	148	>300	79	9	>300	158	>300	42	2
6	>300	139	>300	138	11	>300	143	>300	142	13
7	>300	45	175*	22*	4	>300	57	171*	19*	4
8	>300	91	>300	46	7	>300	117	>300	121	11
9	>300	108	>300	59	5	>300	80	>300	65	6
10	>300	116	245*	22*	3	>300	72	>300	58	7
11	>300	70	175*	19*	4	>300	101	>300	59	4
12	>300	95	>300	78	9	>300	122	>300	133	10
13	>300	57	125	13	1	>300	45	95	9	0
14	>300	51	10	0	0	>300	47	266*	31*	3
15	>300	86	79	5	1	>300	80	>300	35	5

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

II.1.2. Set 2 Çalışması Sonuçları

Set 2 çalışmasında A,B antiseptikleri ve DSÖ-II formülasyonu 3 ml, 30 saniye, x 2 kez uygulaması için test edilmiştir. Referans solüsyon standartta belirtildiği gibi 3 ml, 30 saniye, x 2 kez şeklinde uygulanmıştır. Elde edilen koloni sayıları Tablo-17, 18, 19 ve 20'de sunulmuştur.

A antiseptiği testinde birinci, ikinci, dördüncü, beşinci, yedinci ve onuncu kişilerin sağ el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-17).

B antiseptiği testinde 11. kişinin sağ el ilk değeri; üçüncü, altıncı ve 14. kişilerin sağ el ve sol el son değerleri; birinci, ikinci, sekizinci ve 15. kişilerin sağ el son değerleri ile yedinci ve 11. kişilerin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-18).

DSÖ-II formülasyonu testinde altıncı kişinin sol el ilk değeri; üçüncü ve dokuzuncu kişilerin sağ el ve sol el son değerleri; dördüncü, beşinci, sekizinci ve 11. kişilerin sağ el son değerleri ile birinci, yedinci ve onuncu kişilerin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-19).

Referans solüsyon testinde üçüncü, sekizinci, 12. ve 13. kişilerin sağ el son değerleri ile birinci, altıncı ve dokuzuncu kişilerin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-20).

Tablo-17: Set 2, A ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: A
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	81	88	7	1	>300	61	151*	16*	2
2	>300	103	>300	61	7	>300	95	>300	107*	16*
3	>300	95	199	14	1	>300	78	>300	36	3
4	>300	63	68	6	0	>300	89	232*	17*	2
5	>300	137	187	12	2	>300	116	>300	273*	29*
6	>300	95	>300	36	2	>300	101	>300	>300	33
7	>300	102	>300	43	3	>300	94	>300	225*	28*
8	>300	173	>300	116	10	>300	127	>300	>300	70
9	>300	139	>300	27	2	>300	118	>300	185	9
10	>300	137	>300	90	7	>300	96	>300	210*	20*
11	>300	145	21	1	0	>300	129	>300	63	5
12	>300	104	110	9	0	>300	129	>300	98	8
13	>300	78	19	2	0	>300	89	63	6	1
14	>300	98	>300	49	4	>300	97	>300	81	12
15	>300	43	46	3	0	>300	41	66	6	1

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-18: Set 2, B ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: B
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	151	>300	43	4	>300	114	295*	27*	2
2	>300	102	>300	65	7	>300	107	>300	118*	19*
3	>300	75	247*	27*	2	>300	68	286*	33*	3
4	>300	85	209	11	2	>300	90	>300	41	6
5	>300	80	>300	52	6	>300	51	>300	48	6
6	>300	91	269*	34*	2	>300	117	>300	175*	15*
7	>300	108	>300	131*	15*	>300	97	>300	>300	27
8	>300	123	>300	39	0	>300	114	>300	157*	15*
9	>300	104	>301	36	3	>300	161	>300	153	14
10	>300	126	>300	46	1	>300	111	>300	81	8
11	>300	81	181*	16*	0	250*	34*	85	7	2
12	>300	116	>300	36	2	>300	121	91	8	1
13	>300	41	>300	33	1	>300	85	>300	68	7
14	>300	87	240*	28*	3	>300	106	291*	38*	2
15	>300	67	115	13	1	>300	98	244*	26*	1

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-19: Set 2, DSÖ-II formülasyonu için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: DSÖ-II
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	130	160*	15*	2	>300	126	>300	83	13
2	>300	137	92	9	2	>300	118	>300	39	2
3	>300	139	139*	15*	1	>300	114	263*	24*	3
4	>300	109	85	7	0	>300	108	192*	22*	1
5	>300	78	61	6	1	>300	103	147*	15*	0
6	252*	23*	31	3	0	>300	45	75	7	2
7	>300	66	205*	26*	2	>300	94	>300	>300	39
8	>300	118	>300	29	3	>300	84	>300	148*	19*
9	>300	117	148*	17*	1	>300	123	>300	193*	21*
10	>300	118	254*	21*	2	>300	81	>300	115	8
11	>300	113	41	3	0	>300	157	118*	15*	0
12	>300	44	75	6	0	>300	54	69	12	0
13	>300	57	21	3	0	>300	43	10	0	0
14	>300	87	13	1	0	>300	69	88	7	2
15	>300	55	19	2	1	>300	69	82	10	1

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-20: Set 2, referans solüsyon için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: Referans solüsyon
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	138	292*	33*	4	>300	126	>300	56	9
2	>300	93	>300	51	5	>300	75	>300	94	14
3	>300	155	>300	73	6	>300	137	>300	167*	18*
4	>300	93	58	6	1	>300	93	>300	37	8
5	>300	33	>300	48	5	>300	49	>300	117	9
6	>300	24	>300	92*	15*	>300	31	>300	65	5
7	>300	115	>300	155	13	>300	103	>300	178	3
8	>300	124	>300	171	13	>300	119	>300	213*	27*
9	>300	122	287*	29*	6	>300	114	>300	109	9
10	>300	118	>300	106	12	>300	121	>300	>300	59
11	>300	48	112	11	1	>300	55	>300	51	5
12	>300	95	132	10	2	>300	129	289*	41*	4
13	>300	78	53	5	0	>300	101	229*	21*	1
14	>300	64	>300	56	2	>300	143	>300	84	10
15	>300	61	46	9	1	>300	61	59	4	0

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

II.1.3. Set 3 Çalışması Sonuçları

Set 3 çalışmasında C,D ve E antiseptikleri 30 saniye el ovalama süresi için test edilmişlerdir. Referans solüsyon standartta belirtildiği gibi 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulanmıştır. Elde edilen koloni sayıları Tablo-21, 22, 23 ve 24'te gösterilmiştir.

C antiseptiği testinde ikinci kişinin sağ el ve sol el son değerleri; üçüncü ve 11. kişilerin sağ el son değerleri; dördüncü, beşinci ve 12. kişilerin sol el son değerleri ile beşinci kişinin sağ el ve altıncı kişinin sol el ilk değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-21).

D antiseptiği testinde ikinci kişinin sağ el son değeri ile dördüncü, beşinci ve yedinci kişilerin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-22).

E antiseptiği testinde dördüncü kişinin sağ ve sol el son değerleri; 11. kişinin sağ el son değeri ile ikinci, üçüncü, beşinci, sekizinci, 12. ve 13. kişilerin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-23).

Referans solüsyon testinde onuncu kişinin sağ el ve sol el son değerleri; birinci, sekizinci ve dokuzuncu ve 15. kişilerin sağ el son değerleri ile ikinci, beşinci, altıncı ve 14. kişilerin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-24).

Tablo-21: Set 3, C ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: C
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 1
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	151	>300	>300	36	>300	116	>300	>300	40
2	>300	143	>300	139*	19*	>300	126	>300	108*	16*
3	>300	152	>300	95	13	>300	90	>300	226*	18*
4	>300	58	295*	31*	8	>300	43	>300	32	0
5	>300	47	235*	24*	3	297*	50*	111	14	1
6	295*	28*	>300	35	4	>300	76	32	1	0
7	>300	134	>300	46	3	>300	90	>300	146	13
8	>300	99	>300	120	10	>300	83	>300	48	4
9	>300	132	>300	104	13	>300	84	>300	>300	44
10	>300	109	>300	36	1	>300	81	>300	40	0
11	>300	157	>300	>300	21	>300	110	>300	128*	19*
12	>300	151	>300	111*	16*	>300	82	>300	>300	83
13	>300	161	>300	>300	74	>300	137	>300	>300	66
14	>300	140	>300	>300	49	>300	163	>300	>300	75
15	>300	142	>300	>300	41	>300	148	>300	>300	119

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-22: Set 3, D ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: D
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 1
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	50	>300	46	5	>300	55	>300	81	10
2	>300	62	>300	114	14	>300	55	>300	136*	18*
3	>300	80	>300	144	14	>300	86	>300	226	14
4	>300	121	>300	227*	30*	>300	101	>300	>300	58
5	>300	115	>300	221*	21*	>300	97	>300	>300	38
6	>300	139	>300	94	10	>300	99	>300	137	11
7	>300	127	>300	224*	19*	>300	150	>300	>300	39
8	>300	155	>300	>300	50	>300	103	>300	>300	72
9	>300	168	>300	>300	117	>300	129	>300	>300	157
10	>300	192	>300	>300	98	>300	115	>300	>300	140
11	>300	171	>300	>300	107	>300	153	>300	>300	96
12	>300	203	>300	>300	72	>300	141	>300	>300	81
13	>300	122	>300	>300	152	>300	115	>300	>300	145
14	>300	151	>300	>300	205	>300	130	>300	>300	175
15	>300	120	>300	>300	285	>300	117	>300	>300	295

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-23: Set 3, E ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: E
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 1
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	59	>300	59	2	>300	99	>300	80	12
2	>300	123	>300	211*	20*	>300	115	>300	>300	113
3	>300	103	>300	237*	31*	>300	109	>300	>300	30
4	>300	49	254*	29*	5	>300	76	278*	25*	0
5	>300	106	206*	18*	2	>300	52	>300	71	5
6	>300	108	>300	52	1	>300	176	90	7	2
7	>300	101	>300	138	10	>300	67	>300	116	6
8	>300	99	288*	34*	4	>300	64	>300	134	14
9	>300	159	>300	107	9	>300	84	>300	>300	24
10	>300	169	>300	109	7	>300	139	>300	>300	46
11	>300	177	>300	136	13	>300	128	>300	176*	18*
12	>300	199	>300	261*	26*	>300	126	>300	>300	30
13	>300	115	>300	213*	24*	>300	128	>300	>300	37
14	>300	95	>300	>300	28	>300	77	>300	>300	30
15	>300	134	>300	>300	46	>300	110	>300	>300	63

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-24: Set 3, referans solüsyon için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: Referans solüsyon
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	81	12	1	0	>300	55	229*	28*	3
2	>300	62	191*	27*	2	>300	62	>300	29	4
3	>300	96	>300	60	4	>300	91	>300	177	14
4	>300	78	23	3	0	>300	62	43	6	0
5	>300	65	133*	15*	3	>300	93	123	11	1
6	>300	104	249*	30*	2	>300	88	>300	42	4
7	>300	100	42	5	0	>300	77	19	2	0
8	>300	128	61	7	0	>300	50	121*	15*	0
9	>300	114	65	6	0	>300	125	293*	32*	2
10	>300	77	179*	25*	1	>300	51	289*	36*	1
11	>300	123	69	6	0	>300	93	105	12	1
12	>300	195	>300	33	4	>300	140	>300	34	2
13	>300	154	>300	39	5	>300	119	>300	103	11
14	>300	128	>300	162*	21*	>300	142	>300	>300	29
15	>300	131	>300	106	8	>300	118	>300	163*	16*

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

II.1.4. Set 4 Çalışması Sonuçları

Set 4 çalışmasında C,D ve E antiseptikleri 3 ml x 30 saniye x 2 uygulaması için test edilmiştir. Referans solüsyon standartta belirtildiği gibi 3 ml x 30 saniye x 2 kez şeklinde uygulanmıştır. Elde edilen koloni sayıları Tablo-25, 26, 27 ve 28'te gösterilmiştir.

C antiseptiği testinde dördüncü ve sekizinci kişi sağ el ve sol el ilk değerleri; dokuzuncu ve 12. kişinin sağ el son değerleri ile üçüncü ve 11. kişinin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-25).

D antiseptiği testinde sekizinci kişinin sağ el ve sol el ilk ve son değerleri; üçüncü kişinin sol el ilk ve son değerleri; dördüncü kişinin sağ ve sol el ilk değerleri; 13. kişinin sağ el ve sol el son değerleri; birinci, ikinci, üçüncü, beşinci ve 12. kişilerin sağ el son değerleri ile 11. kişinin sol el son değerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-26).

E antiseptiği testinde ikinci kişi sağ el ilk değeri; dördüncü, yedinci, sekizinci, 11. ve 12. kişilerin sağ el son değerleri ile ikinci, üçüncü, onuncu, 13. ve 15. kişilerin sol el son değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-27).

Referans solüsyon testinde dokuzuncu kişinin sağ el ve sol el son değerleri; beşinci ve 11. kişinin sağ el son değerleri ile birinci, altıncı, onuncu ve 15.kişinin sol el değerlerinin hesaplanmasında ardışık dilüsyonlarda 15 ila 300 koloni içeren ikişer plak bulunduğu için ağırlıklı ortalama kullanılmıştır (Tablo-28).

Tablo-25: Set 4, C ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: C
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	155	143	11	2	>300	150	>300	34	2
2	>300	81	43	2	2	>300	73	13	1	0
3	>300	78	226*	20*	2	>300	56	>300	88	3
4	225*	34*	53	5	0	215*	18*	>300	33	5
5	>300	117	31	2	0	>300	69	22	1	0
6	>300	82	>300	90	3	>300	84	>300	135	12
7	>300	120	>300	42	5	>300	81	>300	76	0
8	186*	21*	62	9	0	251*	19*	73	4	0
9	>300	74	>300	35	4	>300	58	223*	21*	4
10	>300	71	147	12	1	>300	73	174	14	1
11	>300	73	289*	33*	3	>300	87	>300	97	9
12	>300	107	>300	60	7	>300	111	>300	214*	17*
13	>300	83	32	3	0	>300	80	11	0	0
14	>300	129	18	0	0	>300	102	34	1	0
15	>300	106	118	9	2	>300	81	153	8	3

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-26: Set 4, D ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: D
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	120	>300	89	6	>300	176	>300	132*	15*
2	>300	33	98	14	1	>300	69	295*	41*	2
3	292*	27*	>300	160*	19*	>300	36	>300	212*	29*
4	261*	25*	121	12	0	279*	27*	154	13	1
5	>300	101	161	13	0	>300	79	291*	47*	4
6	>300	65	>300	76	5	>300	87	>300	119	7
7	>300	82	>300	61	6	>300	103	>300	>300	142
8	281*	35*	145*	15*	0	193*	27*	238*	19*	1
9	>300	132	>300	182	14	>300	75	>300	>300	44
10	>300	107	151	14	2	>300	108	79	6	0
11	>300	124	>300	204*	24*	>300	132	>300	>300	39
12	>300	107	>300	113	12	>300	132	>300	170*	15*
13	>300	132	75*	15*	0	>300	125	256*	23*	3
14	>300	124	>300	80	6	>300	89	>300	105	11
15	>300	133	63	6	2	>300	128	93	11	0

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-27: Set 4, E ürünü için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: E
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 3×10^8 kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	109	>300	29	1	>300	96	>300	150	13
2	>300	78	175*	23*	0	172*	26*	>300	49	4
3	>300	127	142*	21*	3	>300	81	>300	>300	54
4	>300	117	>300	40	1	>300	59	>300	143*	21*
5	>300	127	>300	52	7	>300	48	62	4	0
6	>300	105	>300	67	5	>300	35	>300	160	11
7	>300	129	>300	81	6	>300	143	>300	125*	17*
8	>300	65	113	8	2	>300	70	234*	20*	3
9	>300	113	>300	107	0	>300	85	>300	146	11
10	>300	97	231*	34*	0	>300	155	>300	38	6
11	>300	140	>300	149	10	>300	107	>300	155*	19*
12	>300	115	>300	60	6	>300	98	176*	15*	2
13	>300	91	191*	15*	2	>300	94	>300	40	2
14	>300	115	>300	64	4	>300	124	>300	>300	55
15	>300	93	295*	33*	1	>300	67	39	4	0

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

Tablo-28: Set 4, referans solüsyon için el ovalama prosedürü deney sonuçları.

Antiseptik: Referans solüsyon
Uygulama: 3 ml x 30 saniye x 2
Süspansiyon: 1,5-3x10⁸ kob/ml

Kişi No	10 ^x dilüsyonundan elde edilen plak başına düşen koloni sayıları									
	Sol el					Sağ el				
	İlk değerler		Son değerler			İlk değerler		Son değerler		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
1	>300	140	>300	231*	27*	>300	106	>300	>300	91
2	>300	58	>300	49	6	102	12	>300	108	10
3	>300	45	>300	51	3	>300	38	>300	>300	39
4	>300	88	>300	36	6	>300	91	>300	91	7
5	>300	112	>300	58	3	>300	111	>300	125*	20*
6	>300	90	181*	22*	0	>300	129	>300	67	9
7	>300	62	>300	>300	49	>300	97	>300	>300	125
8	>300	91	132	11	0	>300	134	>300	89	5
9	>300	81	>300	93*	15*	>300	49	>300	268*	29*
10	>300	110	>300	85*	16*	>300	102	>300	226	13
11	>300	128	>300	>300	34	>300	100	>300	291*	32*
12	>300	139	>300	>300	42	>300	107	>300	>300	42
13	>300	76	>300	63	4	>300	81	>300	68	7
14	>300	114	>300	50	2	>300	114	>300	60	7
15	>300	136	245*	21*	1	>300	149	66	9	0

Kalın vurgulu sayılar : Hesaplamalarda kullanılan değerler
* : Ağırlıklı ortalaması alınan değerler

II.2. Hesaplanan log Değerleri

Set 1, 2, 3 ve 4 çalışmaları için hesaplanan bireysel log değerleri Tablo-29, 30, 31 ve 32'de gösterilmiştir.

Set 1 çalışmasında referans solüsyon için hesaplanan log AF değerleri 3,46 – 4,97 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,24 (standart sapma: 0,43) olarak hesaplanmıştır. A antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 2,88 – 4,27 aralığında değişmektedir. Üç bireysel log AF değeri 3'ün altındadır. Ortalama log AF değeri 3,38 (0,43) olarak hesaplanmıştır. B antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 2,78 – 5,69 aralığında değişmektedir. İki bireysel log AF değeri 3'ün altındadır. Ortalama log AF değeri 3,56 (0,72) olarak hesaplanmıştır. DSÖ-II formülasyonu için hesaplanan log AF değerleri 3,16 – 4,10 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 3,62 (0,33) olarak hesaplanmıştır (Tablo-29).

Set 2 çalışmasında referans solüsyon için hesaplanan log AF değerleri 3,54 – 5,07 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,24 (0,48) olarak hesaplanmıştır. A antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 3,72 – 5,38 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,42 (0,48) olarak hesaplanmıştır. B antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 3,73 – 4,82 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,33 (0,29) olarak hesaplanmıştır. DSÖ-II formülasyonu için hesaplanan log AF değerleri 3,94 – 5,53 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,79 (0,46) olarak hesaplanmıştır (Tablo-30).

Set 3 çalışmasında referans solüsyon için hesaplanan log AF değerleri 3,79-5,49 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,65 (0,52) olarak hesaplanmıştır. C antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 3,32 – 4,65 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 3,90 (0,42) olarak hesaplanmıştır. D antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 2,61 – 4,01 aralığında değişmektedir. Üç bireysel log AF değeri 3'ün altındadır. Ortalama log AF değeri 3,36 (0,41) olarak hesaplanmıştır. E antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 3,35 – 4,80 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 3,89 (0,40) olarak hesaplanmıştır (Tablo-31).

Set 4 çalışmasında referans solüsyon için hesaplanan log AF değerleri 3,00 – 5,05 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 3,91 (0,55) olarak hesaplanmıştır. C antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 3,88 – 5,67 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,68 (0,63) olarak hesaplanmıştır. D antiseptiği için hesaplanan log AF değerleri 3,23 – 5,23 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,17 (0,59) olarak hesaplanmıştır. E ürünü için hesaplanan log AF değerleri 3,77 – 4,86 aralığında değişmektedir. Ortalama log AF değeri 4,24 (0,35) olarak hesaplanmıştır (Tablo-32).

Tablo-29: Set 1, hesaplanan log değerlerinin (sağ ve sol el ortalamaları) listesi.

Kişi	Referans solüsyon			Ürün A			Ürün B			DSÖ-II		
	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF
1	7,04	3,59	3,46	6,60	3,71	2,88	6,93	4,90	3,19	7,06	4,04139	3,18
2	7,05	3,48	3,57	6,97	3,73	3,25	6,95	5,10	2,78	7,06	3,72428	3,32
3	7,03	3,35	3,68	6,95	3,98	2,96	6,89	4,93	2,92	7,10	3,80618	3,43
4	7,23	2,71	4,51	7,03	3,19	3,84	6,96	5,40	3,56	7,17	3,2661	3,93
5	7,18	2,76	4,42	7,17	3,55	3,61	7,05	5,33	3,11	7,26	3,13033	4,10
6	7,15	3,15	4,00	7,07	3,82	3,25	7,10	5,17	3,65	7,06	3,16	3,83
7	6,70	2,25	4,46	6,94	3,84	3,10	6,99	5,05	3,14	6,88	3,81291	3,16
8	7,01	2,87	4,14	6,95	4,01	2,95	7,04	4,99	3,22	6,90	4,01284	3,22
9	6,97	2,79	4,18	6,97	3,96	3,00	6,87	4,93	3,23	7,06	3,51851	3,58
10	6,96	2,57	4,39	6,91	3,36	3,55	7,12	5,34	3,54	7,02	3,43573	3,61
11	6,92	2,51	4,42	7,00	3,95	3,06	7,07	5,06	3,52	6,93	2,91908	4,07
12	7,03	3,01	4,02	7,05	3,84	3,21	7,01	5,11	3,42	6,98	3,50515	3,55
13	6,70	2,04	4,67	6,91	2,64	4,27	6,83	5,55	5,69	6,69	2,81291	3,38
14	6,69	1,72	4,97	6,75	2,96	3,79	6,76	5,28	4,49	6,80	2,88649	4,01
15	6,92	2,22	4,70	6,88	2,95	3,94	6,67	5,30	3,89	6,74	2,72428	3,90
\bar{x}	6,97	2,73	4,24	6,94	3,57	3,38	6,95	5,16	3,56	6,98	3,38	3,62
s	0,17	0,54	0,43	0,13	0,44	0,43	0,13	0,19	0,72	0,16	0,44	0,33
N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

logx : log ilk değer
logy : log son değer
log AF : log azaltma faktörü

\bar{x}
s
N

: logx, logy ve log AF'nin ortalamaları
: Standart sapma
: Değerlerin (kişilerin) numaraları

Tablo-30: Set 2, hesaplanan log değerlerinin (sağ ve sol el ortalamaları) listesi.

Kişi	Referans solüsyon			Ürün A			Ürün B			DSÖ-II		
	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF
1	7,12	2,61	4,51	6,85	2,06	4,78	7,12	2,55	4,57	7,11	2,56	4,55
2	6,92	2,84	4,08	7,00	2,92	4,08	7,02	2,95	4,06	7,10	2,28	4,83
3	7,16	3,04	4,12	6,93	2,43	4,51	6,85	2,43	4,42	7,10	2,28	4,82
4	6,97	2,17	4,80	6,87	2,09	4,78	6,94	2,47	4,48	7,04	2,11	4,93
5	6,60	2,87	3,73	7,10	2,86	4,25	6,81	2,70	4,11	6,95	1,98	4,98
6	6,44	2,90	3,54	6,99	3,04	3,95	7,01	2,84	4,17	6,53	1,68	4,84
7	7,04	3,22	3,82	6,99	3,00	3,99	7,01	3,28	3,73	6,90	2,96	3,94
8	7,08	3,29	3,80	7,17	3,45	3,72	7,07	2,89	4,18	7,00	2,82	4,18
9	7,07	2,75	4,32	7,11	2,85	4,26	7,11	2,87	4,24	7,08	2,73	4,35
10	7,08	3,40	3,68	7,06	3,14	3,92	7,07	2,79	4,29	6,99	2,73	4,26
11	6,71	2,38	4,33	7,14	2,06	5,08	6,66	2,09	4,57	7,12	1,85	5,28
12	7,04	2,30	4,75	7,06	2,52	4,55	7,07	2,26	4,82	6,69	1,86	4,83
13	6,95	2,04	4,91	6,92	1,54	5,38	6,77	2,68	4,10	6,69	1,16	5,53
14	6,98	2,84	4,14	6,99	2,80	4,19	6,98	2,43	4,55	6,89	1,53	5,36
15	6,79	1,72	5,07	6,62	1,74	4,88	6,91	2,23	4,68	6,79	1,60	5,19
\bar{x}	6,93	2,69	4,24	6,99	2,57	4,42	6,96	2,63	4,33	6,93	2,14	4,79
s	0,21	0,48	0,48	0,14	0,56	0,48	0,14	0,32	0,29	0,18	0,54	0,46
N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

logx : log ilk değer
logy : log son değer
log AF : log azaltma faktörü

\bar{x} : logx, logy ve log AF'nin ortalamaları
s : Standart sapma
N : Değerlerin (kişilerin) numaraları

Tablo-31: Set 3, hesaplanan log değerlerinin (sağ ve sol el ortalamaları) listesi.

Kişi	Referans solüsyon			Ürün C			Ürün D			Ürün E		
	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF
1	6,82	1,72	5,10	7,12	3,58	3,54	6,72	2,79	3,93	6,88	2,84	4,05
2	6,79	2,38	4,41	7,13	3,10	4,02	6,77	3,10	3,66	7,08	3,69	3,39
3	6,97	3,01	3,96	7,07	3,16	3,91	6,92	3,26	3,66	7,03	3,43	3,59
4	6,84	1,50	5,34	6,70	2,49	4,21	7,04	3,57	3,48	6,79	2,43	4,36
5	6,89	2,11	4,78	6,59	2,21	4,38	7,02	3,46	3,56	6,87	2,58	4,29
6	6,98	2,51	4,47	6,67	2,02	4,65	7,07	3,05	4,01	7,14	2,34	4,80
7	6,94	1,45	5,49	7,04	2,91	4,13	7,14	3,47	3,67	6,92	3,10	3,81
8	6,90	1,94	4,96	6,96	2,88	4,08	7,10	3,78	3,32	6,90	2,80	4,10
9	7,08	2,14	4,94	7,02	3,33	3,69	7,17	4,13	3,04	7,06	3,20	3,86
10	6,80	2,37	4,43	6,97	2,58	4,39	7,17	4,07	3,10	7,19	3,35	3,84
11	7,03	1,93	5,10	7,12	3,22	3,89	7,21	4,01	3,20	7,18	3,19	3,99
12	7,22	2,52	4,69	7,05	3,49	3,56	7,23	3,88	3,35	7,20	3,45	3,75
13	7,13	2,80	4,33	7,17	3,84	3,33	7,07	4,17	2,90	7,08	3,45	3,63
14	7,13	3,34	3,79	7,18	3,78	3,40	7,15	4,28	2,87	6,93	3,46	3,47
15	7,09	3,12	3,98	7,16	3,84	3,32	7,07	4,46	2,61	7,08	3,73	3,35
\bar{x}	6,97	2,32	4,65	7,00	3,10	3,90	7,06	3,70	3,36	7,02	3,14	3,89
s	0,13	0,58	0,52	0,19	0,58	0,42	0,15	0,50	0,41	0,13	0,44	0,40
N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

logx : log ilk değer
logy : log son değer
log AF : log azaltma faktörü

\bar{x}
s
N

: logx, logy ve log AF'nin ortalamaları
: Standart sapma
: Değerlerin (kişilerin) numaraları

Tablo-32: Set 4, hesaplanan log değerlerinin (sağ ve sol el ortalamaları) listesi.

Kişi	Referans solüsyon			Ürün C			Ürün D			Ürün E		
	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF	logx	logy	logAF
1	7,09	3,66	3,42	7,18	2,34	4,84	7,16	3,04	4,12	7,01	2,82	4,19
2	6,39	2,86	3,52	6,89	1,37	5,51	6,68	2,24	4,44	6,57	2,47	4,10
3	6,62	3,15	3,47	6,82	2,65	4,17	6,51	3,28	3,23	7,01	2,95	4,05
4	6,95	2,76	4,19	6,35	2,12	4,23	6,43	2,14	4,29	6,92	2,89	4,03
5	7,05	2,94	4,11	6,95	1,42	5,54	6,95	2,35	4,60	6,89	2,25	4,64
6	7,03	2,55	4,49	6,92	3,04	3,88	6,88	2,98	3,90	6,78	3,02	3,77
7	6,89	3,89	3,00	6,99	2,75	4,24	6,96	3,47	3,49	7,13	3,01	4,12
8	7,04	2,53	4,51	6,33	1,83	4,50	6,38	2,27	4,11	6,83	2,21	4,62
9	6,80	3,21	3,59	6,82	2,45	4,37	7,00	3,45	3,55	6,99	3,10	3,89
10	7,02	3,16	3,87	6,86	2,20	4,65	7,03	2,04	4,99	7,09	2,48	4,61
11	7,05	3,50	3,55	6,90	2,73	4,17	7,11	3,45	3,65	7,09	3,19	3,90
12	7,09	3,62	3,46	7,04	3,05	3,99	7,07	3,14	3,94	7,03	2,51	4,52
13	6,89	2,82	4,08	6,91	1,27	5,64	7,11	2,16	4,95	6,97	2,44	4,53
14	7,06	2,74	4,32	7,06	1,39	5,67	7,02	2,96	4,06	7,08	3,27	3,80
15	7,15	2,10	5,05	6,97	2,13	4,84	7,12	1,88	5,23	6,90	2,03	4,86
\bar{x}	6,94	3,03	3,91	6,87	2,18	4,68	6,89	2,72	4,17	6,95	2,71	4,24
s	0,21	0,49	0,55	0,23	0,61	0,63	0,26	0,58	0,59	0,14	0,39	0,35
N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

logx : log ilk değer
logy : log son değer
log AF : log azaltma faktörü

\bar{x} : logx, logy ve log AF'nin ortalamaları
s : Standart sapma
N : Değerlerin (kişilerin) numaraları

Set 1, 2, 3 ve 4 çalışmalarında hesaplanan ortalama log AF değerleri Tablo-33'de sunulmuştur.

Tablo-33: Ortalama log AF değerleri

Antiseptikler	Ortalama log AF (standart sapma)	
	Set 1	Set 2
R	4,24 (0,43)	4,24 (0,48)
A	3,38 (0,43)	4,42 (0,48)
B	3,56 (0,72)	4,33 (0,29)
DSÖ-II	3,62 (0,33)	4,79 (0,46)

Antiseptikler	Ortalama log AF (standart sapma)	
	Set 3	Set 4
R	4,65 (0,52)	3,91 (0,50)
C	3,90 (0,42)	4,68 (0,63)
D	3,36 (0,41)	4,17 (0,59)
E	3,89 (0,40)	4,24 (0,35)

III. log Değerlerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Her bir set, farklı günlerde çalışıldığı için deney şartlarının değiştiği düşünülerek Wilcoxon testi ile kendi içinde değerlendirilmiştir. Set 1 ve 3 çalışmalarında test edilen antiseptikler 3 ml x 30 saniye x 1 şeklinde uygulanmıştır. Test edilen antiseptiklerden elde edilen bireysel log AF değerleri, referans solüsyondan elde edilen bireysel log AF değerleri ile Wilcoxon testi ile karşılaştırılmıştır. A, B, C, D, E antiseptikleri ve DSÖ-II formülasyonu 3 ml x 30 saniye x 1 şeklinde uygulandıklarında referans solüsyondan anlamlı derece daha az etkili bulunmuştur.

Set 2 ve 4 çalışmalarında test edilen antiseptikler 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulanmıştır. Wilcoxon testi ile yapılan karşılaştırma sonucu A, B, C, D, E antiseptikleri ve DSÖ-II formülasyonu 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulandıklarında referans solüsyondan anlamlı derecede daha etkili bulunmuştur.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Hastanelerde kullanımı yaygınlaşan alkol bazlı el antiseptiklerinin seçimi ve değerlendirilmesi için detaylı olarak tanımlanmış standartların uygulanması gerekmektedir. Prado ve ark. (66), Brezilya'da kullanılmakta olan 12 adet alkol bazlı el antiseptik ürününün sekizinin 30 saniyelik uygulama süresinde EN1500 standardının şartlarını yerine getirmediğini raporlamışlardır. EN1500 standardı TSE tarafından da aynen kabul edildiği halde yaptığımız araştırmada ülkemizde EN1500 standardı ile ilişkili bir yayına rastlanmamıştır.

prEN12054 standardı el antiseptikleri için geliştirilmiş in vitro bir test metodudur. Çalışmamızda altı adet antiseptiğin hepsi hem 30 saniye hem de 1 dakikalık temas sürelerinde bakteri sayısında 6 log'un üzerinde azalmaya neden olmuşlar ve prEN12054 testinde aranan en az 4,52-5 log azalma şartını yerine getirmişlerdir.

Piyasadan temin edilen beş adet el antiseptiğinden A,C,D ve E ürünlerinin etiketlerinde hijyenik el antisepsisi için 3 ml x 30 saniye x 1 şeklinde uygulanmaları önerilmektedir. B ürününün etiketinde bu konuda bir bilgi verilmemiştir. DSÖ kılavuzunda DSÖ-II formülasyonu için belli bir uygulama süresi bildirilmemiş olmakla birlikte kılavuzda alkol bazlı el antiseptikleri ile hijyenik el ovalama süresi 20-30 saniye olarak belirtilmiştir. Çalışmamızda bütün el antiseptiklerini EN1500 standardı ile hem standardın önerdiği 3 ml x 30 saniye x 2 uygulaması için hem de genellikle önerilen 3 ml x 30 saniye x 1 uygulaması için ayrı ayrı test ettik. Bütün antiseptikler 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulandığında referans solüsyondan anlamlı derecede daha etkili bulunmuşlar ve standardın şartını sağlamışlardır. 3 ml x 30 saniye x 1 şeklinde uygulandıklarında ise antiseptiklerin hepsi referans solüsyondan anlamlı derecede daha az etkili bulunmuşlardır.

DSÖ-II formülasyonunun da testi geçememesi önemli bir bulgudur. Aynı bulgu 2012'de Suchomel ve ark. (67) tarafından yapılan çalışmada da gözlenmiştir. Bu çalışmada DSÖ'nün etil alkol bazlı formülasyon-l'i ve

izopropil alkol bazlı formülasyon-II'si EN1500 test metodu ile değerlendirilmiştir. Her iki formülasyon da 3 ml x 30 saniye x 1 şeklinde uygulandığında referans solüsyondan daha az etkili bulunurken; 3 ml x 30 saniye x 2 olarak uygulandıklarında referanstan daha etkili bulunmuştur.

Suchomel ve ark. DSÖ tarafından önerilen iki formülasyonu alkol oranlarını yükselterek modifiye etmişlerdir. Bunun için DSÖ-I formülasyonunda bulunan hacimce %80 etil alkol yerine ağırlıkça %80 etil alkol DSÖ-II formülasyonunda bulunan hacimce %75 izopropil alkol yerine ağırlıkça %75 izopropil alkol kullanmışlardır. Bu iki modifiye formül test edildiğinde her ikisinin de 30 saniyelik uygulama süresinde EN1500'ün gereklerini sağladığını göstermişlerdir. Antiseptik içeriği arttırılmış ürünler kullanılacağı zaman ürünlerin cilt üzerinde yan etkilerinde kullanımlarını kısıtlayacak bir artma olup olmadığı da gösterilmelidir.

Çalışmamızda el antiseptiklerinin hepsi 30 saniyelik temas süresi için prEN12054 standardının gereğini sağlamışlarsa da hiç biri EN1500 standardının gereğini 30 saniyelik el ovalama süresinde sağlayamamıştır. Marchetti ve ark. (68) tarafından yapılan bir çalışmada cerrahi el antiseptisi için kullanılan iki adet alkol bazlı el ovalama ürünü ve üç adet el yıkama formülasyonu prEN12054 ve in vivo prEN12791 metodları ile test edilmiştir. Bütün antiseptikler prEN12054 standardının şartını sağlamış ancak el yıkama formülasyonlarından ikisi cerrahi el antiseptikleri için önerilen in vivo test olan prEN12791'i geçememiştir. Antiseptiklerin genellikle süspansiyon ortamında bakterileri daha kolay öldürdükleri bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada bütün antiseptikler prEN12054 standardından kolayca geçmişlerdir. t=30" anında test karışımından alınan kısımdan yapılan koloni sayım ekimlerinde hiç koloni ürememiştir. Bu nedenle in vitro standardın şartlarının ağırlaştırılması önerilebilir.

Belirlenen ovalama süresi için bir el antiseptiğinin EN1500 standardının gereğini yerine getirebilmesi için etkisinin referans solüsyon olan %60 (v/v) izopropil alkolün 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulanması ile elde edilen bakterisidal etkinin anlamlı düzeyde altına inmemesi gerekmektedir. DSÖ kılavuzunda alkol bazlı el antiseptiklerinin 20-30 saniye

uygulanması önerildiği halde formülasyon II'nin 30 saniyelik uygulama şekli ile EN1500 standardının şartını yerine getirememesi bu şartın gerektiğinden daha ağır olup olmadığı sorusunu akla getirmektedir. Çalışmamızda set 1, 2, 3 ve 4'te referans solüsyon için elde edilen log AF değerleri standart sapmaları ile birlikte sırasıyla 4,24 (0,43), 4,24 (0,48), 4,65 (0,52) ve 3,91 (0,50) olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte bir antiseptiğin enfeksiyonların çapraz bulaş ve direnç oranlarında azalma gibi parametrelerle ölçülen "etkinliği"nin yeterli olması için eldeki bakterilerde kaç logluk bir azalma yapması gerektiği bilinmemektedir (1). Bu konuda yapılacak araştırmalar EN1500 standardının şartlarının bilinçli bir şekilde yeniden tanımlanmasını sağlayacaktır.

A,B ve DSÖ-II antiseptikleri içinde 30 saniye x 1 (Set 1) ve 30 saniye x 2 (Set 2) uygulamaları için en etkili olanı %75 (v/v) izopropil alkol içeren DSÖ-II formülasyonudur. Etken madde olarak A antiseptiği %70 izopropil alkol, B antiseptiği ise %60 (m/m) izopropil alkol, %0,15 (m/m) benzalkonyum klorür ve %0,1 (m/m) undesilenik asit içermektedir. A antiseptiğinin alkol içeriğinin hacimce ya da ağırlıkça olduğu konusunda bir bilgi bulunmamaktadır. B antiseptiğinin ağırlıkça ifade edilen alkol içeriği 20°C'de yaklaşık hacimce %70 izopropil alkole denk gelmektedir. Bu oran DSÖ-II formülasyonunun içerdiği miktarın altındadır.

C, D ve E antiseptikleri içinde 30 saniye x1 (Set 3) ve 30 saniye x 2 (Set 4) uygulamaları için en etkili olanı %70 (v/v) izopropil alkol içeren C antiseptiğidir. D antiseptiği %70 (v/v) etil alkol ve %10 (v/v) izopropil alkol içermektedir. E antiseptiği %62,14 (m/m) izopropil alkol içermektedir ve hacimce yaklaşık %70'e karşılık gelmektedir. C ve E antiseptiklerinin ortalama log AF değerleri 30 saniyelik uygulamada sırayla 3,90 ve 3,89 iken 1 dakikalık uygulamada sırayla 4,68 ve 4,24 olarak hesaplanmıştır. D ürünü test edilen ürünler içinde 30 saniye ve 1 dakikalık uygulamalarda en düşük log AF değerlerine (sırayla 3,36 ve 4,17) sahip olduğu için en zayıf etkili antiseptik olarak değerlendirilmiştir.

EN1500 standardında referans antiseptik olan %60 izopropil alkol 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulanmaktadır. Bu bir dakikalık uygulama

süresi sağlık çalışanlarının gerçek hayatta el ovalama için ayırdıkları süreyi yansıtmamaktadır. Birçok çalışmada sağlık çalışanlarının el antisepsisi için ayırdıkları süre, ortalama 15 saniyeden az bulunmuştur (69,70). Bununla birlikte test ettiğimiz ürünler ile yeterli el antisepsisi sağlanabilmesi için 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulanmaları gerekmektedir. Pratik şartlarla örtüşmeyen bu uygulama şekli nedeniyle mümkünse daha kısa uygulama süresinde EN1500'ün gereğini sağlayabilecek, alkol içeriği daha yüksek antiseptiklerin tercih edilmesi daha uygundur. Ayrıca zayıf etkili bir ürünün iki katı miktarda kullanılması yerine antiseptik içeriği daha yüksek bir ürünün tercih edilmesi maliyet açısından da daha uygundur.

Verdiğimiz tıbbi mikrobiyoloji laboratuvar hizmetinin yanı sıra altı adet el antiseptiğinin etkinliğini, kendi laboratuvar personelimizin yardımıyla EN1500 standardı ile test ettik. Çalışma sırasında çeşitli güçlüklerle karşılaşmıştır. Çalışma sırasında rutin alan dışında olmak kaydı ile geniş bir alana ihtiyaç duyulmaktadır. Laboratuvar personelimiz rutin görevlerinin yanı sıra teste katılmak için ayrıca zaman ayırmak durumunda kalmıştır. Test sonucu elde edilen ilk ve son değer numunelerinin dilüsyon ve ekimlerinin vaktinde yapılabilmesi için yeterli sayıda personelin görevlendirilmesi gerekmektedir. EN1500 standardının her zaman çalışılan bir test olmaması ve sadece talep olduğunda çalışılması nedeniyle sürekli bir ekibin bu işle görevlendirilmesi pratik değildir. Bu nedenle laboratuvarımızda ihale dönemlerinde dahi, EN1500 standardının test edilmesi zor görünmektedir.

Sonuç olarak:

Bir el antiseptiğinin eldeki bakteri sayısında kaç logluk bir azalma yapması gerektiğinin belirlenebilmesi için saha çalışmaları yapılmalıdır. Bu tür çalışmalar pratik olmaktan uzak ve yüksek maliyetli olsa da EN1500 ve diğer mevcut standartların şartlarının bilinçli bir şekilde tekrar tanımlanması için gerekmektedir.

Test edilen antiseptik ürünler içerisinde A, C, D ve E ürünlerinin etiketlerinde hijyenik el antisepsisi için 3 ml x 30 saniye x 1 şeklinde uygulanmaları önerilmiştir. Ancak EN1500 standardına uygun el

antisepsisinin sağlanması için gerek bu ürünler gerekse B antiseptiği ve DSÖ-II formülasyonu 3 ml x 30 saniye x 2 şeklinde uygulanmalıdır. Bu nedenle bu ürünleri kullanacak sağlık personelinin yeterli el hijyeni için gereken süre konusunda uyarılması gerekmektedir. Ayrıca A, C, D ve E ürünlerinin etiketlerinde gerekli düzeltmenin yapılması ve bütün antiseptiklerin etiketinde “EN1500 standardının gereğini yerine getirecek düzeyde hijyenik antisepsinin sağlanabilmesi için 3 ml antiseptik ile 30 saniye ovalama yapıldıktan sonra ikinci 3 ml antiseptik ile aynı işlem bir kez daha tekrar edilmelidir.” ibaresinin yer alması sağlanmalıdır.

EN1500 standardına uygun düzeyde el antisepsisi 30 saniyede uygulanmak isteniyorsa alkol oranı daha yüksek ürünler tercih edilmelidir. Bunun için alkol oranları etil alkol içeren ürünlerde ağırlıkça %80’in, izopropil alkol içeren ürünlerde ise ağırlıkça %75’in altına inmemelidir. Alkol içeriği yüksek ürünlerin kullanımı sağlık çalışanlarının uyumu ve maliyet açısından da daha avantajlıdır. Alkol bazlı el antiseptiklerinin avantajlarından biri kısa uygulama süresine sahip olmalarıdır. Bir dakikalık uygulama süresi alkol bazlı el antiseptiklerinden beklenen pratik faydayı azaltmaktadır. Yüksek alkol içeriğine sahip ürünler kullanılacaksa bunların cilt kuruluğuna neden olma gibi istenmeyen etkilerinin değerlendirilmesi göz ardı edilmemelidir.

Test edilen antiseptiklerin hiç biri EN1500 standardının gereğini 30 saniyelik uygulama için sağlayamadığı halde hepsi de prEN12054 standardının gereğini 30 saniyede kolayca sağlamışlardır. Bu nedenle prEN12054 standardının antiseptiklerin etki gücünün kantitatif olarak karşılaştırılmasını sağlayacak şekilde modifiye edilmesi önerilir. İn vitro testler en azından çok zayıf etkili antiseptiklerin geçemeyeceği şekilde modifiye edilirse gönüllülerin katılımıyla gerçekleştirilen ve daha emek-yoğun ve maliyetli olan EN1500 standardı bu tür ürünler için gereksiz yere uygulanmamış olur.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press, 2009
2. Allegranzi B, Pittet D. Role of hand hygiene in healthcare-associated infection prevention. *J Hosp Infect* 2009;73:305-15
3. Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, Perneger TV. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *Infection Control Programme. Lancet*. 2000;356(9238):1307-12. Erratum in: *Lancet* 2000;356(9248):2196.
4. Larson EL, Aiello AE, Heilman JM, Lyle CT, Cronquist A, Stahl JB, Della-Latta P. Comparison of different regimens for surgical hand preparation. *AORN J*. 2001;73(2): 412-20.
5. Boyce JM, Kelliher S, Vallande N. Skin irritation and dryness associated with two hand-hygiene regimens: soap-and-water hand washing versus hand antiseptics with an alcoholic hand gel. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000;21(7):442-8.
6. Sartor C, Jacomo V, Duvivier C, Tissot-Dupont H, Sambuc R, Drancourt M. Nosocomial *Serratia marcescens* infections associated with extrinsic contamination of a liquid nonmedicated soap. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000;21(3):196-9.
7. Caetano JA, Lima MA, Di Ciero Miranda M, Serufo JC, Ponte PR. [Identification of bacterial contamination in liquid soap for hospital use]. *Rev Esc Enferm USP*. 2011;45(1):153-60. Portuguese.
8. Hsueh PR, Teng LJ, Yang PC, Pan HL, Ho SW, Luh KT. Nosocomial pseudoepidemic caused by *Bacillus cereus* traced to contaminated ethyl alcohol from a liquor factory. *J Clin Microbiol*. 1999;37(7):2280-4.
9. Nasser RM, Rahi AC, Haddad MF, Daoud Z, Irani-Hakime N, Almawi WY. Outbreak of *Burkholderia cepacia* bacteremia traced to contaminated hospital water used for dilution of an alcohol skin antiseptic. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004;25(3):231-9.
10. Ali Y, Dolan MJ, Fendler EJ, Larson EL. Alcohols. In: Block SS, ed. *Disinfection, sterilization and preservation*, 5th ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2001:229 - 253.
11. Kurtz JB. Virucidal effect of alcohols against echovirus 11. *Lancet*. 1979;1(8114):496-7.
12. van Bueren J, Larkin DP, Simpson RA. Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by alcohols. *J Hosp Infect*. 1994;28(2):137-48.
13. Schürmann W, Eggers HJ. Antiviral activity of an alcoholic hand disinfectant. Comparison of the in vitro suspension test with in vivo experiments on hands, and on individual fingertips. *Antiviral Res*. 1983;3(1):25-41.

14. Platt J, Bucknall RA. The disinfection of respiratory syncytial virus by isopropanol and a chlorhexidine-detergent handwash. *J Hosp Infect.* 1985;6(1):89-94.
15. Sattar SA, Tetro J, Springthorpe VS, Giulivi A. Preventing the spread of hepatitis B and C viruses: where are germicides relevant? *Am J Infect Control.* 2001;29(3):187-97.
16. Sattar SA, Abebe M, Bueti AJ, Jampani H, Newman J, Hua S. Activity of an alcohol-based hand gel against human adeno-, rhino-, and rotaviruses using the fingerpad method. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000;21(8):516-9.
17. Blaney DD, Daly ER, Kirkland KB, Tongren JE, Kelso PT, Talbot EA. Use of alcohol-based hand sanitizers as a risk factor for norovirus outbreaks in long-term care facilities in northern New England: December 2006 to March 2007. *Am J Infect Control.* 2011;39(4):296-301.
18. Lilly HA, Lowbury EJ, Wilkins MD, Zaggy A. Delayed antimicrobial effects of skin disinfection by alcohol. *J Hyg (Lond).* 1979;82(3):497-500.
19. Rotter M. Hand washing and hand disinfection. In: Mayhall CG, ed. *Hospital epidemiology and infection control*, 3rd ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins; 2004.1727–1746.
20. Gaonkar TA, Geraldo I, Caraos L, Modak SM. An alcohol hand rub containing a synergistic combination of an emollient and preservatives: prolonged activity against transient pathogens. *J Hosp Infect.* 2005;59(1):12-8.
21. Harrington C, Walker H. The germicidal action of alcohol. *Boston Medical and Surgical Journal* 1903; 148:548-52.
22. Larson EL, Eke PI, Wilder MP, Laughon BE. Quantity of soap as a variable in handwashing. *Infect Control.* 1987;8(9):371-5.
23. Larson EL. APIC guideline for handwashing and hand antisepsis in health care settings. *American Journal of Infection Control*, 1995, 23:251–269.
24. Baillie L. Chlorhexidine resistance among bacteria isolated from urine of catheterized patients. *J Hosp Infect.* 1987;10(1):83-6.
25. Ismaeel N, el-Moug T, Furr JR, Russell AD. Resistance of *Providencia stuartii* to chlorhexidine: a consideration of the role of the inner membrane. *J Appl Bacteriol.* 1986;60(4):361-7.
26. Moore SL, Payne DN. Types of antimicrobial agents. In: Fraise AP, Lambert PA, Maillard J-Y, eds. *Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and practice of disinfection, preservation, and sterilization*, 4th ed. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, 2004. 8-97.
27. Denton GW. Chlorhexidine. In: Block SS, ed. *Disinfection, sterilization and preservation*, 5th ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2001. 321-336.
28. Walsh B, Blakemore PH, Drabu YJ. The effect of handcream on the antibacterial activity of chlorhexidine gluconate. *J Hosp Infect.* 1987;9(1):30-3.
29. Montefiori DC, Robinson WE Jr, Modliszewski A, Mitchell WM. Effective inactivation of human immunodeficiency virus with chlorhexidine antiseptics containing detergents and alcohol. *J Hosp Infect.* 1990;15(3):279-82.

30. Aly R, Maibach HI. Comparative study on the antimicrobial effect of 0.5% chlorhexidine gluconate and 70% isopropyl alcohol on the normal flora of hands. *Appl Environ Microbiol.* 1979;37(3):610-3.
31. Rotter ML, Kampf G, Suchomel M, Kundi M. Population kinetics of the skin flora on gloved hands following surgical hand disinfection with 3 propanol-based hand rubs: a prospective, randomized, double-blind trial. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007;28(3):346-50.
32. Comité Européen de Normalisation. Chemical disinfectants and antiseptics surgical hand disinfection test method and requirement (phase 2/step 2) EN12791. Brussels, Belgium. Comité Européen de Normalisation, 2006.
33. Gottardi W. Iodine and Iodine compounds. In: Block SS, ed. *Disinfection, sterilization and preservation*, 5th ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2001. 159 – 183.
34. Larson E, Leyden JJ, McGinley KJ, Grove GL, Talbot GH. Physiologic and microbiologic changes in skin related to frequent handwashing. *Infect Control.* 1986;7(2):59-63.
35. Berkelman RL, Holland BW, Anderson RL. Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *J Clin Microbiol.* 1982;15(4):635-9.
36. Sheikh W. Comparative antibacterial efficacy of Hibiclens and Betadine in the presence of pus derived from human wounds. *Curr Ther Res* 1986;40:1096 - 102.
37. Zamora JL, Price MF, Chuang P, Gentry LO. Inhibition of povidone-iodine's antibacterial activity by common organic substances: an experimental study. *Surgery* 1985; 98:25 – 9.
38. Paulson DS. Comparative evaluation of five surgical hand scrub preparations. *AORN J.* 1994;60(2):246, 249-56.
39. Ayliffe GA, Babb JR, Davies JG, Lilly HA. Hand disinfection: a comparison of various agents in laboratory and ward studies. *J Hosp Infect.* 1988;11(3):226-43.
40. Wade JJ, Casewell MW. The evaluation of residual antimicrobial activity on hands and its clinical relevance. *J Hosp Infect.* 1991;18 Suppl B:23-8.
41. Gottardi W. The uptake and release of molecular iodine by the skin; chemical and bactericidal evidence of residual effects caused by povidone-iodine preparations. *J. Hosp. Infec.* 1995; 29:9-18.
42. Berkelman RL, Lewin S, Allen JR, Anderson RL, Budnick LD, Shapiro S, Friedman SM, Nicholas P, Holzman RS, Haley RW. Pseudobacteremia attributed to contamination of povidone-iodine with *Pseudomonas cepacia*. *Ann Intern Med.* 1981;95(1):32-6.
43. Merianos JJ. Surface-Active Agents. In: Block SS, ed. *Disinfection, sterilization and preservation*, 5th ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2001. 283 - 320.
44. Frank MJ, Schaffner W. Contaminated aqueous benzalkonium chloride. An unnecessary hospital infection hazard. *JAMA.* 1976;236(21):2418-9.
45. Nakashima AK, Highsmith AK, Martone WJ. Survival of *Serratia marcescens* in benzalkonium chloride and in multiple-dose medication

- vials: relationship to epidemic septic arthritis. *J Clin Microbiol.* 1987;25(6):1019-21.
46. Widmer AF, Frei R. Decontamination, Disinfection, and Sterilization. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. ed. *Manual of Clinical Microbiology* 9th ed. Washington DC ASM Pres, 2007. 62-72
 47. Mayer S, Boos M, Beyer A, Fluit AC, Schmitz FJ. Distribution of the antiseptic resistance genes *qacA*, *qacB* and *qacC* in 497 methicillin-resistant and -susceptible European isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2001;47(6):896-7.
 48. Heath RJ, Rubin JR, Holland DR, Zhang E, Snow ME, Rock CO. Mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis. *J Biol Chem.* 1999;274(16):11110-4.
 49. McMurry LM, Oethinger M, Levy SB. Triclosan targets lipid synthesis. *Nature.* 1998;394(6693):531-2.
 50. McMurry LM, Oethinger M, Levy SB. Overexpression of *marA*, *soxS*, or *acrAB* produces resistance to triclosan in laboratory and clinical strains of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett.* 1998;166(2):305-9.
 51. McMurry LM, McDermott PF, Levy SB. Genetic evidence that *InhA* of *Mycobacterium smegmatis* is a target for triclosan. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(3):711-3.
 52. Chuanchuen R, Beinlich K, Schweizer HP. Multidrug efflux pumps and triclosan resistance in *Pseudomonas aeruginosa* [abstract]. American Society for Microbiology annual meeting, Los Angeles, California, 2000. Abstract 31, p. 8.
 53. Russell AD, Furr JR. The antibacterial activity of a new chloroxylenol preparation containing ethylenediamine tetraacetic acid. *J Appl*
 54. Larson E, Talbot GH. An approach for selection of health care personnel handwashing agents. *Infect Control.* 1986;7(8):419-24.
 55. Larson E. Guideline for use of topical antimicrobial agents. *Am J Infect Control.* 1988;16(6):253-66. Review. Erratum in: *Am J Infect Control* 1991;19(1):59.
 56. Bloomfield SF, Arthur M, Begun K, Patel H. Comparative testing of disinfectants using proposed European surface test methods. *Lett Appl Microbiol* 1993;17:119-25.
 57. Das JR, Bhakoo M, Jones MV, Gilbert P. Changes in the biocide susceptibility of *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* cells associated with rapid attachment to plastic surfaces. *J Appl Microbiol.* 1998;84(5):852-8.
 58. Lockhart JD. How toxic is hexachlorophene? *Pediatrics.* 1972;50(2):229-35.
 59. Shuman RM, Leech RW, Alvord EC Jr. Neurotoxicity of hexachlorophene in humans. II. A clinicopathological study of 46 premature infants. *Arch Neurol.* 1975;32(5):320-5.
 60. United States Food and Drug Administration. Tentative final monograph for healthcare antiseptic drug products; proposed rule. *Federal Register,* 1994:31441-52.
 61. Reybrouck G. Antifungal activity of disinfectants In: Fraise AP, Lambert PA, Maillard J-Y, eds. *Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and practice of*

- disinfection, preservation, and sterilization, 4th ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2004. 220-40
62. Comite' Europe'en de Normalisation. Chemical disinfectants and antiseptics - application of european standards for chemical disinfectants and antiseptics. prEN14885. Brussels, Belgium. Comite' Europe'en de Normalisation, 2006.
 63. Comite' Europe'en de Normalisation. Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of products for hygienic and surgical handrub and handwash used in human medicine - Test method and requirements (phase 2/step 1). prEN12054. Brussels, Belgium. Comite' Europe'en de Normalisation, 1995.
 64. Comite' Europe'en de Normalisation. Chemical disinfectants and antiseptics - Hygienic handwash - Test method and requirements (phase 2/step 2) EN1499. Brussels, Belgium. Comite' Europe'en de Normalisation, 1997.
 65. Comite' Europe'en de Normalisation. Chemical disinfectants and antiseptics - Hygienic handrub - Test method and requirements (phase 2/step 2) EN1500. Brussels, Belgium. Comite' Europe'en de Normalisation, 1997.
 66. do Prado MF, Coelho AC, de Brito JP, Ferreira DO, Junior AW, Menecucci Cda S, de Queiroz AB, Garcia LB, Cardoso CL, Tognim MC. Antimicrobial efficacy of alcohol-based hand gels with a 30-s application. *Lett Appl Microbiol.* 2012;54(6):564-7.
 67. Suchomel M, Kundi M, Pittet D, Weinlich M, Rotter ML. Testing of the World Health Organization recommended formulations in their application as hygienic hand rubs and proposals for increased efficacy. *Am J Infect Control.* 2012;40(4):328-31.
 68. Marchetti MG, Kampf G, Finzi G, Salvatorelli G. Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN12054 and prEN12791. *J Hosp Infect.* 2003;54(1):63-7.
 69. Quraishi ZA, McGuckin M, Blais FX. Duration of handwashing in intensive care units: a descriptive study. *Am J Infect Control.* 1984;12(2):83-7.
 70. Meengs MR, Giles BK, Chisholm CD, Cordell WH, Nelson DR. Hand washing frequency in an emergency department. *J Emerg Nurs.* 1994;20(3):183-8.

TEŞEKKÜR

Tez danıőmanım Prof. Dr. Cüneyt Özakın başta olmak üzere, uzmanlık eğitimim sırasında yetişmemde emeği olan değerli hocalarıma, çalışma arkadaşlarıma, istatistiksel değerlendirmeyi yapan Dr. Deniz Sığırlı'ya, deney aşamalarında yardımcı olan kıymetli arkadaşım Emre Kurt'a, maddi ve manevi desteğinden dolayı aileme, özellikle sevgili eşim Burcu Şengül Topaç'a, uzmanlık eğitimim boyunca herhangi bir şekilde bana yardımcı dokunan ve ismini sayamadığım herkese ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Tuncay

Soyadı: Topaç

Doğum yeri ve tarihi: Bursa, 24.12.1979

Eğitimi:

2008-2013 Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.- Bursa

1996-2005 Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi - Bursa

1993-1996 Bursa Ali Osman Sönmez Fen Lisesi - Bursa

1990-1993 Bursa Atatürk Lisesi – Bursa

1985-1990 Bursa Altıparmak İlkokulu - Bursa

Yabancı dili: İngilizce