

---

---

# Dezenfektan Etkinliğinin Ölçülmesinde Örnek Modeller (El Dezenfektanı ve Yüzey Dezenfektanı)

**Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR**

*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA*

---

---

**E**l dezenfektan ve yüzey dezenfektan testleri birer taşıyıcı test olup, pratik testler olarak da adlandırılır. Her ikisi de ikinci faz testleri olup, bu testlere geçmeden önce süspansiyon testleri yapılır. Dezenfektan etkinliğini ölçen temel testlerden biri olan süspansiyon testleri basit ve çok iyi standardize edilmiş olmalarına rağmen gerçek yaşam koşullarını pek yansıtmaz. Mikroorganizmaların süspansiyon içindeyken dezenfektan tarafından öldürülmesi, onların bir yüzeyde bulunurken de aynı dezenfektan tarafından öldürüleceği anlamına gelmez. Süspansiyondayken dezenfeksiyon işlemi daha kolay olur, çünkü dezenfektan ile mikroorganizma daha rahat temas eder, ancak yüzeyde bu işlem zorlaşır. Bu yüzden süspansiyon testlerinde dezenfektanın mikrobisidal etkinliğinin olduğundan fazla görünme riski vardır ve pratik testlerle her zaman korelasyon görülmez. Süspansiyon testleri en iyi olarak tarama testleri şeklinde kullanılır ve buradan elde edilen sonuçlar bir rehber görevi görür. Tüm bu nedenlerden dolayı, dezenfektanın gerçek yaşamdaki etkinliğini ölçmek için pratik taşıyıcı testleri kullanılır. Bu testler kullanılarak bakterisidal, fungusidal, mikobakterisidal, virüsidal ve sporisidal etki rahatlıkla ölçülebilir.

Dezenfektan etkinliğinin ölçülmesi ile ilgili bilimsel yayınlar incelendiğinde, son yıllarda en fazla olarak taşıyıcı testlerinin yapıldığı görülmektedir. Taşıyıcı testler arasında özellikle el dezenfektan testleri ile ilgili çalışmalara sıkça rastlanmaktadır. Literatürdeki yayınlara bakıldığında, çalışmalarda yüzey, alet veya el dezenfektan testi yapılmış olmasına rağmen, bu testler de birer pratik test olduğu halde, pratik test deyimi yerine taşıyıcı test deyiminin kullanıldığı görülmek-

tedir. Bu testlerde taşıyıcı testinin temel prensipleri kullanılır. Ancak **klasik taşıyıcı testinde deney objesi mikroorganizma ile kontamine edildikten hemen sonra dezenfektan ile temas ettirilir, halbuki pratik testlerde obje kontamine edildikten sonra kurutulur ve daha sonra dezenfektan ile muamele edilir.** Deneyin diğer aşamaları ise aynıdır. **Son yıllardaki taşıyıcı testleri artık pratik testlerdeki gibi kurutularak uygulanmaktadır;** taşıyıcı testi deyimi ile artık yüzey/alet/el dezenfeksiyonu gibi pratiğe yönelik testler anlaşılmaktadır. Bu yazıda örnek model olması açısından bakterisidal etkiye yönelik olarak yüzey ve el dezenfektan testleri incelenecektir. Aynı modellerle bakterisidal etki dışında sporisidal, virüsidal veya fungusidal etki de rahatlıkla çalışılabilmektedir.

### **YÜZEY DEZENFEKTAN TESTİ**

Yüzey dezenfektan testi ile alet dezenfektan testi birbirine çok benzer, testin prensipleri tamamen aynıdır. Aradaki fark taşıyıcı deney objesi ile ilgilidir. Alet dezenfektan testinde taşıyıcı objenin ilgili aleti taklit etmesi gerekir (örn. lümenli bir plastik, hortum, kateter parçası gibi). Halbuki yüzey dezenfektan testinde belirli bir birim alana sahip herhangi bir deney objesi test yüzeyi olarak kullanılabilir. Bu amaçla, yüzey dezenfektan testinde taşıyıcı deney objesi olarak bir mikroskop lamı, kiremit parçası, buzlu cam, paslanmaz çelik disk, paslanmaz çelik silindir, formika, plastik, ipek kumaş parçası, kauçuk, pyrex cam boncuklar, plastik, PVC parçası gibi pek çok değişik cisim kullanılabilir. Test objesinin pürüzlü bir yüzeye sahip olması deneyi gerçek yaşam şartlarına çok daha yakın bir hale getirir, çünkü pürüzlü yüzeyler mikroorganizmalara koruma sağlar. Kombine dezenfektan etkinlik uygulamaları da yapılabilir, birçok bakteri suşu aynı anda kullanılarak dezenfektanın bu bakteri karışımına etkisi incelenir, böylece gerçek yaşam koşulları daha iyi yansıtılmış olur. Ancak kombine testin yapılması kolay değildir. Tek bir mikroorganizmayı test etmeye göre daha kompleksdir, daha fazla farklı besiyeri, ekipman, donanım gerektirir, ancak daha realistiktir.

Yüzey dezenfektan testinde, bir taşıyıcı obje deneysel olarak standart bakteri süspansiyonu ile kontamine edilir, test edilen dezenfektan preparat bu yüzey üzerine uygulanır ve belli bir temas sonrası canlı kalan bakteri sayısı baştaki bakteri sayısı ile karşılaştırılarak dezenfektanın etkinliği hesaplanır.

Yüzey dezenfektan testi kalitatif veya kantitatif olarak yapılabilir. Kalitatif deney metodunda, taşıyıcı obje test edilen mikroorganizma süspansiyonuna daldırılarak kontamine edilir ve kurutulduktan sonra dezenfektana belli bir süre maruz bırakılır. Sonrasında besleyici sıvı besiyerine kültürü yapılır. Kalitatif testte bakteri yüzeyden alınmaz ve sadece solüsyon içine batırılır. İnkübasyon sonunda sıvı besiyerinde üreme olmaması test edilen ürünün etkin olduğunu, üreme saptanması etkin olmadığını gösterir. Ancak kalitatif test sonuçları yanıltıcı olabilir ve deneyin yalancı pozitif veya yalancı negatif olarak yorumlanmasına yol açabilir. Bu durum bir örnekle açıklanacak olursa, bir dezenfektanın A bakterisine etkili, B bakterisine de etkisiz olduğunu varsayalım. Birinci örnek testte, dezenfektan başlangıç inokulumundaki A bakterisini 5 log'dan çok daha fazla azaltmış ol-

sun. Bu örnekte dezenfektan etkili olmuştur, ancak deney sonunda tek bir bakteri dahi canlı kalsa bile, sıvı besiyerinde üreme olacak ve dezenfektan gerçekte etkili olduğu halde etkin deĐilmiŐ gibi, yani yalancı negatif olarak yorumlanacaktır. Diğer bir örnekte ise, dezenfektanın B bakterisinde 2 log'luk bir azalmaya yol açtığını varsayalım. Böyle bir durumda, deney sonunda sıvı besiyerinde üreme olacak ve doğru olarak dezenfektanın etkin olmadığı kanısına varılacaktır. Sonuç olarak, birinci örnekte dezenfektan A bakterisine etkin olmasına rağmen, her iki örnekte de deney sonunda besiyerinde üreme olması nedeniyle, dezenfektan hem A bakterisine karŐı, hem de B bakterisine karŐı etkisiz olarak yorumlanmıŐtır. Bir baŐka senaryo da dezenfektanın yalancı pozitif Đeklinde yorumlanması ihtimalidir. Aynı dezenfektanın C bakterisine karŐı etkisiz olduğunu varsayalım. Bununla birlikte yine de deney sonunda sıvı besiyerinde üreme olmayabilir, bu durumda iki ihtimal vardır: Üreme olmaması 5 log'luk bir azalmayı gösterebileceği gibi, testin kalitatif yapısından dolayı, eğer başlangıç inokulumundaki bakteri sayısı dŐuk ise, o zaman sadece 2 veya 3 log'luk bir azalmayı da gösterebilir. Bu durumda, gerçekte etkili olmayan bir dezenfektan yanlış olarak sanki etkiliymiŐ gibi, yani yalancı pozitif olarak yorumlanabilir. Bu sebeplerden dolayı, günümüzde yüzey dezenfeksiyon testi ve diğer pratik testler artık standart olarak kantitatif bir Đekilde uygulanmaktadır.

### **Yüzey Dezenfektan Testini Etkileyen nemli Parametreler**

Yüzey testinde deney sonuçlarını etkileyen en önemli parametrelerden biri, bakterilerin yüzeyden alınması problemidir. Ayrıca obje üzerinde kurumakta olan bakteri sayısının standardize edilmesi de zordur. Burada diğer pratik testlerde olduğu gibi bakteriler taşıyıcı bir obje yüzeyi üzerinde kurutulmaktadır. Bakterilerin taŐıyıcıda, el ve alet yüzeyinde kuruması hem bakteri sayısını azaltır, hem de kurutulma işlemi dezenfektana gerek kalmadan bakterilerin ölümüne yol açar. Bu nedenle, bakterilerin yüzeyden alınma işlemi çok dikkatli ve özenli bir Đekilde yapılmalıdır. Bakteriler imprint yapılarak veya yıkama metodu ile yüzeyden alınabilir. Yıkama metodu ile mikroorganizmalar yüzeyden daha kolay alındığı ve bakteri sayısı daha kolay hesaplandığı için, bu metod daha çok tercih edilmektedir. Ancak yıkama tekniğinde, taŐıyıcıdaki tüm bakteriler sayım plaklarına alınamayabilir. Böyle durumlarda dezenfektanın etkisi olduğundan daha güçlü gibi görülebilir. Imprint plaklarının kullanılmasında ise bakterilere letal stres yüklenmez ve yıkamaya göre daha kolay bir yöntemdir, ancak bu teknik yıkama tekniğindeki kadar kantitatif değildir. Bakterilerin taşıyıcı obje üzerinde kurumasına bağlı olarak gerçekleŐen spontan ölüm oranı da mutlaka kontrol olarak belirlenir. Spontan olarak ölen bakterileri hesaplamak için, dezenfektan yerine steril serum fizyolojik, fosfat tamponu veya distile suyun kullanıldığı bir kontrol deneyi yapılır.

Yüzey dezenfektan testinde diğer tüm dezenfektan testlerinde olduğu gibi deneylerde çok fazla sayıda mikroorganizmayı test etmek pratik olarak mümkün değildir. Ayrıca, biyogüvenlik düzeyi dŐuk laboratuvarlarda patojenitesi yüksek

olan mikroorganizmalarla çalışmak da pratik değildir. Bu yüzden, deneylerde standart mikroorganizmalar kullanılır. Bununla birlikte araştırmacılar testlerde standart suşlar dışındaki birçok bakteriyi de kullanmaktadır. Zira bir dezenfektanın standart suşlara etkili olması, onun aynı grupta yer alan diğer suşlara da her zaman etkili olacağı anlamına gelmemektedir. Bu nedenle, testlerde kullanılan mikroorganizma sayısı ve çeşidi ne kadar artırılırsa, sonuçlar da o kadar gerçeğe yakın hale gelir.

### **Yüzey Dezenfektan Test Modeli**

**Birinci adım-Taşıyıcı objenin seçilmesi:** Yüzey dezenfektan deneyinde ilk önce herhangi bir yüzeye sahip bir taşıyıcı test objesi seçilir. Bunun için örneğin 1 x 1 cm'lik bir PVC parçası veya 1 cm çapındaki paslanmaz çelik disk seçilir. Taşıyıcı objenin steril olması gerekir. İlk önce deterjanla yıkanır, yağlardan arındırılır ve durulanır. Mümkünse otoklavlanarak sterilize edilir. Eğer taşıyıcı obje plastik gibi yüksek ısıya maruz kalabilme özelliğinde değilse, %70 etil alkolle dezenfekte edilerek kullanılır veya dikkatli bir şekilde alevden geçirilir ve steril bir tepside saklanır.

**İkinci adım-Test inokülümü:** Test bakterileri triptik soy buyyonu içinde  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 18-24 saat üretilir, santrifüj edilerek havuzlanır ve test süspansiyonu hazırlanır. Test süspansiyonu bakterisidal etki için  $1 \times 10^9$  koloni oluşturan birim(kob)/mL, sporisidal etki için  $1 \times 10^6$  kob birim/mL içermelidir. Test inokülümü spektrofotometrik olarak da ayarlanabilir. Bakteri süspansiyonu hazırlandıktan sonra 2 saat içinde kullanılmalıdır. Taşıyıcı obje 10 µL hacimdeki test edilmek istenen bakteri inokülümü ile kontamine edilir. Bu amaçla 20-50-100 µL'lik hacimler de kullanılabilir. Test inokulumundan küçük bir alikot ayrılır, seri dilüsyonları yapılarak triptik soy agara pasajlanır ve  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübasyon sonunda koloniler sayılarak başlangıç inokulumundaki bakteri sayısı hesaplanır.

**Üçüncü adım-Dezenfektanın uygulanması:** Taşıyıcı obje 60-120 dakika boyunca oda sıcaklığında veya  $37^\circ\text{C}$ 'de, tercihan bir sınıf-2 biyolojik emniyet kabini içerisinde bekletilerek kuruması sağlanır. Bakterilerin spontan olarak ölmesinin azaltılabilmesi için test süspansiyonu %0.1 tripton içeren dilüent içerisinde yapılmalıdır. Taşıyıcı obje kuruduktan sonra, test edilmek istenen dezenfektan solüsyonundan 50 µL obje üzerine dökülür (100 µL veya 1 mL de olabilir). Dezenfektan ürün bakterilerin kuruduğu bölgeye dökülmeli ve mikroorganizmaların kurumuş olduğu tabaka tamamiyle dezenfektan solüsyon ile kaplanmış olmalıdır. Dezenfektan uygulandıktan sonra yeterli temas süresinin sağlanması için taşıyıcı 1, 2, 5, 15, 30, 60 dakika bekletilir.

**Dördüncü adım-Bakterilerin yüzeyden alınması ve nötralizasyon:** Temas süresi sonunda taşıyıcı obje steril bir forsepsle alınarak konik tabanlı bir tüpe aktarılır ve dezenfektanın etkisinin sonlandırılması için üzerine 9.95 mL nötralizörlü sıvı eklenir. Bunun ardından taşıyıcı objeyi bulunduran tüp sallanır, vortekslenir ve böylelikle geri alınan bakteriler katı besiyerine pasajlanarak canlılık kontrolü ya-

pılır (tüpün içine cam boncuklar eklenerek vortekslenmesi bakterilerin ayrılmasını kolaylaştırır). Koloni sayısının kesin olarak belirlenmesi için, yıkama sıvısından seri dilüsyonlar yapılarak triptik soy agara pasajlanır ve  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilir. Böylece mL'deki koloni oluşturan birim sayısı belirlenir. Alternatif olarak eluatlar ile dilüentler 0.45 m'lik filtreden geçirilerek bu filtrenin kültürü yapılır.

**Beşinci adım-Dezenfektan etkinliğinin hesaplanması:** Elde edilen koloni sayıları logaritmik tabanda ifade edilir. Deney sonunda canlı kalan bakteri sayısının logaritması başlangıç test inokulumundaki sayının logaritmasından çıkarılarak log azalma faktörü hesaplanır ve böylece dezenfektanın etkili olup olmadığı belirlenir.

**Kontroller:** Aynı test prensipleri kontrol taşıyıcı obje için de yapılır. Kontrol olarak da dezenfektan yerine steril serum fizyolojik kullanılır. Bu amaçla bakteriler taşıyıcı üzerinde kuruduktan sonra bakterilerin üzerine dezenfektan ürün yerine steril serum fizyolojik dökülür. Aynı temas süresi sonunda bakteriler nötralizörlü sıvı besiyerine alınır, ardından da koloni sayımı için agar plaklarına pasajlanır.

### EL DEZENFEKTAN TESTİ

El dezenfektan testleri cerrahi el dezenfektan testi ve hijyenik el dezenfektan testi olarak iki grup altında incelenir. Bu testler birer taşıyıcı test olup, yüzey testindeki temel prensipler uygulanır. Burada eller, parmak uçları, eks vivo uygulamalar gibi canlı yüzeyler kullanılır. Hijyenik el dezenfektan testinde eller/parmak uçları mikroorganizmalarla kontamine edilir ve dezenfektanın ellerdeki bu mikroorganizmalara olan etkisi incelenir. Cerrahi el dezenfektan testinde ise eller kontamine edilmez, dezenfektanın el florası üzerine olan etkinliği araştırılır. Böylece dezenfektanın el florasını, bakteri yoğunluğunu ne kadar azalttığı veya minimum nereye kadar azaltabildiği belirlenebilir. **El dezenfektan preparatları propanolün değişik konsantrasyonlarının içerdiği gibi, değişik alkoller (etil alkol, isopropil alkol, metanol), povidon iyodür ve klorheksidinin değişik kombinasyonları veya dezenfektan etkisi olan diğer maddeler ve kimyasallar içerebilir.** Bu preparatların etkinliği el dezenfektan test modelleri kullanılarak incelenir.

#### a. Cerrahi El Dezenfektan Test Modeli

Avrupa'da cerrahi el dezenfektan etkinlik testleri Avrupa EN 12791 standardına dayanılarak yapılmaktadır. Bu standarda göre cerrahi el dezenfeksiyon işleminin etkinliği referans metod ile karşılaştırılarak yapılır. Referans metotta eller 3 dakika süre ile %60 n-propanol ile muamele edilmektedir [Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde ise referans alkol kullanılması zorunlu değildir]. Test edilen dezenfektan ürününün en az referans alkol kadar etkili olması ya da referans alkolün etkinliğinden anlamlı bir şekilde daha yüksek bir etkiye sahip olması istenir. Bu şekilde yapılan testler sonucunda, bir dezenfektanla cerrahi el dezenfeksiyonunun minimum kaç dakika yapılması gerektiği, kaç dakikanın yettiği veya basit su-sabun ile yıkamaya göre daha etkin olup olmadığı test edilebilir.

**Birinci adım-Teste katılan denekler:** Uygulama gönüllülerde yapılır, etik onay alınmalıdır. Gönüllüler sağlıklı cilde sahip olmalı, ellerde kesik, sıyrık, egzama veya kronik deri hastalığı gibi herhangi 1 rahatsızlık bulunmamalıdır. Tırnaklar kısa kesilmiş ve temiz olmalıdır. Gönüllüler son 1 haftada antimikrobiyal sabun, krem, lokal antibiyotik kullanmamış olmalıdır. Uygulama öncesi geçici florayı ve yabancı partikülleri uzaklaştırmak için eller yıkanır. Bu amaçla su ve medikal olmayan bir sabun kullanılarak eller bileklere kadar 1 dakika süreyle sertçe yıkanır, steril su veya musluk suyu ile durulanır ve steril veya nonsteril kağıt havlu ile kurulanır.

**İkinci adım-Uygulama öncesi mikroorganizma sayısının hesaplanması:** Dezenfektan uygulanmasından önceki başlangıç mikroorganizma sayısının elde edilebilmesi için, denekler parmak uçlarının distal falanglarını 10 mL triptik soy buyyonu içeren 9 cm çapındaki petri plaklarının tabanına sürerek, yaklaşık 1 dakika süreyle ovuşturur. Böylelikle parmaklardaki mikroorganizmaların triptik soy buyyona karışması sağlanır. Hijyenik el dezenfektan test modelinde de aynı şekilde örnek alınır. Buradan seri dilüsyonlar yapılır ve triptik soy agar plaklarına pasajlanır. Plaklar  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilir ve koloni sayımı yapılarak mL'deki koloni oluşturan birim belirlenir. ABD'de deneyin teste devam edebilmesi için, başlangıçtaki pre-test değerlerinin en az  $1 \times 10^6$  kob/mL olması beklenir.

**Üçüncü adım-Dezenfektan uygulanması:** Deneyin başında denekler ikiye bölünerek bir gruba test edilen dezenfektan ürün, diğer gruba da referans alkol uygulanır. Her uygulama öncesi el florasının yeniden oluşması için aradan 1 haftalık bir dinlenme süresinin geçmesi beklenir. Bir haftalık süre sonunda denekler diğer ürünü kullanır, elde edilen değerlerin ortalaması alınır. Dezenfektan preparat deneklerin ellerine uygulanır. Ürün üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanılır ve el bileklerini kapsayacak şekilde uygulanır. Eller dezenfektan ile 10, 15, 30, 60, 90 veya 180 saniye muamele edilebilse de, genellikle 1.5-3 dakika boyunca dezenfektan preparat ile fırça kullanılmadan sertçe ovuşturulur. Sabit bir temas süresi yoktur, ancak maksimum 5 dakika olmalıdır. Hangi hacmin kullanıldığı çok önemli değildir, genellikle 3 mL dezenfektan yeterlidir. Önemli olan, 3 dakikalık süre boyunca ellerin tamamının dezenfektan solüsyon içinde ıslak bir şekilde kalması ve parmakların her tarafının dezenfektana temas etmesidir. Uygulama sonrası ani etkiyi ölçmek için bir elden hemen örnek alınır. Ayrıca uzamış etkiyi ölçmek için, diğer ele cerrahi eldiven giydirilir, 3 saat beklenir ve sonrasında bu elden de örnek alınır. Referans alkol de gönüllülerin ellerine 3 dakikalık süre boyunca aynı şekilde uygulanır.

**Dördüncü adım-Nötralizasyon ve ellerden bakterilerin alınması:** Denekler parmak uçlarını 10 mL nötralizörlü triptik soy buyyonu içeren petri plakları içinde, yaklaşık 1 dakika süreyle petri plağının tabanına doğru bastırarak ovuşturur ve böylece mikroorganizmaların buyyon içine geçmesi sağlanır. Ürünün etkili bir şekilde nötralizasyonu çok önemlidir, nötralizasyonun gerçekleştiği kontrol deneyleri ile mutlaka doğrulanmalıdır. Temas süresi sonunda dezenfektan etkili bir

şekilde nötralize edilmezse, aktivitesi yüksekmiş gibi görünür. Özellikle farklı dezenfektan kombinasyonları kullanıldığında, nötralizör solüsyonun kompozisyonu dikkatli bir şekilde seçilmelidir. Hangi nötralizör seçilirse seçilsin, kontrol deneyleri ile dezenfektan ürünü etkili bir şekilde nötralize ettiği gösterilmelidir. Nötralizörün test mikroorganizmalarının viyabilitesini etkilemediği de mutlaka gösterilmelidir.

**Beşinci adım-Kültür ve uygulama sonrası mikroorganizma sayısının hesaplanması:** Deney sonrasında ellerden alınan bakterileri bulunduran nötralizörlü triptik soy buyyon 10-, 100- kez seyreltilir ve buradan da 10-100 µL alikotlar alınarak triptik soy agara pasajlanır ve steril bir cam spatula ile düzgün bir şekilde tüm agar yüzeyine yayılır. Agar plakları  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilir ve koloni sayımı yapılarak mL'deki koloni oluşturan birim belirlenir. Örnek alma ve yayma arasındaki süre 30 dakikayı geçmemelidir. Her bir plakta 15-300 koloni oluşturan birim olması sayımı uygundur, bu nedenle uygun seyreltmeler yapılmalı ve hangi oranda seyreltme yapılacağı ön deneylerle belirlenmelidir.

**Altıncı adım-Dezenfektan etkinliğinin hesaplanması:** Sayılan tüm koloni değerleri  $\log_{10}$  değerleri olarak ifade edilir. Bir plakta hiç koloni bulunmasa dahi, pratik olarak 1 olarak kabul edilmelidir, çünkü 0'ın  $\log_{10}$  değeri tanımsızdır, 1'in  $\log_{10}$  değeri 0'dır. Deney sonunda canlı kalan mikroorganizma sayısının logaritması başlangıçtaki test inokülumundaki koloni sayısının logaritmasından çıkarılarak log azalma faktörü hesaplanır ve böylece dezenfektanın etkili olup olmadığı belirlenir. Bu şekilde dezenfektanın ellerdeki yerleşik floraya etkinliği değerlendirilmiş olur. Cerrahi el dezenfektan testlerinde 5 log'luk bir azalma pek beklenmez. Test edilen dezenfektan ürünün referans alkolle istatistiksel olarak karşılaştırması yapılarak etkin olup olmadığı belirlenir.

#### **b. Hijyenik El Dezenfektan Test Modeli**

Hijyenik el dezenfektan test modeli cerrahi el dezenfektan test modeline benzer şekilde yapılır. Temel prensipler ve deneyin planlanması aynıdır. Ancak farklı olarak hijyenik el dezenfektan testinde, eller yapay olarak bir test bakteri süspansiyonu ile kontamine edilir (sporidal, virüsidal ve fungusidal çalışma da yapılabilir), daha sonra da dezenfektan ürünün bu test mikroorganizmaların üzerine olan etkisine bakılır. Çalışma tamamlandıktan sonra, denekler ellerini %70 etil alkol emdirilmiş havlu kağıda bastırarak sürer, %4 klorheksidin glukonat ile yıkar ve ardından da akan musluk suyu altında sabunla yıkayarak dekontamine eder.

**Birinci adım-Teste katılan denekler:** Cerrahi el dezenfektan testindeki gibi gönüllülerde yapılır, aynı şartlar aranır. Yine başlangıçta deneklerin elleri su ve medikal olmayan sabun ile yıkanır, durulanır ve kurulanır.

**İkinci adım-Ellerin kontamine edilmesi:** Kontaminan test bakterisi olarak *Escherichia coli* K12 suşu (ATCC 11229) kullanılır. *E. coli* 1 L TSB içinde  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 18-24 saat üretilir, santrifüj edilerek havuzlanır. Bu kontaminasyon bakterisini

bulunduran TSB bir kap içine dökülür ve konsantrasyonu  $10^8$ - $10^9$  kob/mL'ye ayarlanır. Ellerin kontamine edilmesi için çeşitli alternatifler vardır: Parmaklar kontaminasyon sıvısı içine orta metakarpallara kadar daldırılabilir ve 5 saniye beklenir; 5 mL'lik bir bakteri inokulumu ellere dökülür ve eller bileklere kadar 45 saniye süre ovuşturulur; parmakların üzerinde sınırları belirlenmiş bir alana 10 µL hacimdeki kontaminasyon sıvısı dökülür. Daha sonra eller dik bir pozisyonda havada bekletilerek kurutulur.

**Üçüncü adım-Temel değerlerin hesaplanması:** Bunun için 0. dakikada örnekleme yapılır. Bu amaçla kontaminasyon sıvısı uygulandıktan hemen sonra, parmaklar henüz kurumadan önce buradan örnekleme yapılır ve katı besiyerine pasajlanır. Böylece parmaklara ne kadar canlı mikroorganizmanın inoküle edildiği ve ellerden elde edilebilecek olan eluat miktarı belirlenmiş olur.

**Dördüncü adım-Pre-test değerlerin hesaplanması:** Bu aşamada deriye inoküle edilen bölgede kuruma sonrası canlı kalan mikroorganizma sayısının belirlenmesi amaçlanır. Burada başlangıç 0. dakikadaki ilk değerleri belirlemek için hemen örnekleme yapılmasının aksine, inokülasyon sonrası en az 20-25 dakika oda sıcaklığında beklenerek inokülasyonun kuruması sağlanır. Kuruma sonrası parmak uçları 10 mL nötralizör içermeyen triptik soy buyyon bulunan petri plakları içinde plağın tabanına doğru bastırılarak 1 dakika süreyle ovuşturulur. Bu sıvıdan seri pasajlar yapılarak pre-test mikroorganizma sayısı belirlenir. Alternatif olarak denekler ellerini içinde buyyon bulunan steril bir eldivene sokar ve 60 saniye boyunca masaj yapılarak bakterilerin buyyona karışması sağlanır. Buradan da 5 mL örnek alınarak seri pasajlar yapılır.

**Beşinci adım-Dezenfektan uygulaması:** Belirli bir hacimdeki dezenfektan test ürünü (1-5 mL) ellere veya parmaklara uygulanır. Eller/parmaklar dezenfektan ile 30-60 saniye temas ettirilir ve ürünün cilt üzerinde kuruması beklenir veya test ürünü kullanılarak eller hijyenik el yıkama şeklinde yıkanır, durulanır, havlu kağıt ile kurulanır.

**Altıncı adım-Post-test değerlerin hesaplanması:** Dezenfektanın uygulanmasından sonra, post-test değerlerinin elde edilebilmesi için, parmak uçları nötralizörlü triptik soy buyyon bulunan petri içinde 1 dakika süreyle ovuşturulur. Bu sıvıdan seri pasajlar yapılarak mikroorganizma sayısı belirlenir. Pre-test ve post-test değerler için her bir bireyin sağ ve sol ellerinden elde edilen değerlerin ortalaması alınır.

**Yedinci adım-Dezenfektan etkinliğinin hesaplanması:** Post-test logaritmik değerinden pre-test logaritmik değerinin çıkarılması sonucu elde edilen fark log azalma faktörünü verir. Eğer yeni bir test ürünü ile hijyenik el yıkama yapılıyorsa, o zaman elde edilen değerler medikal olmayan sabun ile yıkama sonucu elde edilen değerlerle istatistiksel yönden karşılaştırılır.



**KAYNAKLAR**

1. Best M, Springthorpe VS, Sattar SA. Feasibility of a combined carrier test for disinfectants: Studies with a mixture of five types of microorganisms. *Am J Infect Cont* 1994;22:152-62.
2. Bloomfield SF, Arthur M, Van Klingeren B, et al. An evaluation of the repeatability and reproducibility of a surface test for the activity of disinfectants. *J Appl Bacteriol* 1994;76:86-94.
3. 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.
4. Fraise AP. European norms for disinfection testing. *J Hosp Infect* 2008;70(Suppl 1):8-10.
5. Heeg P, Ostermeyer C, Kampf G. Comparative review of the test design Tentative Final Monograph (TFM) and EN 12791 for surgical hand disinfection. *J Hosp Infect* 2008;79(Suppl 1): 22-6.
6. Hübner NO, Kampf G, Kamp P, Kohlman T, Kramer A. Does a preceding hand wash and drying time after surgical hand disinfection influence the efficacy of a propanol-based hand rub? *BMC Microbiol* 2006;6:57.
7. Kampf G, Hollingsworth A. Validity of the four European test strains of prEN 12054 for the determination of comprehensive bactericidal activity of an alcohol-based hand rub. *J Hosp Infect* 2003;55:226-31.
8. Kampf G, Meyer B, Goroncy-Bermes P. Comparison of two test methods for the determination of sufficient antimicrobial activity of three commonly used alcohol-based hand rubs for hygienic hand disinfection. *J Hosp Infect* 2003;55:220-5.
9. Kampf G, Meyer B, Goroncy-Bermes P. Comparison of two test methods for the determination of sufficient antimicrobial activity of three commonly used alcohol-based hand rubs for hygienic hand disinfection. *J Hosp Infect* 2003;55:220-5.
10. Kampf G, Ostermeyer C. Intra-laboratory reproducibility of the hand hygiene reference procedures of EN 1499 (hygienic handwash) and EN 1500 (hygienic hand disinfection). *J Hosp Infect* 2002;52:219-24.
11. Kampf G, Ostermeyer C. Inter-laboratory reproducibility of the hand disinfection reference reference of EN 500. *J Hosp Infect* 2003;53:304-6.
12. Kampf G, Ostermeyer C, Kohlman T. Bacterial population kinetics on hands during 2 consecutive surgical hand disinfection procedures. *Am J Infect Control* 2008;36:369-74.
13. Kampf G, Ostermeyer C. Efficacy of alcohol-based gels compared with simple hand wash and hygienic hand disinfection. *J Hosp Infect* 2004;56:13-15.
14. Kampf G, Ostermeyer C. Efficacy of two distinct ethanol-based hand rubs for surgical hand disinfection – a controlled trial according to prEN 12791. *BMC Infect Dis* 2005;5:17.
15. Kampf G, Ostermeyer C. Influence of applied volume on efficacy of 3-minute surgical reference disinfection method prEN 12791. *Appl Environ Microbiol* 2004;70:7066-9.
16. Kampf G, Kapella M. Suitability of sterillium gel for surgical hand disinfection. *J Hosp Infect* 2003;54:222-5.
17. Marchetti MG, Kampf G, Finzi G, Salvatorelli G. Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN 12054 and prEN 12791. *J Hosp Infect* 2003;54:63-7.
18. Reybrouck G. The testing of disinfectants. *Int Biodet Biodeg* 1998;41:269-72.
19. Sattar SA, Springthorpe VS, Adegbinrin O, Zafer AA, Busa M. A disc-based quantitative carrier test method to assess the virucidal activity of chemical germicides. *J Virol Method* 2003;112:3-12.

20. Sattar SA, Ansari SA. The fingerpad protocol to assess hygienic hand antiseptics against viruses. *J Virol Methods* 2002;103:171-81.
21. Traore O, Springthorpe VS, Satar SA. Testing chemical germicides against *Candida* species using quantitative carrier and fingerpad methods. *J Hosp Infect* 2002;50:66-75.
22. Van Klingerden B, Koller W, Bloomfield SF, et al. Assessment of the efficacy of disinfectants on surfaces. *Int Biodet Biodeg* 1998;41:289-96.